

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Владимирский государственный университет
имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых»

На правах рукописи

Коф

Космачева Анастасия Геворговна

**ФИТОТОКСИЧНОСТЬ АНТИБИОТИКОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА
МИКРОБИОЦЕНОЗ ПОЧВЫ**

1.5.15 – экология (биологические науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

Доктор биологических наук, профессор

Трифорова Татьяна Анатольевна

Владимир – 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ПРОБЛЕМА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ И ИХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА РАСТЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	9
1.1. Воздействие антибиотиков на растения.....	11
1.2. Влияние антибиотиков на микроорганизмы почв и осуществляемые ими процессы.....	24
1.2.1. Воздействие антибиотиков на ферментативную активность почв.....	25
1.2.2. Влияние антибактериальных препаратов на структуру микробиома почв.....	36
Выводы к главе.....	41
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	42
2.1. Объекты исследований.....	42
2.1.1. Почва.....	42
2.1.2. Используемые антибиотики.....	43
2.1.3. Тест-культуры.....	47
2.2. Методы исследований.....	48
2.2.1. Исследования фитотоксичности.....	48
2.2.2. Анализ ампликонных библиотек, основанный на секвенировании 16S рРНК.....	52
2.2.3. Методы исследования ферментативной активности почв.....	53
2.2.4. Статистическая и графическая обработка результатов.....	55
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ.....	57
3.1. Фитотестирование растворов антибиотиков.....	57
3.1.1. Воздействие антибактериальных препаратов на однодольные растения.....	57
3.1.2. Воздействие антибактериальных препаратов на двудольные растения.....	78
3.2. Фитотестирование почвы, загрязненной антибиотиками.....	101
Выводы к главе.....	110

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА СТРУКТУРУ ПОЧВЕННОГО МИКРОБИОМА И ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ.....	112
4.1. Структура микробиома почв.....	112
4.2. Ферментативная активность почв.....	119
4.2.1. Каталазная активность.....	119
4.2.2. Целлюлозолитическая активность.....	125
4.2.3. Нитрифицирующая активность.....	129
4.2.4. Уреазная активность.....	132
Выводы к главе.....	136
ВЫВОДЫ.....	138
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	140

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследований связана с увеличением производства, потребления и последующего поступления в окружающую среду антибиотиков, создающих потенциальную угрозу для природных сообществ и человека [1, 2, 64, 74, 76, 85, 86, 97, 102, 124, 129, 136, 148, 150, 165, 166, 173, 174, 178, 181, 182, 184, 194, 209].

Вследствие того, что антибиотики способны воздействовать на экологически значимые нецелевые организмы, такие как беспозвоночные и растения [73, 85], важное значение имеет исследование влияния антибактериальных препаратов на растительные организмы, являющиеся важным компонентом экосистем [100, 103, 114, 135, 151, 156, 176]. Для этого применяется фитотестирование, являющееся эффективным методом оценки потенциальной опасности химического воздействия на растения, и широко используемое в экотоксикологическом мониторинге [24–26, 29, 34, 44].

В связи с бактерицидными и бактериостатическими свойствами антибиотиков, важное значение имеет изучение их воздействия на почвенные микроорганизмы и осуществляемые ими процессы [73, 74, 85, 181]. Исследование таксономического разнообразия микробных сообществ методами метагеномики с использованием секвенирования гена 16S рРНК обусловлено ролью прокариот, являющихся самыми многочисленными организмами почвы и важным компонентом биохимических превращений [36, 85, 111, 138, 162, 186, 199]. Изучение активности ферментов связано со способностью микробных сообществ осуществлять биохимические процессы, необходимые для поддержания гомеостаза экосистемы и качества почвы, и служит важным показателем реакции микроорганизмов на загрязнение антибактериальными препаратами. Наибольшую информативность дают энзиматические показатели, связанные с циклами основных биогенных элементов: углерода, азота, фосфора [5, 16, 43, 50, 74, 85, 102, 186].

Степень разработанности темы. Несмотря на стремительно увеличивающееся количество исследований, посвященных судьбе и эффектам воздействия антибактериальных препаратов на растительные организмы и микробиоценоз почв, анализ литературных источников демонстрирует недостаточность фундаментальных данных об их влиянии на окружающую среду. Подробная и разносторонняя информация необходима для правильной оценки экологических рисков. Помимо того, что загрязнение антибактериальными препаратами представляет собой угрозу для общественного здравоохранения, они также опасны для естественного функционирования экосистем, так как опубликованные данные указывают на способность антибиотиков изменять биогеохимические циклы [85, 129, 148, 150, 174, 181, 194]. Необходимо расширять знания о воздействии антибактериальных препаратов как поллютантов окружающей среды, для того, чтобы улучшить стратегии борьбы с загрязнением и смягчить экологические последствия. В настоящее время в Российской Федерации мониторинг загрязнения почв антибиотиками не осуществляется, и не проводится регулярных исследований их воздействия на почвенные компоненты и выполняемые ими процессы.

Цель работы заключалась в исследовании фитотоксичности антибиотиков различных групп и их влияния на микробиоценоз почвы.

Для достижения поставленной цели были решены следующие **задачи**:

1. Оценить и сравнить фитотоксичность растворов антибиотиков и обработанной ими дерново-подзолистой почвы.
2. Исследовать воздействие антибактериальных препаратов на структуру прокариотического сообщества дерново-подзолистой почвы.
3. Изучить воздействие антибиотиков на показатели ферментативной активности дерново-подзолистой почвы в сравнении с серой лесной почвой.
4. Исследовать комбинированное влияние антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов на фитотоксичность и ферментативную активность почвы.

Положения, выносимые на защиту.

1. Влияние антибактериальных препаратов на развитие однодольных и двудольных растений в ювенильной стадии онтогенеза различается в зависимости от группы антибиотика.

2. Фитотоксические эффекты воздействий растворов антибиотиков и почвы, загрязненной теми же препаратами, отличаются.

3. Структура прокариотического сообщества дерново-подзолистой почвы под воздействием антибактериальных препаратов существенно не изменяется, что свидетельствует об устойчивости почвенного микробиома.

4. Влияние антибиотиков на ферментативную активность дерново-подзолистой почвы различно, и зависит от группы препарата. По энзиматическим показателям дерново-подзолистая почва менее устойчива к загрязнению антибактериальными препаратами в сравнении с серой лесной почвой.

5. Комбинированное воздействие растворов антибактериальных препаратов с растворами солей тяжелых металлов приводит к изменению токсических эффектов на растения и ферментативную активность почв.

Научная новизна. Впервые проведено исследование фитотоксичности широкого диапазона концентраций окситетрациклина, тилозина и бензилпенициллина на развитие мягкой озимой пшеницы и кресс-салата, как при индивидуальном влиянии, так и в смеси с солями тяжелых металлов. Изучено влияние окситетрациклина, тилозина, бензилпенициллина и их смесей на фитотоксичность и ферментативную активность дерново-подзолистой почвы, а также на ферментативную активность серой лесной почвы. Исследовано воздействие данных антибиотиков на динамику микробных сообществ дерново-подзолистой почвы методом секвенирования гена 16S рРНК.

Научно-практическая значимость. Результаты исследования вносят вклад в изучение проблемы загрязнения антибиотиками почвенных экосистем, выявляя неоднородное, преимущественно, токсическое воздействие. Полученные данные отражают влияние антибиотиков как на прокариотические сообщества и ферментативные процессы почв, так и на развитие растительных организмов на

начальной стадии онтогенеза. Результаты исследования могут быть использованы в экотоксикологической оценке почв, разработке нормативов предельно-допустимых концентраций антибактериальных препаратов в почвах сельскохозяйственного назначения, а также в учебном процессе при изучении курсов экотоксикологии и экологического мониторинга.

Достоверность результатов работы подтверждается достоверностью исходных данных, корректными методами исследования, оценкой воспроизводимости результатов с помощью статистических методов.

Апробация результатов исследования. Материалы исследования представлены на 9 конференциях: Международной научно-технической конференции «Инновационные пути решения актуальных проблем природопользования и защиты окружающей среды» (Алушта, 2018), IX Международной научно-практической конференции «Экология речных бассейнов» (Суздаль, 2018), II Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы природопользования и природообустройства» (Пенза, 2019), IX Всероссийской с международным участием научно-практической конференции «Изучение, сохранение и восстановление естественных ландшафтов» (Волгоград, 2019), V Международной научно-практической конференции «Трансграничное сотрудничество в области экологической безопасности и охраны окружающей среды» (Гомель, 2020), X International Scientific Conference of young scientists, graduates, master and PhD students «Actual environmental problems» (Минск, 2020), II Международной научно-практической конференции «Современные подходы и методы в защите растений» (Екатеринбург, 2020), EcoHealth 2021: Международной научно-исследовательской конференции по экотоксикологии, здоровью человека и экологической безопасности (Барнаул, 2021), X Международной научно-практической конференции «Экология речных бассейнов» (Владимир, 2021).

Личный вклад автора. Тема, цель, задачи и методы исследования определены автором совместно с научным руководителем. Критический обзор литературных источников, отбор и подготовка почвенных образцов, модельные

лабораторные исследования фитотоксичности и ферментативной активности, а также обработка экспериментальных данных проведены автором лично.

Публикации. По результатам исследования опубликовано 13 научных работ, в том числе 4 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 4 статьи в изданиях, включенных в мировые базы данных научного цитирования Scopus и Web of Science.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 164 страницах текста компьютерной верстки, содержит 23 таблицы, 54 рисунка. Состоит из введения, 4 глав, выводов и списка литературы, включающего 221 источник, в том числе 166 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность сотрудникам кафедры биологии и экологии ВлГУ за содействие и оказанную поддержку. Особую благодарность автор выражает научному руководителю, заслуженному деятелю науки Российской Федерации, д.б.н., профессору Трифионовой Татьяне Анатольевне и доценту, к.х.н. Чесноковой Светлане Михайловне за ценные рекомендации на всех этапах исследования.

ГЛАВА 1. ПРОБЛЕМА ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ И ИХ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА РАСТЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Первый антибиотик – пенициллин был открыт А. Флемингом в 1928 году, однако, сам термин «антибиотическое вещество» был использован З. А. Ваксманом лишь в 1945 году [219]. В настоящее время антибиотиками принято называть химиотерапевтические агенты, которые предотвращают рост таких форм жизни, как бактерии, грибы, вирусы и простейшие [134].

Интенсивное развитие животноводства приводит к усилению производства и использования ветеринарных препаратов. Общее ежегодное потребление антибиотиков период с 2000 по 2015 годы в 76 странах мира увеличилось на 65% и достигло 42 миллиардов установленных суточных доз. Согласно прогнозам, к 2030 году глобальное потребление антибиотиков возрастет на 200% в сравнении с 2015 годом, преимущественно в странах с низким и средним уровнем дохода [74, 85]. Помимо медицинской практики, антибактериальные препараты применяются для лечения заболеваний свиней, крупного рогатого скота, птицы, аквакультуры и растений, в качестве кормовой добавки для увеличения массы сельскохозяйственных животных [14, 97, 124, 148, 182, 184]. Хотя включение ветеринарных антибиотиков в корм было запрещено в странах Европейского Союза еще в 2006 году, в других государствах, таких как Канада, Республика Корея, КНР, США, Российская Федерация, данная практика все еще присутствует [65, 182].

Поскольку большинство антибактериальных препаратов не полностью метаболизируются в организме людей и животных, 30–90 % выводятся через мочу и фекалии [64, 74, 85, 97, 102, 148, 166, 173, 174, 182, 194]. Таким образом, высокий процент применяемых лекарств поступает в воду и почву непосредственно через экскременты скота или при использовании навоза в качестве удобрения, а также муниципальных сточных вод, их осадков и биосолидов, применяемых для орошения и удобрения сельскохозяйственных

земель [76, 85, 86, 97, 124, 148, 150, 174, 178, 184, 195, 209]. Кроме того, источниками поступления могут служить медицинские отходы, утилизация неиспользованных или просроченных лекарственных препаратов, технологические стоки производственных предприятий, сброс из очистных сооружений, утечки из септических систем [148, 174, 178, 182]. Обнаруживаемые концентрации антибиотиков в почвах составляют от нескольких нг/кг до 900 мг/кг [1, 85, 97, 102, 148].

Тетрациклины, сульфонамиды, β -лактамы, макролиды, аминогликозиды, фторхинолоны являются широко используемыми антибактериальными соединениями [61, 73, 178, 182]. К наиболее часто встречающимся ветеринарным антибиотикам в навозе свиней, крупного рогатого скота и птицы относятся: тетрациклины, тилозин, сульфаметазин, ампролиум, монезин, вирджиниамицин, пенициллин, никарбазин, линкомицин. Концентрация варьируется от следовых количеств до 216 мг/дм³ навозной жижи [64, 166, 182]. После приема лекарств, антибиотики в основном выделяются в качестве исходных соединений. Однако установлено, что метаболиты антибактериальных препаратов, обнаруженные в экскрементах животных, являются биологически активными и могут потенциально преобразовываться в исходное соединение [166, 182, 201].

Остаточные концентрации антибактериальных препаратов в окружающей среде обусловлены не только их постоянными выбросами, но и высокой устойчивостью. Судьба антибиотиков в почве, в том числе скорость поглощения, зависит от физико-химических характеристик почвы, климатических условий, а также от свойств самого препарата, концентраций и сроков его воздействия. Из почв антибиотики могут вымываться в более глубокие слои и подземные воды [73, 74, 124, 129, 148, 150, 166, 178, 182, 184].

В настоящее время разрабатываются методы, направленные на снижение концентраций остаточных ветеринарных препаратов, позволяющие сократить их поступление в почву. Одной из наиболее эффективных стратегий является адсорбция и деградация посредством компостирования навоза скота. Степень деградации антибиотиков во время компостирования варьируется в зависимости

от свойств препарата, типа навоза, условий компостирования, таких как температура и длительность процесса [67, 88, 89, 94, 97, 126, 158, 166, 185, 196, 216]. Фиторемедиация также может использоваться в качестве эффективного метода удаления антибактериальных препаратов из почвы, в связи со способностью растений поглощать и накапливать антибиотики [63, 64, 80, 96, 103, 118, 120, 124, 136, 153, 168, 191, 198, 209, 212, 214]. Важное значение имеет способность растений снижать токсический эффект антибиотиков на ферментативную активность почв [173]. Обработки сточных вод и их осадков такими методами, как флокуляция, озонирование, ускоренное окисление, мембранная фильтрация, фотокатализ, отстаивание (сорбция), биодegradация, гидролиз и фотолиз, могут быть использованы для предотвращения попадания антибиотиков в почвы через сточные и поверхностные воды [159, 167, 168, 169, 174, 180, 218].

1.1. Воздействие антибиотиков на растения

В связи с тем, что процесс почвообразования тесно связан с развитием растительности, исследование взаимодействий в системе «почва–растение» имеет важное значение. Фитодиагностика и фитотестирование широко используются для оценки экологического качества почвы, токсикологической оценки сред и химических веществ [24, 26, 34, 44]. Изучение воздействия антибиотиков на растительные организмы начались еще в 50-е годы XX века [163, 164] и являются актуальными в настоящее время [191]. На данный момент опубликовано более 80 исследований, посвященных влиянию антибактериальных препаратов на различные виды растений [1, 33, 55, 62–66, 68, 70–72, 77, 79, 80, 90, 92, 93, 96, 97, 100, 103, 104, 106, 108, 110, 114, 115, 117, 118, 120, 122–124, 127, 130, 131, 135, 136, 140, 143–147, 149, 151–154, 156, 157, 160, 161, 163, 164, 168, 170, 175–177, 182, 188, 189, 191–193, 197, 198, 203, 205–207, 209–214, 220].

Среди них можно выделить исследования воздействия различных антибиотиков на наземные [33, 63, 64, 66, 71, 72, 77, 80, 93, 96, 100, 103, 104, 106,

114, 115, 120, 127, 130, 131, 135, 136, 143, 144, 147, 157, 161, 188, 191–193, 197, 205, 206, 210, 212–214, 220] и водные [79, 105, 157, 163] растения, принадлежащие как классу однодольных [64, 66, 72, 79, 80, 100, 103–105, 127, 135, 136, 143, 144, 151, 157, 163, 193, 197, 205, 206], так и двудольных [33, 63, 64, 71, 72, 77, 80, 93, 103, 106, 114, 115, 130, 136, 151, 152, 156, 157, 175, 176, 188, 189, 191, 192, 212, 214], включающие сельскохозяйственные [33, 63, 64, 71, 72, 80, 93, 100, 103, 104, 115, 127, 130, 135, 136, 143, 144, 147, 151, 152, 156, 175, 188, 189, 191, 193, 197, 205, 206, 212, 214] и несельскохозяйственные [77, 79, 106, 114, 151, 157, 176, 192] культуры.

Показано, что воздействие антибиотиков оказывает влияние на развитие и физиологию растений, проявляющееся в снижении общей биомассы [66, 72, 93, 100, 103, 108, 114, 151, 197, 206, 213, 220], всхожести [144, 175, 205, 220], скорости прорастания [100, 160, 214], длины и биомассы корней [33, 71, 93, 114, 115, 144, 151, 153, 156, 157, 164, 170, 175–177, 188, 191, 205–207, 220], количества корней [157, 176], высоты и биомассы побега [33, 66, 71, 72, 93, 127, 135, 144, 153, 170, 175, 205, 206, 220], длины гипокотыля [100, 156, 157, 176], количества и размера листьев [93, 100, 103, 114, 151, 153, 156, 157, 176, 207], длины междоузлий [176], уменьшении семядоли [100, 114, 151, 156, 157, 176], подавлении свободного ветвления [77], снижении скорости фотосинтеза, синтеза и содержания хлорофилла [65, 66, 68, 93, 106, 108, 130, 143, 145, 160, 161, 220], транспирации [220], деформации тканей и органов [71], уменьшении массы плодов [93], нарушении окислительно-восстановительного гомеостаза [188, 205, 206], ингибировании ферментов, продуцируемых фитоплазмами [77], изменении антиоксидантных и генетических показателей [127, 160, 175, 188, 205, 206], изменении структуры микробного сообщества в ризосфере растений [62, 111, 140, 144, 147, 153, 221] и других явлениях, связанных со стрессом [71, 72].

В ряде исследований установлен горметический эффект, представляющий собой нелинейную зависимость доза–эффект для ответов растений на антибиотики, что обычно подразумевает положительное воздействие при низких дозах и ингибирование при более высоких [66, 135, 156, 157, 176, 220].

Показана зависимость воздействия антибактериальных препаратов как от свойств антибиотика, так и вида растения [66, 93, 110, 115, 123, 146, 191].

Для данной работы наибольший интерес представляет информация о влиянии антибиотиков на пшеницу (*Triticum aestivum L.*) и кресс-салат (*Lepidium sativum*).

Опубликован ряд исследований о влиянии тетрациклина, хлортетрациклина и окситетрациклина в гидропонной культуре на всхожесть, рост корней и побегов пшеницы (*Triticum aestivum L.*) [144, 175, 205, 220], антиоксидантные и генетические показатели [127, 175, 205], структуру микробного сообщества в ризосфере данного вида растений [144]. Были использованы широкие диапазоны концентраций антибиотиков: 0,25–300 мг/дм³ для тетрациклина [127, 144, 205] и 0,0625–300 мг/дм³ для хлортетрациклина [175], 0,01–0,08 ммоль/дм³ окситетрациклина [220], и сроки экспозиции (от 24 часов до 15 суток) [127, 144, 175, 205]. Чувствительность показателей пшеницы к загрязнению тетрациклином находилась в последовательности: содержание малонового диальдегида/ частота хромосомных аберраций > активность супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы > митотический индекс > длина корня > высота побега > частота прорастания [205]. Органы растения имели разную чувствительность к воздействию антибиотиков [144, 175, 205]. Удлинение корня являлось более чувствительным признаком в сравнении с высотой побега, что может быть обусловлено непосредственным погружением корней в раствор лекарственного средства [144], структурой и свойствами клеток корней пшеницы [205].

Обнаружено увеличение длины корней при 1 мг/дм³ и побегов при 5 мг/дм³ тетрациклина [127, 205] и при 0,125–1 мг/дм³, побегов – при 0,25–5 мг/дм³ хлортетрациклина [175]. Тетрациклин оказывал статистически значимое дозозависимое ингибирующее воздействие, на длину корня, всхожесть и высоту побега при 100–300 мг/дм³ [205]. Результаты другого исследования демонстрировали ингибирование удлинения корня при 0,8 мг/дм³ тетрациклина на 23–32%. При 20 мг/дм³ происходило подавление роста корня на 100%, высоты побега на 93% [144]. Различие эффектов воздействия может быть связано с

различными сортами пшеницы и особенностями проведения экспериментов. Статистически значимое ингибирование роста корня и всхожести происходило при 25–300 мг/дм³, побега при 50–300 мг/дм³ хлортетрациклина [175]. Окситетрациклин подавлял рост пшеницы, вызывая снижение биомассы, длины побегов и корней как чувствительного, так и устойчивого к антибиотику сорта. Ингибирующий эффект для корней являлся дозозависимым от концентрации антибиотика [220].

Обнаружено, что при 0,25–1 мг/дм³ тетрациклин стимулирует, клеточное митотическое деление и ингибирует при 50–300 мг/дм³ [127, 205]. Митотический индекс статистически увеличивался в диапазоне хлортетрациклина 0,125–0,5 мг/дм³ и снижался при повышении концентрации антибиотика [175].

Тетрациклин не вызывал значительного усиления активности антиоксидантных ферментов при 0,5–10 мг/дм³ [127, 205]. Активность супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы в корнях пшеницы значительно усилилась в диапазоне антибиотика 25–300 мг/дм³, что указывает на способность растения адаптироваться к стрессу за счет более быстрой стимуляции системы антиоксидантной защиты. Активность пероксидазы и супероксиддисмутазы в корнях кукурузы под действием 0,05–50 мг/дм³ хлортетрациклина снижалась, а каталазы незначительно увеличивалась с повышением концентрации хлортетрациклина, что демонстрировало низкую способность этих антиоксидантных ферментов эффективно улавливать активные формы кислорода [206]. Концентрации малонового диальдегида возрастали с увеличением концентрации тетрациклина (5–300 мг/дм³), то есть происходило повышенное перекисное окисление липидов. Таким образом, тетрациклин косвенно продуцирует супероксидные радикалы, что приводит к увеличению продуктов перекисного окисления липидов и окислительного стресса у пшеницы. Также было установлено, что содержание малонового диальдегида коррелирует с показателями прорастания семян, длины корня и высоты побега, митотического деления клеток корня и активности супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы [205]. Аналогичные данные были получены при воздействии 0,05–50

мг/дм³ хлортетрациклина на кукурузу (*Zea mays L.*), при котором увеличивалось содержание малонового диальдегида. Поглощение кукурузой хлортетрациклина индуцировало выработку гидроксильного радикала, приводя к окислительному повреждению корней. Малоновый диальдегид является конечным продуктом перекисного окисления липидов и чувствительным диагностическим индексом окислительного повреждения клеток [206].

Наблюдалось увеличение частоты микроядер, хромосомных aberrаций и обмена сестринскими хроматидами в клетках корневых меристем пшеницы при 0,25–300 мг/дм³ тетрациклина. В диапазоне 250–300 мг/дм³ показатели снижались относительно 200 мг/дм³, но оставались значительно выше контроля, что связывалось авторами с задержкой митоза и острой клеточной токсичностью [127, 175, 205].

Двойной эффект (стимулирование и ингибирование) изученных антибиотиков группы тетрациклина на увеличение длины корней и побегов пшеницы, митотическое деление клеток корня при разных концентрациях может быть обусловлен антисептическим действием препаратов при малых дозах на культуральный раствор и семена, которое улучшает всасывание воды и питательных веществ, и может индуцировать синтез α -амилазы. Кроме того, антибиотики способны играть гормоноподобную роль, способствуя делению клеток растения. При более высоких концентрациях исследуемые препараты оказывали дозозависимое ингибирование митотического индекса, что свидетельствует о предотвращении начала клеточного деления, и цитотоксическом потенциале данных антибиотиков. Увеличение частоты микроядер, хромосомных aberrаций и обмена сестринскими хроматидами указывает на то, что тетрациклин и хлортетрациклин повреждают ДНК и, следовательно, являются мутагенами и потенциальными канцерогенами. Возможным механизмом вызванного цитогенетического повреждения является образование свободных радикалов, способных приводить к перекисному окислению липидов клеточной мембраны в тканях, вызывая разрыв цепи ДНК в результате окисления оснований ДНК и ковалентной связи между продуктом

перекисного окисления липидов и ДНК. Также свободные радикалы могут реагировать с белками, угнетать их синтез, влиять на структуру и активность ферментов, изменять свойства мембран и нормальное функционирование органелл, что приводит к нарушению митотического деления в клетках корневища пшеницы [127, 175, 205].

При 20 мг/дм³ тетрациклина структура микробного сообщества в ризосфере пшеницы претерпевала значительные изменения. Бактерии оставались доминирующими, однако увеличение концентрации препарата и времени культивирования, приводило к возрастанию количества грибов и уменьшению бактериального разнообразия, что связано с избирательным спектром действия антибиотика. При высоких концентрациях тетрациклина, устойчивые к нему виды, такие как *Acinetobacter sp.* стали доминирующими, а чувствительные, такие как *Sphingobacterium multivorum*, не были обнаружены. Процент всхожести оказался наиболее устойчивым показателем в данном исследовании [144].

Установлены различия в физиологическом поведении чувствительного (Heyou 1) и толерантного (Yannong 21) сортов пшеницы к окситетрациклину. Ингибирующий эффект антибиотика был сильнее для чувствительного сорта, снижая скорость фотосинтеза, скорость транспирации, устьичную проводимость, способность ассимилировать углерод, активность рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы / оксигеназы, способность к фотосинтетическому переносу электронов, фотофосфорилирование. Также происходило увеличение межклеточных концентраций CO₂, устьичного ограничения и эффективности использования воды, кроме дозы 0,08 ммоль/дм³. Окситетрациклин оказывал горметический эффект на толерантный сорт, увеличивая скорость фотосинтеза, скорость транспирации, устьичную проводимость, концентрацию межклеточного CO₂ при 0,01 ммоль/дм³. Повышение устьичной проводимости толерантного сорта позволяло молекулам углекислого газа легко проникать в межклеточные пространства и, следовательно, способствовало фотосинтетической активности. Ингибирование фотосинтеза при 0,02–0,08 ммоль/дм³, снижало скорость фотосинтеза и транспирации, устьичную проводимость и устьичное ограничение,

увеличивая концентрации межклеточного CO_2 , что связывалось со способностью к регенерации рибулозо-1,5-бисфосфата. Снижение устьичной проводимости предотвращало потерю воды из-за испарения и снижало скорость транспирации [220].

Влияние $0,5 \text{ мг/дм}^3$ и $1,5 \text{ мг/дм}^3$ амоксициллина, ампициллина, бензилпенициллина, цефтазидима, цефтриаксона, тетрациклина, доксициклина, ципрофлоксацина, эритромицина на пшеницу (*Triticum aestivum L.* cv. «Lovrin»), выращиваемую в почве, показало наиболее сильное снижение скорости чистой ассимиляции ципрофлоксацином и цефалоспоринами, но подавление происходило в основном из-за снижения устьичной проводимости. На скорость фотосинтетического транспорта электронов влияли пенициллины, цефалоспорины и тетрациклины. Содержание фотосинтетических пигментов, хлорофиллов и каротиноидов было наиболее сильно снижено при воздействии тетрациклинов, ципрофлоксацина и эритромицина. Величина фотосинтетической и пигментной реакции растений обычно увеличивалась при увеличении дозы антибиотиков, но общие эффекты были умеренными. Продукты эмиссии липоксигеназы были наиболее чувствительными индикаторами воздействия антибиотиков и увеличивались с повышением концентрации препарата. Эмиссия монотерпена повышалась под влиянием антибиотиков, но дозовая зависимость была слабее [143]. Влияние 160 мг/дм^3 хлортетрациклина и окситетрациклина на прорастание яровой пшеницы (*Triticum aestivum L. var. Fielder*) на супесчаной и суглинистой почвах показало отсутствие различий между сухим весом побега или корня пшеницы, растения оказались нормально развитыми и здоровыми по внешнему виду на момент сбора урожая. Обработка антибиотиками увеличила высоту растений в сравнении с контролем, а также содержание Ca, K, N в побегах и Ca в корнях [72]. Влияние 5 мкг/дм^3 , 10 мкг/дм^3 пенициллина, сульфадиазина и тетрациклина приводили к задержке прорастания пшеницы. На содержание хлорофилла оказали влияние пенициллин и сульфадиазин, но не тетрациклин. При обработке $1\text{--}10 \text{ мкг/дм}^3$ пенициллина и сульфадиазина изменялось соотношение корней к побегам в сторону увеличения биомассы побегов [66].

Обработка пшеницы тетрациклином показала отсутствие влияния на прорастание, но ингибировала удлинение как корней, так и побегов. Ингибирование удлинения побега авторы связывали с токсическим воздействием на корень, препятствующим усвоению питательных веществ, либо прямым токсическим воздействием на побег [144, 153].

В исследовании влияния 0,3–100 мг/дм³ тетрациклина на ряску малую (*Lemna minor*) наблюдалось значительное увеличение концентрации абсцизовой кислоты в ткани по сравнению с необработанными растениями, что демонстрирует реакцию на стресс, вызванный антибиотиками [105]. Кроме того, воздействие антибиотиков способно повышать активность ферментов, играющих роль в снижении токсичности, включая уменьшение окислительного повреждения и конъюгирование антибиотиков. При сравнении поглощения хлортетрациклина фасолью, кукурузой и арабидопсисом наблюдались сильные токсические эффекты у фасоли и арабидопсиса, которые не проявляли повышенной активности глутатион-S-трансферазы. Однако симптомов токсичности не наблюдалось у кукурузы, проявляющей повышенную активность глутатион-S-трансферазы и пероксидазы [90, 122, 123, 153, 207].

Важное значение для исследования представляют также данные о влиянии исследуемых антибиотиков (бензилпенициллина, окситетрациклина, тилозина) на другие виды растений.

Воздействие 16 антибиотиков в диапазоне концентраций 1–20 мг/дм³ на ряску малую (*Lemna minor*) показало, что эффекты зависели от тестируемой концентрации, продолжительности периода роста и условий эксперимента. Бензилпенициллин проявлял сильное стимулирующее воздействие. Окситетрациклин вызывал стимуляцию при концентрациях 1–10 мг/дм³, усиливающуюся с длительностью экспозиции, и ингибирование при 20 мг/дм³ [163].

Воздействие 100–200 мг/кг окситетрациклина оказывало ингибирующее влияние на рост и накопление биомассы рапса (*Brassica campestris L.*) [108].

Воздействие 10–160 мг/дм³ хлортетрациклина и окситетрациклина на растения фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris*) в парниковых условиях в течение 23 суток в аэрированных питательных средах показали снижение роста и развития корней, увеличение хлороза и смертности растений, при этом токсический эффект усиливался с увеличением концентрации препаратов. При обработке антибиотиками, высота растений и потребление Са, Mg, К, N снижались в сравнении с контролем, но эти изменения не являлись дозозависимыми. На верхушках и корнях растений, обработанных антибиотиками с концентрацией 40, 80, 160 мг/дм³, и корнях при 10 и 20 мг/дм³ наблюдались симптомы дефицита кальция, включая хлороз, некроз и скручивание листьев, чахлость, утолщение корня, что объяснялось способностью препаратов к образованию комплексов с ионами металлов. Хлортетрациклин разлагался быстрее окситетрациклина, однако проявлял более сильные токсические эффекты, что авторы связывали с продуктами разложения препарата [71].

Влияние 160 мг/дм³ хлортетрациклина и окситетрациклина на прорастание кукурузы (*Zea mays L. var. Grand Valley hybrid SX 121*), редиса (*Raphanus sativus L. var. White Icicle*) на супесчаной почве, фасоли (*Phaseolus vulgaris L. var. University of Idaho 114*) на супесчаной и суглинистой почвах продемонстрировало, что воздействие антибиотиков на рост и развитие растений зависело от характеристик почвы и видов растений. В супесчаной почве только растения фасоли отрицательно реагировали на антибиотики – через 28 суток у обработанных растений обнаружился зарождающийся хлороз, отсутствие развития усиков, снижение в сравнении с контролем сухой массы побега и корня, среднего количества и размера стручков, среднего количества клубеньков в корнях, содержание Са, Mg, К, N в побегах растений и К в корнях. Снижение поглощения N связывалось авторами с ингибированием антибиотиками азотфиксирующих бактерий. Фасоль, выращенная на суглинистой почве, демонстрировала отсутствие токсического эффекта в связи со способностью суглинка поглощать большее количество антибиотика, делая его менее доступным. В течение первых 14 суток после посадки обработанные антибиотиками растения редиса были

значительно меньше, чем контрольные, однако, при сборе урожая не установлено различий в высоте растений. Сухой вес побега и корня не были изменены ни одним из антибиотиков, но свежий вес корней обработанных растений превышал контроль на 40 %. Ни один из антибиотиков не влиял на высоту растений, корневую систему, сухую массу кукурузы, поглощение Ca, Mg, K, N увеличивалось в сравнении с контролем [72].

Влияние окситетрациклина на прорастание в растворе и выращивание в почве, загрязненной навозом, содержащим антибиотики, салата (*Lactuca sativa* L.), моркови (*Daucus carota*) и перца (*Capsicum annum*), продемонстрировало зависимость от используемых видов растений. Семена моркови оказались наиболее восприимчивы, а семена перца – наименее восприимчивыми. Воздействие окситетрациклина сильнее угнетало длину корня. Анализ детоксифицирующих ферментов НАДФН-цитохром P450 редуктазы и глутатион-S-трансферазы показал, что активность ферментов возрастала с увеличением концентрации препарата в почвенно-навозной смеси, независимо от вида растения. Таким образом, при стрессе, вызванном антибиотиком, срабатывала система детоксикации. Наблюдалось снижение частоты микориз моркови, за которым следовали салат, а затем перец. Содержание свободного пролина в корне было выше, чем в листьях, вероятно, из-за более высокого накопления антибиотиков в корне растений, так как пролин способствует осмотической регулировке, стабилизации и защите целостности мембран и макромолекул от повреждений [191].

Воздействие 5–20 мг/кг окситетрациклина на выращенные в суглинистой песчаной почве огурец (*Cucumis sativus*), томаты (*Solanum lycopersicum*), салат (*Lactuca sativa*) продемонстрировали токсический эффект антибиотика. Вес плодов томата не отличался от контроля, что связывалось авторами с низкими концентрациями антибиотика в плодах. Высота растений, содержание хлорофилла, масса побегов и корней, общая площадь поверхности корней были ингибированы для томата и огурца. У томата окситетрациклин снижал количество листьев, у огурца уменьшал размер листьев и вес плодов [93].

Изучение влияния 500 мг/кг окситетрациклина и тилозина на рост и развитие гороха (*Cirrosut vulgatum*) в полевом эксперименте через 60 суток продемонстрировало снижение урожайности в 1,5 раза в сравнении с контролем. Наибольшее токсическое воздействие оказал окситетрациклин [1].

Воздействие свиного навоза, загрязненного 15 мг/дм³ окситетрациклина с 5 мг/дм³ хлортетрациклина и 8 мг/дм³ окситетрациклина с 3 мг/дм³ хлортетрациклина на кукурузу (*Zea mays L.*) в полевом эксперименте и окситетрациклина (62,5–1000 нг/г) в лабораторном эксперименте на семена выявило увеличение среднего количества початков при всех концентрациях. При низких дозах антибиотика, высота растений повышалась в сравнении с контролем, при высоких дозах уменьшалась высота растений и количество листьев [135].

Анализ 1–10000 мкг/дм³ десяти антибиотиков разных групп с использованием трех видов растений: салата (*Lactuca sativa*), люцерны (*Medicago sativa*), моркови (*Daucus carota*) выявил снижение фитотоксичности в следующем порядке: левофлоксацин > хлортетрациклин > тетрациклин > сульфаметоксазол > тилозин > окситетрациклин > сульфаметазин > линкомицин > амоксициллин > триметоприм. Диапазон значения EC25 составлял от 3,9 до >10000 мкг/дм³. Ни один из антибиотиков не вызывал значительного снижения всхожести семян. Величина удлинения корня была наиболее чувствительным показателем. Сравнение межклассовых и внутриклассовых ответов на антибиотики продемонстрировало относительное сходство пороговых значений. Межвидовая экстраполяция показала, что морковь была наиболее чувствительным видом растений, за ней следовали салат, затем люцерна. Незначительное воздействие антибиотиков на всхожесть растений объясняется высокой консервативностью процесса прорастания, при котором многие питательные вещества, в том числе углеводы и белки, сохраняются и остаются доступными для прорастания, даже если клеточные процессы преобразования этих соединений оказываются под негативным влиянием [115]. Кроме того, семенная оболочка выполняет функцию защитного барьера между зародышем и окружающей средой, что препятствует

проникновению антибактериальных препаратов и воздействию на развивающийся организм. После прорастания корни молодых растений поглощают антибиотики, которые впоследствии влияют на развитие органов растения, следствием чего является ингибирование роста корней и побегов [66].

Многочисленные публикации демонстрируют способность наземных и водных растений поглощать из загрязненной окружающей среды и накапливать антибиотики, вызывающие фитотоксические эффекты [55, 63, 64, 80, 93, 96, 100, 103, 114, 120, 131, 136, 153, 154, 156, 157, 168, 176, 177, 188, 191, 203, 206, 211, 212].

Поглощение антибактериальных препаратов растениями в основном зависит от свойств почвы, концентрации и физико-химических свойств антибиотиков, а также вида растения [63, 64, 80, 96, 103, 118, 120, 136, 153, 168, 191, 198, 209, 212, 214]. Доступность антибиотиков обусловлена их адсорбцией глинистыми минералами, поглощением органическими веществами почвы, способностью к образованию комплексов с катионами металлов в почвенном растворе [72]. Предполагается, что антибиотики слабо адсорбирующиеся почвой и обладающие низкой молекулярной массой при высоких концентрациях растворяются в почвенной воде и с большей скоростью поглощаются большинством сельскохозяйственных культур, особенно корнеплодными и клубнеплодными [63, 64, 96, 214]. Тетрациклины сильно адсорбируются почвой из-за их высокого коэффициента сорбции [203], следовательно, они менее биодоступны для поглощения растениями [168]. Кукуруза (*Zea mays L.*), зеленый лук (*Allium cepa L.*), капуста (*Brassica oleracea L. Capitata*) не поглощали тилозин, что может быть связано с большим размером и массой молекулы и меньшей растворимостью в воде в сравнении с хлортетрациклином, приводящей к ограничению усваиваемости растениями [64]. Стрептомицин не усваивался опытными растениями, в связи со способностью к образованию прочных комплексов с компонентами почвы [191]. Сульфаметоксазол, сульфадоксин, сульфаклорпиридазин, хлорамфеникол, окситетрациклин, тетрациклин, хлортетрациклин, линкомицин, офлоксацин, пefлоксацин обнаружены при

выращивании редиса, рапса, сельдерея, кориандра в загрязненной почве. Ни в одном образце не выявлен ципрофлоксацин, в связи с высокой подвижностью от почвы к грунтовым водам и сильной сорбцией на мелкодисперсных органических веществах и доступностью для фотодеградациии. Концентрации окситетрациклина, сульфадоксина, линкомицина в овощах были высокими, что указывает на способность к накоплению за счет переноса воды, пассивного поглощения и незначительного влияния растворимости в воде и периода полураспада [136]. Транслокация антибактериальных препаратов в исследуемых растениях коррелировала с коэффициентом распределения соединения октанол – вода. Заряд молекулы антибиотика являлся важным параметром, определяющим его транспорт. Выявлено, что отрицательно заряженные или нейтральные антибиотики легче транспортируются через ксилему. Таким образом, тетрациклин и хлортетрациклин легко перемещаются внутри растения через сосуды ксилемы акропетально, но положительно заряженный стрептомицин связывается с отрицательно заряженными участками ксилемы, препятствуя легкому прохождению [153].

Описаны различия в реакциях растительных органов и тканей на воздействие антибиотиков, зависящие от вида растения, концентрации и времени действия препарата [63, 92, 96, 114, 124, 136, 146, 151, 176, 191]. Размер, биомасса и стадии роста растения также способны влиять на локальное содержание лекарственного средства в различных органах и тканях [136, 176]. В большинстве исследований максимальное накопление антибиотиков наблюдалось в корнях растений [63, 96, 100, 103, 135, 151, 188, 191, 214].

Показана зависимость воздействия антибиотиков от биоаккумуляции, связанной с метаболическими различиями между растениями. Токсический эффект и скорость накопления антибактериальных препаратов были выше для растений с C_4 –путем фотосинтеза, чем для растений с C_3 , что авторы связывали с меньшей эффективностью C_3 –фотосинтеза в отношении синтеза биомассы [103, 114, 151].

Воздействие загрязненных антибиотиками почв на развитие растений может быть связано с ролью почвенной микробиоты, что обусловлено широкой распространенностью растительно-микробных симбиозов [35, 48]. Влияние антибиотиков на почвенные микроорганизмы в ризосфере различных видов растений подтверждено рядом исследований [62, 66, 85, 99, 102, 111–113, 116, 133, 138–142, 144, 147, 153, 173, 183, 186, 195, 199, 201].

1.2. Влияние антибиотиков на микроорганизмы почв и осуществляемые ими процессы

Почва является наиболее богатой по своему генофонду, благодаря многофазности, сложным физико-химическим и биологическим свойствам, пространственной неоднородности строения, позволяющим обеспечивать условия для одновременного присутствия организмов с различными потребностями: аэробных и анаэробных, термофильных и психрофильных, ацидофильных и алкалофильных, автотрофов и гетеротрофов, прокариот и эукариот [36, 87]. Круговорот и преобразование веществ, производство биомассы, деградация токсинов регулируются микробным метаболизмом [181], следовательно, изменение структуры микробного сообщества влияет на экологическую функцию почвенных экосистем. Необходимость исследования влияния антибактериальных препаратов на почвы обусловлена стремительно возрастающими объемами производства, использования и выбросов [64, 76, 85, 86, 102, 136, 148, 165, 166, 173, 182, 209]. А также многочисленными данными о способности оказывать воздействие на компоненты экосистем [129, 150, 181, 194], в первую очередь, прокариотических организмов, в связи с бактерицидными и бактериостатическими свойствами антибиотиков [73, 74, 85, 181, 195]. В сочетании с непосредственным влиянием на почвенные организмы, другой возможной опасностью являются нежелательные изменения в природных популяциях микробиоты через появление бактерий, устойчивых к антибактериальным препаратам. Антибиотико-резистентные гены могут быть

переданы микроорганизмам окружающей среды путем горизонтального переноса генов, что в последствии ставит под угрозу общественное здоровье [60, 73–75, 78, 83, 91, 148, 150, 166, 178, 181, 182].

В настоящее время основные направления исследований воздействия антибактериальных препаратов на микробное разнообразие почвенных экосистем включают:

1. Методы, основанные на измерениях параметров, отражающих активность и численность общих микробных сообществ: почвенное дыхание, микробную биомассу, ферментативные процессы почвенных микроорганизмов [1, 2, 11, 33, 41, 56, 58, 59, 85, 102, 110, 132, 137, 173, 186, 197, 201, 202, 208];

2. Филогенетический анализ с использованием метагеномики или секвенирования гена 16S рРНК [85, 111, 116, 138, 139, 183, 186, 199];

3. Анализ фосфолипидных жирных кислот, выделенных из почвы [85, 99, 111–113, 133, 139, 141, 142, 173];

4. Функциональное микробное разнообразие, отражающее способность микробного сообщества использовать набор субстратов [85, 102, 183, 201].

Показано, что воздействие антибактериальных препаратов обусловлено как их свойствами и концентрацией, так и свойствами почвы, временем воздействия, влиянием произрастающих растительных культур [85, 102, 111, 183, 186, 195].

1.2.1. Воздействие антибиотиков на ферментативную активность почв

Антибактериальные препараты представляют потенциальный экологический риск для микробной деятельности почвы. Активность почвенных ферментов участвует в круговороте питательных веществ и обуславливает их биодоступность, в связи с чем, может использоваться в качестве индикатора микробной функции почвы [5, 102]. В состав почвенного ферментного пула входят как ферменты клеток живых организмов (функционирующие внутри цитоплазмы клеток, прикрепленные к внешней поверхности клеток, находящиеся в периплазматическом пространстве бактерий), так и связанные с клеточными

осколками и мертвыми клетками. Часть почвенных энзимов находится внутри неделящихся клеток, таких как бактериальные эндоспоры, грибные споры, цисты простейших, семена растений. Кроме того, существуют внеклеточные ферменты, выделяемые живыми клетками в процессе роста и деления, поступающие почву и способные адсорбироваться, связываться с гумусовыми коллоидами и образовывать фермент-субстратные комплексы. В настоящее время разработаны методы определения активности около 60 почвенных ферментов [50].

Активность ферментов указывает на способность микробных сообществ осуществлять биохимические превращения, такие как окислительно-восстановительные процессы, гидролиз органических соединений, синтез и распад гумуса, которые необходимы для поддержания гомеостаза экосистемы и качества почвы. В связи с этим, устойчивое функционирование почвенных экосистем в значительной мере обусловлено биологической активностью бактериальных и грибных сообществ, обеспечивающих круговорот вещества и энергии [50].

Исследование ферментативной активности почв является потенциальным биоиндикатором для анализа функционального разнообразия микробных сообществ почв и широко используется в диагностике состояния почвенной микробиоты, почвенно-генетических исследованиях, экологическом мониторинге, позволяя оценить плодородие, влияние антропогенных факторов [16, 43, 74, 85].

В ряде исследований сообщалось о влиянии антибактериальных препаратов, как ингибирующем, так и стимулирующем, на различные показатели микробной активности почвы, такие как базальное дыхание [1, 2, 33, 58, 59, 201], восстановление железа [202], субстрат-индуцированное дыхание [11, 41], активность ферментов, например, дегидрогеназы [1, 2, 33, 132, 137, 173, 197, 201, 208], фосфатазы [1, 2, 33, 110, 137, 173, 186, 197, 208], арилсурфатазы [173], инвертазы [1, 2, 33], процессы денитрификации [58], потребление кислорода [56]. Различия в воздействии антибиотиков на микробные функции почвы обусловлены физико-химическими и биотическими факторами, такими как коэффициент сорбции [204]. На скорость, степень деградации антибиотиков и биодоступность в

почвенной системе влияют также рН, содержание влаги, механический состав почв, температура, освещенность и состав микробных популяций [179, 182, 201, 204].

Наиболее информативными в практическом земледелии являются ферменты классов оксидоредуктаз и гидролаз. Роль оксидоредуктаз заключается в катализе окислительно-восстановительных реакций, связанных с синтезом гумусовых веществ. Функцией гидролаз является гидролиз сложных органических соединений, способствующий обогащению почвы веществами, необходимыми для жизнедеятельности микроорганизмов и растений. Кроме того, наиболее важными для изучения являются ферментативные показатели, связанные с циклами основных биогенных элементов: углерода, азота и фосфора [16, 43, 74, 186]. В связи с этим, в качестве определяемых энзиматических характеристик в данном исследовании были выбраны нитрифицирующая и уреазная активности, являющиеся компонентами азотного цикла, целлюлозолитическая и каталазная активности, участвующие в биохимическом превращении углерода, поэтому наибольший интерес представляет обзор воздействия антибактериальных препаратов на целлюлозолитическую, нитрифицирующую, уреазную и каталазную активности почв.

Воздействие антибиотиков на целлюлозолитическую активность

Целлюлоза является самым распространенным углеродным соединением биосферы, составляя более 50% всего синтезируемого органического вещества [47]. Целлюлаза (1,4-β-D-глюкан-4-глюканогидролаза. КФ 3.2.1.4) относится к классу гидролаз, осуществляет процесс разрушения клетчатки в почве путём катализа гидролиза 1,4-β-глюконовых связей, при котором целлюлоза распадается на молекулы целлобиозы [50]. Продуцентами клетчатки, в основном, являются высшие растения, грибы класса *Oomycetes*, бактерии р. *Acetobacter*. Разрушение целлюлозы производится при участии истинных бактерий, миксобактерий, актиномицетов и грибов [47]. Кроме того, целлюлозоразрушающие организмы образуют стойкие ассоциации с бактериями-спутниками, способствующими стимуляции процесса разложения клетчатки [27]. Целлюлозолитическая

активность микроорганизмов зависит как от их таксономической группы, так и от типа почв. Установлено, что активность процесса разложения клетчатки в почвах Западной Сибири усиливается в последовательности: дерново-подзолистые < серые лесные < черноземы < каштановые. По степени целлюлозолитической активности организмы образуют ряд: бактерии < грибы < актиномицеты [27]. Целлюлозоразрушающие микроорганизмы характеризуются высокой активностью окислительных ферментов (тирозиназы, полифенолоксидазы, пероксидазы) и играют важную роль в образовании гумусовых веществ [27, 47]. Также они способны продуцировать и накапливать в окружающей биологически активные вещества, оказывающие влияние на экосистемы, благодаря стимуляции роста растений, влиянию на биологический круговорот микроэлементов, в том числе участвуя в детоксикации тяжелых металлов [27].

Недостаток азота в доступных микроорганизмам формах является одним из главных факторов, ограничивающих целлюлозолитическую активность [27].

Регуляция процессов накопления и разложения органических остатков в почве непосредственно связана с круговоротом углерода и определяет устойчивое функционирование экосистемы. В связи с этим, изменение количества целлюлозолитических организмов и их активности способно привести к нарушению почвенного гомеостаза. Таким образом, целлюлозолитическая активность является одним из важных показателей состояния почвенной экосистемы.

Данных о влиянии антибиотиков на целлюлозолитическую активность почв в настоящее время не обнаружено.

Результаты исследования влияния 100 мг/дм³ и 500 мг/дм³ амоксициллина, хлорамфеникола, эритромицина, рафициллина на целлюлозолитические ферменты, выделенные из грибов *Fusarium oxysporum* и *Fusarium moniliforme*, демонстрируют наибольшее токсическое воздействие ампициллина [155].

Воздействие антибиотиков на нитрифицирующую активность

Процесс нитрификации является важной частью азотного цикла в экосистемах и включает в себя два этапа: I) окисление аммиака до нитритов, II)

окисление нитритов до нитратов. Первый этап осуществляется как грамотрицательными бактериями, так и археями. Второй этап – только грамотрицательными бактериями. Археи менее чувствительны к антибиотикам, чем бактерии из-за различий в процессах метаболизма и строения клеточных оболочек [181]. Вторая стадия нитрификации более чувствительна, ингибирование данного процесса может привести к накоплению нитритного азота, являющегося токсичным [95]. Нитраты, образующиеся в процессе нитрификации, используются высшими растениями в процессе ассимиляции, вымываются в водоемы, иммобилизуются микроорганизмами, восстанавливаются до молекулярного азота. Нитраты характеризуются высокой мобильностью, в связи с чем быстро вымываются из почвы, являются более доступными для восстановления в N_2O , или N_2 в процессе денитрификации [17]. Избыток нитратов в почве способствует поступлению в водоемы, источники питьевой воды, накоплению в растениях, передаче по пищевым цепям, вызывая риск заболеваний животных и человека, а также обуславливает увеличение образуемого оксида азота (I), влияющего на разрушение озонового слоя атмосферы и усиливающего парниковый эффект. Недостаток нитратов способствует снижению плодородия [16, 49].

Опубликован ряд исследований о влиянии различных групп антибактериальных препаратов на нитрифицирующую активность почв [58, 59, 112, 141, 204]. Показано, что 1 мг/кг ципрофлоксацина увеличивает, а 50 мг/кг снижает нитрифицирующую активность [141]. При загрязнении разных типов почв сульфадиазином [58, 112] и сульфадиметоксином [204], установлено ингибирование нитрификации. Супесчаные почвы являлись менее устойчивыми к загрязнению сульфадиазином в сравнении с суглинистыми [58]. Хлортетрациклин и монензин не оказывали влияния на нитрифицирующую активность [204]. Воздействие на суглинистую и супесчаную почвы навоза, содержащего амоксициллин, выявило снижение потенциальных скоростей нитрификации на девятый день инкубации при 100 мг/кг антибиотика и отсутствие изменений при 10 мг/кг, в сравнении с обработкой незагрязненным навозом [59].

В настоящий момент не выявлено литературных источников о влиянии бензилпенициллина, тилозина и окситетрациклина на нитрифицирующую активность почв. Опубликован ряд исследований их воздействия на микробную активность и стабильность биопленки смешанной нитрифицирующей культуры сточных вод [101], скорость нитрификации в активном иле из очистных сооружений [132], в стабилизированном нитрифицирующем иле в аэрированных и литоавтотрофных условиях [128].

Воздействие 100–250 мг/дм³ окситетрациклина на микробную активность и стабильность биопленки смешанной нитрифицирующей культуры сточных вод вызывало снижение нитрификации до 50%. При концентрациях ниже 100 мг/дм³ подавления нитрифицирующей активности не наблюдалось [101].

Воздействие антибактериальных препаратов на скорость нитрификации в активном иле из очистных сооружений, выявило ингибирующее влияние окситетрациклина и стимулирующее влияние тилозина. Тест на ингибирование роста чистой культуры нитрифицирующих бактерий *Nitrosomonas europaea* показал отсутствие воздействия тилозина. Наиболее токсичными оказались тетрациклиновые антибиотики, в том числе окситетрациклин [132].

Бензилпенициллин и окситетрациклин при 250 мг/дм³ не оказали воздействия на биомассу и продукцию нитратов в стабилизированном нитрифицирующем иле в аэрированных и литоавтотрофных условиях, что связывалось авторами с природой субстрата и нестабильностью антибиотиков [128].

Также опубликованы исследования воздействия хлорамфеникола на стабильность биопленки смешанной нитрифицирующей культуры сточных вод [101] и рост изолятов *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Aeromonas hydrophila* [172], эритромицина на процессы нитрификации в активном иле [57, 69] и кинетику нитрификации в смешанной микробной культуре [56]. Исследовано влияние неомицина и сульфата гентамицина на рост изолятов *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Aeromonas hydrophila* [172], офлоксацина и сульфаметоксазола на культуру нитритокисляющих бактерий, выделенных из активного ила [95], тетрациклина на

кинетику нитрификации в смешанной микробной культуре [56]; хлортетрациклина, тетрациклина, тиамулина, стрептомицина, сульфадиазина, оланхидокса и оксолиновой кислоты на скорость нитрификации в активном иле из очистных сооружений [132]; ампициллина, новобоицина, хлорамфеникола на биомассу и продукцию нитратов в стабилизированном нитрифицирующем иле в аэрированных и литоавтотрофных условиях [128].

Воздействие антибиотиков на уреазную активность

Уреза (карбамид-аминогидролаза, КФ 3.5.1.5) также является важным и часто изучаемым ферментом, участвующим в цикле азота. Её воздействие заключается в гидролизе мочевины до углекислого газа и аммиака, благодаря гидролитическому расщеплению связи между углеродом и азотом в молекулах органического вещества. Поступление карбамида в почву обусловлено наличием в составе растительных остатков, азотных удобрений, навоза, мочи млекопитающих, мочевой кислоты птиц, амфибий и насекомых, а также образованием в процессе минерализации органических азотистых соединений. Круговорот мочевины играет важную роль в трансформации азота в ризосфере и сельскохозяйственных почвах, составляя 60–200% валовой минерализации азота. Скорость гидролиза карбамида без биологической активности ферментов составляет 0–2%, следовательно, микроорганизмы играют решающую роль в данном процессе. Гидролиз мочевины осуществляется прокариотической уреазой, состоящей из двух или трех каталитических субъединиц, и АТФ:амидолиазой мочевины (ЕС 6.3.4.6) дрожжей и водорослей. Трансформация карбамида прокариотической уреазой считается преобладающим путем. Уреаза распространена во всех типах почв во внутриклеточной и внеклеточной формах. Часть внеклеточной уреазы адсорбируется почвенными коллоидами, способствуя её аккумуляции. Уреазная активность коррелирует с активностью других ферментов, участвующих в цикле азота, служит диагностическим показателем способности почвы накапливать минеральный азот и одним из важнейших показателей её биологической активности. Уреаза предотвращает изомеризацию мочевины в фитотоксичный цианат аммония. Аммиак, образовавшийся в процессе

биохимических превращений, ассимилируется растениями и почвенными микроорганизмами. Высокая уреазная активность приводит к локальной аккумуляции ионов аммония, повышению реакции почвенной среды, потерям азота из почвы в составе аммиака [16, 20, 50, 215]. Уровень уреазной активности зависит от физико-химических характеристик почвы (температуры, кислотности, концентрации карбонатов, солей тяжелых металлов, нефтепродуктов и других загрязнителей, наличия механических обработок). Распределение активности данного фермента по профилю зависит от генетических особенностей почвы, наиболее высокие значения характерны для гумусового горизонта [16].

В настоящее время опубликованы исследования о влиянии антибиотиков окситетрациклина [173], хлортетрациклина [82, 137], сульфамиридина [137], сульфаметазина [187], сульфадиазина [133], смеси сульфаниламидных антибиотиков сульфадиметоксина, сульфаметоксазола и сульфаметазина [99] на уреазную активность различных почв.

В исследовании уреазной активности под воздействием различных доз окситетрациклина при выращивании на загрязненной антибиотиком почве двух видов растений – красного амаранта и белого клевера, было установлено, что концентрации 1 мг/кг и 15 мг/кг окситетрациклина стимулировали активность фермента, а 200 мг/кг незначительно ингибировали её. Изменение активности уреазы в почвах, обработанных окситетрациклином были схожи с изменением микробной биомассы. Культивируемые растения снижали токсический эффект антибиотиков [173]. Хлортетрациклин и сульфамиридин при концентрациях 10, 25 и 100 мг/кг в течении 1, 4 и 21 суток снижали активность уреазы в сравнении с контролем, наиболее сильно в первый день инкубации. Хлортетрациклин характеризовался более сильной токсичностью. На четвертый день инкубации при воздействии хлортетрациклина наблюдалось ингибирование, а при воздействии сульфамиридина – незначительное стимулирование активности фермента. На 21 сутки активность уреазы при всех концентрациях антибиотиков снизилась по сравнению с контролем, что указывает на пролонгированное действие. Активность уреазы повышалась при обработке антибактериальными препаратами

на 4 и 21 дни инкубации, что демонстрирует возможность почвенной микрофлоры использовать антибиотики в качестве источника углерода [137].

Аналогичные данные получены в исследовании влияния растворенного органического вещества из свиного навоза с добавлением хлортетрациклина (10 и 100 мг/кг) на уреазную активность почвы в течение 1, 6, 12 и 45 суток. Было установлено, что растворенное органическое вещество навоза стимулировало активность фермента, добавление антибиотика ингибировало его. Активность уреазы изменялась в зависимости от концентрации хлортетрациклина и времени инкубации, и была сильнее всего ингибирована на 45 сутки при 100 мг/кг препарата [82].

Исследование влияния сульфаметазина на уреазную активность различных почв Италии при добавлении навоза и без него показало, что факторы, влияющие на изменение ферментативной активности расположились в следующем порядке: внесение навоза > тип почвы > внесение сульфаметазина. Добавление антибиотика незначительно снижало уреазную активность в первые сутки и не имело влияния через 7 суток. Уреазная активность была выше в почве, имеющей более высокие значения рН, органического углерода, общего содержания азота и численности микроорганизмов, и оказалась более устойчива к воздействию антибиотика [187].

Изучалось воздействие смеси сульфаниламидных антибиотиков, содержащей равную массу сульфадиметоксина, сульфаметоксазола и сульфаметазина при трёх вариантах обработки почвы: водой, навозом и глюкозой. При сроках инкубации от 24 до 504 часов и концентрациях антибиотиков 0,9 мкг/г, 9 мкг/г, 90 мкг/г и 900 мкг/г для обработки глюкозой, 90 мкг/г для водной обработки, 90 и 900 мкг/г для обработки навозом. Установлено, что при водной обработке добавление сульфаниламидов не вызывало значительного изменения уреазной активности в сравнении с контролем. При обработке навозом в контроле и при 90 мкг/г уреазная активность первоначально была полностью ингибирована, но за время инкубации восстановилась до того же уровня, что и при водной обработке. При добавлении навоза и 900 мкг/г сульфонида первоначальная

уреазная активность экспоненциально уменьшалась со временем инкубации. При обработке чистой глюкозой происходило стимулирование активности фермента в сравнении с водной обработкой, но добавление сульфаниламидов в данном эксперименте ингибировало уреазную активность при всех концентрациях антибиотиков [99].

Влияние различных концентраций навоза (20, 40, 80 г/кг) в сочетании с разными концентрациями сульфадиазина (10 мг/кг и 100 мг/кг) в течение 1, 8 и 32 суток показали, что активность уреазы зависела, в первую очередь, от жидкого навоза и увеличивалась при его добавлении. Увеличение концентрации сульфадиазина привело к снижению активности уреазы, однако, дисперсионный анализ не выявил значительного влияния антибиотика [133].

Добавление 1–100 мг/кг тетрациклина подавляло активность уреазы в сравнении с контролем [197].

Воздействие антибиотиков на каталазную активность

Каталаза ($H_2O_2:H_2O_2$ -оксидоредуктаза. КФ 1.11.1.6) – фермент, относящийся к классу оксидоредуктаз, катализирует реакцию разложения пероксида водорода, продуктами которой являются молекулярный кислород и вода. Каталазная активность – один из важных показателей биологической активности почв в связи с участием в окислительно-восстановительных процессах. Высокая активность фермента демонстрирует напряженность энергетических процессов и отражает уровень плодородия, так как связана с содержанием гумуса и синтезом гумусовых веществ. Образование пероксида водорода связано с биохимическими реакциями окисления органических веществ и дыханием живых организмов. В связи с токсичностью пероксида водорода, поддержание оптимальной каталазной активности почвы имеет важное значение [16, 50].

Опубликован ряд исследований, посвященных воздействию антибиотиков на каталазную активность почв [1, 2, 33].

Воздействие бензилпенициллина, фармазина, нистатина вызывало снижение каталазной активности чернозема обыкновенного. Наибольшее ингибирование наблюдалось на 10 сутки, с увеличением времени инкубации происходило

восстановление активности фермента [2]. Те же антибиотики при 1–1000 мг/кг в условиях острого загрязнения на 10–120 сутки инкубации вызывали снижение каталазной активности чернозема, усиливающееся с увеличением концентрации антибиотиков. Максимальное ингибирование установлено на 10 сутки. С увеличением сроков экспозиции выявлена тенденция к восстановлению активности фермента [1].

Исследование воздействия 500 мг/кг тилозина и окситетрациклина на каталазную активность чернозема обыкновенного в полевых условиях продемонстрировало максимальное снижение активности фермента на третьи сутки и последующую тенденцию к её восстановлению. Наиболее сильное ингибирующее влияние оказал тилозин. Была установлена положительная корреляция каталазы с аммонифицирующими бактериями [1].

Снижение каталазной активности чернозема выявлено при воздействии 500 мг/кг ампициллина, стрептомицина, тилозина, тромексина, ализерила. Увеличение сроков экспозиции способствовало восстановлению активности фермента. Наиболее сильное ингибирующее влияние оказал стрептомицин, наименьшее – тромексин. При совместном воздействии антибиотиков и фунгицида инпут выявлен эффект синергизма [1].

Моделирование влияния тилозина и нистатина в условиях хронического загрязнения при увеличении концентрации препаратов от 1 мг/кг до 1000 мг/кг продемонстрировало незначительное изменение каталазной активности чернозема, что связывалось авторами с восстановлением численности бактерий и активной выработкой ими ферментов, в ответ на воздействие антибиотиков [1].

Моделирование воздействия тилозина и нистатина с понижением концентрации от 1000 мг/кг до 1 мг/кг продемонстрировало уменьшение каталазной активности почвы в начальные сроки инкубирования. Снижение концентрации вносимых антибактериальных препаратов способствовало восстановлению активности фермента [1].

Регулярное внесение 100 мг/кг тилозина и нистатина каждые 10 суток не выявило достоверных различий в изменении активности каталазы относительно контроля [1].

Исследование влияния тилозина (1–1000 мг/кг) в течение 3–90 суток на каталазную активность чернозема обыкновенного, бурой лесной и темно-каштановой почв показало незначительное изменение данного показателя. Наибольшее ингибирование активности фермента наблюдалось при максимальной концентрации антибиотиков. Не установлено достоверных изменений активности каталазы чернозема обыкновенного. Каталазная активность бурой лесной почвы достоверно снижалась при 1000 мг/кг через 3 и 30 суток. Каталазная активность темно-каштановой почвы незначительно увеличивалась при 1–100 мг/кг через 3 суток, снижалась при 100 и 1000 мг/кг через 30 суток. При увеличении сроков экспозиции выявлено восстановление активности фермента для чернозема обыкновенного и бурой лесной почвы при всех концентрациях антибиотика [33].

1.2.2. Влияние антибактериальных препаратов на структуру микробиома почв

Прокариоты являются наиболее многочисленными организмами почвы и важным компонентом биохимических превращений. Содержание прокариотических клеток в 1 г сельскохозяйственных почв и лугов составляет до 2×10^9 . В связи с этим, большое значение имеет изучение таксономического разнообразия микробных сообществ почвы. Традиционные методы культивирования позволяют исследовать около 0,1–1% от общего разнообразия микроорганизмов в большинстве природных экосистем [36, 87]. Обнаружение и изучение некультивируемых бактерий стало возможным благодаря развитию молекулярно-биологических методов, позволяющих исследовать свойства прокариот без выделения в чистые культуры, основанных на секвенировании нуклеиновых кислот. В настоящее время наиболее современными и широко

используемыми являются методы NGS (Next Generation Sequencing) или высокопроизводительное секвенирование, применяемые в метагеномике, и позволяющие изучить суммарный генетический материал, выделяемый из объекта окружающей среды, при исследовании видового разнообразия и количественного состава микробиоценоза [36, 87, 162].

Ряд исследований демонстрирует изменение соотношения различных групп микроорганизмов в обработанных антибактериальными препаратами навозе и почве [81, 98, 99, 102, 107, 109, 111–113, 116, 133, 138, 139, 141, 142, 173, 183, 186, 197, 199, 201].

Определение биомассы микробного углерода и эргостерола в качестве индикаторов общей микробной и грибковой биомассы, соответственно, выявило различные эффекты окситетрациклина и сульфопиридина в песчаном камбисоле. Сульфопиридин приводил к снижению микробиологического экстракта, но не влиял на концентрацию эргостерола. Окситетрациклин способствовал увеличению концентрации эргостерола, тогда как микробиологический экстракт незначительно отличался от контроля. Эти результаты демонстрируют увеличение доминирования почвенных грибов в микробной биомассе, и сокращение почвенных бактерий. Оба антибиотика оказывали избирательное давление на почвенное микробное сообщество [201].

В окситетрациклин-содержащих экскрементах крупного рогатого скота наблюдалось увеличение количества грибов [98]. Комбинация 10 мг/дм³ окситетрациклина и пенициллина, добавленных в почву, привела к снижению бактериальной биомассы в почве, и уменьшению числа активных грибковых гиф [81]. Наблюдали дозозависимое уменьшение популяции бактерий, а также подавление роста грибов, в почве, обработанной тетрациклином с увеличением концентраций антибиотика в течение 10 суток. Далее популяция грибов увеличивалась, что может быть связано с деградацией антибиотика, увеличению концентрации растворенного углерода в почве [197]. Исследование влияния свиного навоза, содержащего сульфадиазин и дифлоксацин в основной и ризосферной почве растений кукурузы с помощью анализа фосфолипидных

жирных кислот и ПЦР-денатурирующего гель-электрофореза 16S рРНК, продемонстрировало временные сдвиги в микробных популяциях, выраженные в снижении отношения грамположительных бактерий к грамотрицательным, а также увеличении количества грибов [111]. Установлены дозозависимые изменения в структуре сообщества *Pseudomonas* в почве, загрязненной 10 и 200 мг/кг сульфадиазина [186]. Анализ фосфолипидных жирных кислот показал, что при воздействии менее 15 мг/кг окситетрациклина происходило увеличение общей бактериальной и грибковой биомассы в обрабатываемых почвах. При 200 мг/кг было выявлено снижение биомассы, при этом соотношение сместилось в пользу бактерий, грамотрицательные бактерии оказались устойчивее, чем грамположительные. Культивируемые растения увеличили общую микробную биомассу в почвах, получающих низкую дозировку антибиотика и снизили токсичность препарата в почвах, получающих 200 мг/кг [173]. Исследование 1–50 мг/кг ципрофлоксацина на структуру микробных сообществ почвы в течение 1–40 дней с помощью анализа фосфолипидных жирных кислот выявило уменьшение отношения бактерий к грибам и увеличивало отношение грамположительных к грамотрицательным бактериям [141]. Ряд исследований совместного воздействия навоза с 10 и 100 мг/кг сульфадиазина, а также загрязненного сульфадиазином навоза, полученного от сельскохозяйственных животных, на почвы выявило уменьшение соотношения бактерий к грибам и отсутствие значительного влияния антибиотика на отношение грамотрицательных бактерий к грамположительным [112, 133, 139]. Также влияние 1–100 мг/кг дифлоксацина приводило к снижению соотношения бактерий к грибам в почве [142]. При обработке почвы 2000 мкг/г тилозина и инкубации в течение 2 месяцев, выявлены изменения в структуре бактериального сообщества в сторону увеличения грамотрицательных бактерий. Структурные изменения сохранялись после исчезновения тилозина, тогда как уменьшение разнообразия было временным [116]. Увеличение грамотрицательных бактерий в почве при воздействии 15–500 мг/кг тилозина также было установлено в аналогичном исследовании [183]. Влияние 0,1–500 мг/кг сульфаметоксазола на структуру микробного сообщества оценивали с

использованием анализа фосфолипидных жирных кислот и физиологического профилирования на уровне сообщества, рост бактерий оценивали с использованием включения лейцина. При 20 мг/кг и 500 мг/кг антибиотика в почвах с навозом и люцерной происходило увеличение грибов и уменьшение бактерий. Физиологический профиль на уровне сообщества претерпел изменения при 500 мг/кг сульфаметоксазола, демонстрируя изменения в составе сообщества [113]. При воздействии смеси трех сульфонамидов: сульфадиметоксина, сульфаметоксазола, сульфаметазина при общих уровнях концентрации до 900 мкг/г, микробная и бактериальная биомасса уменьшалась, антибиотики вызвали относительный сдвиг сообщества в сторону грамотрицательных бактерий и увеличения доли грибной биомассы [99].

Исследования структуры бактериальных сообществ с помощью ПЦР-денатурирующего гель-электрофореза 16S рРНК, полученной из образцов почвы, обработанной 1–50 мг/кг почвы сульфадиазином и хлортетрациклином через 1–48 суток не выявили влияния хлортетрациклина на дыхание почвы и структуру бактериальных сообществ. При воздействии сульфадиазина не наблюдалось эффектов на дыхательную активность и структуру сообщества прокариот. В присутствии глюкозы как дополнительного источника углерода, сульфадиазин влиял на дыхание почвы и структуру бактериального сообщества, вызывая ингибирование штаммов, которые были способны расти на глюкозе в присутствии более низких концентраций антибиотика [138].

Исследование влияния коровьего навоза, загрязненного тетрациклином, на различные типы почв выявило зависимые от типа почвы изменения в составе бактериального сообщества, повышение численности генов устойчивости к антибиотикам и мобильных генетических элементов [199].

Загрязнение почвы 1–200 мг/кг окситетрациклина приводило к увеличению микробной активности почвы, что связывалось авторами со стрессовым воздействием препарата на почвенные микроорганизмы и повышении потребности в энергии, в связи с чем увеличивалось использование сахара и его производных. Были установлены изменения структуры сообщества

микроорганизмов, увеличение разнообразия Шеннона и равномерности микробного сообщества почвы. Результаты анализа главных компонент также продемонстрировали различия в составе и структуре сообществ подверженных воздействию антибиотиков [102].

Оценка потенциальной токсичности кларитромицина по отношению к бактериальному сообществу 12 почв с различными характеристиками продемонстрировала дозозависимое ингибирующее действие антибиотика спустя 1 сутки. Токсичность уменьшалась с течением времени, через 42 дня инкубации рост бактериального сообщества полностью восстанавливался в большинстве исследованных почв, что связывалось авторами с возможностью использования внесенных антибиотиков почвенными бактериями в качестве источников углерода и азота. Кроме того, убитые кларитромицином организмы являются возможным источником энергии для устойчивых групп бактерий. Результаты также демонстрируют способность рН почвы влиять на токсичность антибиотика [195].

Кроме того, опубликован ряд исследований воздействия окситетрациклина на структуру прокариотического сообщества в навозе [107, 109]. Влияние 60–140 мг/кг антибиотика на производство биогаза, структуру сообщества архей и уровни генов устойчивости к тетрациклину в анаэробных продуктах переваривания в свином навозе с помощью ПЦР-денатурирующего градиентного гель-электрофореза и количественной ПЦР в реальном времени показали, что воздействие антибиотика снижает совокупное производство биогаза на 9,9%–14,1% и изменяет структуру сообщества архей [107]. Воздействие 20–80 мг/дм³ окситетрациклина на динамику прокариотических сообществ коровьего навоза во время мезофильного анаэробного переваривания вызывало ингибирование образования метана. Денатурирующий градиентный гель-электрофорез в ПЦР выявил изменения богатства и разнообразия в сообществах бактерий и архей [109].

Выводы к главе

1. Анализ литературных источников демонстрирует увеличивающееся количество исследований, посвященных, как фитотоксичности антибиотиков, так и их воздействия на структуру и функции почвенной микробиоты.

2. Показано, что загрязнение антибактериальными препаратами способно оказывать влияние на биогеохимические циклы и представляет собой угрозу для естественного функционирования экосистем.

3. Опубликованные работы посвящены, преимущественно, изучению индивидуального воздействия антибиотиков на растения, ферментативную активность и микробиом почв в лабораторных и полевых условиях.

4. В связи с тем, что в почвы сельскохозяйственных угодий одновременно поступают антибиотики различных групп, эффекты комбинированного воздействия данных поллютантов на развитие растений и ферментативную активность почв являются актуальными и требуют дополнительного изучения.

5. В настоящее время в Российской Федерации исследованы только эффекты индивидуального воздействия антибиотиков на биологические свойства чернозема обыкновенного, бурой лесной и темно-каштановой почв. Однако 12,3% сельскохозяйственных угодий страны составляют подзолистые и дерново-подзолистые почвы.

6. В связи с вышеизложенным, важной задачей следует считать изучение эффектов комбинированного воздействия антибиотиков различных групп на растения, ферментативные процессы и микробиом других типов почв, в том числе дерново-подзолистой.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Объекты исследований

2.1.1. Почва

Объектом исследования служила дерново-подзолистая почва, преобладающая на территории Владимирской области (66,9% от общего почвенного фонда и 65% от общей площади пахотных почв). В дополнительных исследованиях ферментативной активности использовалась серая лесная почва, выбор которой обусловлен тем, что данные почвы занимают 33% пахотных почв области, обеспечивая до 70% сельскохозяйственной продукции [15, 16, 22, 28, 30].

Пробы были отобраны с участков сельскохозяйственного назначения на территории Владимирской области ($56^{\circ}14.783' \text{ N}$, $40^{\circ}34.850' \text{ E}$ – дерново-подзолистая и $56^{\circ}25.83' \text{ N}$, $40^{\circ}23.17' \text{ E}$ – серая лесная) из верхнего горизонта А1 (0–20 см) в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02-84.

Определены основные агрохимические свойства исследуемых почв (таблица 1). Дерново-подзолистая почва характеризуется как легкосуглинистая со слабой кислотностью, близкой к нейтральной, средним содержанием гумуса, очень высоким содержанием подвижных форм фосфора и калия, низким содержанием нитратного азота и отсутствием аммиачного. Серая лесная почва характеризуется как легкосуглинистая, с нейтральной кислотностью, высоким содержанием гумуса, высоким содержанием подвижного фосфора и очень высоким – подвижных форм калия, очень низким содержанием нитратного и аммиачного азота [16]. Таким образом для серой лесной почвы характерна менее кислая реакция среды, более высокое содержание гумуса, подвижных форм калия.

Таблица 1. Агрехимические свойства почв

Показатели	Методики исследования	Единицы измерения	Значения показателей	
			Дерново-подзолистая почва	Серая лесная почва
Кислотность солевой вытяжки (рН _{KCl})	ГОСТ 26483-85	единицы рН	5,56 ± 0,20	6,78 ± 0,20
Кислотность обменная	ГОСТ 26484-85	ммоль/100г	0,10 ± 0,05	0,09 ± 0,03
Кислотность гидролитическая	ГОСТ 26212-91	ммоль/100г	2,16 ± 0,26	0,87 ± 0,10
P ₂ O ₅	ГОСТ Р 54650-2011	мг/кг	436,5 ± 87,30	242,0 ± 48,40
K ₂ O	ГОСТ Р 54650-2011	мг/кг	275,6 ± 41,34	834,0 ± 125,10
Органическое вещество	ГОСТ 26213-91	%	2,36 ± 0,47	3,99 ± 0,60
Азот аммиачный	ГОСТ 26489-85	мг/кг	0	0,48 ± 0,07
Азот нитратный	ГОСТ 26951-86	мг/кг	10,1 ± 1,52	2,40 ± 0,72
Гранулометрический состав, содержание физической глины	ГОСТ 12536	%	30,2 ± 3,02	35,5 ± 3,55

2.1.2. Используемые антибиотики

Преимущественно в сельском хозяйстве используются макролиды, β-лактамы, сульфонамидные и тетрациклиновые антибиотики [194]. Наиболее часто встречающимися и имеющими максимальные концентрации в навозе и почве являются тетрациклины, сульфонамиды, фторхинолоны, макролид тилозин

[85]. В связи с этим, в данной работе были использованы антибиотики трех разных групп: β -лактамный, тетрациклиновый, макролид (бензилпенициллин, окситетрациклин и тилозин, соответственно), различающиеся по физико-химическим характеристикам, спектру и механизму действия. Структурные формулы и основные физико-химические свойства антибиотиков представлены в таблице 2. К настоящему времени опубликован ряд работ, посвященных воздействию бензилпенициллина [1, 2, 128, 143, 163], окситетрациклина [1, 71, 72, 81, 93, 102, 108, 115, 128, 132, 135, 136, 163, 173, 191, 201, 214, 220], тилозина [1, 33, 64, 115, 116, 132, 183] как на фитотоксичность, так и на микробиоценоз почв.

Бензилпенициллин (пенициллин G) относится к группе β -лактамных антибиотиков, образуется грибами р. *Penicillium*. Механизм действия основан на ингибировании синтеза пептидогликана путем ковалентного связывания с сериновыми остатками в нуклеофильном активном сайте D,D-транспептидаз. Способен проявлять бактерицидное и бактериостатическое действие. Практически нетоксичен для человека и животных. Применяется в медицине и ветеринарии. Задерживает развитие представителей как аэробных (β -гемолитических стрептококков, β -лактамазо-отрицательных стафилококков, видов *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, некоторых видов *Bacillus anthracis*), так и большинства анаэробных грамположительных организмов. Бензилпенициллин легко инактивируется β -лактамазами, поэтому малоэффективен против организмов, продуцирующих эти ферменты. Пенициллин G неэффективен против бактерий, устойчивых за счет наличия относительно непроницаемой клеточной стенки, то есть стафилококков и большинства грамотрицательных бактерий [14, 23, 37, 217].

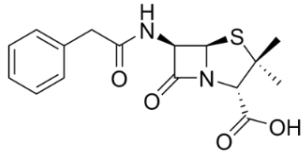
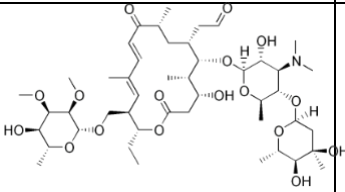
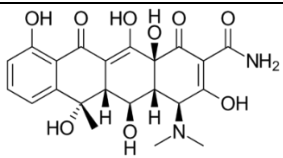
Тилозин относится к группе макролидов. Образуется культурой *Streptomyces fradiae*. Первое описание тилозина было сделано в 1961 г., в 1970 г. установлено его строение. Состоит из замещенного 16-членного лактонового кольца, аминсахара микаминозы, двух нейтральных сахаров мицинозы и микарозы. При кислотном гидролизе тилозина происходит отщепление микарозы, приводящее к образованию десмикозина. Оба антибиотика подавляют развитие

грамположительных и некоторых грамотрицательных бактерий, их наибольшая биологическая активность проявляется при слабощелочной реакции среды (рН 8,0), между данными препаратами была установлена перекрестная устойчивость. Тилозин нестабилен в кислых и щелочных средах и относительно стабилен в нейтральных условиях. Оказывает бактериостатическое действие, имеет потенциал к зависящему от времени бактерицидному действию, особенно в высоких концентрациях. Механизм воздействия связан с ингибированием транслокации пептидов, подавляющем синтез белка. Бактериальная резистентность возникает за счет изменения сайта рецептора рибосомы или предотвращения проникновения антибиотика в клетку. Тилозин не используется в медицинской практике, но применяется в ветеринарии и животноводстве для увеличения скорости набора веса и повышения яйценоскости кур, стимулирования роста свиней [217]. Также применяется для консервирования продуктов питания [14, 182].

Окситетрациклин (впервые был назван тетрациклин), относится к группе тетрациклинов, образуется стрептомицетом, главным образом *Streptomyces rimosus*, а также *S. griseojlavus*, *S. armilatus*, *S. Aureofaciens subsp. oxytetracyclini*. Стрептомицет выделен А. Финли, Ж. Хобби и др. в 1950 году. Строение окситетрациклина установили Ф. Хокстейн, К. Стефенс и др. в 1952–1953 гг. Препарат широкого спектра действия, в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, включая некоторые анаэробы, хламидии, микоплазмы, некоторых простейших и некоторых риккетсий, включая анаплазмы, эрлихии и гемобартонеллы. В большинстве случаев проявляют бактериостатическое действие, обратимо связываясь с рецепторами 30 S рибосомной субъединицы чувствительных микроорганизмов, блокируя связывание аминоацил-тРНК с акцепторным сайтом мРНК-рибосомного комплекса и предотвращая добавление новых аминокислот к пептидной цепи, подавляя синтез белка. При увеличении концентрации антибиотика в среде, способен оказывать бактерицидное действие. Окситетрациклин находит применение в медицинской практике. В ветеринарии используется для лечения

крупного рогатого скота, лошадей, свиней, птицы и аквакультуры [14, 217]. В животноводстве применяется для увеличения скорости роста и массы животных и птиц, для повышения яйценоскости птиц. В сельском хозяйстве используется в качестве профилактического средства для лечения бактериальных заболеваний растений [144]. По биологическим и фармакологическим свойствам окситетрациклин близок хлортетрациклину, но более устойчив при щелочной и кислой реакциях среды благодаря отличиям в химическом строении [14], поэтому был выбран для данного исследования. Тетрациклины относительно стабильны в кислых средах, но не в щелочных. Образуют соли, комплексы с хелатирующими агентами, такими как ионы двухвалентных металлов и β -дикетоны, прочно связываются с белками и силанольными группами. Как правило, эти соединения плохо растворимы в воде, однако растворимость соответствующих гидрохлоридов, как сообщается, намного выше [182].

Таблица 2. Характеристика используемых антибиотиков [85, 217]

	Бензилпенициллин	Тилозин	Окситетрациклин
Структурная формула			
Формула	$C_{16}H_{18}N_2O_4S$	$C_{46}H_{77}NO_{17}$	$C_{22}H_{24}N_2O_9$
Коэффициент сорбции (dm^3/kg)	2,68	110–95532	2872–93317
Растворимость в воде (mg/dm^3)	210	5000	1000
Молекулярная масса (g/mol)	334,4	916,1	460,4

Применяемые антибактериальные препараты окситетрациклина гидрохлорид (ООО «БиоФармГарант») и бензилпенициллина натриевая соль (ОАО «Синтез») использовались в виде порошков для приготовления инъекционного раствора, расфасованных во флаконы в количестве 1 г, содержащие 1000000 ЕД активного вещества. Тилозин (ООО «НИТА-ФАРМ») применялся в лекарственной форме инъекционного раствора с концентрацией действующего вещества 200 мг/см³. Рабочие растворы антибиотиков для исследования готовили путем разбавления исходных лекарственных препаратов в дистиллированной воде.

Соли тяжелых металлов

Для дополнительных исследований использовались соли тяжелых металлов: нитрат свинца ($Pb(NO_3)_2$) хч (ГОСТ 4236-77), сульфат никеля ($NiSO_4 \cdot 7H_2O$) хч (ГОСТ 4465-2016), сульфат меди ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) чда (ГОСТ 4165-78), в интервале концентраций соответствующих металлов 10–60 мг/дм³. Согласно ГОСТ 17.4.1.0283 свинец относится к 1 классу опасности, никель и медь – ко 2 классу опасности.

Совместное применение антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов в дополнительных исследованиях обусловлено широкой распространенностью тяжелых металлов в качестве почвенных поллютантов [3, 4, 6–8, 12, 18, 19, 53]. Кроме того, описаны аналогичные работы, посвященные совместному воздействию окситетрациклина и меди на функциональное разнообразие почвенного микробного сообщества [200] и влиянию металлов на антибиотикорезистентность [84].

2.1.3. Тест-культуры

Для проведения исследований по фитотестированию растворов антибиотиков, согласно стандартам, в качестве тест-организмов рекомендовано использование семян не менее двух растений, относящихся к разным классам (однодольным и двудольным) [24, 29]. Таким образом, в качестве тест-культур

было выбрано двудольное растение кресс-салат (*Lepidium sativum* (1753)) сорта «Забава» рекомендованное рядом методик [5, 26, 171]. В качестве однодольного растения использовалась пшеница мягкая озимая (*Triticum aestivum* L. (1753)) сорт «Мера», также рекомендованная рядом методик [25, 171] и используемая в аналогичных исследованиях воздействия антибактериальных препаратов [66, 72, 127, 143, 144, 153, 175, 193, 205, 206, 220].

Для проведения исследований по фитотестированию почв также использовали пшеницу мягкую озимую сорта «Мера», выведенную в ФГБНУ «Верхневолжский ФАНЦ» и районированную во Владимирской области [21] в связи с тем, что при фитотестировании почв приоритет отдается видам, произрастающим на данной почве в естественных условиях [24, 29], а также для возможности сравнения результатов данного эксперимента с результатами фитотестирования растворов антибиотиков.

2.2. Методы исследований

Для проведения исследований фитотестирования и ферментативной активности почв осуществлялись лабораторные модельные эксперименты, преимуществом которых является возможность поддержания заданных оптимальных условий: температуры, влажности, освещённости.

Для таксономического анализа разнообразия бактериальных сообществ исследуемых почв проведено высокопроизводительное глубокое секвенирование ДНК.

2.2.1. Исследования фитотоксичности

Для токсикологической оценки сред, различных химических веществ и препаратов в настоящее время широко используется фитотестирование, в основе которого лежит способность растительных организмов реагировать трансформацией собственных физиологических, морфологических и

биохимических параметров на изменяющиеся условия окружающей среды [24, 26, 34, 44].

В настоящее время существуют разнообразные методики и стандарты, используемые для проведения лабораторного фитотестирования, единый универсальный метод отсутствует. Предлагаются различные тест-культуры, тест-параметры, сроки экспозиции, вид и состояние тест-объекта. Тест-функциями, количественно отражающими реакцию высших растений на воздействие, являются такие характеристики как: длина корней, высота побегов, биомасса растений, всхожесть, энергия прорастания семян и некоторые другие. В качестве тест-объекта могут быть использованы естественные и преобразованные почвы, а также любое вещество, внесенное в почву. По своему состоянию тест-объект может представлять из себя водный экстракт, твердый субстрат, твердый модельный субстрат и раствор [24, 26, 29, 34].

Исследования по фитотестированию растворов антибиотиков проводили в чашках Петри в трех повторностях. В каждую чашку Петри помещали по 50 семян используемой тест-культуры, таким образом были проанализированы 150 семян для каждой дозы антибиотика и для контроля. В качестве тест-объектов применялись водные растворы антибактериальных препаратов соответствующих концентраций (200–700 мг/дм³). Семена пшеницы обрабатывали 10 см³ раствора, кресс-салата – 5 см³. Контролем служила дистиллированная вода. Чашки Петри инкубировали при 26 °С без освещения в течение 96 часов. Тест-реакциями служили: длина корней, высота побегов, всхожесть семян. Тест-параметрами являлись токсические эффекты воздействия антибиотиков на растения (ТЭ), рассчитываемые для каждой определяемой тест-реакции по формуле 1 [54], интегральный токсический эффект (ИТЭ), рассчитываемый по формуле 2, показатель координации роста, рассчитываемый по формуле 3.

$$\text{ТЭ} = \frac{\bar{x}_0 - \bar{x}_a}{x_0} \times 100\% \quad (1)$$

где \bar{x}_0 и \bar{x}_a – среднее арифметическое значение тест-параметра в контроле и опыте, соответственно.

Таким образом, были определены токсические эффекты всхожести (ТЭв), длины корней (ТЭдк) и высоты побегов (ТЭвп).

Интегральный токсический эффект (ИТЭ), рассчитываемый по формуле 2, использовали для формализации токсических эффектов различных тест-параметров. Применение данного индекса обусловлено использованием аналогичных интегральных показателей в исследованиях по фитотестированию [9].

$$\text{ИТЭ} = \frac{\text{ТЭ}_в + \text{ТЭ}_{дк} + \text{ТЭ}_{вп}}{3} \quad (2)$$

где $\text{ТЭ}_в$, $\text{ТЭ}_{дк}$, $\text{ТЭ}_{вп}$ – значение токсических эффектов всхожести, длины корней и высоты побегов соответственно.

Показатели координации роста выражали как соотношение средней длины корня к средней высоте побега [40, 42, 66, 117, 149].

$$\frac{\bar{L}_к}{\bar{L}_п} \quad (3)$$

где $\bar{L}_к$ – среднее арифметическое значение длины корней, $\bar{L}_п$ – среднее арифметическое значение высоты побегов.

Подготовка семян пшеницы и кресс-салата для фитотестирования растворов антибактериальных препаратов представлена на рисунке 1.

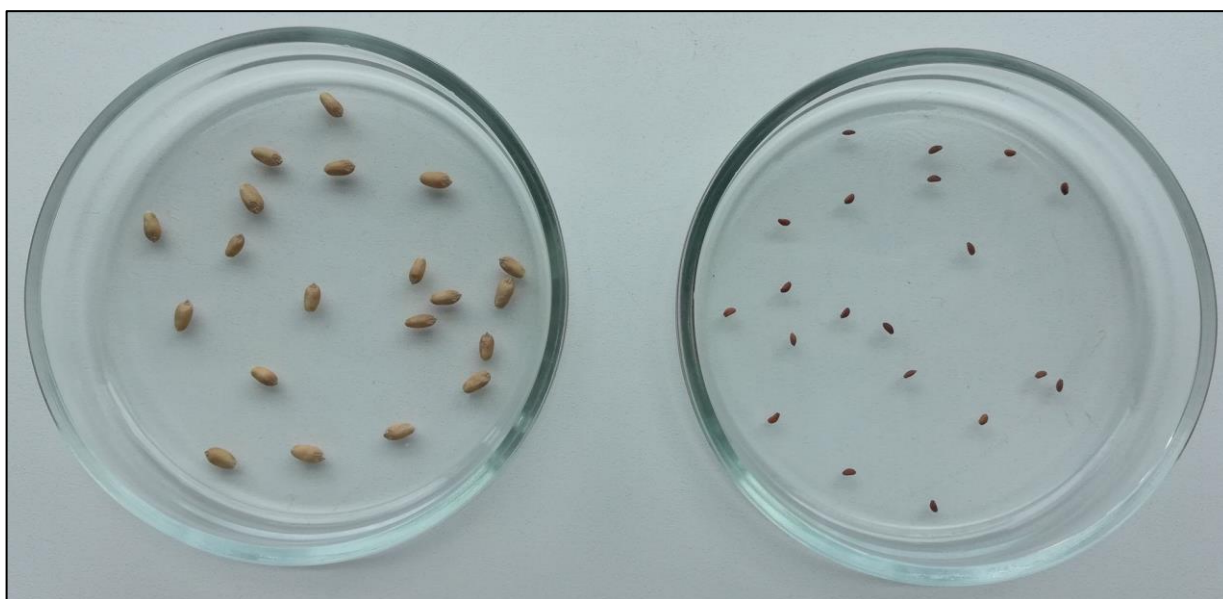


Рисунок 1. Подготовка семян пшеницы и кресс-салата для фитотестирования растворов антибактериальных препаратов

Для проведения дополнительных исследований по фитотестированию смесей растворов антибиотиков и солей тяжелых металлов, семена обрабатывали водными растворами антибактериальных препаратов с концентрацией 700 мг/дм^3 и солей тяжелых металлов в диапазоне концентраций металлов $10\text{--}60 \text{ мг/дм}^3$. Ход экспериментов, определяемые тест-реакции и тест-параметры аналогичны описанным выше исследованиям по фитотестированию растворов антибиотиков.

Для проведения исследований по фитотестированию дерново-подзолистой почвы использовали методику М-П-2006 ФР.1.39.2006.02264 [25]. Пробы обрабатывали растворами антибиотиков в концентрациях $50\text{--}600 \text{ мг/кг}$, инкубировали в термостате при $26 \text{ }^\circ\text{C}$ без освещения в течение 96 часов. Опыты проводились в трех повторностях. Определяемые тест-реакции и тест-параметры аналогичны описанным выше. Также были установлены степени токсичности дерново-подзолистой почвы в зависимости от концентрации внесенных антибиотиков согласно используемой методике [25]. Процесс прорастания пшеницы представлен на рисунке 2.

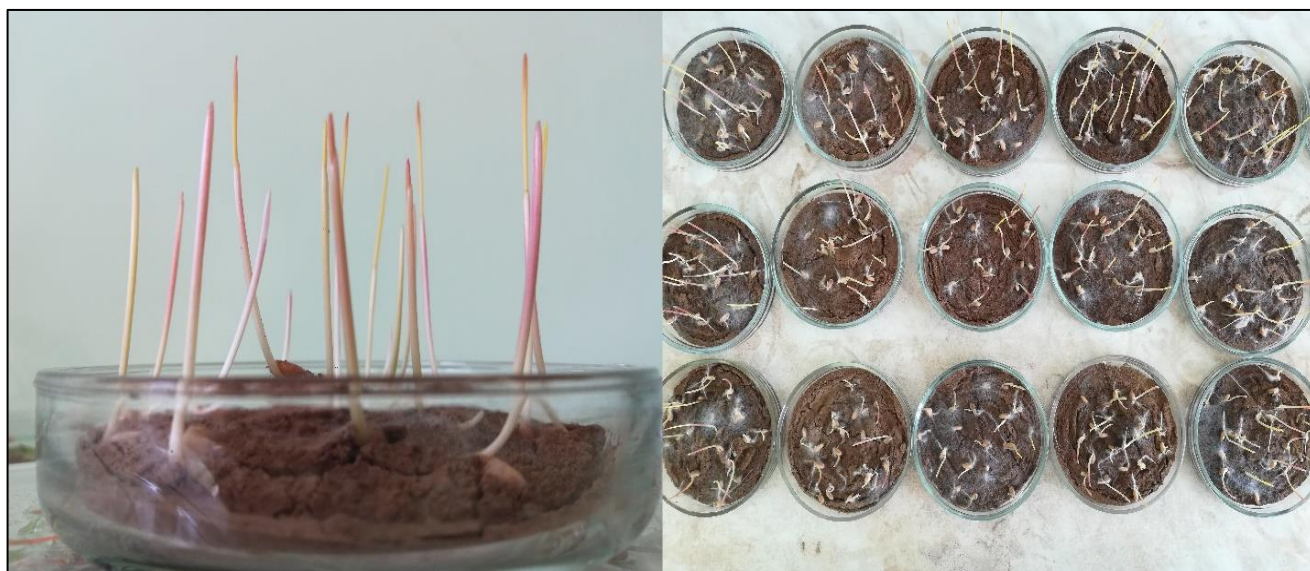


Рисунок 2. Прорастание пшеницы в модельных лабораторных экспериментах по фитотестированию дерново-подзолистой почвы

2.2.2. Анализ ампликонных библиотек, основанный на секвенировании 16S рРНК

Определение таксономического состава почвенной микробиоты в данном исследовании осуществлялось с помощью методов секвенирования нового поколения (NGS). Результаты получены с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.

Антибиотики бензилпенициллин, окситетрациклин, тилозин вносились в концентрациях, соответствующих 200 мг/кг почвы. Исследуемые дозы препаратов выбраны согласно литературным данным [102, 173, 181, 186]. Контролем служила почва без внесения антибиотиков.

Для выделения ДНК из почвенных образцов был использован набор реактивов NucleoSpin Soil (Macherey-Nagel, Германия). В качестве целевого участка амплификации использовали область v3-v4 гена 16S рРНК [121]. ПЦР проводили в 15 мкл реакционной смеси, содержащей 0,5–1 единицу активности полимеразы Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (NEB, США), по 5 пкМ прямого (F515) и обратного (R806) праймеров, 10 нг ДНК-матрицы и 2нМ каждого дезоксирибонуклеозидтрифосфата (LifeTechnologies). Все праймеры имели служебные последовательности, содержащие линкеры и баркоды. Смесь денатурировали при 94 °С в течение 1 минуты, после чего следовало 35 циклов: 94 °С – 30 с, 50 °С – 30 с, 72 °С – 30 с. Финальная элонгация проводилась при 72 °С в течение 3 минут. Продукты ПЦР очищали с использованием AMPureXP (BeckmanCoulter, США).

Анализ ампликонных библиотек фрагментов рибосомальных оперонов методом высокопроизводительного секвенирования генов 16S рРНК выполняли с использованием системы Illumina MiSeq (Illumina, США) и набора реактивов MiSeq® ReagentKit v3 (600 cycle) с двусторонним чтением (2×300 пар нуклеотидов) [162].

Дальнейшую подготовку библиотек проводили в соответствии с инструкцией производителя MiSeq Reagent Kit Preparation Guide (Illumina). На

первом этапе производился первичный анализ качества прочтения, отбор последовательностей на основе качества чтения отдельных оснований, объединение парно-концевых последовательностей с участком перекрытия не менее 35 оснований, удаление последовательностей с длиной менее 180 пар нуклеотидов. На втором этапе осуществлялось удаление праймеров и последовательностей, содержащих протяженные гомополимерные повторы из библиотек. При анализе бактериальных сообществ использовался *denovo* ОТЕ-пикинг. Данные, полученные в результате секвенирования образцов, обрабатывались с использованием программного обеспечения CLC Genomics Workbench». Кластеризация в оперативные таксономические единицы (ОТЕ) и аннотация проводилась по базе данных SILVA, входящей в состав модуля Microbial Genomics Module. Анализ качества прочтения, объединение парно-концевых последовательностей, удаление химер проводилось с помощью модуля Microbial Genomics Module с параметрами по умолчанию. Группировку ОТЕ проводили при уровне таксономического порога сходства 97% и достоверности общей встречаемости не менее 10 ОТЕ на анализируемую группу образцов.

2.2.3. Методы исследования ферментативной активности почв

Для проведения исследований влияния антибиотиков на ферментативную активность почв, отобранные пробы высушивали, просеивали через сито 2 мм, удаляли инородные частицы. Далее в воздушно-сухие образцы обрабатывали растворами используемых антибактериальных препаратов в концентрациях, соответствующих 50–700 мг/кг почвы. Исследуемые дозы выбраны согласно литературным данным [1, 2, 33, 102]. Контролем служила почва без внесения антибиотиков.

Целлюлозолитическую активность почв устанавливали модифицированным аппликационным методом Кристенсена, основанном на определении процента разложения целлюлозы при инкубировании в течение 30 суток в оптимальных условиях. Источником целлюлозы являлось хлопчатобумажное полотно. Опыт

проводился в четырехкратной повторности. Показателем целлюлозолитической активности почвы служила разница в массе хлопчатобумажного полотна (в %), разложившегося за время инкубации [31]. Подготовка почвенных образцов для исследования целлюлозолитической активности почвы показана на рисунке 3.



Рисунок 3. Подготовка почвенных образцов для исследования целлюлозолитической активности почвы

Определение уреазной активности почвы осуществляли фотоколориметрическим методом, основанном на учете количества аммиака, образующегося при гидролизе вносимой мочевины, по истечении 24-часовой инкубации, согласно методике, описанной Казеевым и соавт. [20]. Опыты проводились в трехкратной повторности.

Каталазную активность определяли газометрическим методом (А.Ш. Галстяна), основанном на измерении объема кислорода, выделяющегося в процессе реакции распада пероксида водорода при взаимодействии с почвой [50]. Опыты проводились в трехкратной повторности.

Нитрифицирующая активность оценивалась по содержанию нитрат-ионов после тридцатидневной инкубации образцов. Почвы были подготовлены согласно методике, описанной К.Ш. Казеевым и соавторами [20]. По истечении тридцати

суток пробы анализировались потенциометрическим методом по ГОСТ 26951-86. Опыты проводились в трехкратной повторности. Подготовка почвенных образцов для исследования нитрифицирующей активности почвы показана на рисунке 4.



Рисунок 4. Подготовка почвенных образцов для исследования нитрифицирующей активности почвы

2.2.4. Статистическая и графическая обработка результатов

Применение статистических методов направлено на выявление взаимосвязи между концентрациями используемых антибактериальных препаратов и эффектами их воздействия на исследуемые показатели (фитотоксичность, ферментативную активность и структуру прокариотического сообщества) [13].

Статистическая обработка полученных результатов исследований по фитотестированию и ферментативной активности была проведена с использованием программного пакета Statistica 7.0 (StatSoft Inc.). Для статистического анализа зависимости величины ферментативной активности почв и токсических эффектов антибиотиков от концентрации используемых препаратов применялся корреляционный анализ, путем расчета коэффициента

корреляции Пирсона ($p < 0,05$). Для дополнительных исследований установления зависимости каталазной активности и величины токсических эффектов от концентрации тяжелых металлов в смеси также использовался корреляционный анализ с расчетом коэффициента корреляции Пирсона ($p < 0,05$).

В качестве погрешностей экспериментов указаны значения стандартной ошибки среднего.

Построение графиков осуществляли в программе Microsoft Excel.

Исследование воздействия антибактериальных препаратов на структуру сообщества почвенных прокариот с применением альфа- и бета-анализа биоразнообразия между частотами операционных таксономических единиц (ОТЕ) а также визуализация данных осуществлялись с помощью программного обеспечения CLC Genomics Workbench (Qiagen, Германия) с параметрами по умолчанию. Альфа-разнообразие оценивалось с использованием индекса разнообразия Шеннона, характеризующего видовое бактериальное разнообразие микробиома; индекса филогенетического разнообразия Фейта, демонстрирующего степень родства таксонов, представленных в сравниваемых сообществах; индекса Chao1, оценивающего общее теоретическое количество таксонов в сообществе; индекса Симпсона, выявляющего вероятность принадлежности к разным таксонам двух особей, случайно выбранных из неопределенно большого сообщества. Для оценки статистической значимости между группами использовался тест Крускала–Уоллиса.

Для оценки бета-разнообразия использовался метод «weighted unifrac», позволяющий оценить процент сходств/различий между образцами с учетом филогенетической информации. Результаты были представлены с использованием методов многомерной статистики PCoA–principal components analysis (анализ главных компонент).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ФИТОТЕСТИРОВАНИЯ

3.1. Фитотестирование растворов антибиотиков

3.1.1. Воздействие антибактериальных препаратов на однодольные растения

Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов пшеницы от концентрации растворов антибиотиков представлены в таблице 3.

Таблица 3. Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов пшеницы от концентрации растворов антибактериальных препаратов

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)			
	ТЭдж	ТЭвп	ТЭв	ИТЭ
Бензилпенициллин	r=0,9870; p=0,000	r=0,9778; p=0,001	r=0,7246; p=0,103	r=0,9914; p=0,000
Окситетрациклин	r=0,9533; p=0,003	r=0,9821; p=0,000	r=0,7092; p=0,115	r=0,9162; p=0,010
Тилозин	r=0,9150; p=0,011	r=0,8710; p=0,024	r=0,8917; p=0,017	r=0,9285; p=0,007
Бензилпенициллин + окситетрациклин	r=0,9550; p=0,003	r=0,8081; p=0,052	r=0,9059; p=0,013	r=0,9206; p=0,009
Окситетрациклин + тилозин	r=0,9400; p=0,005	r=0,8361; p=0,038	r=0,9581; p=0,003	r=0,9264; p=0,008
Бензилпенициллин + тилозин	r=0,6780; p=0,139	r=0,9682; p=0,002	r=0,6642; p=0,150	r=0,9264; p=0,008
Бензилпенициллин + окситетрациклин + тилозин	r=0,9886; p=0,000	r=0,7502; p=0,086	r=0,8905; p=0,017	r=0,9247; p=0,008

График зависимости токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 5.

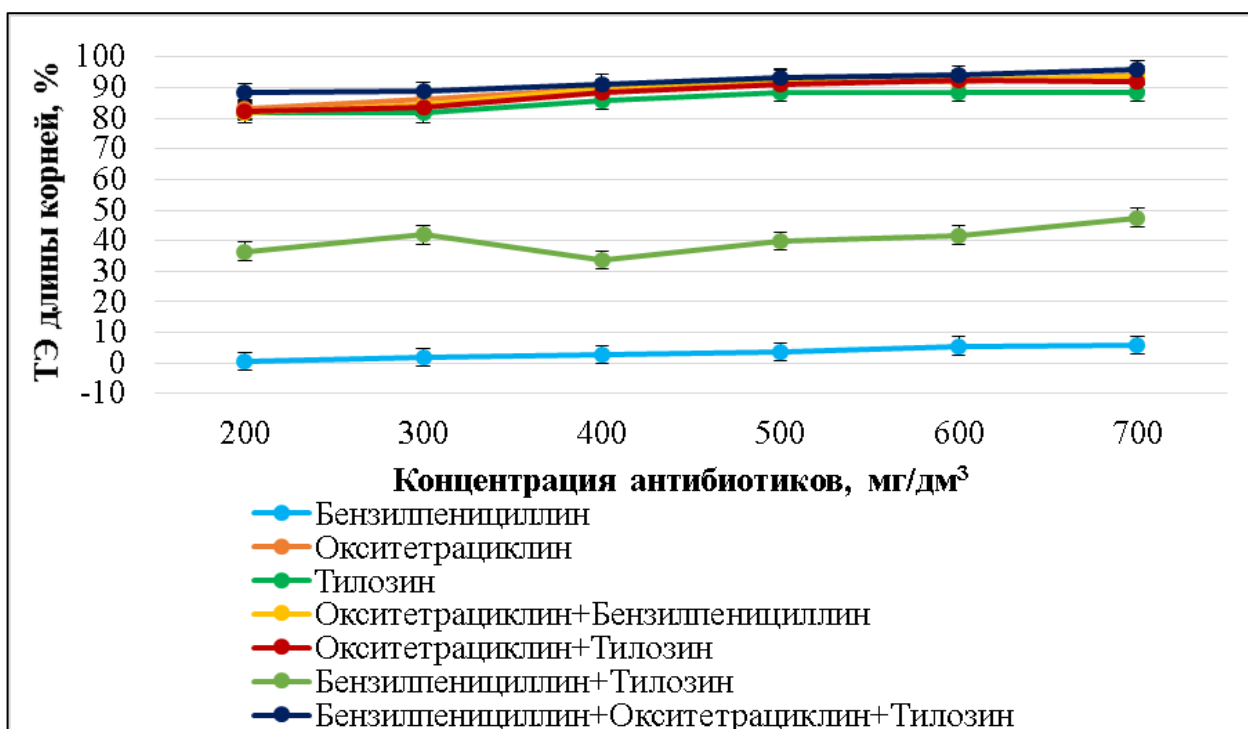


Рисунок 5. Зависимость токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации антибиотиков

Наибольшее токсическое влияние на показатель длины корня пшеницы оказывала тройная смесь антибиотиков, наименьшее – бензилпенициллин. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации бензилпенициллина, окситетрациклина, тилозина, смесей окситетрациклина с бензилпенициллином, окситетрациклина с тилозином и комбинации трех антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 3). При воздействии смеси бензилпенициллина с тилозином корреляционной зависимости токсического эффекта длины корня от концентрации смеси препаратов не выявлено ($p > 0,05$, таблица 3).

График зависимости токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 6.

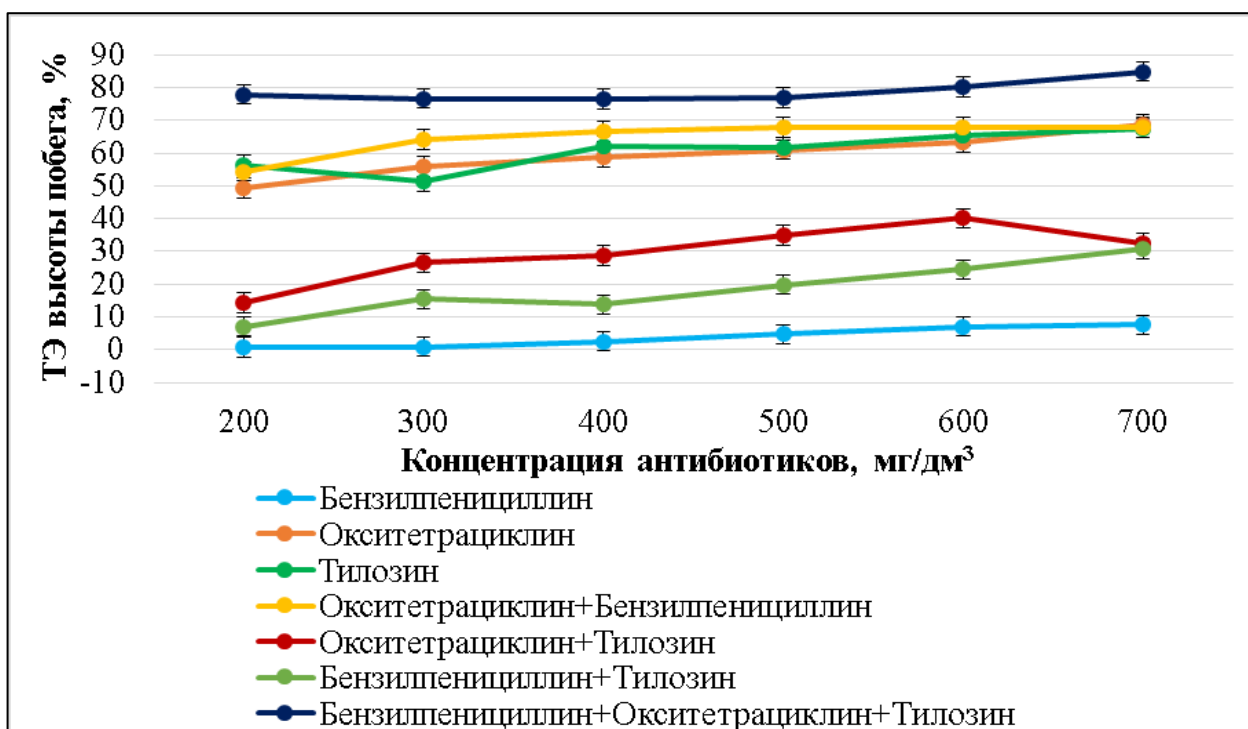


Рисунок 6. Зависимость токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации антибиотиков

Наибольшее токсическое влияние на показатель высоты побегов пшеницы оказывала тройная смесь антибиотиков, наименьшее – бензилпенициллин. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов высоты побегов от концентрации бензилпенициллина, окситетрациклина, тилозина, смесей окситетрациклина с тилозином, бензилпенициллина с тилозином ($p < 0,05$, таблица 3). При воздействии смеси бензилпенициллина с окситетрациклином и комбинации трех антибиотиков, корреляционных зависимостей токсических эффектов высоты побегов от концентраций препаратов не выявлено ($p > 0,05$, таблица 3).

График зависимости токсических эффектов всхожести пшеницы от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 7.

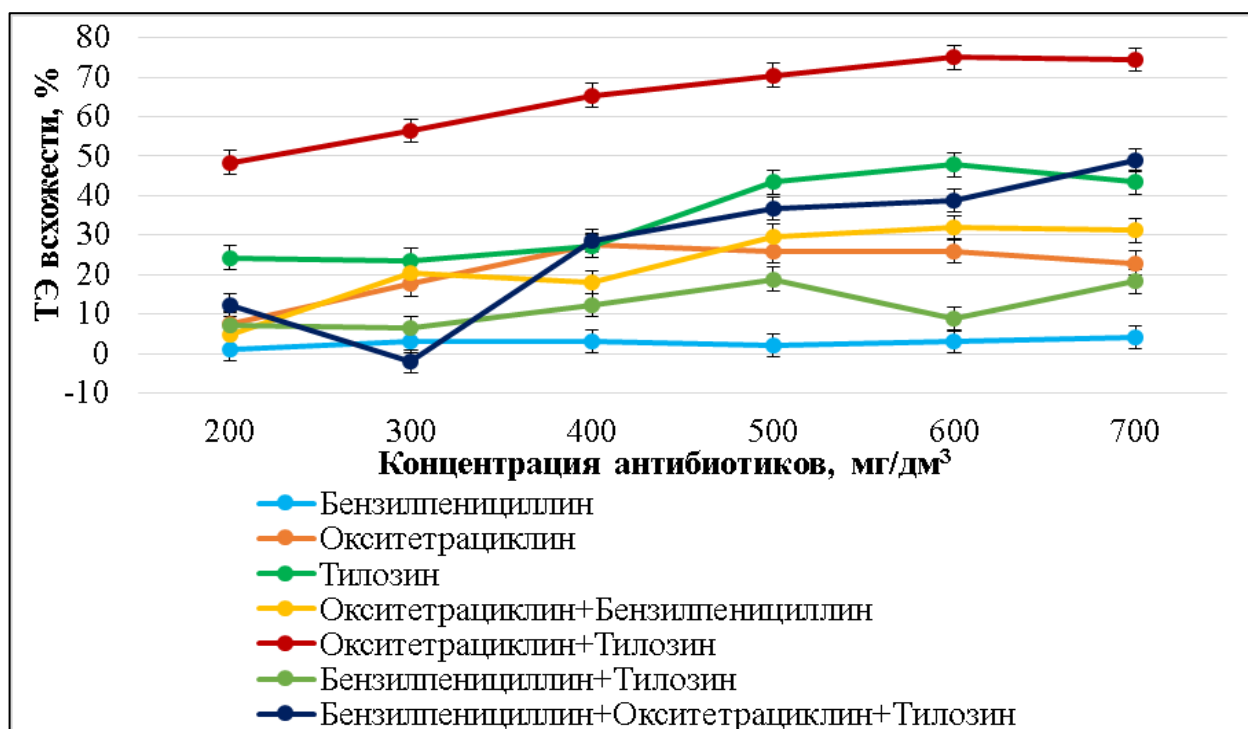


Рисунок 7. Зависимость токсических эффектов всхожести пшеницы от концентрации антибиотиков

Наибольшее токсическое воздействие на всхожесть семян пшеницы оказала смесь окситетрациклина и тилозина, наименьшее – бензилпенициллин. Незначительное стимулирование всхожести наблюдалось при воздействии 300 мг/дм³ комбинации трех антибиотиков. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов всхожести пшеницы от концентрации тилозина, его смеси с окситетрациклином, окситетрациклина с бензилпенициллином, и тройной смеси ($p < 0,05$, таблица 3). При воздействии бензилпенициллина, окситетрациклина и смеси бензилпенициллина с тилозином корреляционных зависимостей токсических эффектов всхожести от концентраций препаратов не выявлено ($p > 0,05$, таблица 3).

График зависимости интегральных токсических эффектов пшеницы от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 8.

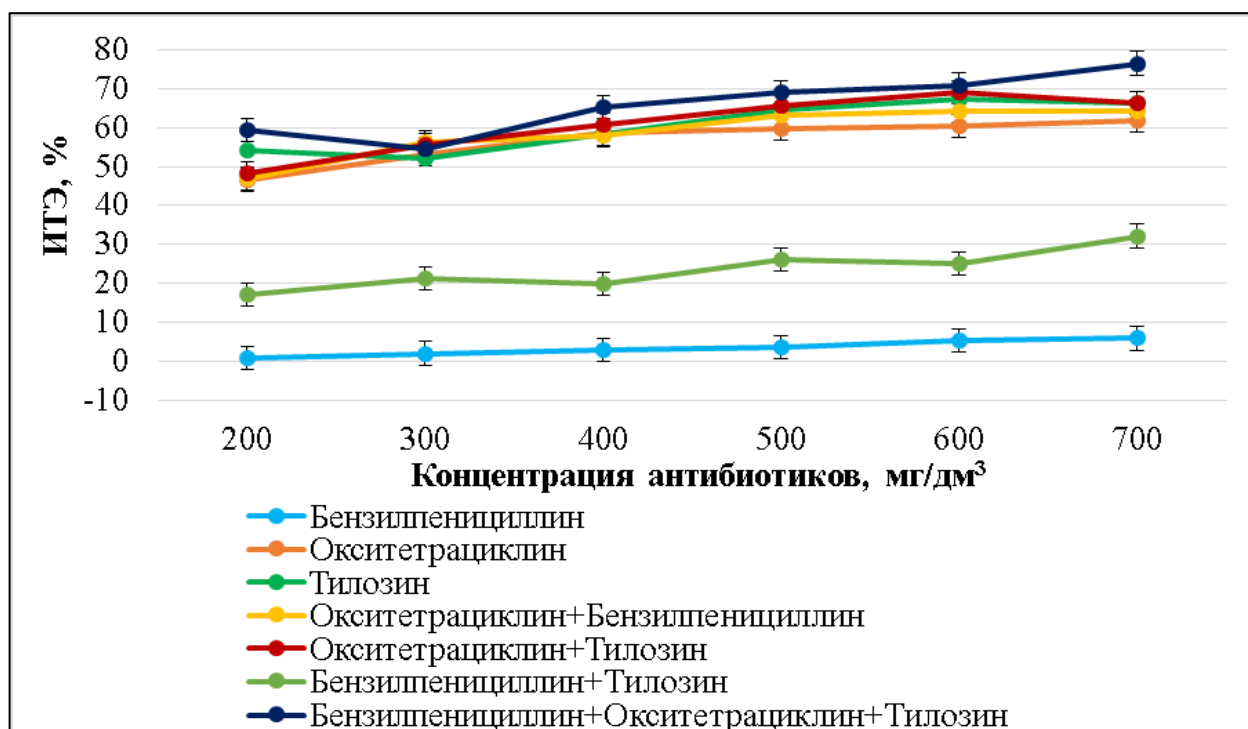


Рисунок 8. Зависимость интегральных токсических эффектов пшеницы от концентрации антибиотиков

Наибольший интегральный токсический эффект для пшеницы выявлен при воздействии смеси трех антибиотиков, наименьший характерен для бензилпенициллина. Установлены положительные корреляционные зависимости интегральных токсических эффектов от концентрации бензилпенициллина, окситетрациклина, тилозина, смесей окситетрациклина с бензилпенициллином, окситетрациклина с тилозином, бензилпенициллина с тилозином, комбинации трех антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 3).

График зависимости показателей координации роста пшеницы от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 9. Результаты демонстрируют снижение показателей координации роста пшеницы в сравнении с контролем при воздействии окситетрациклина, тилозина, бинарных смесей окситетрациклина с бензилпенициллином и тилозином и комбинации трех антибиотиков.

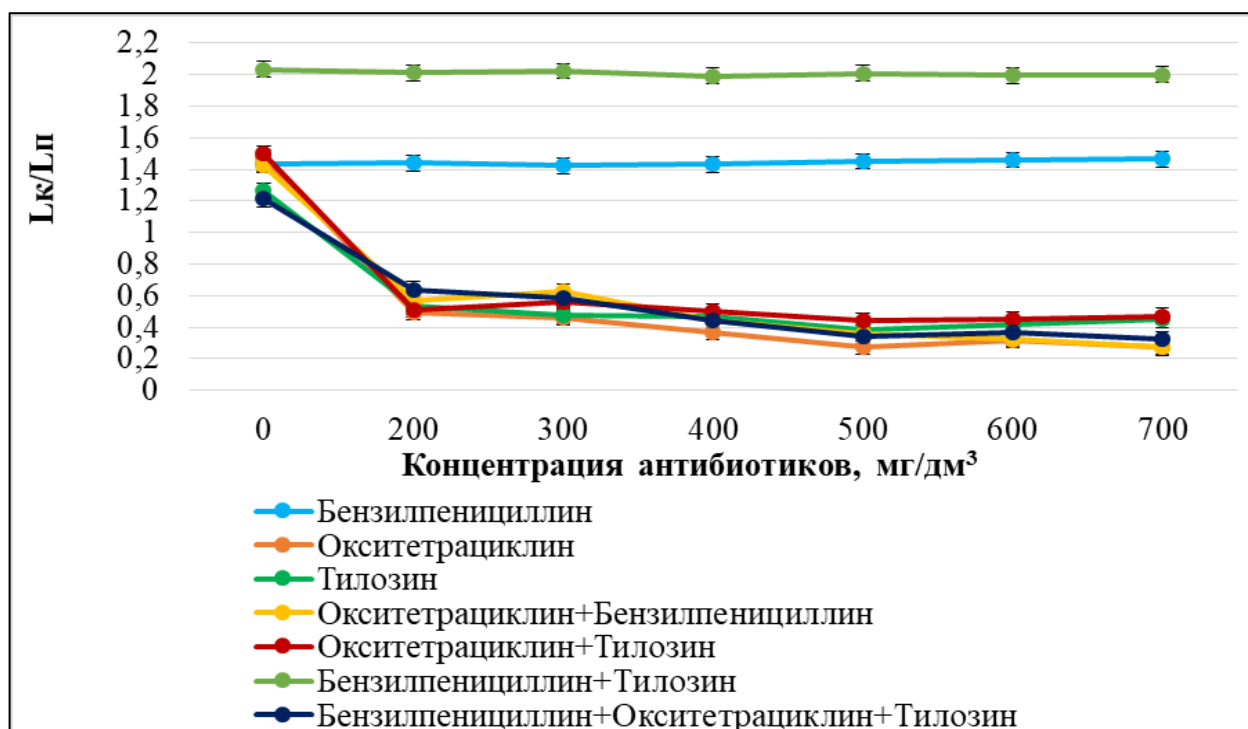


Рисунок 9. Зависимость показателей координации роста пшеницы от концентрации антибиотиков

Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста пшеницы от концентрации антибиотиков, а также от длины корней и высоты побегов представлены в таблице 4.

Установлены отрицательные корреляционные зависимости показателей координации роста пшеницы от концентрации окситетрациклина, тилозина, смесей окситетрациклина с бензилпенициллином, окситетрациклина с тилозином, смеси бензилпенициллина с тилозином, комбинации трех антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 4). При воздействии бензилпенициллина корреляционной зависимости показателя координации роста от концентрации антибиотика не выявлено ($p > 0,05$, таблица 4).

При воздействии бензилпенициллина установлены отрицательные корреляционные зависимости показателей координации роста пшеницы от длины корней и высоты побегов ($p < 0,05$, таблица 4). Положительные корреляционные зависимости показателей координации роста пшеницы от длины корней и высоты побегов выявлены при воздействии окситетрациклина, тилозина, смесей

окситетрациклина с тилозином, бензилпенициллина с окситетрациклином, бензилпенициллина с тилозином, комбинации трех антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 4). Полученные данные демонстрируют, что незначительное увеличение показателя координации роста пшеницы при повышении концентрации бензилпенициллина связано как со снижением длины корня, так и со снижением высоты побега. Дозозависимое уменьшение показателей координации роста пшеницы при повышении концентраций остальных антибиотиков и их смесей также обусловлено как снижением длины корня, так и снижением высоты побега.

Таблица 4. Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста пшеницы от концентрации антибиотиков, а также от длины корней и длины побегов

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)		
	Зависимость Лк/Лп от концентрации антибиотиков	Зависимость Лк/Лп от длины корней	Зависимость Лк/Лп от высоты побегов
Бензилпенициллин	r=0,7298; p=0,063	r=-0,7757; p=0,040	r=-0,8880; p=0,008
Окситетрациклин	r=-0,8215; p=0,023	r=0,9959; p=0,000	r=0,9930; p=0,000
Тилозин	r=-0,7734; p=0,041	r=0,9956; p=0,000	r=0,9794; p=0,000
Бензилпенициллин + окситетрациклин	r=-0,8826; p=0,009	r=0,9789; p=0,000	r=0,9724; p=0,000
Окситетрациклин + тилозин	r=-0,7563; p=0,049	r=0,9981; p=0,000	r=0,9545; p=0,001
Бензилпенициллин + тилозин	r=-0,7911; p=0,034	r=0,8559; p=0,014	r=0,7901; p=0,035
Бензилпенициллин + окситетрациклин + тилозин	r=-0,9094; p=0,005	r=0,9487; p=0,001	r=0,9374; p=0,002

Таким образом, исследования фитотестирования растворов антибиотиков с использованием мягкой озимой пшеницы показали, что наиболее чувствительной

тест-реакцией к действию антибиотиков у данного вида растений является длина корней, наименее чувствительной – всхожесть семян. Полученные результаты демонстрируют, что наиболее токсичны для развития озимой пшеницы на ранних стадиях онтогенеза тилозин и окситетрациклин, в то время как бензилпенициллин оказывает меньшее токсическое влияние. При воздействии комбинации трех антибиотиков наблюдались эффекты синергизма. Бензилпенициллин оказывал антагонистическое воздействие на тилозин, снижая его токсические эффекты при совместном применении.

Дополнительные исследования фитотоксичности растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками при воздействии на пшеницу

Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов пшеницы от концентрации растворов солей тяжелых металлов представлены в таблице 5.

Таблица 5. Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов пшеницы от концентрации растворов солей тяжелых металлов

Соли тяжелых металлов	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)			
	ТЭ дк	ТЭ вп	ТЭ всх	ИТЭ
NiSO ₄	r=0,9598; p=0,002	r=0,9833; p=0,000	r=0,9395; p=0,005	r=0,9916; p=0,000
CuSO ₄	r=0,9784; p=0,001	r=0,9905; p=0,000	r=0,9615; p=0,002	r=0,9879; p=0,000
Pb(NO ₃) ₂	r=0,9847; p=0,000	r=0,9903; p=0,000	r=0,9688; p=0,001	r=0,9948; p=0,000

График зависимости токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации тяжелых металлов представлен на рисунке 10. Наибольшее токсическое влияние на показатель длины корней пшеницы оказывал раствор нитрата свинца, наименьшее – раствор сульфата никеля. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов длины

корней пшеницы от концентрации всех растворов солей тяжелых металлов ($p < 0,05$, таблица 5).

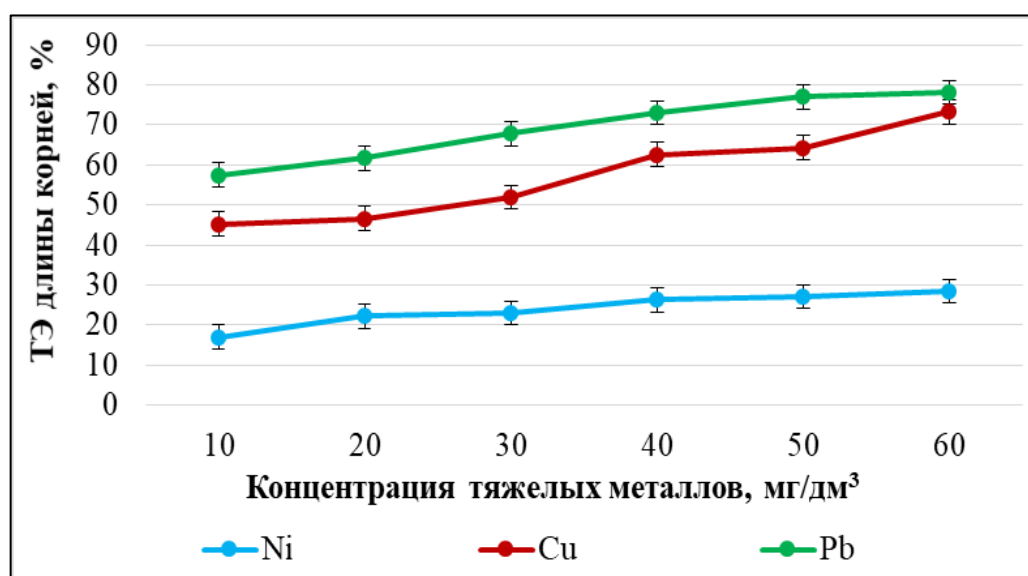


Рисунок 10. Зависимость токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации тяжелых металлов

График зависимости токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации тяжелых металлов представлен на рисунке 11.

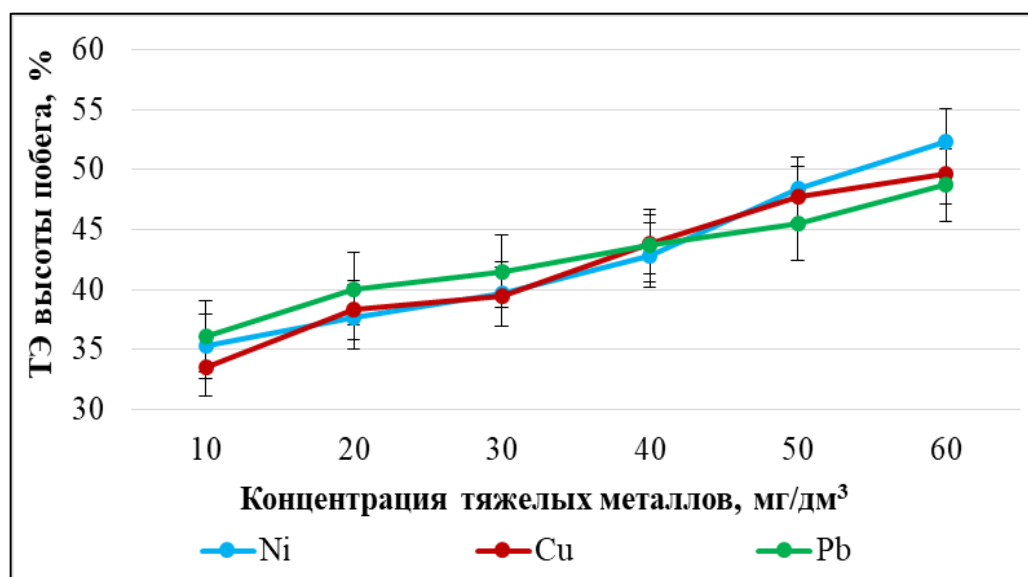


Рисунок 11. Зависимость токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации тяжелых металлов

Все соли тяжелых металлов оказывали дозозависимое ингибирование показателей высоты побегов пшеницы ($p < 0,05$, таблица 5). Токсические эффекты высоты побегов пшеницы при воздействии используемых солей металлов имели близкие по величине значения.

График зависимости токсических эффектов всхожести пшеницы от концентрации тяжелых металлов представлен на рисунке 12.

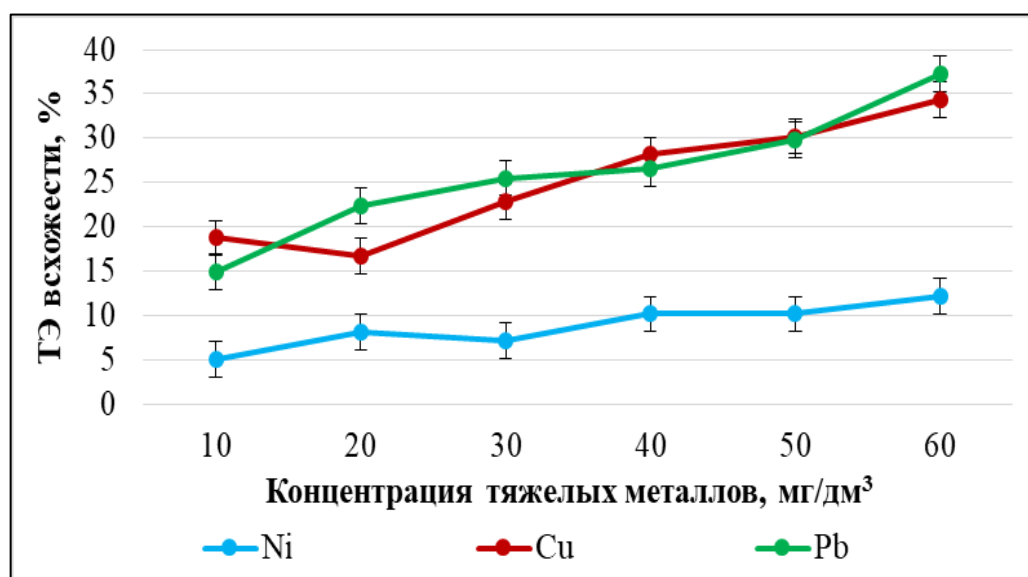


Рисунок 12. Зависимость токсических эффектов всхожести пшеницы от концентрации тяжелых металлов

Наибольшее токсическое влияние на показатель всхожести пшеницы оказывали растворы нитрата свинца и сульфата меди, наименьшее – раствор сульфата никеля. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов всхожести пшеницы от концентрации всех растворов солей тяжелых металлов ($p < 0,05$, таблица 5).

График зависимости интегральных токсических эффектов пшеницы от концентрации тяжелых металлов представлен на рисунке 13.

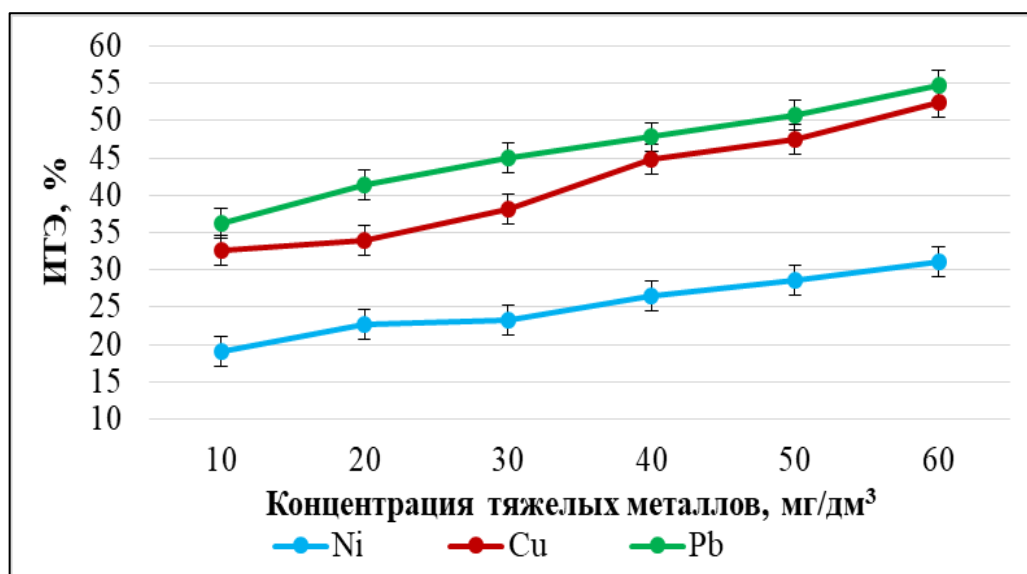


Рисунок 13. Зависимость интегральных токсических эффектов пшеницы от концентрации тяжелых металлов

Установлены положительные корреляционные зависимости интегральных токсических эффектов пшеницы от концентрации всех растворов солей тяжелых металлов ($p < 0,05$, таблица 5). Наибольшие значения ИТЭ характерны для раствора нитрата свинца, наименьшие – для сульфата никеля.

График зависимости показателей координации роста пшеницы от концентрации тяжелых металлов представлен на рисунке 14.

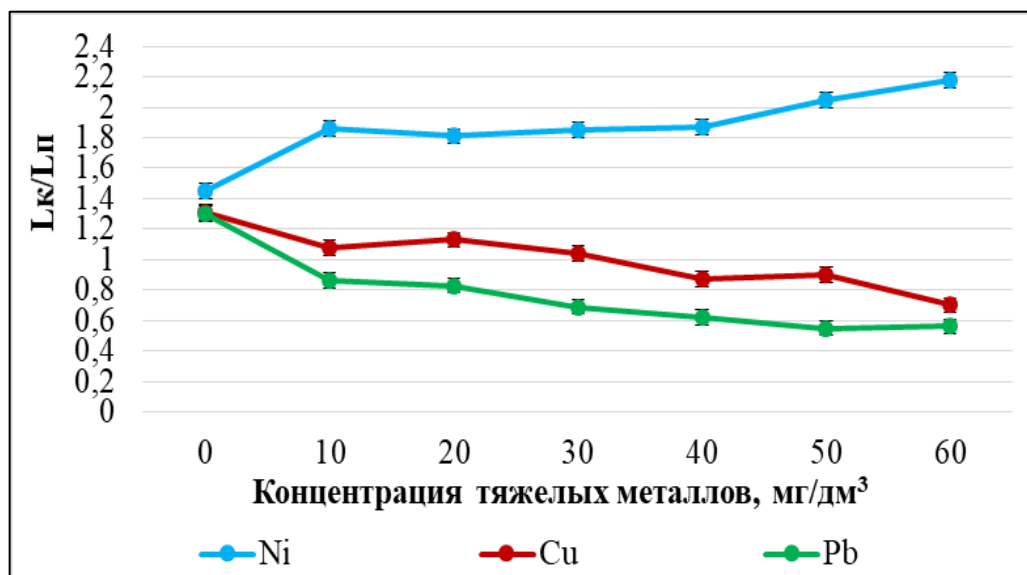


Рисунок 14. Зависимость показателей координации роста пшеницы от концентрации тяжелых металлов

Результаты корреляционного анализа зависимости показателей координации роста пшеницы от концентраций растворов солей тяжелых металлов, а также длины корней и высоты побегов представлены в таблице 6.

Таблица 6. Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста пшеницы от концентраций растворов солей тяжелых металлов, длины корней и высоты побегов

Соли тяжелых металлов	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)		
	Зависимость Лк/Лп от концентрации антибиотиков	Зависимость Лк/Лп от длины корней	Зависимость Лк/Лп от высоты побегов
NiSO ₄	r=0,8936; p=0,007	r=-0,9090; p=0,005	r=-0,9372; p=0,002
CuSO ₄	r=-0,9495; p=0,001	r=0,9169; p=0,004	r=0,8544; p=0,014
Pb(NO ₃) ₂	r=-0,8959; p=0,006	r=0,9788; p=0,000	r=0,9645; p=0,000

Результаты демонстрируют дозозависимое снижение показателей координации роста пшеницы в сравнении с контролем при воздействии нитрата свинца и сульфата меди ($p < 0,05$, таблица 6), а также дозозависимое увеличение при воздействии сульфата никеля ($p < 0,05$, таблица 6). Установлены положительные корреляционные зависимости показателей координации роста пшеницы от длины корней и высоты побегов при воздействии нитрата свинца и сульфата меди и отрицательные корреляционные зависимости – при воздействии сульфата никеля ($p < 0,05$, таблица 6). Полученные данные демонстрируют, что изменение показателей координации роста пшеницы при повышении концентраций солей тяжелых металлов связано как со снижением длины корней, так и со снижением высоты побегов растений.

Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов пшеницы от концентрации растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками представлены в таблице 7.

Таблица 7. Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов пшеницы от концентрации растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Антибиотики и соли тяжелых металлов	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)			
	ТЭ дк	ТЭ вп	ТЭ всх	ИТЭ
Бензилпенициллин + NiSO ₄	r=0,9550; p=0,001	r=0,8360; p=0,019	r=0,9121; p=0,004	r=0,9119; p=0,004
Бензилпенициллин + CuSO ₄	r=0,8566; p=0,014	r=0,8782; p=0,009	r=0,9226; p=0,003	r=0,9402; p=0,002
Бензилпенициллин + Pb(NO ₃) ₂	r=0,8195; p=0,024	r=0,8428; p=0,017	r=0,9749; p=0,000	r=0,8902; p=0,007
Окситетрациклин + NiSO ₄	r=-0,9641; p=0,000	r=-0,8573; p=0,014	r=-0,7020; p=0,079	r=-0,8089; p=0,028
Окситетрациклин + CuSO ₄	r=-0,9025; p=0,005	r=-0,4867; p=0,268	r=-0,2396; p=0,605	r=-0,4032; p=0,370
Окситетрациклин + Pb(NO ₃) ₂	r=-0,5729; p=0,179	r=-0,6259; p=0,133	r=-0,7151; p=0,069	r=-0,6329; p=0,127
Тилозин + NiSO ₄	r=-0,3323; p=0,466	r=-0,3173; p=0,488	r=-0,4601; p=0,299	r=-0,3648; p=0,421
Тилозин + CuSO ₄	r=-0,2873; p=0,532	r=0,6303; p=0,129	r=-0,1966; p=0,673	r=-0,0457; p=0,923
Тилозин + Pb(NO ₃) ₂	r=-0,3182; p=0,487	r=0,6605; p=0,106	r=0,1354; p=0,772	r=0,0386; p=0,934

График зависимости токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибактериальными препаратами представлен на рисунке 15. Концентрации антибиотиков составляют 700 мг/дм³, концентрации солей тяжелых металлов 0–60 мг/дм³.

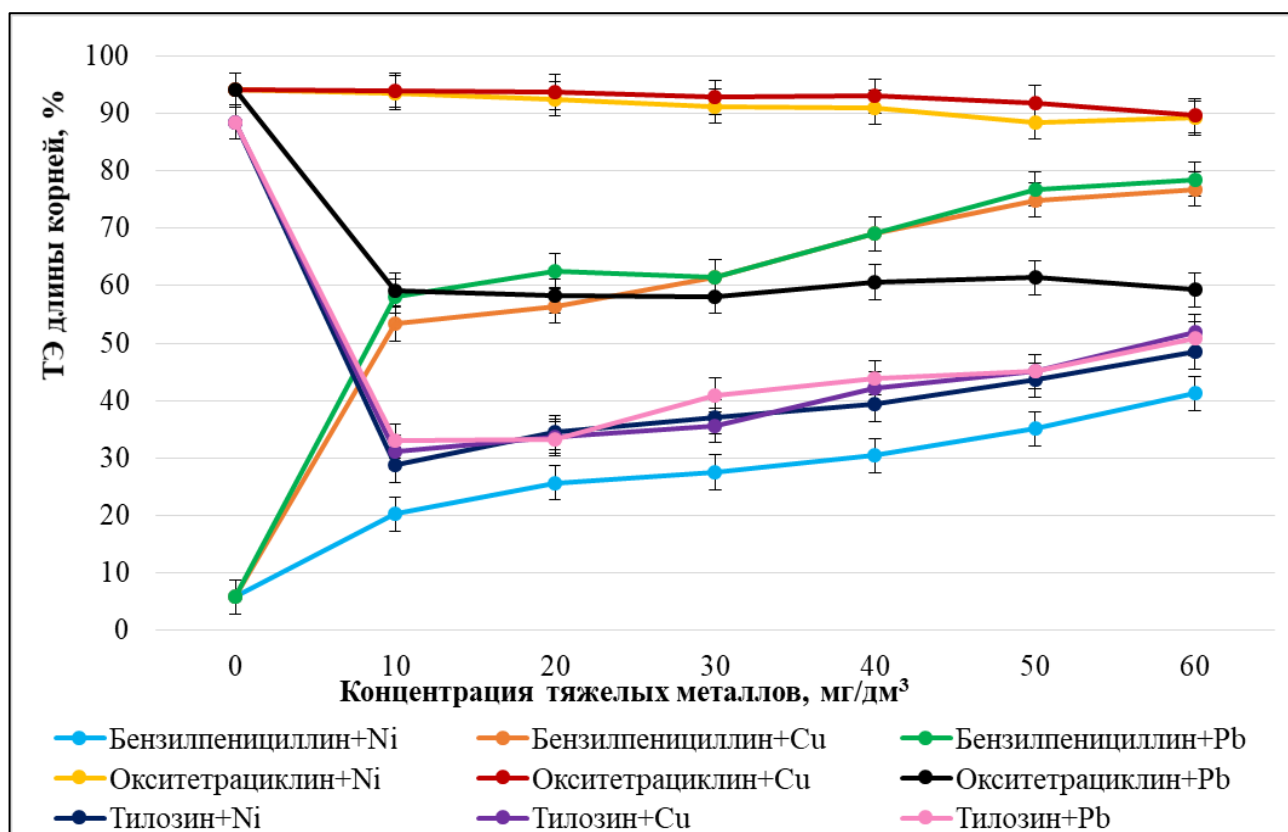


Рисунок 15. Зависимость токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Максимальные токсические эффекты длины корней пшеницы выявлены при воздействии смесей растворов сульфата меди и сульфата никеля с окситетрациклином, для них установлены отрицательные корреляционные зависимости от концентраций металлов ($p < 0,05$, таблица 7). Минимальные токсические эффекты длины корней пшеницы характерны для сульфата никеля с бензилпенициллином. Выявлено, что при сочетании бензилпенициллина с солями тяжелых металлов происходит дозозависимое увеличение токсических эффектов длины корней пшеницы ($p < 0,05$, таблица 7). При воздействии окситетрациклина с нитратом свинца, а также тилозина со всеми используемыми растворами солей металлов, токсические эффекты снижались в сравнении с индивидуальным влиянием антибиотиков, однако, эти воздействия не являлись дозозависимыми ($p > 0,05$, таблица 7).

Сравнение комбинированного влияния антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов с индивидуальным воздействием солей тяжелых

металлов демонстрирует изменение токсических эффектов длины корней пшеницы. Совместное применение нитрата свинца с тилозином приводило к снижению показателя. При сочетании сульфата меди с окситетрациклином токсичность соли увеличилась, при сочетании с тилозином – снижалась. Совместное применение сульфата никеля антибиотиками усиливало токсичность соли, наиболее сильно при применении окситетрациклина.

График зависимости токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибактериальными препаратами представлен на рисунке 16. Концентрации антибиотиков составляют 700 мг/дм^3 , концентрации солей тяжелых металлов $0\text{--}60 \text{ мг/дм}^3$.

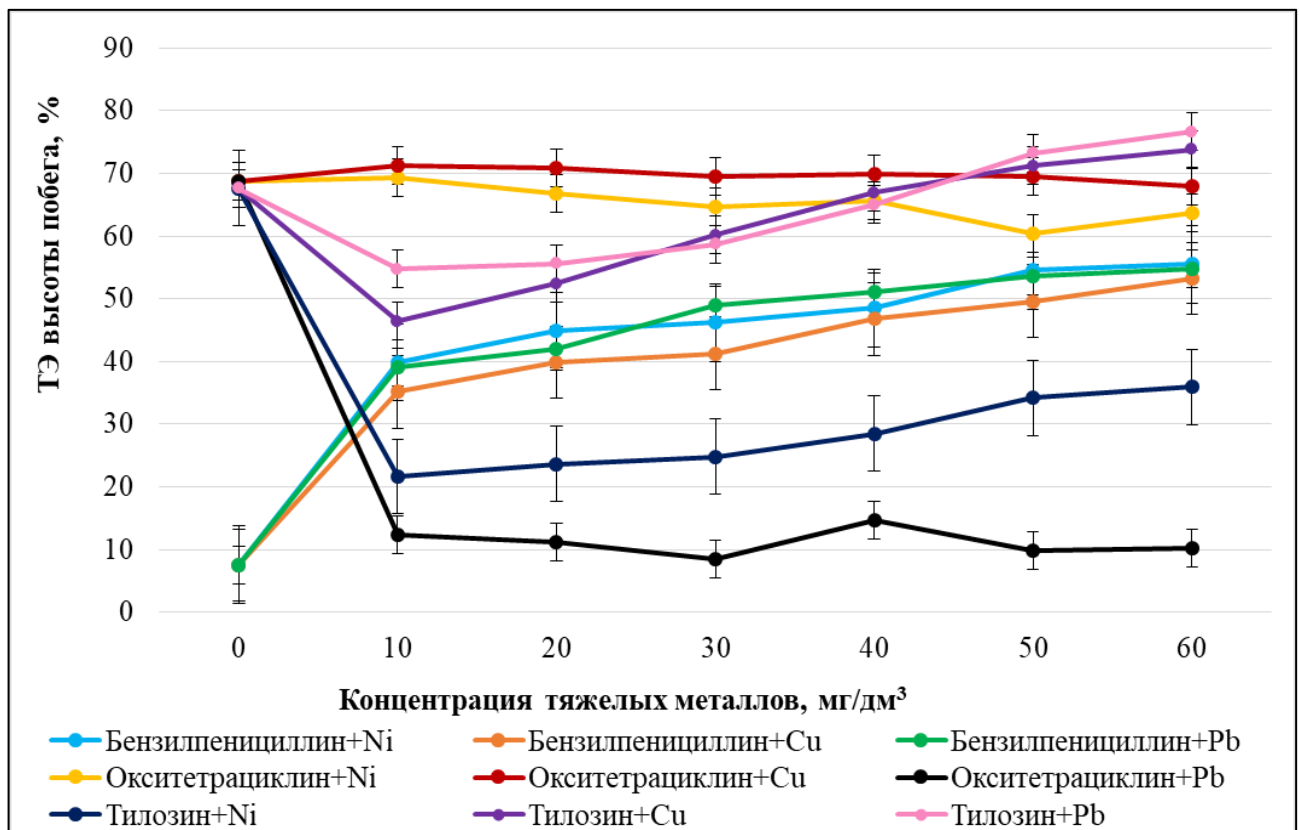


Рисунок 16. Зависимость токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Максимальный токсический эффект высоты побега пшеницы при $10\text{--}40 \text{ мг/дм}^3$ выявлен при воздействии смеси окситетрациклина с сульфатом меди, при $50\text{--}60 \text{ мг/дм}^3$ – смеси тилозина с нитратом свинца. Наименьшим токсическим

воздействием обладала комбинация окситетрациклина и нитрата свинца. При сочетании бензилпенициллина с солями тяжелых металлов установлено дозозависимое увеличение токсических эффектов высоты побегов пшеницы ($p < 0,05$, таблица 7). Отрицательная корреляционная зависимость выявлена для смеси сульфата никеля с окситетрациклином ($p < 0,05$, таблица 7). При воздействии сульфата никеля с тилозином и нитрата свинца с окситетрациклином наблюдалось значительное снижение токсических эффектов в сравнении с индивидуальным воздействием антибиотиков, однако оно не являлось дозозависимым ($p > 0,05$, таблица 7). Для смесей сульфата меди с окситетрациклином и тилозином, а также нитрата свинца с тилозином не установлено корреляционных зависимостей токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации тяжелых металлов ($p > 0,05$, таблица 7).

Сравнение комбинированного влияния антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов с индивидуальным воздействием солей тяжелых металлов демонстрирует изменение токсических эффектов высоты побегов пшеницы. Совместное применение нитрата свинца с тилозином и бензилпенициллином приводило к увеличению, а сочетание с окситетрациклином – к снижению. При сочетании сульфата меди с окситетрациклином и тилозином токсичность соли увеличилась. Совместное применение сульфата никеля с окситетрациклином усиливало токсичность соли, сочетание с тилозином – уменьшало её.

График зависимости токсических эффектов всхожести пшеницы от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибактериальными препаратами представлен на рисунке 17. Концентрации антибиотиков составляют 700 мг/дм^3 , концентрации солей тяжелых металлов $0\text{--}60 \text{ мг/дм}^3$.

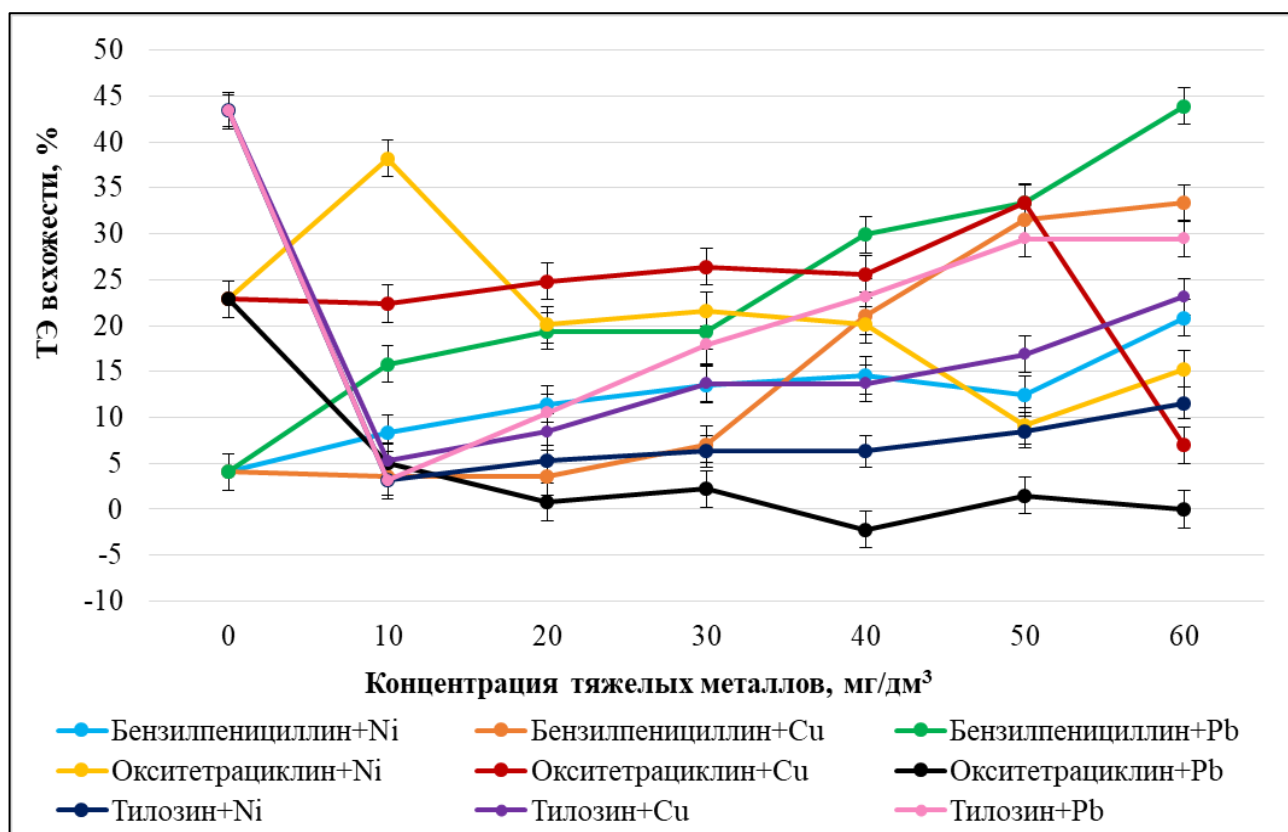


Рисунок 17. Зависимость токсических эффектов всхожести пшеницы от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Наибольший токсический эффект всхожести пшеницы при концентрации металлов 10 мг/дм^3 выявлен при воздействии сульфата никеля с окситетрациклином, при $20\text{--}30 \text{ мг/дм}^3$ – сульфата меди с окситетрациклином, при 40 мг/дм^3 – нитрата свинца с бензилпенициллином, при 50 мг/дм^3 токсические эффекты смесей нитрата свинца с бензилпенициллином, сульфата меди с окситетрациклином и бензилпенициллином практически равны, при 60 мг/дм^3 максимальное ингибирование всхожести выявлено при воздействии нитрата свинца с бензилпенициллином. При сочетании бензилпенициллина с солями тяжелых металлов установлено дозозависимое увеличение токсических эффектов всхожести пшеницы ($p < 0,05$, таблица 7). При сочетании окситетрациклина с нитратом свинца и тилозина со всеми солями тяжелых металлов выявлено снижение токсических эффектов в сравнении с индивидуальным воздействием антибиотиков, однако оно не являлось дозозависимым ($p > 0,05$, таблица 7). Также не установлено корреляционных зависимостей токсических эффектов всхожести

пшеницы от концентраций растворов с сульфата никеля и сульфата меди с окситетрациклином ($p > 0,05$, таблица 7).

Сравнение комбинированного влияния антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов с индивидуальным воздействием солей тяжелых металлов демонстрирует изменение токсических эффектов всхожести пшеницы. Совместное применение нитрата свинца с тилозином и окситетрациклином, а также сочетание сульфата меди со всеми антибиотиками снижало токсичность солей металлов. Токсичность сульфата никеля снижалась при взаимодействии с тилозином и увеличивалась при сочетании с окситетрациклином.

График зависимости интегральных токсических эффектов пшеницы от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибактериальными препаратами представлен на рисунке 18. Концентрации антибиотиков составляют 700 мг/дм^3 , концентрации солей тяжелых металлов $0\text{--}60 \text{ мг/дм}^3$.

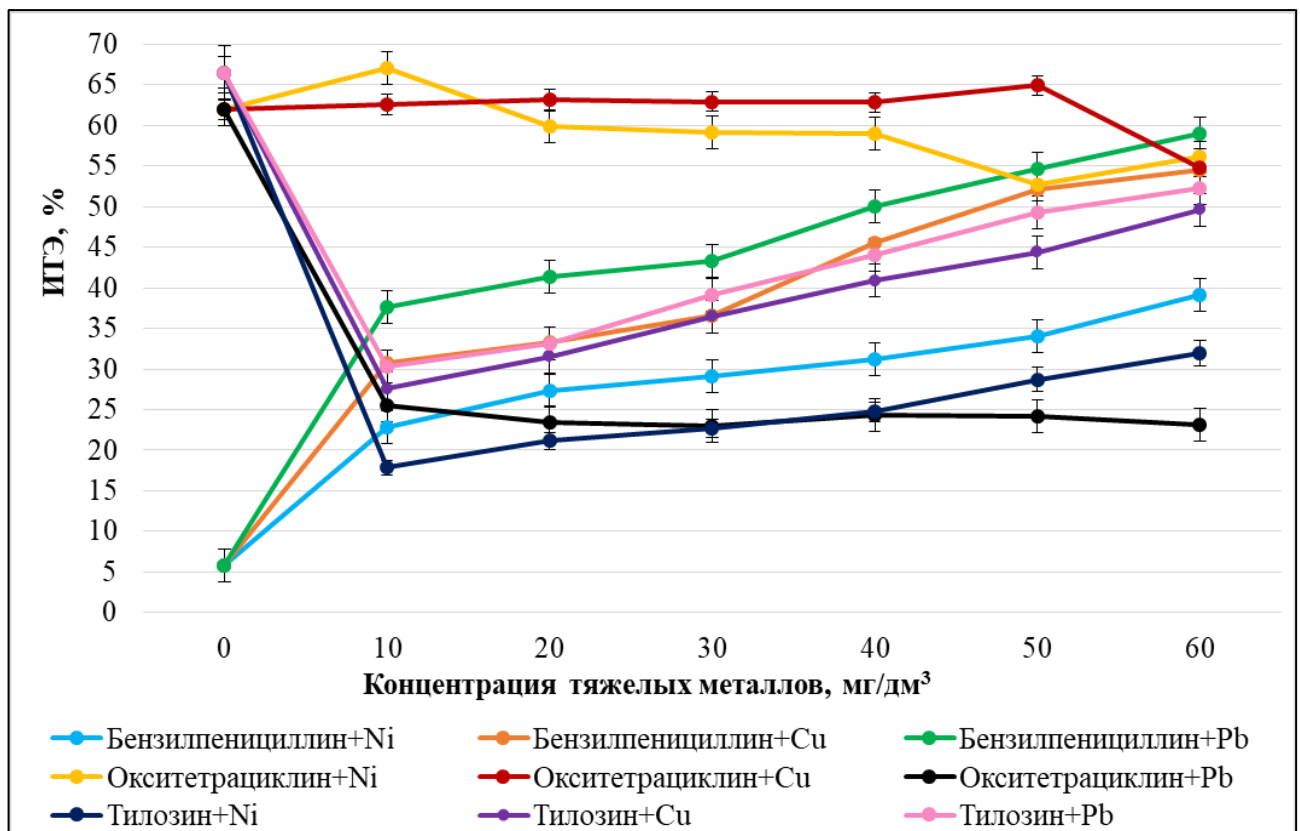


Рисунок 18. Зависимость интегральных токсических эффектов пшеницы от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Максимальный интегральный токсический эффект установлен для смеси сульфата меди с окситетрациклином, минимальный – для комбинаций нитрата свинца с окситетрациклином и сульфата никеля с тилозином. При сочетании бензилпенициллина с солями тяжелых металлов установлено дозозависимое увеличение интегральных токсических эффектов пшеницы ($p < 0,05$, таблица 7). Выявлена отрицательная корреляционная зависимость интегральных токсических эффектов от смеси сульфата никеля с окситетрациклином ($p < 0,05$, таблица 7). Сочетание окситетрациклина с нитратом свинца, а также тилозина со всеми солями тяжелых металлов вызывало снижение интегральных токсических эффектов в сравнении с индивидуальными воздействиями антибиотиков, однако, данные эффекты не являлись дозозависимыми ($p > 0,05$, таблица 7).

Сравнение комбинированного влияния антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов с индивидуальным воздействием солей тяжелых металлов демонстрирует изменение интегральных токсических эффектов пшеницы. Совместное применение окситетрациклина снижает токсичность нитрата свинца, увеличивает токсичность сульфата меди и сульфата никеля.

График зависимости показателей координации роста пшеницы от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибактериальными препаратами представлен на рисунке 19. Концентрации антибиотиков составляют 700 мг/дм^3 , концентрации солей тяжелых металлов $0\text{--}60 \text{ мг/дм}^3$.

Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста пшеницы от концентраций растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками, а также от длины корней и высоты побегов представлены в таблице 8.

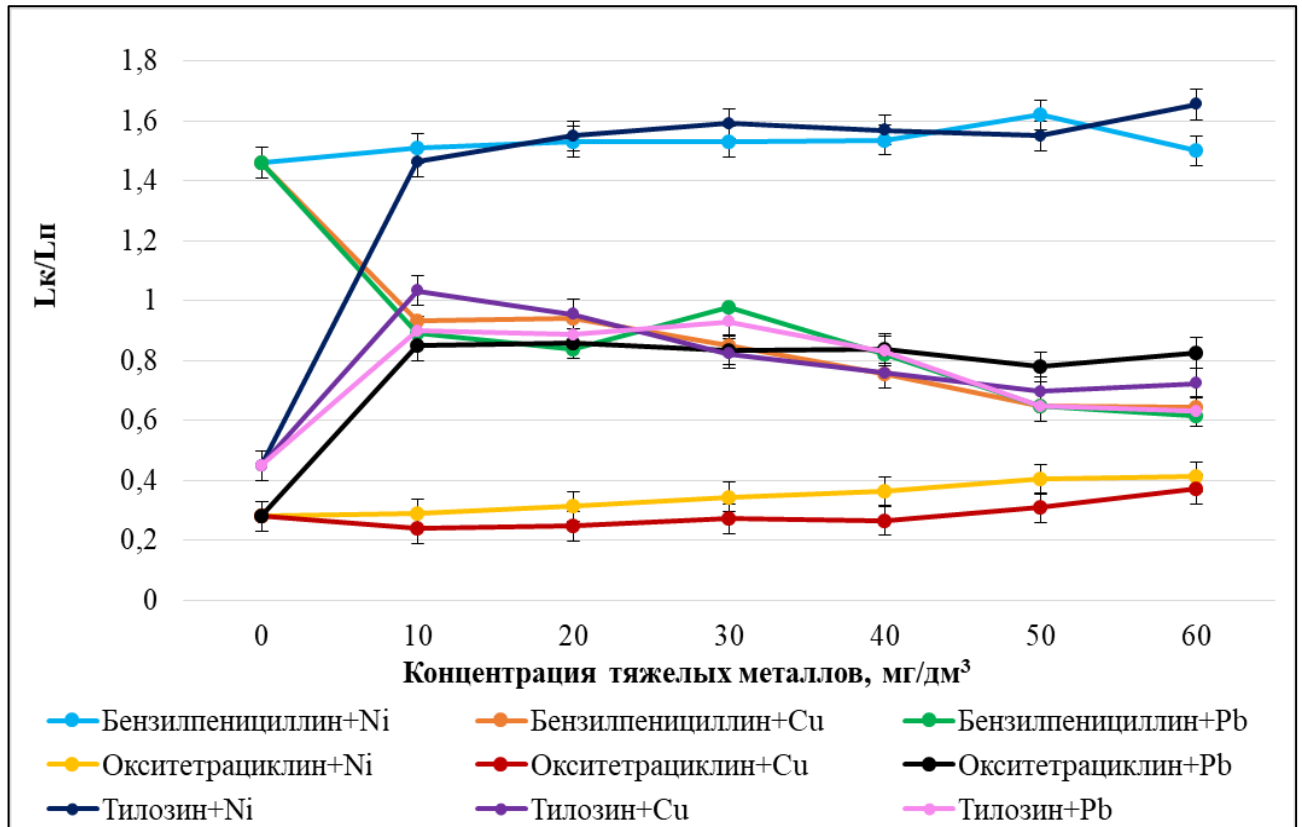


Рисунок 19. Зависимость показателей координации роста пшеницы от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

При воздействии нитрата свинца с окситетрациклином, а также смесей тилозина со всеми солями тяжелых металлов выявлено увеличение показателей координации роста пшеницы в сравнении с индивидуальным применением антибиотиков, однако эти эффекты не являлись дозозависимыми ($p > 0,05$, таблица 8). Установлено дозозависимое увеличение показателя координации роста пшеницы при воздействии сульфата никеля с окситетрациклином и дозозависимое снижение при воздействии бензилпенициллина с сульфатом меди и нитратом свинца ($p < 0,05$, таблица 8).

Сравнение комбинированного влияния антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов с индивидуальным воздействием солей тяжелых металлов демонстрирует снижение показателей координации роста пшеницы при сочетании окситетрациклина с сульфатом меди и сульфатом никеля.

Таблица 8. Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста пшеницы от концентраций растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками, а также от длины корней и высоты побегов

Антибиотики и соли тяжелых металлов	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)		
	Зависимость Лк/Лп от концентрации антибиотиков	Зависимость Лк/Лп от длины корней	Зависимость Лк/Лп от высоты побегов
Бензилпенициллин + NiSO ₄	r=0,5508; p=0,200	r=-0,6210; p=0,137	r=-0,6718; p=0,098
Бензилпенициллин + CuSO ₄	r=-0,8850; p=0,008	r=0,9834; p=0,000	r=0,9858; p=0,000
Бензилпенициллин + Pb(NO ₃) ₂	r=-0,8339; p=0,020	r=0,9636; p=0,000	r=0,9367; p=0,002
Окситетрациклин + NiSO ₄	r=0,9899; p=0,000	r=0,9832; p=0,000	r=0,9004; p=0,006
Окситетрациклин + CuSO ₄	r=0,7433; p=0,056	r=0,9965; p=0,000	r=0,9036; p=0,005
Окситетрациклин + Pb(NO ₃) ₂	r=0,5438; p=0,207	r=0,9966; p=0,000	r=0,9852; p=0,000
Тилозин + NiSO ₄	r=0,6923; p=0,085	r=0,9375; p=0,002	r=0,5023; p=0,251
Тилозин + CuSO ₄	r=-0,0186; p=0,968	r=0,9763; p=0,000	r=0,8761; p=0,010
Тилозин + Pb(NO ₃) ₂	r=-0,0056; p=0,991	r=0,9701; p=0,000	r=0,8355; p=0,015

Установлены положительные корреляционные зависимости показателей координации роста пшеницы от длины корней и высоты побегов при воздействии смесей сульфата меди и нитрата свинца с каждым из антибиотиков, сульфата никеля с окситетрациклином ($p < 0,05$, таблица 8). А также положительная корреляционная зависимость показателя координации роста пшеницы от длины корней при сочетании сульфата никеля с тилозином ($p < 0,05$, таблица 8). Таким образом изменение показателей координации роста пшеницы при воздействии смесей сульфата меди и нитрата свинца с каждым из антибиотиков, сульфата никеля с окситетрациклином обусловлено как значительным уменьшением длины

корней, так и высоты побегов, в то время как при воздействии сульфата никеля с тилозином – только снижением длины корней пшеницы.

В результате данного исследования выявлено, что наиболее токсичными для пшеницы на ранних стадиях онтогенеза являются смесь окситетрациклина с сульфатом меди, наименее токсичными – смеси окситетрациклина с нитратом свинца.

Комбинированное воздействие растворов антибактериальных препаратов с растворами солей тяжелых металлов приводит к изменению токсических эффектов пшеницы в сравнении с индивидуальным влиянием поллютантов, и зависит от состава используемой смеси. Добавление тяжелых металлов увеличивало токсические эффекты бензилпенициллина и снижало токсические эффекты тилозина. Смесь окситетрациклина с нитратом свинца характеризовалась более низкими токсическими эффектами в сравнении с индивидуальным воздействием антибиотика.

3.1.2. Воздействие антибактериальных препаратов на двудольные растения

Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов кресс-салата от концентрации растворов антибиотиков представлены в таблице 9.

Таблица 9. Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов кресс-салата от концентрации растворов антибиотиков

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)			
	ТЭДк	ТЭВП	ТЭВ	ИТЭ
Бензилпенициллин	r=0,9677; p=0,002	r=0,9891; p=0,000	отсутствует, т.к. ТЭВ = 0	r=0,9861; p=0,000
Окситетрациклин	r=0,9071; p=0,013	r=0,7841; p=0,065	r=0,8011; p=0,055	r=0,9507; p=0,004
Тилозин	r=0,9853; p=0,000	r=0,9958; p=0,000	отсутствует, т.к. ТЭВ = 0	r=0,9948; p=0,000

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)			
	ТЭдж	ТЭвп	ТЭв	ИТЭ
Бензилпенициллин + окситетрациклин	r=0,8812; p=0,020	r=0,7975; p=0,057	r=0,9758; p=0,001	r=0,9340; p=0,006
Окситетрациклин + тилозин	r=0,9126; p=0,011	r=0,7151; p=0,110	r=0,7737; p=0,071	r=0,8046; p=0,054
Бензилпенициллин + тилозин	r=0,9811; p=0,001	r=0,9866; p=0,000	отсутствует, т.к. ТЭв = 0	r=0,9872; p=0,000
Бензилпенициллин + окситетрациклин + тилозин	r=0,8080; p=0,052	r=0,8699; p=0,024	r=0,9177; p=0,010	r= 0,9383; p=0,006

График зависимости токсических эффектов длины корней кресс-салата от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 20.

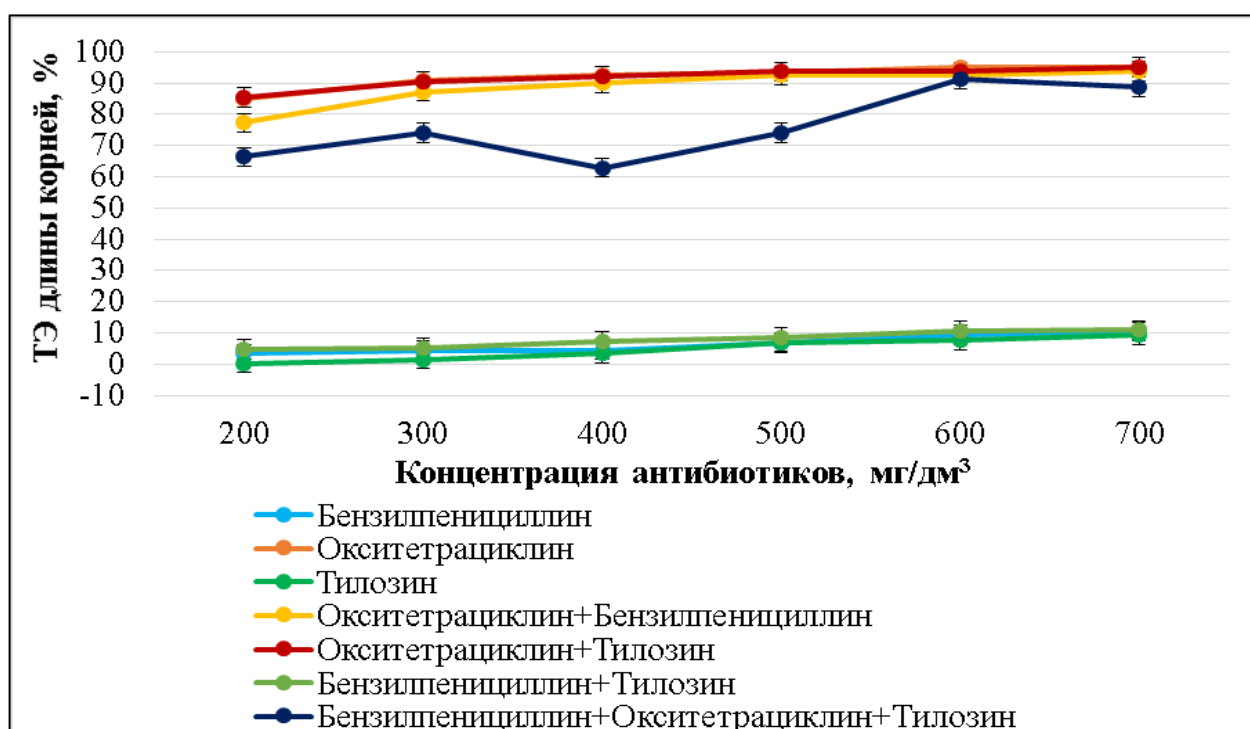


Рисунок 20. Зависимость токсических эффектов длины корней кресс-салата от концентрации антибиотиков

Наибольшее токсическое воздействие на длину корней кресс-салата оказали окситетрациклин и его смеси с тилозином и бензилпенициллином. Наименьшее влияние проявили бензилпенициллин, тилозин и их комбинация. При воздействии

смеси трех антибиотиков наблюдается эффект антагонизма, заключающийся в снижении токсического действия окситетрациклина в присутствии других препаратов. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов длины корней кресс-салата от концентрации бензилпенициллина, окситетрациклина, тилозина, смесей окситетрациклина с бензилпенициллином, окситетрациклина с тилозином, бензилпенициллина с тилозином ($p < 0,05$, таблица 9). При воздействии комбинации трех антибиотиков не выявлено корреляционной зависимости токсического эффекта длины корня от концентрации смеси ($p > 0,05$, таблица 9).

График зависимости токсических эффектов высоты побегов кресс-салата от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 21.

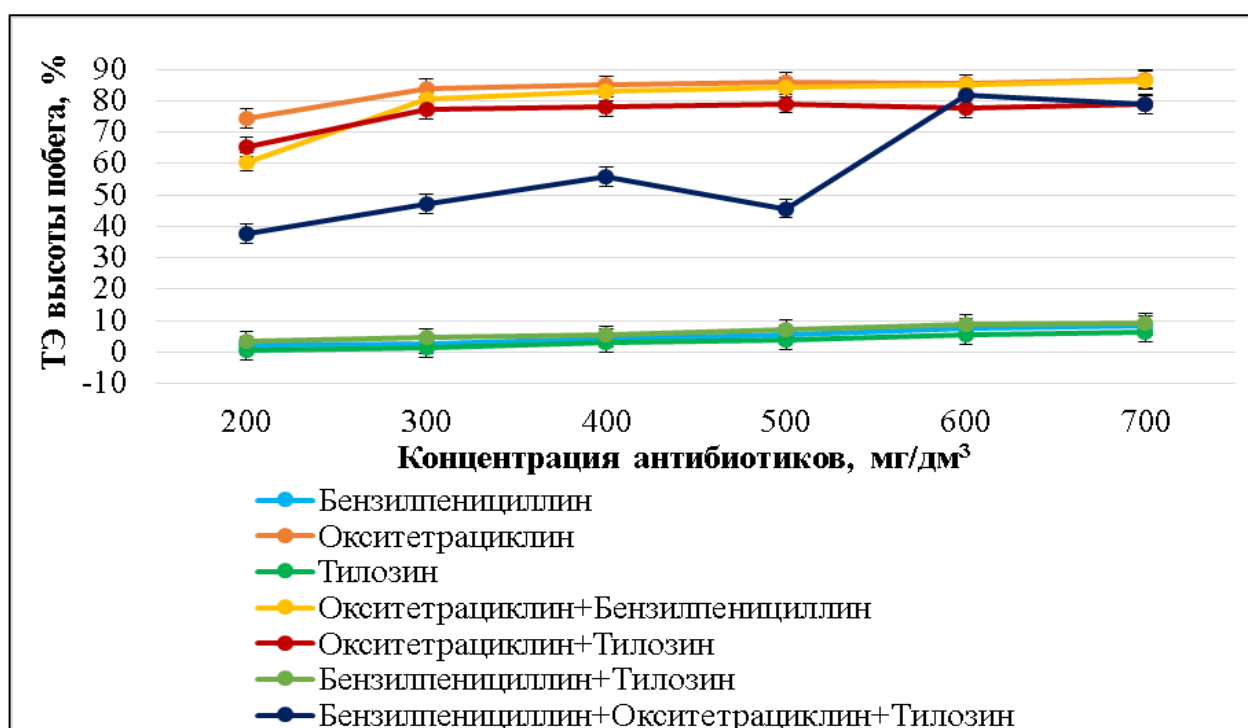


Рисунок 21. Зависимость токсических эффектов высоты побегов кресс-салата от концентрации антибиотиков

Наибольшее токсическое воздействие на высоту побегов кресс-салата оказали окситетрациклин и его смесь с бензилпенициллином. Наименьшее влияние характерно для тилозина, бензилпенициллина и их смеси. Установлены

положительные корреляционные зависимости токсических эффектов высоты побегов кресс-салата от концентраций бензилпенициллина, тилозина, их смеси и комбинации трех антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 9). Не выявлено корреляционных зависимостей токсических эффектов высоты побегов кресс-салата от концентраций окситетрациклина, его бинарных смесей с бензилпенициллином и тилозином ($p > 0,05$, таблица 9). Наблюдаются эффекты антагонизма при взаимодействии окситетрациклина с тилозином и при использовании трех антибиотиков, проявляющиеся в снижении токсического влияния окситетрациклина в комбинации с другими препаратами.

График зависимости токсических эффектов всхожести кресс-салата от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 22.

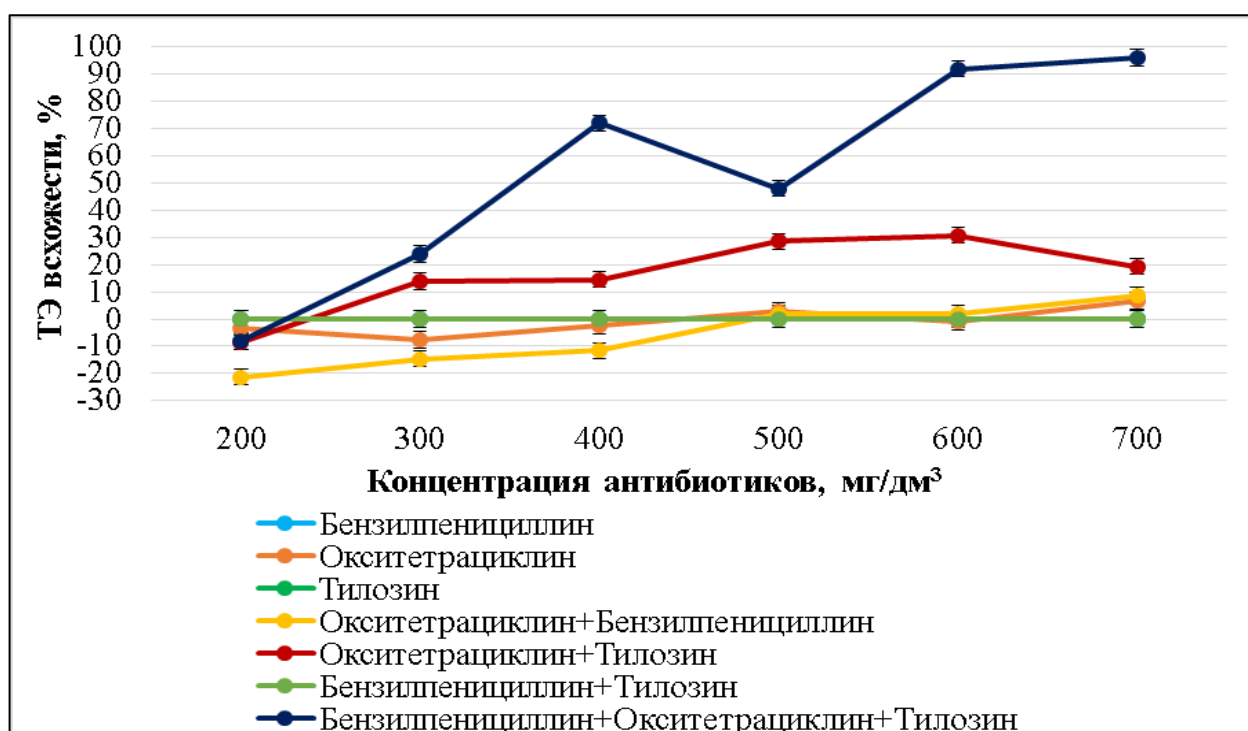


Рисунок 22. Зависимость токсических эффектов всхожести кресс-салата от концентрации антибиотиков

Наибольшее ингибирующее воздействие на всхожесть кресс-салата оказала тройная смесь антибиотиков, что демонстрирует эффект синергизма. Наименьшее токсическое влияние установлено для комбинации окситетрациклина с

бензилпенициллином. Бензилпенициллин, тилозин и их смесь не влияли на данный показатель, на всем диапазоне концентраций антибиотиков токсические эффекты всхожести равнялись нулю. Стимулирующее воздействие оказывали окситетрациклин и его смесь с бензилпенициллином при 200–400 мг/дм³, смесь окситетрациклина с тилозином и тройная смесь – при 200 мг/дм³. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов всхожести кресс-салата от концентраций смеси бензилпенициллина с окситетрациклином, комбинации трех антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 9). Не выявлено корреляционных зависимостей токсических эффектов всхожести кресс-салата от концентраций бензилпенициллина, окситетрациклина, тилозина, бинарных смесей тилозина с окситетрациклином и бензилпенициллином ($p > 0,05$, таблица 9).

График зависимости интегральных токсических эффектов кресс-салата от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 23.

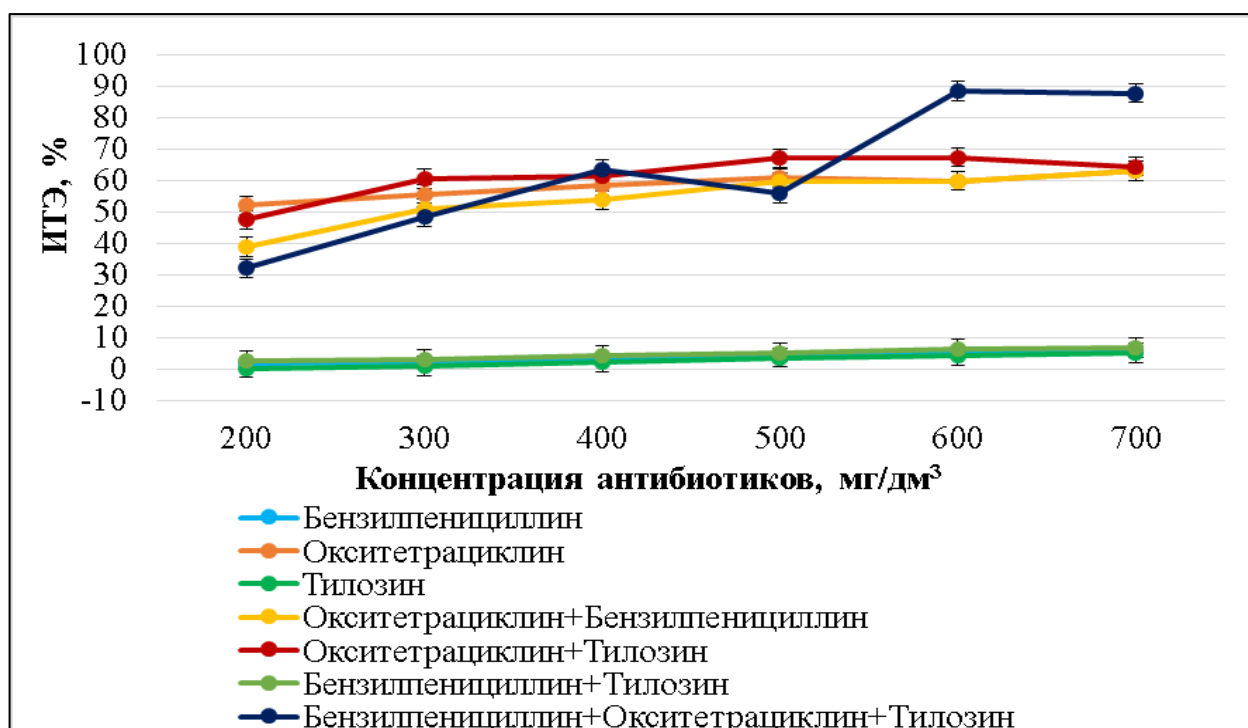


Рисунок 23. Зависимость интегральных токсических эффектов кресс-салата от концентрации антибиотиков

В диапазоне концентраций 200–500 мг/дм³ максимальный интегральный токсический эффект выявлен для смеси окситетрациклина с тилозином, в диапазоне 600–700 мг/дм³, а также 400 мг/дм³ – для смеси трех антибиотиков. Наименьшим интегральным токсическим эффектом характеризовались бензилпенициллин, тилозин и их смесь. Установлены положительные корреляционные зависимости интегральных токсических эффектов кресс-салата от концентрации бензилпенициллина, окситетрациклина, тилозина, смесей окситетрациклина с бензилпенициллином, бензилпенициллина с тилозином, комбинации трех антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 9). Не выявлено корреляционной зависимости интегрального токсического эффекта кресс-салата от концентрации смеси окситетрациклина с тилозином ($p > 0,05$, таблица 9).

График зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 24.

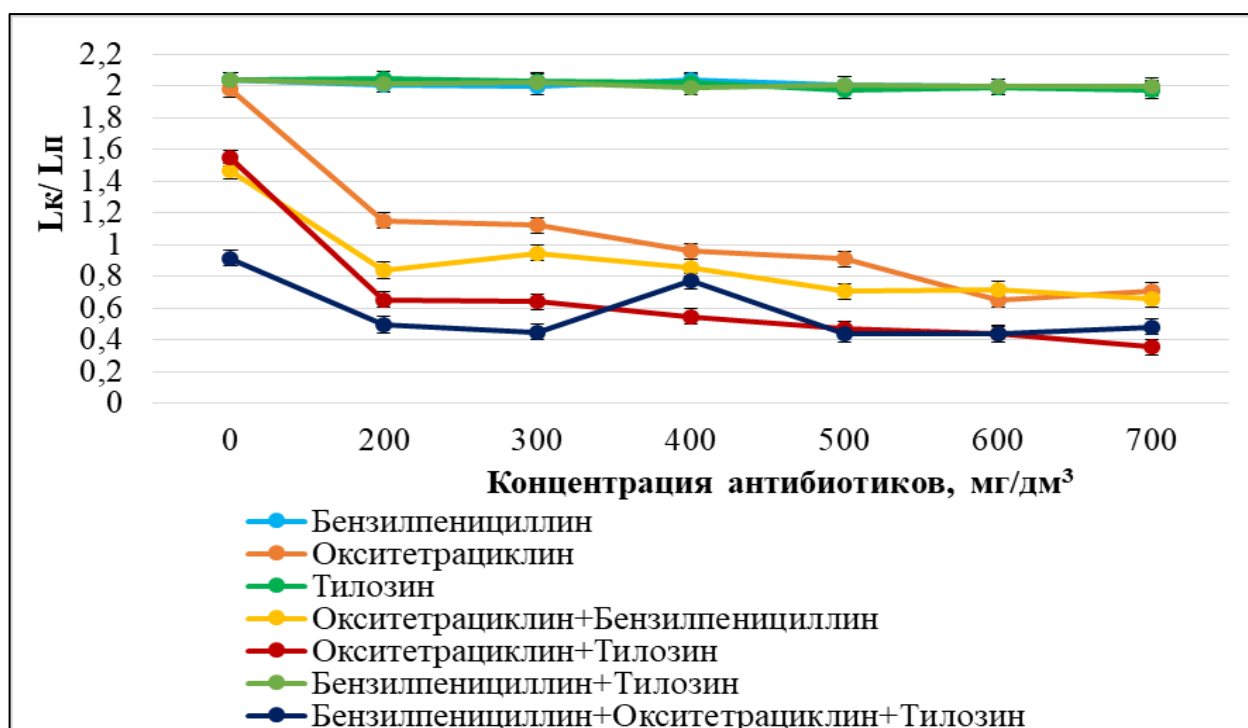


Рисунок 24. Зависимость показателей координации роста кресс-салата от концентрации антибиотиков

Установлено, что окситетрациклин, его смеси с бензилпенициллином и тилозином, а также комбинация трех антибиотиков приводят к снижению показателя координации роста кресс-салата в сравнении с контролем. Бензилпенициллин, тилозин и их смесь оказывают наименьшее влияние на данный показатель.

Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентрации антибиотиков, а также от длины корней и высоты побегов представлены в таблице 10.

Таблица 10. Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентрации антибиотиков, а также от длины корней и высоты побегов

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)		
	Зависимость Лк/Лп от концентрации антибиотиков	Зависимость Лк/Лп от длины корней	Зависимость Лк/Лп от высоты побегов
Бензилпенициллин	r=-0,6531; p=0,112	r=0,7574; p=0,049	r=0,6080; p=0,147
Окситетрациклин	r=-0,9249; p=0,003	r=0,9376; p=0,002	r=0,9357; p=0,002
Тилозин	r=-0,8480; p=0,016	r=0,9543; p=0,001	r=0,8819; p=0,009
Бензилпенициллин + окситетрациклин	r=-0,8757; p=0,010	r=0,9528; p=0,001	r=0,9366; p=0,002
Окситетрациклин + тилозин	r=-0,8673; p=0,011	r=0,9809; p=0,000	r=0,9788; p=0,000
Бензилпенициллин + тилозин	r=-0,7911; p=0,034	r=0,8559; p=0,014	r=0,7901; p=0,035
Бензилпенициллин + окситетрациклин + тилозин	r=-0,6368; p=0,124	r=0,8701; p=0,011	r=0,6606; p=0,106

Установлены отрицательные корреляционные зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентраций окситетрациклина, тилозина, смесей окситетрациклина с бензилпенициллином, окситетрациклина с тилозином,

бензилпенициллина с тилозином ($p < 0,05$, таблица 10). Не выявлено корреляционных зависимостей показателей координации роста кресс-салата от концентраций бензилпенициллина и комбинации трех антибиотиков ($p > 0,05$, таблица 10).

При воздействии бензилпенициллина и комбинации трех антибиотиков, выявлены положительные корреляционные зависимости показателей координации роста кресс-салата от длины корня ($p < 0,05$, таблица 10), и не обнаружено корреляционных зависимостей показателей координации роста от высоты побегов ($p > 0,05$, таблица 10). Положительные корреляционные зависимости показателя координации роста кресс-салата от длины корней и высоты побегов установлены при воздействии окситетрациклина, тилозина, смесей окситетрациклина с бензилпенициллином, окситетрациклина с тилозином, бензилпенициллина с тилозином ($p < 0,05$, таблица 10). Полученные данные демонстрируют, что дозозависимое снижение показателя координации роста кресс-салата при повышении концентрации тилозина и его смеси с бензилпенициллином связано как со снижением длины корней, так и высоты побегов растений. Снижение показателей координации роста кресс-салата при воздействии бензилпенициллина и комбинации трех антибиотиков, не являющиеся дозозависимыми, обусловлены только снижением длины корней. Дозозависимое уменьшение показателей координации роста при повышении концентраций смесей окситетрациклина с бензилпенициллином, окситетрациклина с тилозином, бензилпенициллина с тилозином обусловлено как снижением длины корня, так и снижением высоты побега.

Таким образом, результаты исследования демонстрируют, что наиболее чувствительной текст-реакцией кресс-салата являлась длина корней, наименее чувствительной – всхожесть семян. Наиболее токсичными для развития кресс-салата на ранних стадиях онтогенеза являются окситетрациклин и его смеси с другими антибиотиками. Наименьшее токсическое воздействие оказывают тилозин, бензилпенициллин и их смесь.

Сравнительный анализ полученных результатов воздействия антибиотиков на пшеницу и кресс-салат демонстрирует видоспецифичное влияние антибактериальных препаратов на растения в ювенильной стадии развития. Так тилозин, оказывающий максимальное ингибирующее воздействие на рост пшеницы характеризуется низкой токсичностью для кресс-салата. В проведенном ранее исследовании, данный антибиотик также оказывал наибольшее токсическое влияние на однодольную пшеницу в сравнении с двудольным редисом [32].

При воздействии смесей антибиотиков наблюдались как эффекты синергизма, так и эффекты антагонизма, зависящие как от взаимодействующих препаратов, так и их концентраций, и вида растения.

Дополнительные исследования фитотоксичности растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками при воздействии на кресс-салат

Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов кресс-салата от концентрации растворов солей тяжелых металлов представлены в таблице 11.

Таблица 11. Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов кресс-салата от концентрации растворов солей тяжелых металлов

Антибиотики и соли тяжелых металлов	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)			
	ТЭ дк	ТЭ вп	ТЭ всх	ИТЭ
NiSO ₄	r=0,9878; p=0,000	r=0,9868; p=0,000	r=0,8827; p=0,020	r=0,9949; p=0,000
CuSO ₄	r=0,9983; p=0,000	r=0,9931; p=0,000	r=0,9859; p=0,000	r=0,9982; p=0,000
Pb(NO ₃) ₂	r=0,9957; p=0,000	r=0,9969; p=0,000	r=0,9875; p=0,000	r=0,9980; p=0,000

График зависимости токсических эффектов длины корней кресс-салата от концентрации тяжелых металлов представлен на рисунке 25.

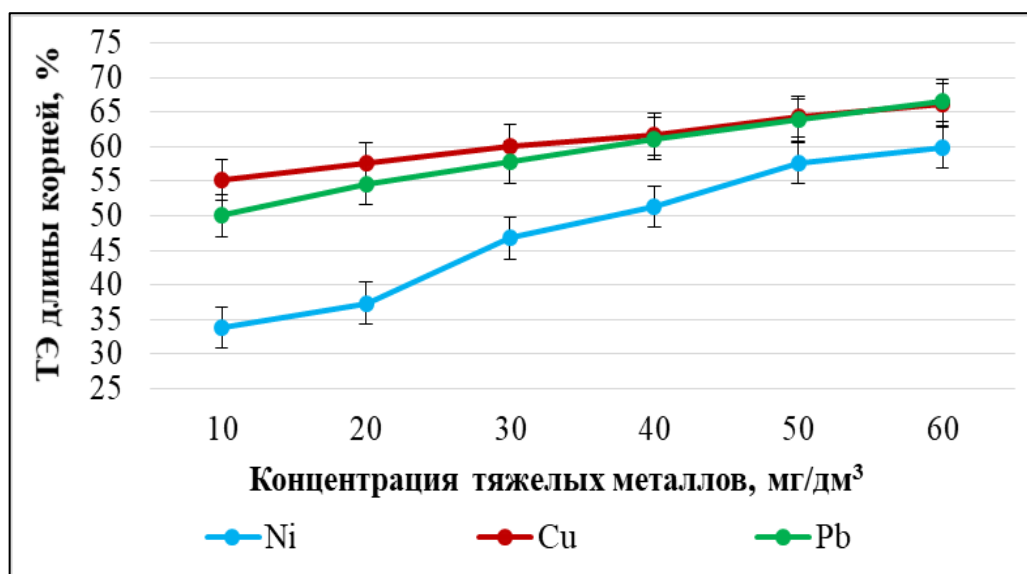


Рисунок 25. Зависимость токсических эффектов длины корней кресс-салата от концентрации тяжелых металлов

Наибольшее токсическое влияние на показатель длины корней кресс-салата оказывал раствор сульфата меди, наименьшее – раствор сульфата никеля. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов длины корней кресс-салата от концентрации всех растворов солей тяжелых металлов ($p < 0,05$, таблица 11).

График зависимости токсических эффектов высоты побегов кресс-салата от концентрации тяжелых металлов представлен на рисунке 26. Наибольшее токсическое влияние на показатель высоты побегов кресс-салата оказывал раствор сульфата меди, наименьшее – раствор сульфата никеля. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов высоты побегов кресс-салата от концентрации всех растворов солей тяжелых металлов ($p < 0,05$, таблица 11).

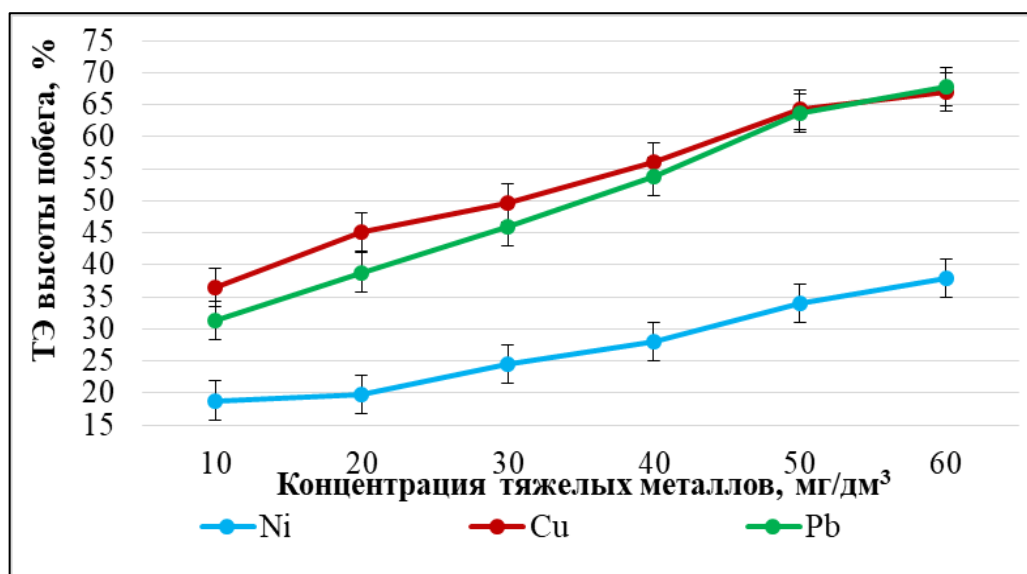


Рисунок 26. Зависимость токсических эффектов высоты побегов кресс-салата от концентрации тяжелых металлов

График зависимости токсических эффектов всхожести кресс-салата от концентрации тяжелых металлов представлен на рисунке 27.

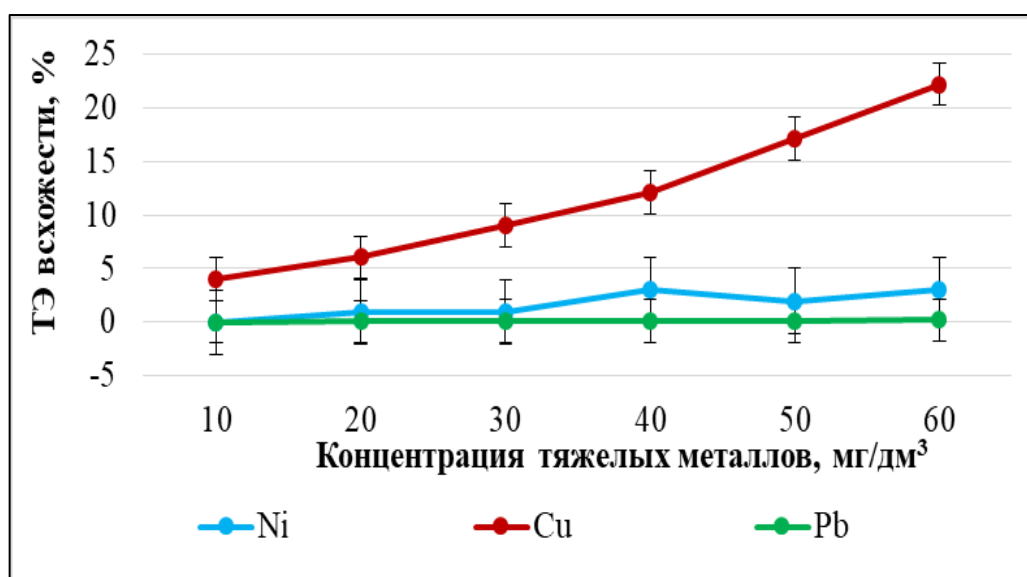


Рисунок 27. Зависимость токсических эффектов всхожести кресс-салата от концентрации тяжелых металлов

Наибольшее токсическое влияние на показатель всхожести кресс-салата оказывал раствор сульфата меди, наименьшее – раствор нитрата свинца. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических

эффектов всхожести кресс-салата от концентрации всех растворов солей тяжелых металлов ($p < 0,05$, таблица 11).

График зависимости интегральных токсических эффектов кресс-салата от концентрации тяжелых металлов представлен на рисунке 28.

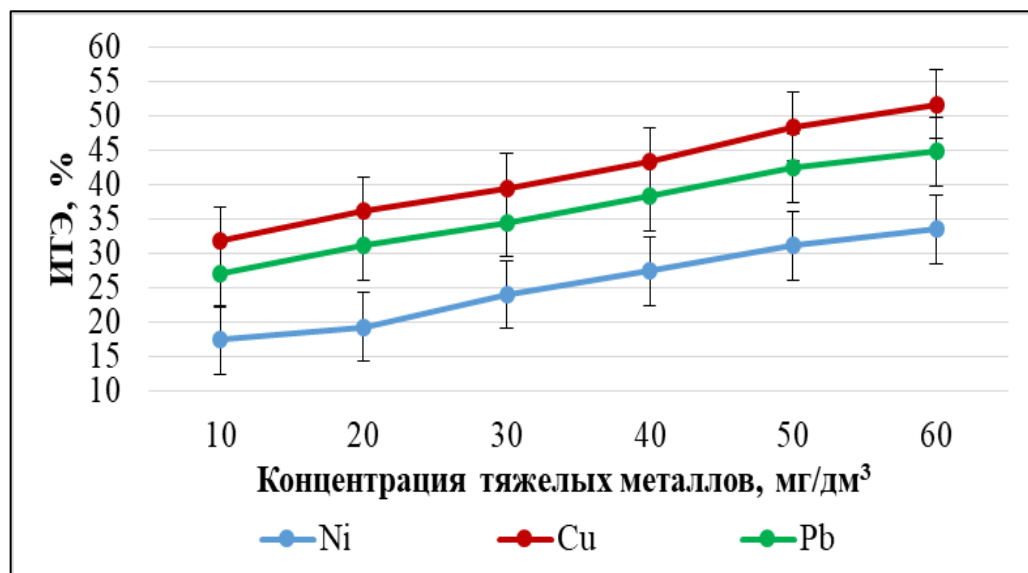


Рисунок 28. Зависимость интегральных токсических эффектов кресс-салата от концентрации тяжелых металлов

Установлены положительные корреляционные зависимости интегральных токсических эффектов кресс-салата от концентрации всех растворов солей тяжелых металлов ($p < 0,05$, таблица 11). Наибольшие значения ИТЭ характерны для раствора сульфата меди, наименьшие — для сульфата никеля.

График зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентрации тяжелых металлов представлен на рисунке 29. Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентрации растворов солей тяжелых металлов, а также от длины корней и высоты побегов представлены в таблице 12.

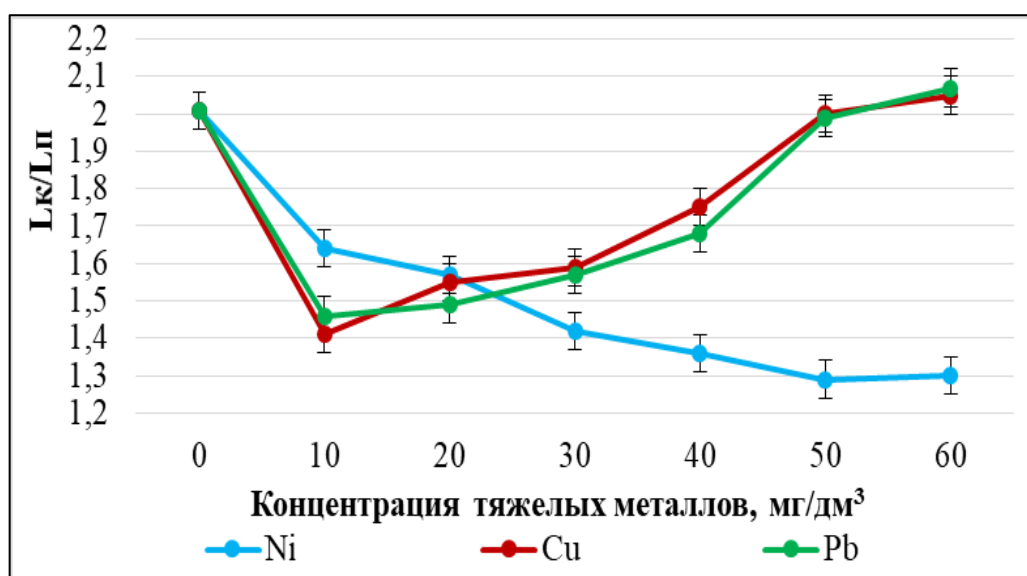


Рисунок 29. Зависимость показателей координации роста кресс-салата от концентрации тяжелых металлов

Таблица 12. Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентрации растворов солей тяжелых металлов, длины корней и высоты побегов

Антибиотики и соли тяжелых металлов	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)		
	Зависимость Lк/Лп от концентрации антибиотиков	Зависимость Lк/Лп от длины корней	Зависимость Lк/Лп от высоты побегов
NiSO ₄	r=-0,9158; p=0,004	r=0,9956; p=0,000	r=0,9781; p=0,000
CuSO ₄	r=0,4485; p=0,313	r=0,2704; p=0,558	r=-0,506; p=0,914
Pb(NO ₃) ₂	r=0,4187; p=0,350	r=0,2126; p=0,647	r=-0,1341; p=0,774

Результаты демонстрируют дозозависимое снижение показателей координации роста кресс-салата в сравнении с контролем при воздействии сульфата никеля ($p < 0,05$, таблица 12). При использовании растворов сульфата меди и нитрата свинца происходило снижение показателя координации роста в сравнении с контролем при 10 мг/дм³, и увеличение до контрольных значений при повышении содержания солей металлов. Корреляционных зависимостей

показателей координации роста кресс-салата от концентрации сульфата меди и нитрата свинца не выявлено ($p > 0,05$, таблица 12). Установлены положительные корреляционные зависимости показателей координации роста кресс-салата от длины корней и высоты побегов при воздействии сульфата никеля ($p < 0,05$, таблица 12), демонстрирующие, что снижение показателя координации роста при повышении концентраций сульфата никеля связано как со снижением длины корней, так и со снижением высоты побегов растений.

Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов кресс-салата от концентрации растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками представлены в таблице 13.

Таблица 13. Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов кресс-салата от концентрации растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Антибиотики и соли тяжелых металлов	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)			
	ТЭ дк	ТЭ вп	ТЭ всх	ИТЭ
Бензилпенициллин + NiSO ₄	r=0,8844; p=0,008	r=0,9870; p=0,000	r=0,9432; p=0,001	r=0,9480; p=0,001
Бензилпенициллин + CuSO ₄	r=0,7484; p=0,053	r=0,9445; p=0,001	r=0,9759; p=0,000	r=0,9128; p=0,004
Бензилпенициллин + Pb(NO ₃) ₂	r=0,7607; p=0,047	r=0,9252; p=0,003	r=0,9661; p=0,000	r=0,9129; p=0,004
Окситетрациклин + NiSO ₄	r=-0,9143; p=0,004	r=-0,8410; p=0,018	r=-0,2353; p=0,611	r=-0,5886; p=0,164
Окситетрациклин + CuSO ₄	r=-0,7873; p=0,036	r=-0,8342; p=0,020	r=-0,5937; p=0,160	r=-0,8558; p=0,014
Окситетрациклин + Pb(NO ₃) ₂	r=0,3725; p=0,411	r=0,0229; p=0,961	r=0,7644; p=0,045	r=0,8064; p=0,028
Тилозин + NiSO ₄	r=0,9847; p=0,000	r=0,9227; p=0,003	r=0,9525; p=0,001	r=0,9673; p=0,000
Тилозин + CuSO ₄	r=0,9454; p=0,001	r=0,7642; p=0,045	r=0,9748; p=0,000	r=0,8931; p=0,007
Тилозин + Pb(NO ₃) ₂	r=0,9307; p=0,002	r=0,7771; p=0,040	r=0,9732; p=0,000	r=0,8925; p=0,007

График зависимости токсических эффектов длины корней кресс-салата от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибактериальными препаратами представлен на рисунке 30. Концентрации антибиотиков составляют 700 мг/дм^3 , концентрации солей тяжелых металлов $0\text{--}60 \text{ мг/дм}^3$.

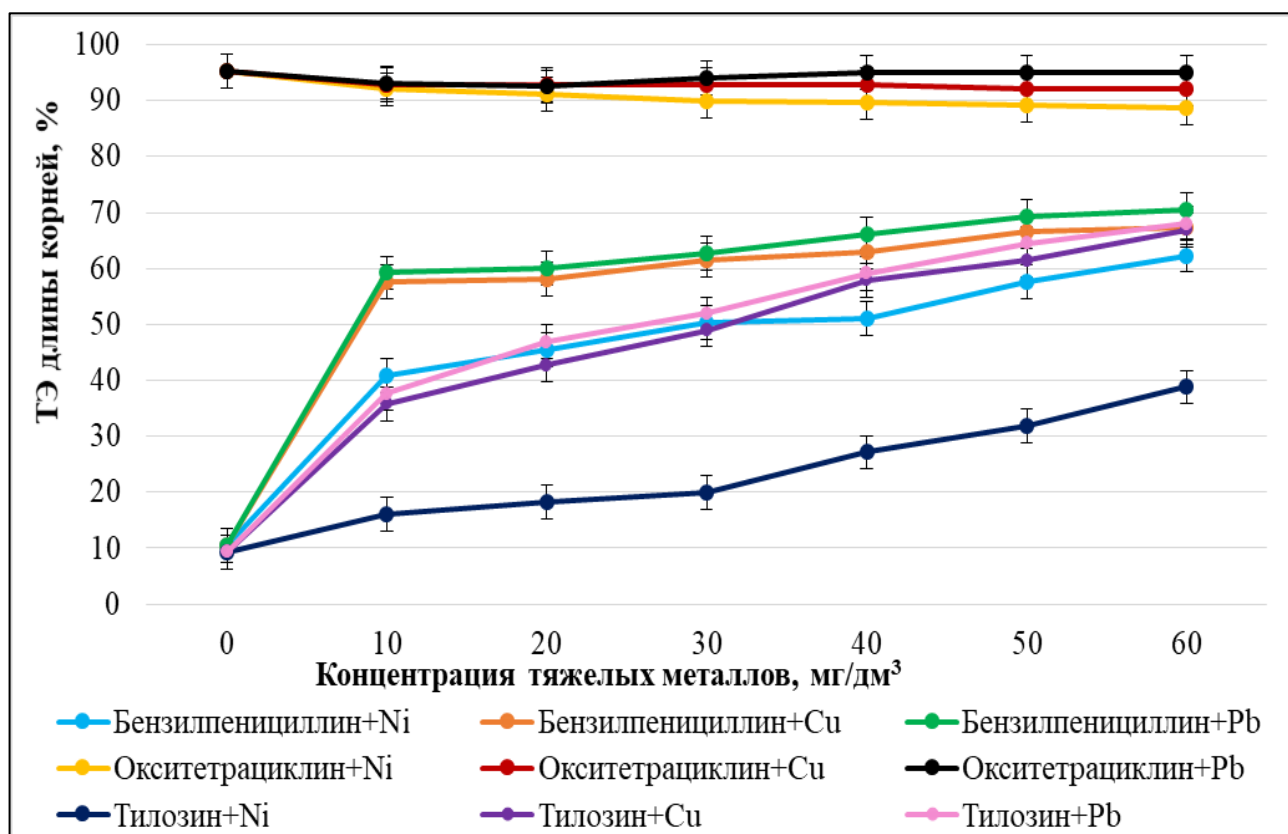


Рисунок 30. Зависимость токсических эффектов длины корней кресс-салата от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Наибольшие токсические эффекты длины корней кресс-салата установлены для смесей сульфата меди, сульфата никеля, нитрата свинца с окситетрациклином, наименьший – для смеси сульфата никеля с тилозином. При сочетании бензилпенициллина с сульфатом никеля и нитратом свинца, а также тилозина со всеми солями тяжелых металлов установлено дозозависимое увеличение токсических эффектов длины корней кресс-салата в сравнении с индивидуальным применением антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 13). При взаимодействии бензилпенициллина с сульфатом меди выявлено увеличение токсических эффектов длины корней кресс-салата в сравнении с воздействием

бензилпенициллина, не являющееся дозозависимым ($p > 0,05$, таблица 13). Также установлены отрицательные корреляционные зависимости токсических эффектов длины корней от концентраций сульфата никеля и сульфата меди в сочетании с окситетрациклином ($p < 0,05$, таблица 13). Сравнение комбинированного влияния антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов с индивидуальным воздействием солей тяжелых металлов демонстрирует изменение токсических эффектов длины корней кресс-салата. Совместное применение нитрата свинца, сульфата меди и сульфата никеля с тилозином приводило к снижению показателя, с окситетрациклином – к увеличению.

График зависимости токсических эффектов высоты побегов кресс-салата от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибактериальными препаратами представлен на рисунке 31. Концентрации антибиотиков составляют 700 мг/дм^3 , концентрации солей тяжелых металлов $0\text{--}60 \text{ мг/дм}^3$.

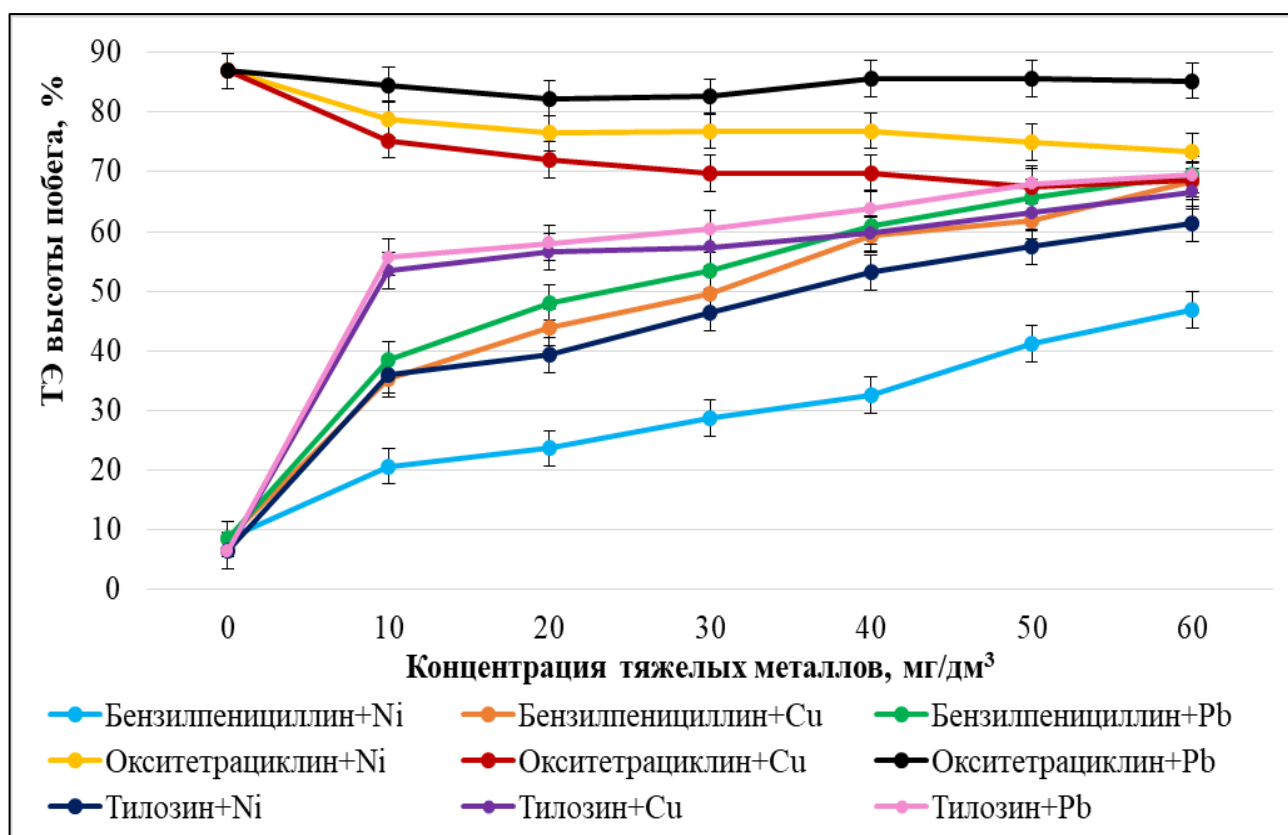


Рисунок 31. Зависимость токсических эффектов высоты побегов кресс-салата от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Наибольший токсический эффект высоты побега кресс-салата выявлен при воздействии смеси нитрата свинца с окситетрациклином, наименьший – смеси сульфата никеля с бензилпенициллином. При сочетании бензилпенициллина и тилозина со всеми солями тяжелых металлов установлено дозозависимое увеличение токсических эффектов длины корней кресс-салата, при взаимодействии окситетрациклина с сульфатом меди и сульфатом никеля – снижение, в сравнении с индивидуальным применением антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 13). Не установлено корреляционной зависимости токсических эффектов высоты побегов кресс-салата от концентрации нитрата свинца в смеси с окситетрациклином ($p > 0,05$, таблица 13). Сравнение комбинированного влияния антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов с индивидуальным воздействием солей тяжелых металлов демонстрирует изменение токсических эффектов высоты побегов кресс-салата. Совместное применение нитрата свинца, сульфата меди и сульфата никеля с окситетрациклином и тилозином приводило к увеличению показателя, наиболее сильно выраженное при взаимодействии смесей металлов с окситетрациклином.

График зависимости токсических эффектов всхожести кресс-салата от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибактериальными препаратами представлен на рисунке 32. Концентрации антибиотиков составляют 700 мг/дм^3 , концентрации солей тяжелых металлов $0\text{--}60 \text{ мг/дм}^3$. Наибольший токсический эффект на всхожесть кресс-салата оказала смесь окситетрациклина с нитратом свинца. Наименьший токсический эффект при $10\text{--}40 \text{ мг/дм}^3$ выявлен при воздействии смесей сульфата никеля с бензилпенициллином и тилозином, при $50\text{--}60 \text{ мг/дм}^3$ – комбинации сульфата меди с окситетрациклином, оказывающей стимулирующее влияние. При сочетаниях бензилпенициллина и тилозина со всеми солями тяжелых металлов, а также окситетрациклина с нитратом свинца установлено дозозависимое увеличение токсических эффектов всхожести кресс-салата в сравнении с индивидуальным применением антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 13). Не установлено корреляционных зависимостей токсических

эффектов всхожести кресс-салата от концентраций сульфата меди и сульфата никеля в смеси с окситетрациклином ($p > 0,05$, таблица 13).

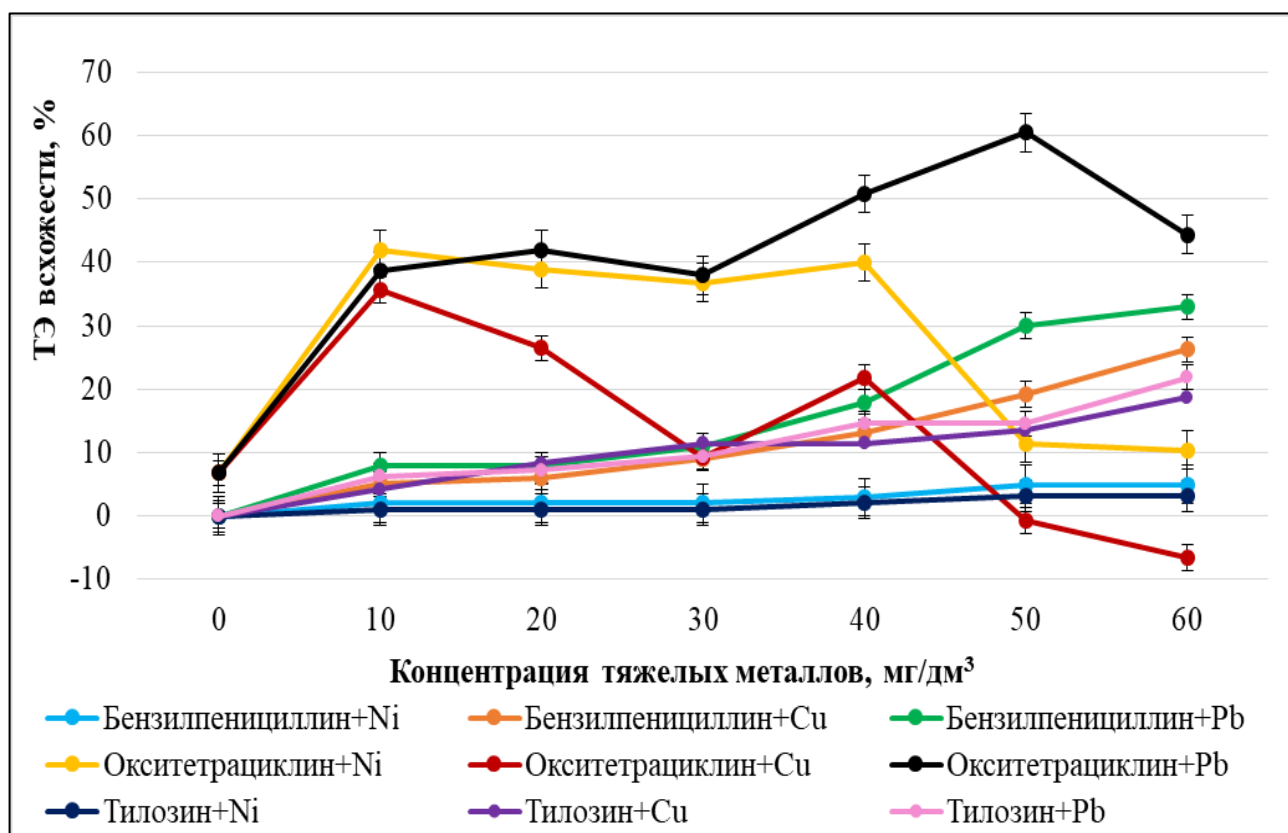


Рисунок 32. Зависимость токсических эффектов всхожести кресс-салата от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Сравнение комбинированного влияния антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов с индивидуальным воздействием солей тяжелых металлов демонстрирует изменение токсических эффектов всхожести кресс-салата. Совместное применение нитрата свинца со всеми антибиотиками вызывало повышение токсичности соли металла, наиболее сильно выраженное при взаимодействии с окситетрациклином. Усиление окситетрациклином токсического воздействия сульфата никеля происходило на всем диапазоне концентраций, а сульфата меди – при 10–20 мг/дм³.

График зависимости интегральных токсических эффектов кресс-салата от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибактериальными препаратами

представлены на рисунке 33. Концентрации антибиотиков составляют 700 мг/дм³, концентрации солей тяжелых металлов 0–60 мг/дм³.

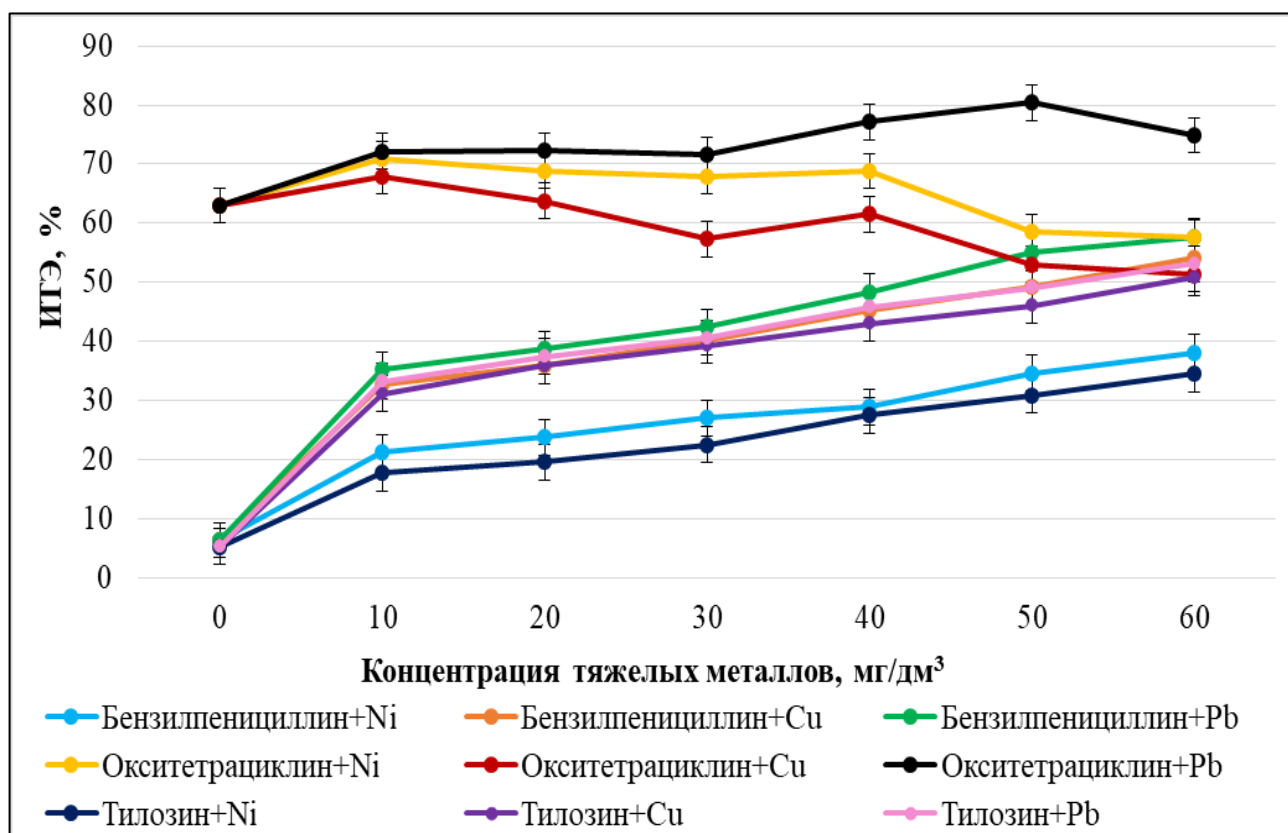


Рисунок 33. Зависимость интегральных токсических эффектов кресс-салата от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Максимальный интегральный токсический эффект для кресс-салата установлен при воздействии смеси нитрата свинца с окситетрациклином, минимальный – при сочетании сульфата никеля с тилозином. При сочетаниях бензилпенициллина и тилозина со всеми солями тяжелых металлов, а также окситетрациклина с нитратом свинца установлено дозозависимое увеличение интегральных токсических эффектов всхожести кресс-салата в сравнении с индивидуальным применением антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 13). Установлена отрицательная корреляционная зависимость интегральных токсических эффектов кресс-салата при воздействии смеси окситетрациклина с сульфатом меди ($p < 0,05$, таблица 13) и отсутствие корреляционной зависимости при применении смеси окситетрациклина с сульфатом никеля ($p > 0,05$, таблица 13).

Сравнение комбинированного влияния антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов с индивидуальным воздействием солей тяжелых металлов демонстрирует изменение интегральных токсических эффектов кресс-салата. Совместное применение нитрата свинца со всеми антибиотиками вызывало повышение токсичности соли металла, наиболее сильно выраженное при взаимодействии с окситетрациклином. Усиление окситетрациклином токсического воздействия сульфата никеля происходило на всем диапазоне концентраций, а сульфата меди – при 10–50 мг/дм³.

График зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибактериальными препаратами представлен на рисунке 34. Концентрации антибиотиков составляют 700 мг/дм³, концентрации солей тяжелых металлов 0–60 мг/дм³.

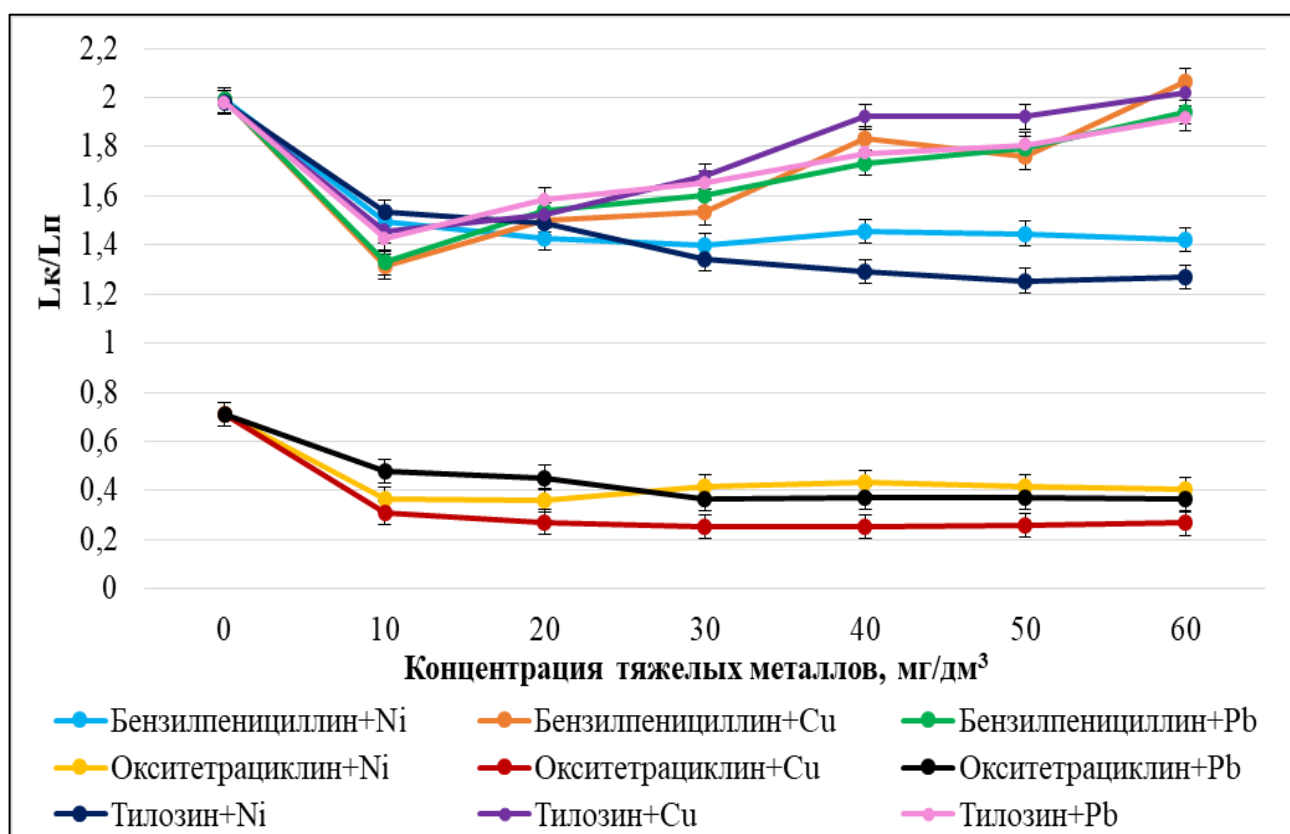


Рисунок 34. Зависимость показателей координации роста кресс-салата от концентрации тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентрации растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками, а также от длины корней и высоты побегов представлены в таблице 14.

Установлены отрицательные корреляционные зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентраций сульфата никеля в смеси с тилозином и от концентрации нитрата свинца в смеси с окситетрациклином ($p < 0,05$, таблица 14). Также выявлено снижение показателей координации роста, в сравнении с индивидуальным воздействием антибиотиков, при применении смесей окситетрациклина с сульфатом никеля и сульфатом меди и бензилпенициллина с сульфатом никеля, однако данные эффекты не являлись дозозависимыми ($p > 0,05$, таблица 14). При использовании растворов сульфата меди и нитрата свинца с бензилпенициллином и тилозином происходило снижение показателя координации роста в сравнении с индивидуальным применением антибиотиков при 10 мг/дм^3 , и увеличение до контрольных значений при повышении концентрации солей металлов.

Установлены положительные корреляционные зависимости показателей координации роста кресс-салата от длины корней при воздействии сульфата никеля с бензилпенициллином и нитрата свинца с окситетрациклином, а также отрицательная корреляционная зависимость от высоты побегов при применении сульфата никеля с окситетрациклином ($p < 0,05$, таблица 14). Выявлены положительные корреляционные зависимости показателей координации роста от длины корней и высоты побегов кресс-салата при воздействии сульфата никеля с тилозином, а также положительная корреляционная зависимость от длины корней и отрицательная – от длины побегов при применении смеси сульфата меди с окситетрациклином ($p < 0,05$, таблица 14). Таким образом снижение показателей координации роста кресс-салата при воздействии смесей сульфата никеля с бензилпенициллином обусловлено уменьшением длины корней, при взаимодействии с окситетрациклином – увеличением высоты побегов, при взаимодействии с тилозином – как снижением длины корней, так и высоты

побегов. Снижение показателей координации роста кресс-салата при воздействии смесей окситетрациклина с сульфатом меди связано как с уменьшением длины корней, так и увеличении высоты побегов, с нитратом свинца – с уменьшением длины корней.

Сравнение комбинированного влияния антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов с индивидуальным воздействием солей тяжелых металлов демонстрирует снижение показателей координации роста кресс-салата при сочетании окситетрациклина с нитратом свинца, сульфатом меди и сульфатом никеля.

Таблица 14. Результаты корреляционной зависимости показателей координации роста кресс-салата от концентрации растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками, а также от длины корней и высоты побегов

Антибиотики и соли тяжелых металлов	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)		
	Зависимость Лк/Лп от концентрации антибиотиков	Зависимость Лк/Лп от длины корней	Зависимость Лк/Лп от высоты побегов
Бензилпенициллин + NiSO ₄	r=-0,6245; p=0,111	r=0,9320; p=0,002	r=0,7272; p=0,064
Бензилпенициллин + CuSO ₄	r=0,4057; p=0,367	r=0,2836; p=0,538	r=-0,1193; p=0,799
Бензилпенициллин + Pb(NO ₃) ₂	r=0,3219; p=0,481	r=0,3662; p=0,419	r=0,0410; p=0,930
Окситетрациклин + NiSO ₄	r=-0,4710; p=0,286	r=0,6530; p=0,112	r=-0,8053; p=0,029
Окситетрациклин + CuSO ₄	r=-0,6657; p=0,103	r=0,9322; p=0,002	r=-0,9461; p=0,001
Окситетрациклин + Pb(NO ₃) ₂	r=-0,8169; p=0,025	r=0,9221; p=0,003	r=-0,3228; p=0,480
Тилозин + NiSO ₄	r=-0,8695; p=0,011	r=0,9860; p=0,000	r=0,8714; p=0,011
Тилозин + CuSO ₄	r=0,4973; p=0,256	r=0,1609; p=0,730	r=-0,1837; p=0,693
Тилозин + Pb(NO ₃) ₂	r=0,3181; p=0,487	r=0,3401; p=0,455	r=0,0629; p=0,893

В результате данного исследования выявлено, что наиболее токсичными для кресс-салата на ранних стадиях онтогенеза являются смесь окситетрациклина с нитратом свинца, наименее токсичными – смеси сульфата никеля с бензилпенициллином и тилозином.

Комбинированное воздействие растворов антибактериальных препаратов с растворами солей тяжелых металлов приводило к изменению токсических эффектов кресс-салата в сравнении с индивидуальным влиянием поллютантов, и зависело от состава используемой смеси. Токсические эффекты бензилпенициллина и тилозина в сочетаниях с солями тяжелых металлов превышают эффекты индивидуальных воздействий антибиотиков. Совместное применение окситетрациклина с нитратом свинца не оказывало существенного влияния на токсические эффекты длины корней и высоты побегов, увеличивало токсические эффекты всхожести и ИТЭ в сравнении с индивидуальным воздействием антибиотика. Комбинированное воздействие окситетрациклина с сульфатом меди снижало токсические эффекты длины корней, высоты побегов и интегрального токсического эффекта. Совместное влияние окситетрациклина с сульфатом никеля снижало токсические эффекты длины корней и высоты побегов.

Сравнительный анализ полученных данных с результатами совместного воздействия солей тяжелых металлов и антибиотиков на пшеницу показывает видоспецифичное влияние используемых смесей.

Таким образом, результаты исследования демонстрируют, что наиболее чувствительной текст-реакцией кресс-салата являлась длина корней, наименее чувствительной – всхожесть семян, что согласуется с описанными выше исследованиями влияния антибиотиков на пшеницу. Выявлено, что пшеница являлась более чувствительным тест-объектом в данном исследовании.

Полученные данные демонстрируют эффект гормезиса, заключающегося в нелинейной зависимости доза-эффект для ответов растений на антибиотики.

3.2. Фитотестирование почвы, загрязненной антибиотиками

Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов пшеницы от концентрации антибиотиков в почве представлены в таблице 15.

Таблица 15. Результаты корреляционного анализа зависимости токсических эффектов пшеницы от концентрации антибиотиков в почве

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)			
	ТЭДк	ТЭВП	ТЭВ	ИТЭ
Бензилпенициллин	r=0,7987; p=0,105	r=0,8327; p=0,080	r=0,0147; p=0,981	r=0,7358; p=0,156
Окситетрациклин	r=0,9479; p=0,014	r=0,7430; p=0,150	r=0,2425; p=0,694	r=0,9335; p=0,020
Тилозин	r=0,7300; p=0,161	r=0,9657; p=0,008	r=0,1943; p=0,754	r=0,9086; p=0,033
Бензилпенициллин + окситетрациклин	r=0,9080; p=0,033	r=0,6713; p=0,215	r=0,5226; p=0,366	r=0,8099; p=0,097
Окситетрациклин + тилозин	r=0,9211; p=0,026	r=0,8936; p=0,041	r=-0,6407; p=0,244	r=0,9229; p=0,025
Бензилпенициллин + тилозин	r=0,7744; p=0,124	r=0,8906; p=0,043	r=-0,4179; p=0,484	r=0,7857; p=0,115
Бензилпенициллин + окситетрациклин + тилозин	r=0,9708; p=0,006	r=0,9268; p=0,024	r=-0,1716; p=0,783	r=0,9373; p=0,019

График зависимости токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации антибактериальных препаратов в почве представлен на рисунке 35. Максимальное ингибирование длины корня пшеницы при концентрациях 50 мг/кг и 200 мг/кг наблюдалось при загрязнении почвы бензилпенициллином, при 100 мг/кг наибольшие значения токсических эффектов длины корня были характерны для бензилпенициллина и его смеси с тилозином. При 400 мг/кг значения токсического эффекта для бензилпенициллина, окситетрациклина и смеси окситетрациклина с тилозином были практически равны. При 600 мг/кг максимальное ингибирование оказала почва, загрязненная комбинацией бензилпенициллина и тилозина, а также тройной смесью. Кроме того, почва,

загрязненная смесьми бензилпенициллина с окситетрациклином, окситетрациклина с тилозином и комбинацией трех антибиотиков, стимулировала рост корней пшеницы при 50 мг/кг. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации окситетрациклина, смесей окситетрациклина с бензилпенициллином, окситетрациклина с тилозином, комбинации трех антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 15). Не выявлено корреляционных зависимостей токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации бензилпенициллина, тилозина и их смеси в почве ($p > 0,05$, таблица 15).

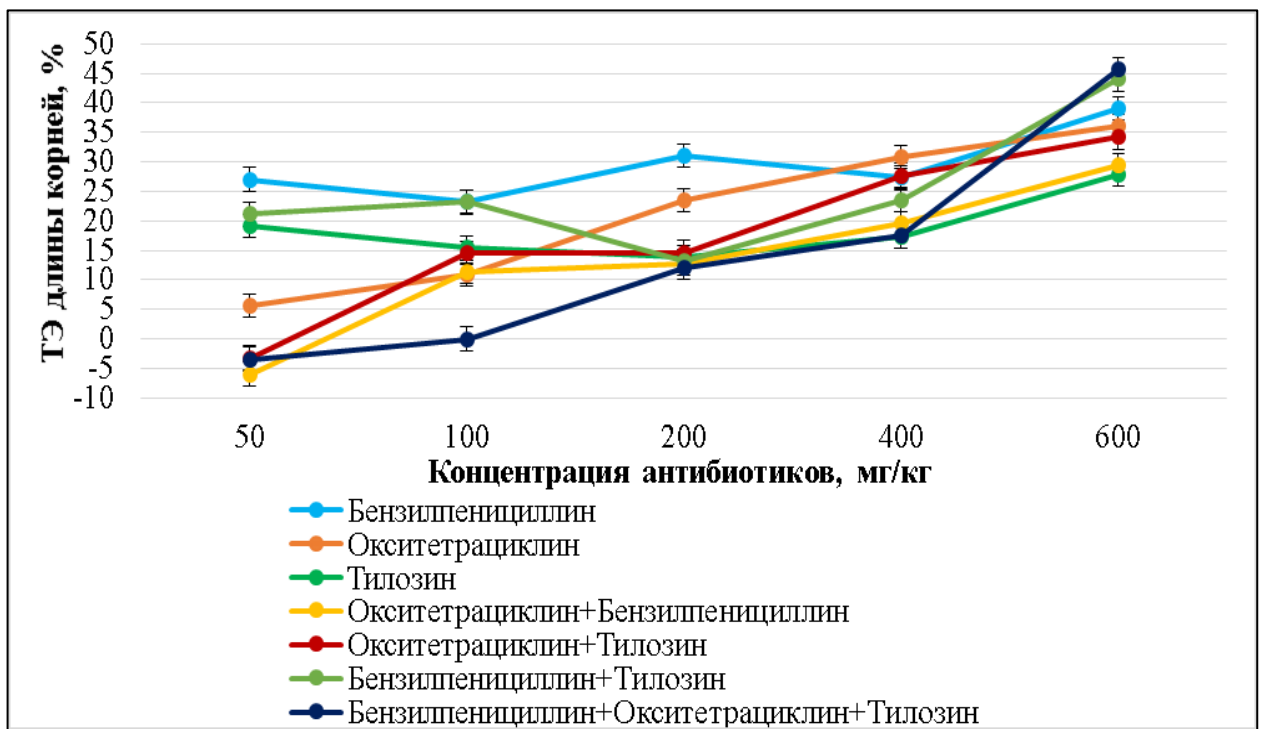


Рисунок 35. Зависимость токсических эффектов длины корней пшеницы от концентрации антибиотиков в почве

График зависимости токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации антибактериальных препаратов в почве представлен на рисунке 36.

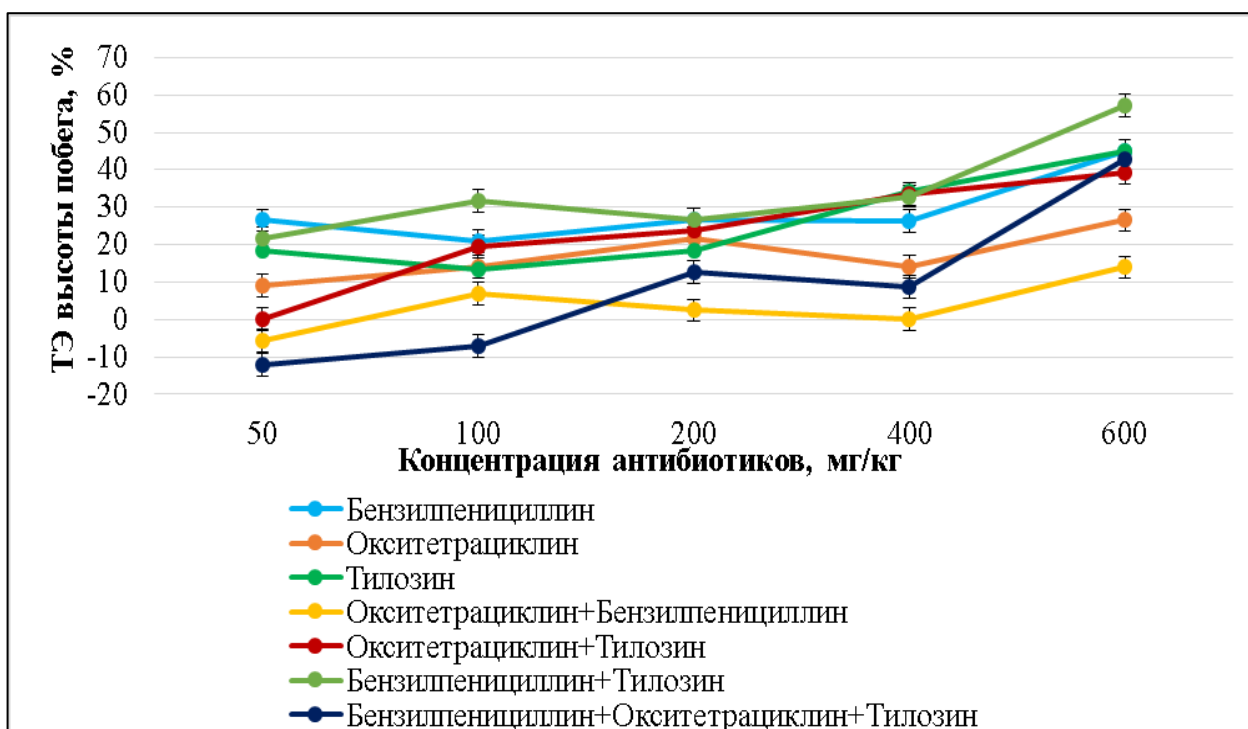


Рисунок 36. Зависимость токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации антибиотиков в почве

Преимущественно, наибольшее ингибирование высоты побегов пшеницы наблюдалось при воздействии почвы, загрязненной смесью бензилпенициллина с тилозином, наименьшее – смесью бензилпенициллина с окситетрациклином. Стимуляция данного показателя отмечалась при 50 мг/кг совместного воздействия окситетрациклина с бензилпенициллином и 50–100 мг/кг тройной смеси в почве. Установлены положительные корреляционные зависимости токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации тилозина, смесей окситетрациклина с тилозином, бензилпенициллина с тилозином, комбинации трех антибиотиков ($p < 0,05$, таблица 15). Не выявлено корреляционных зависимостей токсических эффектов высоты побегов пшеницы от концентрации бензилпенициллина, окситетрациклина и их смеси в почве ($p > 0,05$, таблица 15).

График зависимости токсических эффектов всхожести пшеницы от концентрации антибактериальных препаратов в почве представлен на рисунке 37.

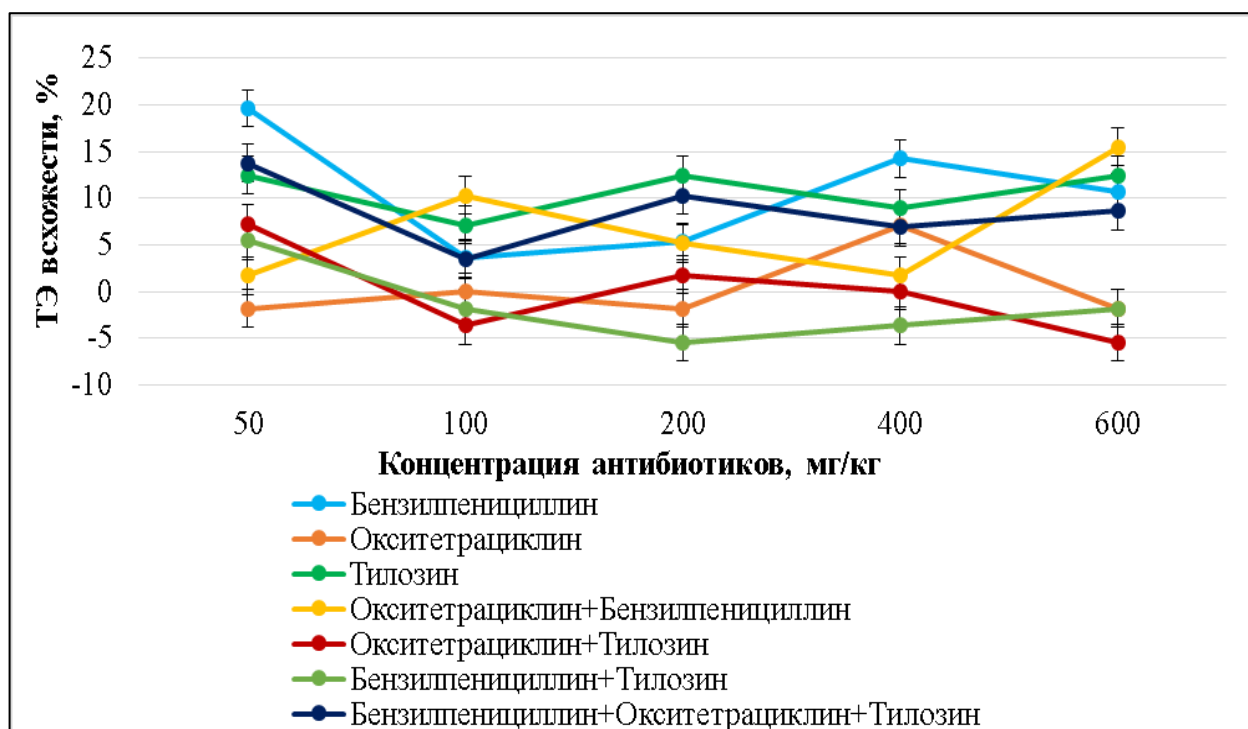


Рисунок 37. Зависимость токсических эффектов всхожести пшеницы от концентрации антибиотиков в почве

Максимальное ингибирование всхожести при 50 мг/кг и 400 мг/кг наблюдалось при воздействии бензилпенициллина, при 100 мг/кг и 600 мг/кг – смеси бензилпенициллина с окситетрациклином, при 200 мг/кг – тилозина. Также были установлены эффекты стимуляции всхожести при 50 мг/кг для окситетрациклина, при 100 мг/кг – для бинарных смесей тилозина с бензилпенициллином и окситетрациклином, при 200 мг/кг – окситетрациклина и смеси бензилпенициллина с тилозином, при 400 мг/кг – смеси бензилпенициллина с тилозином, при 600 мг/кг – окситетрациклина, бинарных смесей тилозина с бензилпенициллином и окситетрациклином. Корреляционных зависимостей токсических эффектов всхожести пшеницы от концентраций антибиотиков в почве не выявлено ($p > 0,05$, таблица 15). Полученные результаты исследования всхожести пшеницы в загрязненной антибиотиками почве демонстрируют эффект гормезиса.

График зависимости интегральных токсических эффектов пшеницы от концентрации антибактериальных препаратов в почве представлен на рисунке 38.

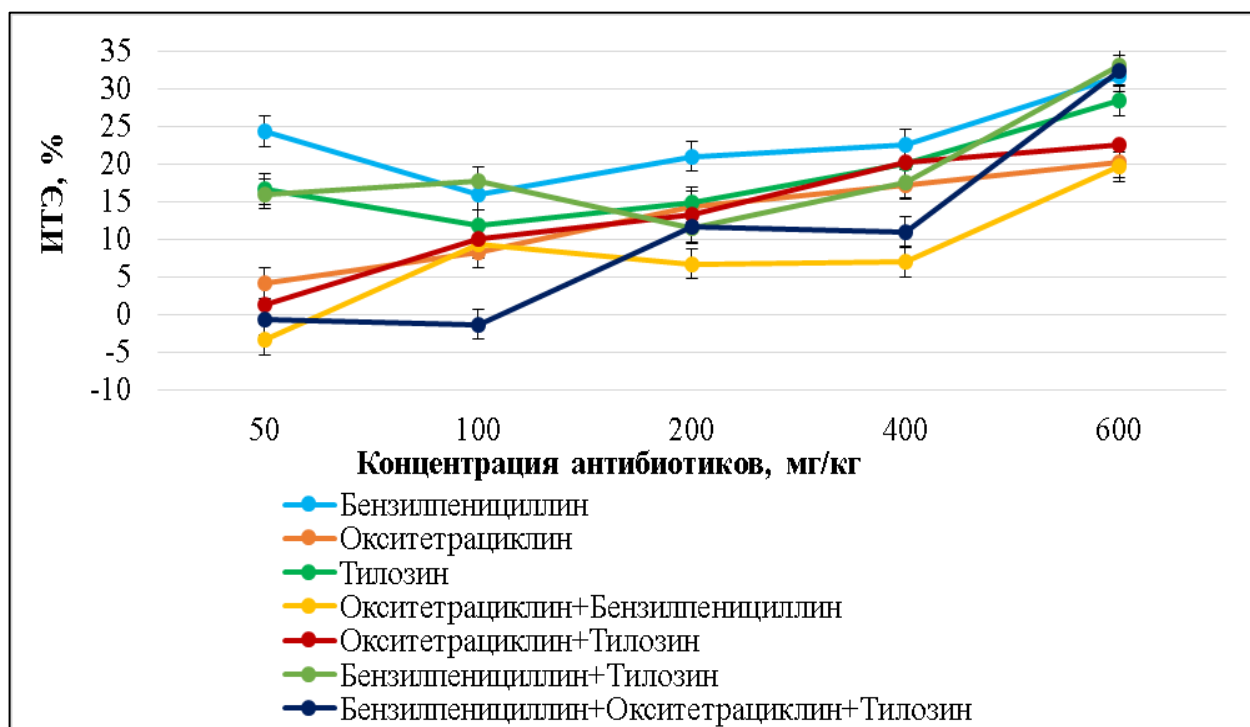


Рисунок 38. Зависимость интегральных токсических эффектов пшеницы от концентрации антибиотиков в почве

Установлены положительные корреляционные зависимости интегральных токсических эффектов пшеницы от концентраций окситетрациклина, тилозина, их смеси и комбинации трех антибиотиков в почве ($p < 0,05$, таблица 15). При загрязнении почвы бензилпенициллином, и его бинарными смесями с тилозином и окситетрациклином не наблюдается корреляционной зависимости интегральных токсических эффектов от концентраций препаратов ($p > 0,05$, таблица 15), однако ИТЭ бензилпенициллина является максимальным на всем диапазоне концентраций в сравнении с другими применяемыми антибиотиками. При концентрациях 50 мг/кг и 200–600 мг/кг наименьшее значение интегрального токсического эффекта установлено для смеси окситетрациклина и бензилпенициллина, при 100 мг/кг – для тройной смеси.

График зависимости показателей координации роста пшеницы от концентрации антибактериальных препаратов почве представлен на рисунке 39.

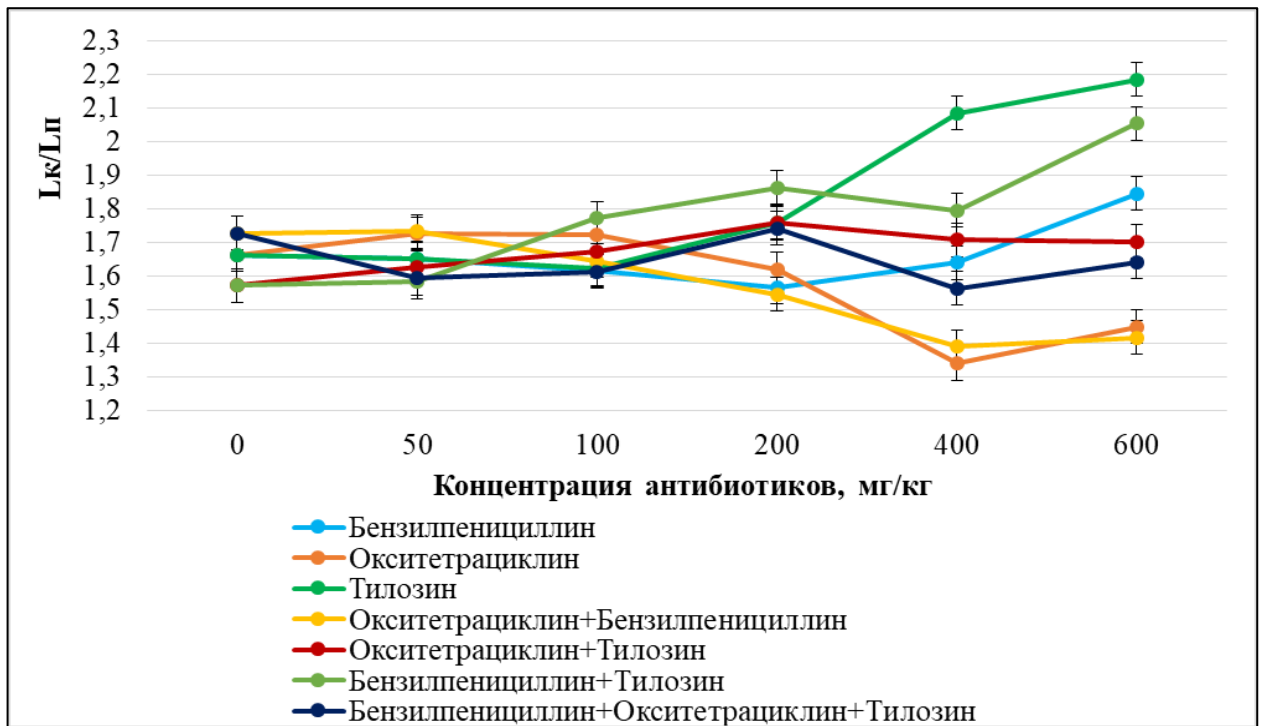


Рисунок 39. Зависимость показателей координации роста пшеницы от концентрации антибиотиков почве

Результаты корреляционного анализа зависимости показателей координации роста пшеницы от концентрации антибиотиков в почве, длины корней и высоты побегов представлены в таблице 16.

Установлены отрицательные корреляционные зависимости показателей координации роста пшеницы от концентраций окситетрациклина и его смеси с бензилпенициллином в почве ($p < 0,05$, таблица 16), а также положительные корреляционные зависимости от концентраций тилозина и его смеси с бензилпенициллином в почве ($p < 0,05$, таблица 16). Не выявлено корреляционных зависимостей показателей координации роста пшеницы от концентраций бензилпенициллина, смеси окситетрациклина с тилозином и комбинации трех антибиотиков ($p > 0,05$, таблица 16).

Таблица 16. Результаты корреляционного анализа зависимости показателей координации роста пшеницы от концентрации антибиотиков в почве, а также от длины корней и высоты побегов

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)		
	Зависимость Лк/Лп от концентрации антибиотиков	Зависимость Лк/Лп от длины корней	Зависимость Лк/Лп от высоты побегов
Бензилпенициллин	r=0,6747; p=0,142	r=-0,3180; p=0,539	r=-0,5279; p=0,282
Окситетрациклин	r=-0,8422; p=0,035	r=0,8321; p=0,040	r=0,4385; p=0,384
Тилозин	r=0,9676; p=0,002	r=-0,6244; p=0,185	r=-0,9067; p=0,013
Бензилпенициллин + окситетрациклин	r=-0,9268; p=0,008	r=0,9204; p=0,009	r=0,5355; p=0,274
Окситетрациклин + тилозин	r=0,5955; p=0,212	r=-0,6810; p=0,136	r=-0,7863; p=0,064
Бензилпенициллин + тилозин	r=0,8846; p=0,019	r=-0,7665; p=0,075	r=-0,8956; p=0,016
Бензилпенициллин + окситетрациклин + тилозин	r=-0,2779; p=0,594	r=0,0523; p=0,922	r=-0,1627; p=0,758

Установлены положительные корреляционные зависимости показателей координации роста пшеницы от длины корней при загрязнении почвы окситетрациклином и его смеси с бензилпенициллином ($p < 0,05$, таблица 16). Выявленная закономерность свидетельствует о том, что дозозависимое снижение показателя координации роста пшеницы связано с уменьшением длины корней и не зависит от изменения высоты побегов растения. Отрицательная корреляционная зависимость показателя координации роста пшеницы от высоты побега выявлена при воздействии почвы, загрязненной тилозином, его смеси с бензилпенициллином ($p < 0,05$, таблица 16). Полученные данные демонстрируют, что дозозависимое увеличение показателя координации роста пшеницы при повышении этих антибиотиков связано с большим снижением высоты побега в сравнении с длиной корня. Корреляционных зависимостей показателей

координации роста пшеницы от длины корней и высоты побегов при воздействии почвы, содержащей бензилпенициллин, смесь окситетрациклина и тилозина и комбинацию трех антибиотиков не установлено ($p > 0,05$, таблица 16), что говорит о равномерности снижения роста корней и побегов.

Результаты исследований свидетельствуют, что загрязнение почвы антибиотиками способно приводить к изменению координации роста культивируемой пшеницы как в сторону уменьшения соотношения длины корня к высоте побега, так и в сторону увеличения, что может быть объяснено различием в поглощении и накоплении антибиотиков частями растений. Препараты, слабо адсорбирующиеся почвой и обладающие низкой молекулярной массой с большей скоростью поглощаются большинством сельскохозяйственных культур. Уменьшение соотношения длины корня к высоте побега и положительная корреляционная зависимость данного показателя от длины корня при воздействии почвы, загрязненной окситетрациклином и его смеси с бензилпенициллином может быть обусловлена наиболее выраженным влиянием окситетрациклина на рост корней пшеницы, в сравнении с ростом побегов. Тилозин, обладающий наибольшей молекулярной массой и коэффициентом сорбции (таблица 2), вероятнее всего, хуже усваивался пшеницей, и оказывал меньшее воздействие на длину корней. Можно предположить, что воздействие тилозина сильнее способствовало снижению поступления воды и питательных веществ к побегам, чем окситетрациклина. Отсутствие дозозависимого влияния бензилпенициллина в почве на координацию роста, возможно, связано со значительным поглощением препарата пшеницей, и транслокацией в связи с низким молекулярным весом и коэффициентом сорбции (таблица 2). Отсутствие зависимости показателя координации роста от концентрации смеси окситетрациклина с тилозином и тройной смеси антибиотиков, предположительно, обусловлено эффектом антагонизма окситетрациклина и тилозина, оказывающих противоположное воздействие.

Также были определены степени токсичности почвы, обработанной антибиотиками (таблица 17). Почва характеризуется V и IV степенями

токсичности, т.е. является практически нетоксичной и малотоксичной соответственно, в зависимости от концентрации внесенных антибиотиков.

Таблица 17. Степени токсичности почвы в зависимости от концентрации антибактериальных препаратов

Название антибиотика	Концентрация антибиотика, мг/кг почвы				
	50	100	200	400	600
Бензилпенициллин	IV	IV	IV	IV	IV
Окситетрациклин	V	V	IV	IV	IV
Тилозин	V	V	V	V	IV
Окситетрациклин + Бензилпенициллин	V	V	V	V	IV
Окситетрациклин + Тилозин	V	V	V	IV	IV
Бензилпенициллин + Тилозин	IV	IV	V	IV	IV
Бензилпенициллин + Окситетрациклин + Тилозин	V	V	V	V	IV

При сравнении результатов исследования почв, загрязненных антибиотиками с результатами фитотестирования растворов тех же антибиотиков, выявлено, что интегральный токсический эффект загрязненных бензилпенициллином почв превышает таковой у растворов бензилпенициллина тех же концентраций. Установленный эффект может быть объяснен усилением ингибирующего влияния антибиотика его взаимодействием с тяжелыми металлами и другими поллютантами, содержащимися в почве, определение количества которых в данном исследовании не осуществлялось. Полученные результаты согласуются с данными исследования комбинированного воздействия антибиотиков и тяжелых металлов, описанными выше, при совместном влиянии которых наблюдался эффект синергизма, выраженный в усилении интегральных токсических эффектов.

Интегральные токсические эффекты почв, загрязненных окситетрациклином и тилозином, оказались ниже токсических эффектов водных растворов этих антибиотиков при тех же концентрациях. По-видимому, это связано с высоким коэффициентом сорбции тилозина и окситетрациклина, вследствие чего они являются неподвижными, сильно связываются с компонентами почвы и труднее усваиваются растениями, в отличие от бензилпенициллина, характеризующегося низким коэффициентом сорбции (таблица 2).

Кроме того, различия в воздействии растворов антибактериальных препаратов и загрязненных антибиотиками почв, может быть связано с ролью почвенной микробиоты в прорастании и развитии тестируемых видов растений, что обусловлено широкой распространенностью растительно-микробных симбиозов.

Выводы к главе

1. Растворы антибиотиков оказывают видоспецифичное токсическое влияние на растения в ювенильной стадии развития. Эффекты воздействия зависят от группы антибиотика и его концентрации. Наименее токсичный для обеих тест-культур – β -лактамный бензилпенициллин. Наиболее токсичными являются окситетрациклин и его смеси с другими антибиотиками. Тилозин, относящийся к группе макролидов, проявляет сильное токсическое воздействие на пшеницу и слабое на кресс-салат.

2. Наиболее чувствительный параметр к воздействию антибиотиков – прорастание корней, наименее чувствительный – всхожесть.

3. Пшеница мягкая озимая (*Triticum aestivum* L.), относящаяся к классу однодольных, более чувствительна к растворам антибиотиков в сравнении с двудольным кресс-салатом (*Lepidium sativum*).

4. При воздействии смесей антибиотиков на растения, проявляются как эффекты синергизма, так и эффекты антагонизма, зависящие вида растения, сочетания препаратов и их концентраций.

5. Влияние антибиотиков приводит к изменению координации роста тест-организмов, различающегося в зависимости от концентрации и физико-химических свойств препаратов и вида растений.

6. Комбинированное воздействие растворов антибактериальных препаратов с растворами солей тяжелых металлов приводит к изменению токсических эффектов в сравнении с индивидуальным влиянием поллютантов, и зависит от состава используемой смеси. Наиболее токсичной на ранних стадиях онтогенеза для мягкой озимой пшеницы является смесь окситетрациклина с сульфатом меди, наименее токсичной – смесь окситетрациклина с нитратом свинца. Наиболее токсичной для кресс-салата на ранних стадиях онтогенеза является смесь окситетрациклина с нитратом свинца, наименее токсичными – смеси сульфата никеля с бензилпенициллином и тилозином.

7. При загрязнении дерново-подзолистой почвы, наибольшее токсическое воздействие на культивируемую пшеницу оказал бензилпенициллин, наименьшее – смесь трех антибиотиков.

8. Сравнение результатов фитотестирования растворов антибактериальных препаратов с исследованиями почв, загрязненных теми же антибиотиками, демонстрирует различия в эффектах воздействий.

9. Подвергшаяся воздействию антибактериальных препаратов дерново-подзолистая почва оказывает токсическое влияние на развитие культивируемой пшеницы, что может способствовать снижению урожайности сельскохозяйственных угодий, загрязненных антибиотиками.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ВОЗДЕЙСТВИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА СТРУКТУРУ ПОЧВЕННОГО МИКРОБИОМА И ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ

4.1. Структура микробиома почв

В результате обработки полученных при секвенировании данных идентифицировано 132272 ридов (>30000 ридов на образец). После проверки качества и фильтрации в абсолютном соотношении выявлено: 3205, 3042, 3693, 4500 нуклеотидных последовательностей в контрольном образце (проба 1), при загрязнении бензилпенициллином (проба 2), окситетрациклином (проба 3) и тилозином (проба 4), соответственно. Всего выявлено 201 операционных таксономических единицы, из которых 40 уникальные (т.е. ОТЕ, информация о которых отсутствует в базе данных). Количество ОТЕ на образец, а также индексы Шеннона, Симпсона, Chao1, Филогенетическое разнообразие Фейта представлены в таблице 18.

Таблица 18. Метрики альфа-разнообразия

Почвенные пробы	Количество ОТЕ	Индекс Chao1	Индекс Шеннона	Индекс Симпсона	Филогенетическое разнообразие Фейта
1	186	189,8	4,74	0,90	7,91
2	191	199	5,21	0,95	7,77
3	194	202	4,90	0,92	8,01
4	197	201,9	4,49	0,88	7,92

Для проведения количественной оценки охваченной части микробиома каждого почвенного образца, использовали отношение числа выявленных ОТЕ к индексу Chao1, оценивающего теоретически возможное количество видов/ОТЕ в исследуемом микробиоме. Охват популяции составил более 95% теоретически

рассчитанного истинного разнообразия микробиома. Статистический анализ индекса Chao1 демонстрирует отсутствие значительного разнообразия теоретического числа видов / ОТЕ в исследуемом микробиоме.

Индекс Шеннона характеризует бактериальное разнообразие микробиома. В четырех пробах величина данного индекса колебалась в пределах 4,49–5,21. Полученные результаты свидетельствуют о высоком видовом разнообразии сообществ во всех исследованных выборках. Статистический анализ показывает отсутствие значительной изменчивости таксономической структуры при загрязнении почвы антибиотиками.

Индекс Симпсона указывает на доминирование тех или иных представителей сообщества. При анализе проб его значения варьировали от 0,88 до 0,95, что свидетельствует о высоком разнообразии прокариотических сообществ во всех исследованных выборках. Статистический анализ демонстрирует равномерное распределение без преобладания каких-либо представителей.

Индекс филогенетического разнообразия Фейта представляет собой сумму длин ветвей филогенетического дерева, объединяющего все виды исследуемой выборки, и отражает продолжительность эволюционной истории в данном наборе видов. Значения индекса находились в диапазоне 7,7–8,0, демонстрируя отсутствие каких-либо значимых изменений структуре микробных сообществ с точки зрения филогенетического родства.

На рисунке 40 представлена зависимость разнообразия микробиома в виде выявленных ОТЕ от выборочного усилия (количества просеквенированных нуклеотидных последовательностей).

Соотношение между разнообразием бактериальных сообществ на уровне рода и выборочным усилием свидетельствует об адекватности выборочного усилия для отражения теоретически возможного разнообразия в связи с тем, что при количестве ридов 2000 на образец, количество выявленных ОТЕ почти выходит на плато.

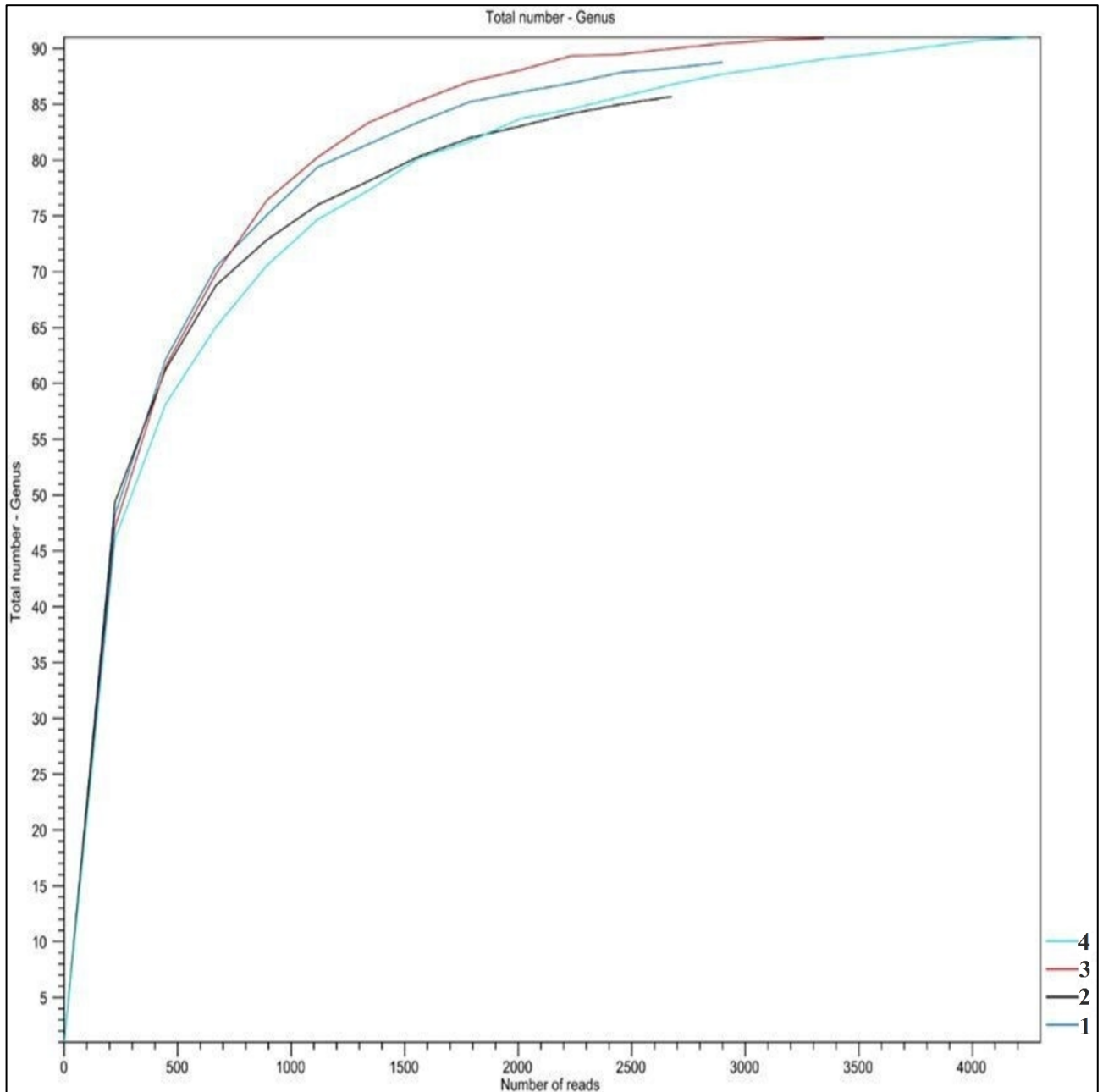


Рисунок 40. Кривая соотношения между разнообразием бактериальных сообществ на уровне рода и выборочным усилением. Цветные линии на графике соответствуют образцам почв: 1 – необработанная почва (контроль), 2 – почва, обработанная бензилпенициллином, 3 – почва, обработанная окситетрациклином, 4 – почва, обработанная тилозином

Результаты сравнения динамики изменений обилия представителей микробиоты по сгруппированным операционным таксономическим единицам представлены на рисунке 41.

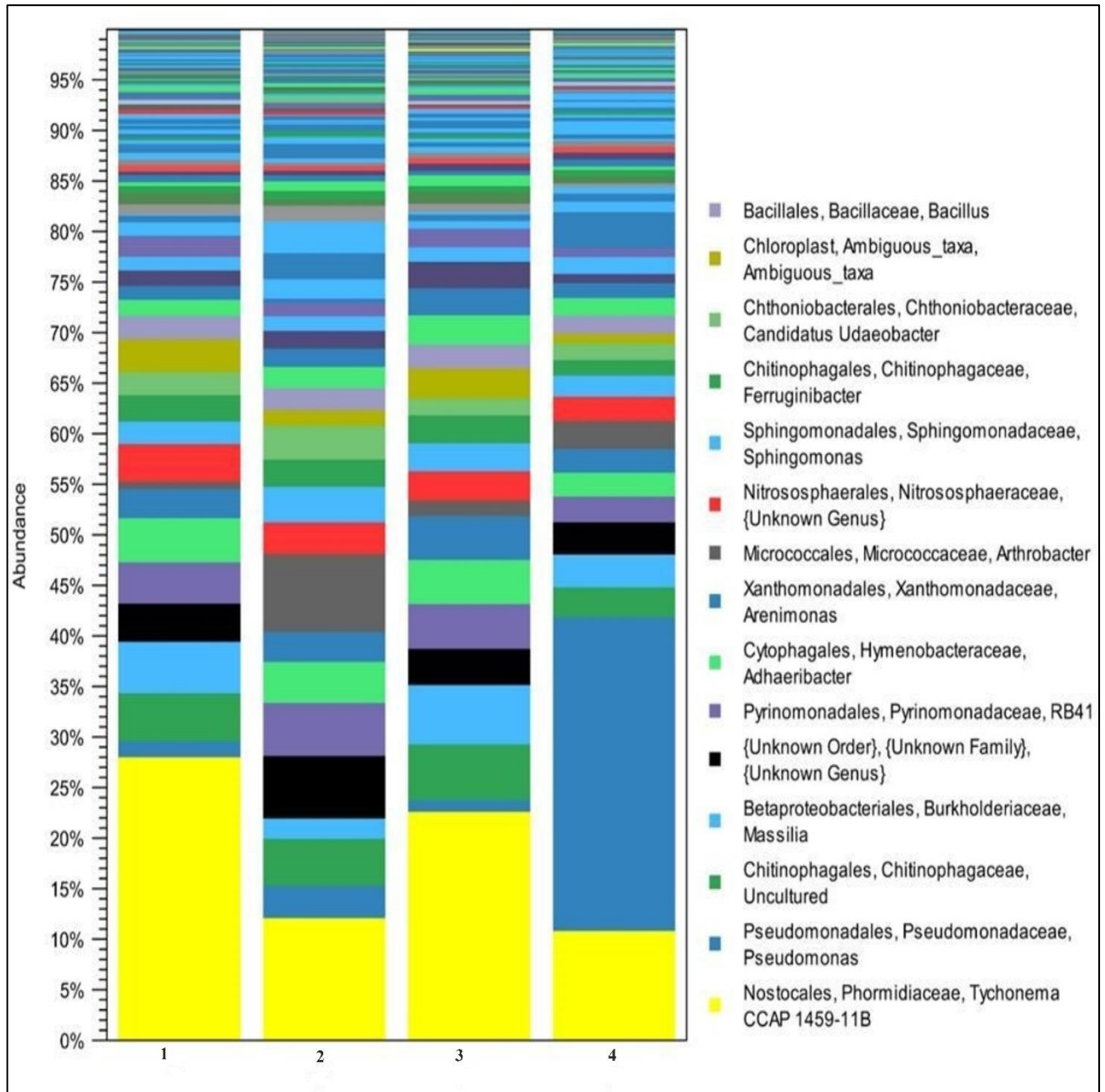


Рисунок 41. Графическое сравнение обилия бактерий на уровне рода по исследованным образцам. Ось ординат отображает обилие (Abundance) в %. Цифрами по оси абсцисс обозначены образцы почв: 1 – необработанная почва (контроль), 2 – почва, обработанная бензилпенициллином, 3 – почва, обработанная окситетрациклином, 4 – почва, обработанная тилозином

Метагеномный анализ 16S рРНК выявил преобладание грамотрицательных бактерии р. *Tychonema* (о. *Nostocales*), бактерий р. *Pseudomonas*. В незначительных количествах присутствовали также сем. *Chitinophagaceae* (о.

Chitinophagales), р. *Arthrobacter* (о. *Micrococcales*), р. *Massilia* (о. *Betaproteobacteriales*), р. *Lysobacter* и р. *Arenimonas* (о. *Xanthomonadales*), в меньшей степени представителей археи сем. *Nitrososphaeraceae* (о. *Nitrososphaerales*). Доминирующей бактерией в контроле, а также образцах, загрязненных бензилпенициллином и тилозином, оказались р. *Tychonema* (о. *Nostocales*). В почве, содержащей тилозин, преобладали бактерии р. *Pseudomonas*.

На рисунке 42 представлена тепловая карта динамики различий в обилии бактерий среди тестируемых образцов. Для компактности ОТЕ сгруппированы на таксономическом уровне отряда.

Тепловая карта демонстрирует, что численность отдельных представителей исследуемых микробиомов варьирует в зависимости от применяемого антибактериального препарата. Для каждого почвенного образца наблюдается собственная таксономическая композиция обилия, филогенетически родственная между собой. В контрольном образце преобладают бактерии о. *Nostocales*, о. *Frankiales*, о. *Gaielleles*, о. *Opitutales*, и археи о. *Nitrososphaerales*. Для пробы, загрязненной бензилпенициллином, характерны две группы, состоящие из бактерий о. *Pyrinomonadales*, о. *Solibacterales*, о. *Gemmatimonadales*, о. *Microtrichiales* и о. *Chitinobacterales*, о. *Streptomycetales*, о. *Sphingomonadales*, о. *Rhizobiales*, о. *Micrococcales*, о. *Pseudonocardiales*. Для почвы, содержащей окситетрациклин, доминирующими бактериям являлись о. *Sphingobacterales*, о. *Blastocatellales*, о. *Caulobacterales*, о. *Xanthomonadales*, о. *Chitinophagales*, о. *Steroidobacterales*. В образце, загрязненном тилозином, преобладали о. *Pseudomonadales*, о. *Gammaproteobacteria*, о. *Pedosphaerales*, о. *Bacillales*, о. *Azospirillales*.

Несмотря на видимые на рисунках 41–42 различия в структуре микробиомов в исследуемых образцах, статистически значимых изменений в составе микробиома не выявлено ($p > 0,05$).

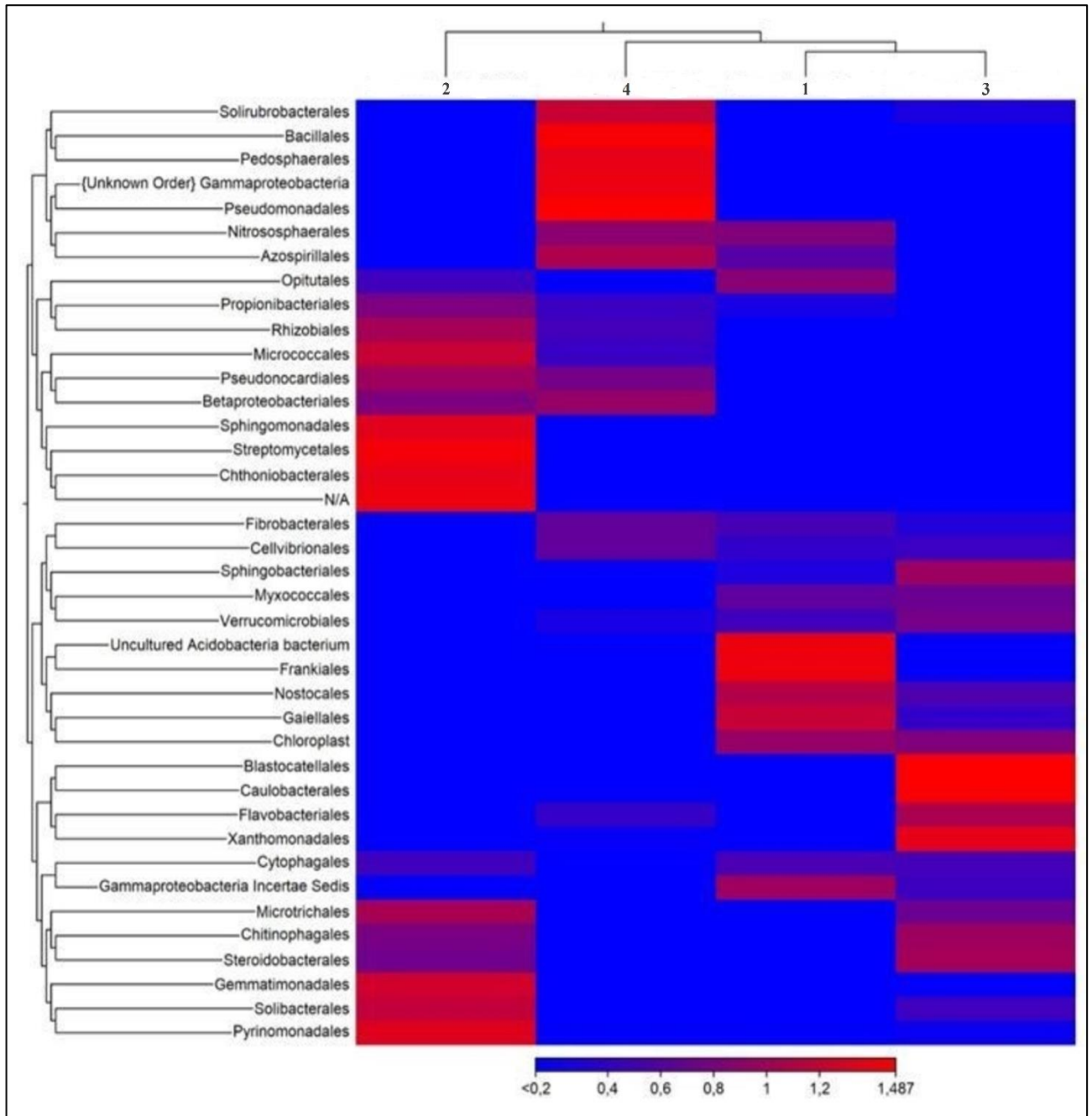


Рисунок 42. Тепловая карта динамики обилия бактерий на уровне отряда. Сверху указаны почвенные образцы (загрязненная бензилпенициллином, тилозином, незагрязненная почва (контроль), загрязненная окситетрациклином) соответственно: 2, 4, 1, 3

На рисунке 43 представлены данные анализа главных компонент (РСоА) почвенных образцов.

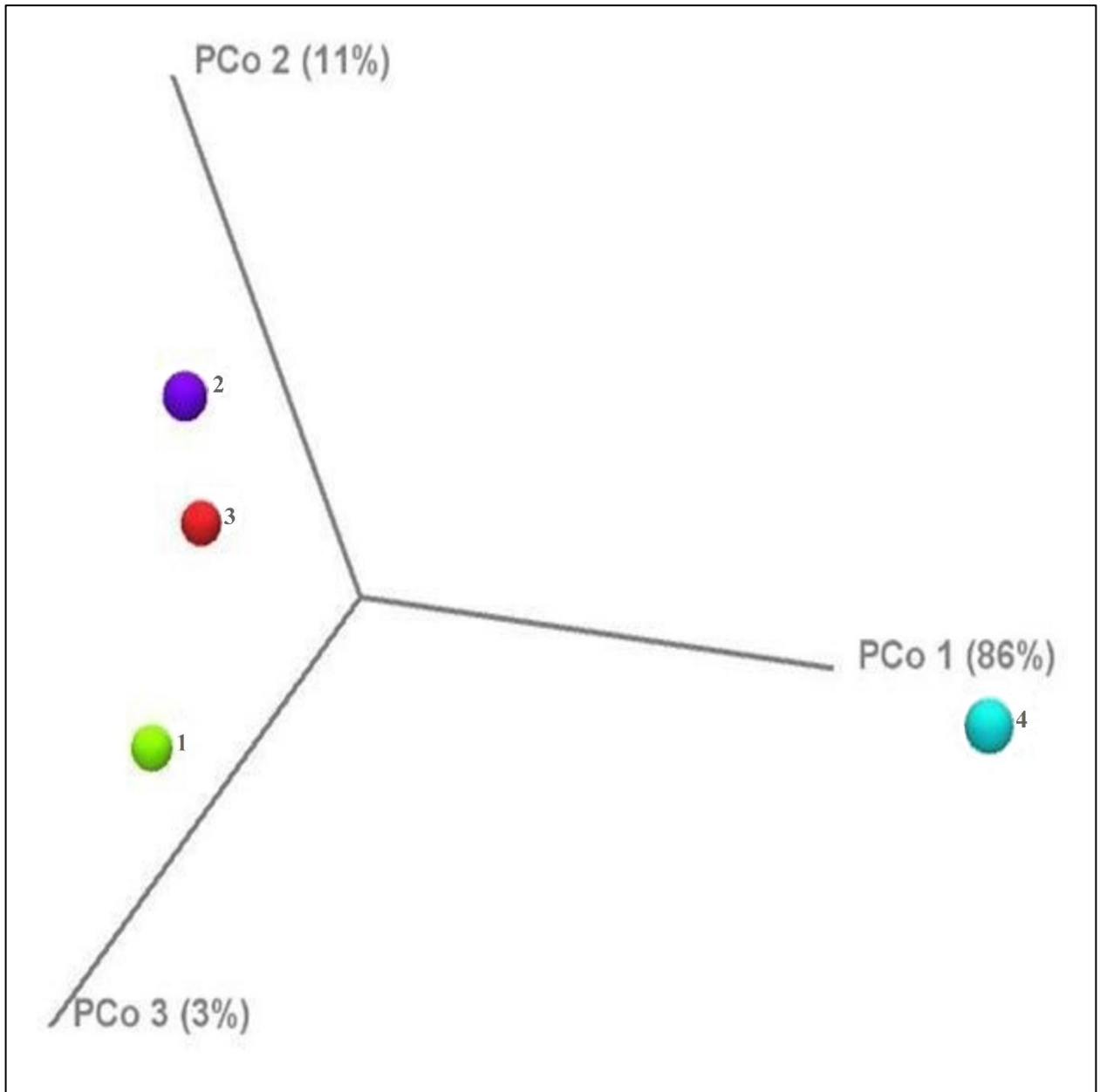


Рисунок 43. Анализ главных компонент (PCoA) микробиомов контрольного и обработанных антибиотиками образцов почвы. Цифрами обозначены образцы почв: 1 – необработанная почва (контроль), 2 – почва, обработанная бензилпенициллином, 3 – почва, обработанная окситетрациклином, 4 – почва, обработанная тилозином

Анализ главных компонент демонстрирует различие кластера микробиома образца 4 (при воздействии тилозина) от контрольной пробы (образец 1) и проб, загрязненных бензилпенициллином (образец 2) и окситетрациклином (образец 3).

Однако статистически значимых изменений в структуре микробиомов не выявлено ($p > 0,05$).

Таким образом, структура бактериальных сообществ исследованных проб статистически значимо не отличалась по видовому или филогенетическому разнообразию, доминированию какого-либо таксона ($p > 0,05$), что демонстрирует устойчивость почвенных сообществ в ответ на воздействие используемых антибиотиков. Основные таксономические группы бактерий не претерпевают значимых изменений ($p > 0,05$), но меняется их обилие в образце. К таким группам относятся о. *Nostocales* и р. *Massilia* (сем. *Burkholderiaceae*). В контрольном образце (проба 1) в незначительных количествах присутствовали археи, тогда как в почвах, обработанных антибактериальными препаратами (пробы 2–4) они не были обнаружены. Доминирование бактерий р. *Pseudomonas* в пробе, содержащей тилозин (проба 4) (рисунок 41) и отличие кластера данного микробиома (рисунок 43) в сравнении с пробами 1, 2, 3 может быть связано с широким спектром действия тилозина и содержанием в составе используемого препарата дополнительных веществ (пропиленгликоль и гидроксиметилбензол), обладающих антисептическими свойствами. Однако отличие данных показателей не было статистически значимым ($p > 0,05$).

Метагеномное профилирование по 16S рРНК показало доминирование грамотрицательных бактерий рода *Tychoonema* в необработанной почве, которое сохранилось при обработке бензилпенициллином и окситетрациклином, однако при загрязнении тилозином композиция микробиома сместилась в сторону доминирования бактерий рода *Pseudomonas*.

4.2. Ферментативная активность почв

4.2.1. Каталазная активность

Результаты корреляционного анализа зависимости каталазной активности почв от концентрации антибиотиков представлены в таблице 19.

Графики зависимостей каталазной активности дерново-подзолистой и серой лесной почв от концентраций антибактериальных препаратов представлены на рисунках 44 и 45 соответственно.

Таблица 19. Результаты корреляционного анализа зависимости каталазной активности почв от концентрации антибиотиков

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)	
	Дерново-подзолистая почва	Серая лесная почва
Бензилпенициллин	r=0,7425; p=0,014	r=0,2610; p=0,466
Окситетрациклин	r=-0,6756; p=0,032	r=0,2535; p=0,480
Тилозин	r=0,0876; p=0,810	r=-0,5672; p=0,087
Окситетрациклин + Бензилпенициллин	r=-0,8044; p=0,005	r=-0,8683; p=0,001
Бензилпенициллин + Тилозин	r=0,0685; p=0,851	r=0,2755; p=0,441
Окситетрациклин + Тилозин	r=-0,8494; p=0,002	r=-0,2572; p=0,473
Окситетрациклин + Бензилпенициллин + Тилозин	r=-0,6607; p=0,038	r=-0,8683; p=0,001

Каталазная активность контрольного образца дерново-подзолистой почвы составила $5,06 \pm 0,05$ мл O_2 /мин \times 1 г. Загрязнение бензилпенициллином оказывало дозозависимое стимулирующее влияние на активность фермента ($p < 0,05$, таблица 19). Комбинация трех антибиотиков, окситетрациклин, его бинарные смеси с тилозином и бензилпенициллином оказывали дозозависимое ингибирующее воздействие ($p < 0,05$, таблица 19). Наибольшее токсическое влияние выявлено для смеси окситетрациклина и тилозина (рисунок 44). При индивидуальном применении тилозина и его сочетании с бензилпенициллином,

корреляционный анализ не выявил значительных изменений исследуемого показателя ($p > 0,05$, таблица 19).

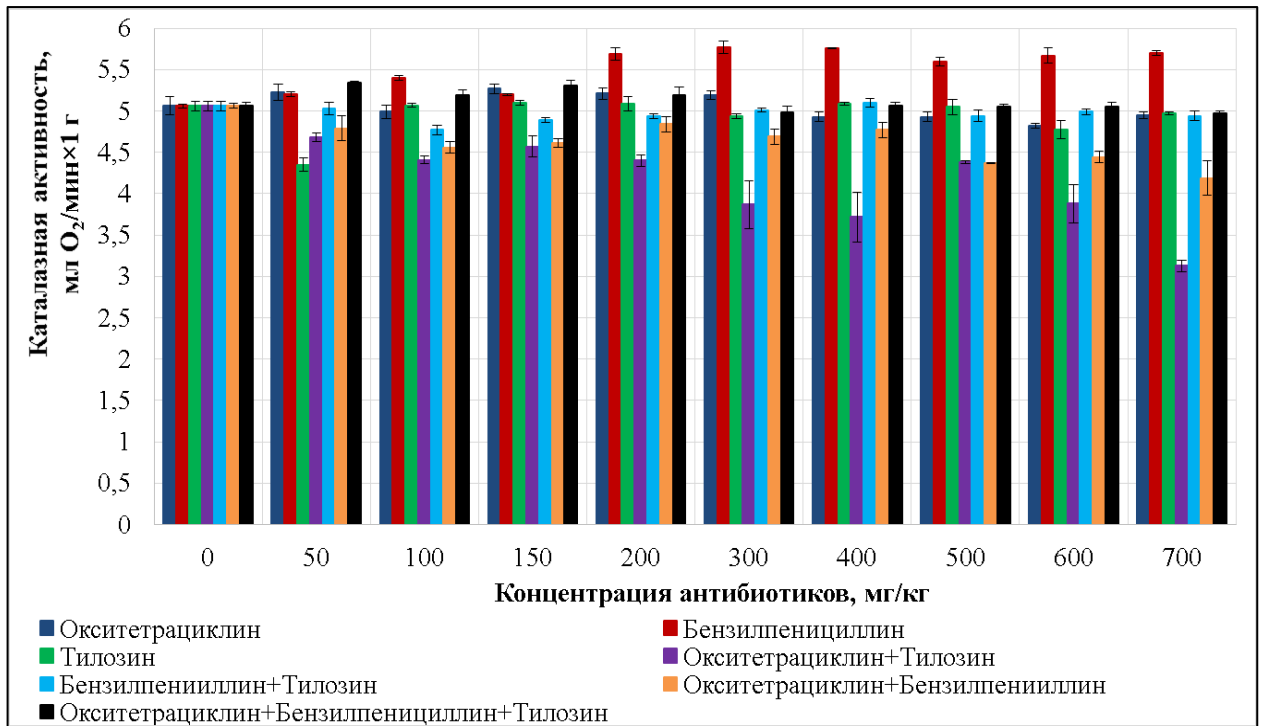


Рисунок 44. Зависимость каталазной активности дерново-подзолистой почвы от концентрации антибиотиков

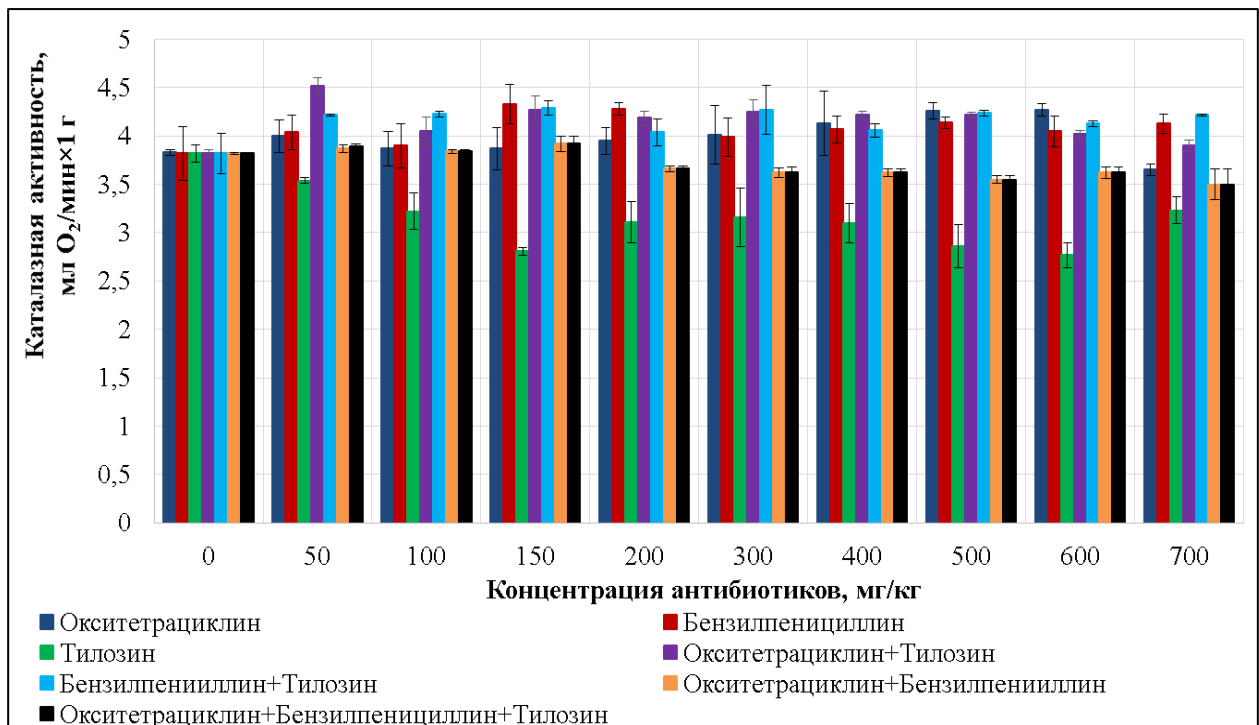


Рисунок 45. Зависимость каталазной активности серой лесной почвы от концентрации антибиотиков

Каталазная активность контрольного образца серой лесной почвы составила $3,82 \pm 0,05$ мл O_2 /мин \times 1 г. Тилозин оказывал ингибирующее воздействие, бензилпенициллин и его смесь с тилозином – стимулирующее, однако, корреляционной зависимости каталазной активности от концентраций препаратов выявлено не было ($p > 0,05$, таблица 19). Таким образом, результаты продемонстрировали антагонистическое воздействие бензилпенициллина и тилозина. Комбинация тилозина и окситетрациклина стимулировала каталазную активность ($p > 0,05$, таблица 19). Дозозависимое ингибирование установлено при загрязнении тройной смесью и комбинацией окситетрациклина с бензилпенициллином ($p < 0,05$, таблица 19).

Установленная способность бензилпенициллина стимулировать каталазную активность дерново-подзолистой почвы, может быть объяснена увеличением бактерий, обладающих каталазной активностью, относящихся к р. *Arthrobacter*, что подтверждается описанными выше результатами исследования структуры микробиома почв, загрязненных антибактериальными препаратами (рисунок 41).

Таким образом, полученные результаты демонстрируют изменения каталазной активности почв в ответ на воздействие антибактериальных препаратов, зависящее как от агрохимических свойств почв, так и от физико-химических свойств и концентраций антибиотиков.

Графики зависимости каталазной активности дерново-подзолистой почвы от концентрации металлов при совместном воздействии антибактериальных препаратов и солей тяжелых металлов представлены на рисунках 46–48.

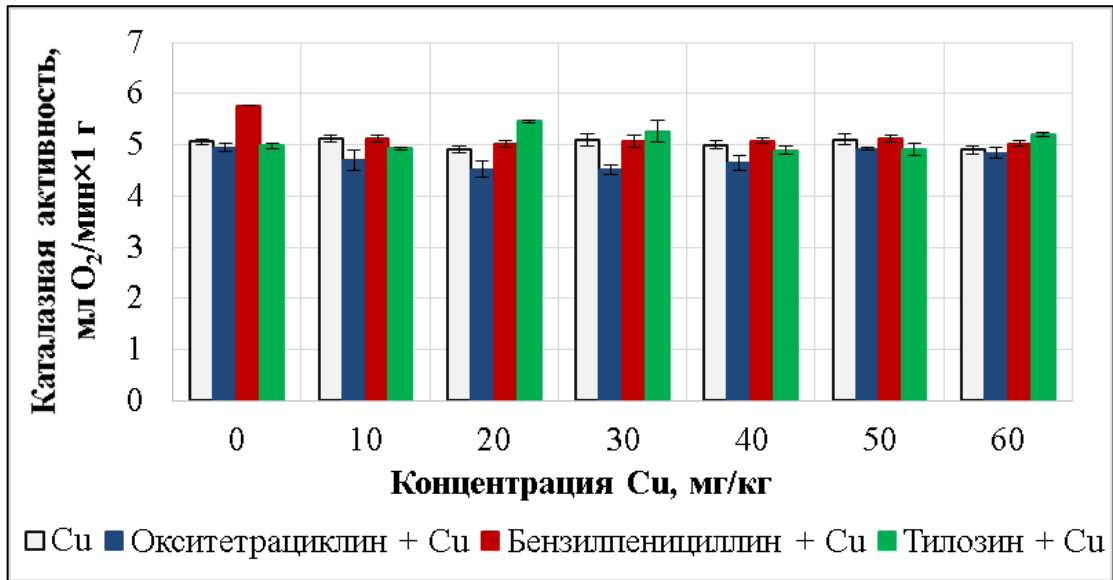


Рисунок 46. Зависимость каталазной активности дерново-подзолистой почвы от концентрации меди в смеси с антибиотиками

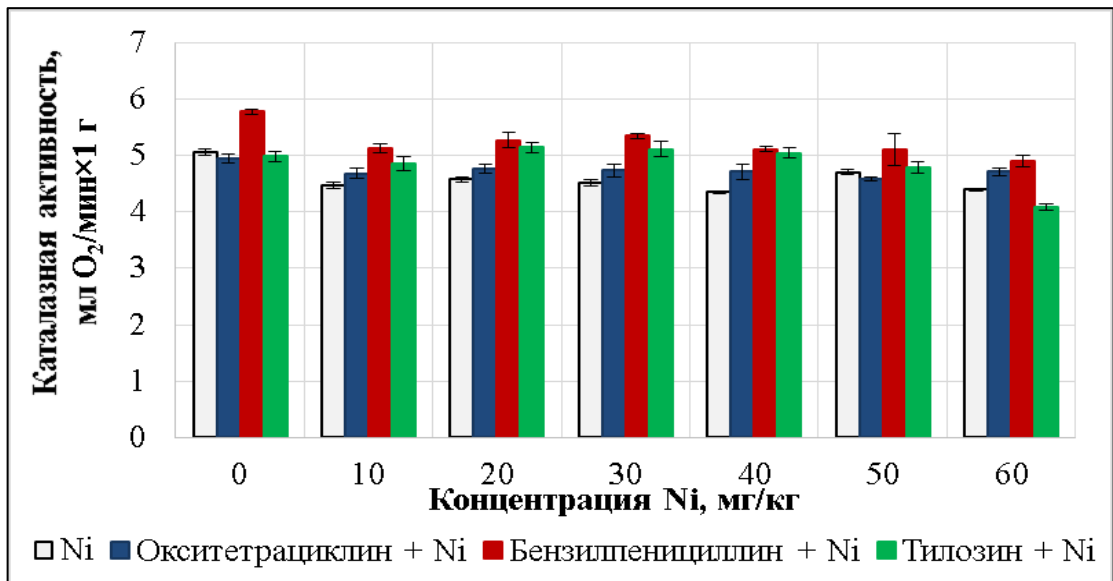


Рисунок 47. Зависимость каталазной активности дерново-подзолистой почвы от концентрации никеля в смеси с антибиотиками

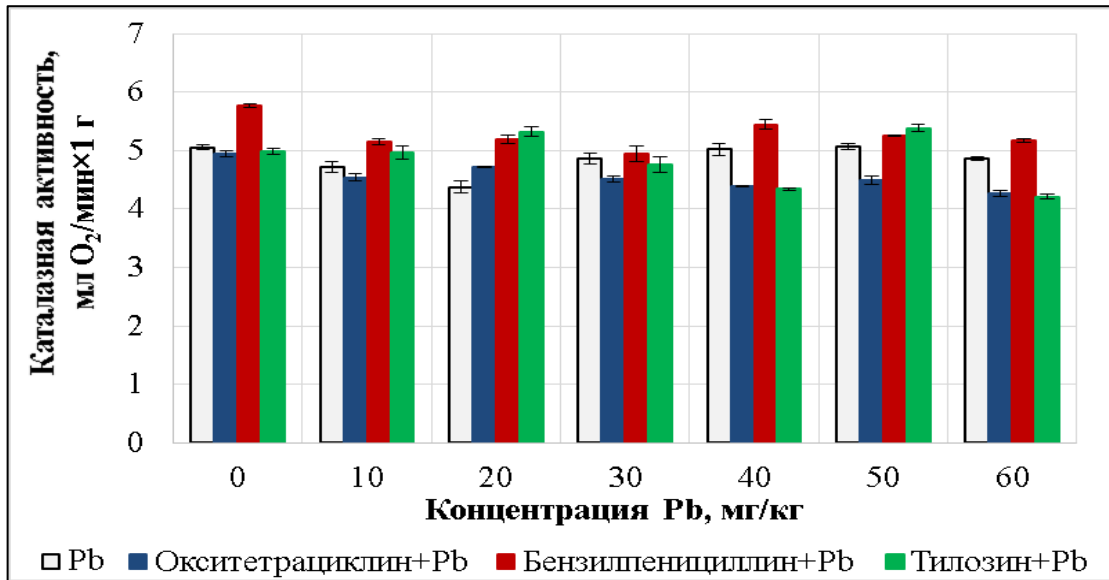


Рисунок 48. Зависимость каталазной активности дерново-подзолистой почвы от концентрации свинца в смеси с антибиотиками

Результаты корреляционного анализа зависимости каталазной активности дерново-подзолистой почвы от концентрации растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками представлены в таблице 20.

Установлено, что индивидуальное воздействие растворов солей тяжелых металлов не оказывает дозозависимого влияния на каталазную активность исследуемой почвы ($p > 0,05$, таблица 20). Выявлено антагонистическое воздействие сульфата никеля по отношению к эффекту стимуляции каталазной активности бензилпенициллином, описанному ранее, что проявлялось в дозозависимом ингибировании данного показателя при увеличении концентрации соли металла в смеси ($p < 0,05$, таблица 20). Также установлено ингибирование каталазной активности, зависящее от концентрации нитрата свинца при загрязнении почвы смесью данной соли и 700 мг/кг окситетрациклина ($p < 0,05$, таблица 20), что говорит об усилении ингибирующего действия антибиотика при увеличении концентрации нитрата свинца в почве. Таким образом, эффекты комбинированного воздействия изученных смесей зависят от свойств как антибиотиков, так и используемых солей металлов.

Таблица 20. Результаты корреляционного анализа зависимости каталазной активности дерново-подзолистой почвы от концентрации растворов солей тяжелых металлов в смеси с антибиотиками

Смеси растворов антибиотиков и солей тяжелых металлов	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)
CuSO ₄	r= -0,3535; p=0,437
NiSO ₄	r=-0,55565; p=0,194
Pb(NO ₃) ₂	r=0,2426; p=0,600
Бензилпенициллин + NiSO ₄	r=-0,7816; p=0,038
Бензилпенициллин + CuSO ₄	r=-0,6355; p=0,125
Бензилпенициллин + Pb(NO ₃) ₂	r=-0,3829; p=0,397
Окситетрациклин + NiSO ₄	r=-0,6690; p=0,100
Окситетрациклин + CuSO ₄	r=0,1024; p=0,827
Окситетрациклин + Pb(NO ₃) ₂	r=-0,8496; p=0,016
Тилозин + NiSO ₄	r=-0,6203; p=0,137
Тилозин + CuSO ₄	r=0,0176; p=0,970
Тилозин + Pb(NO ₃) ₂	r=-0,4189; p=0,350

4.2.2. Целлюлозолитическая активность

Результаты корреляционного анализа зависимости целлюлозолитической активности почв от концентрации антибиотиков представлены в таблице 21.

Графики зависимости целлюлозолитической активности дерново-подзолистой и серой лесной почв от концентрации антибактериальных препаратов представлены на рисунках 49–50 соответственно.

Таблица 21. Результаты корреляционного анализа зависимости целлюлозолитической активности почв от концентрации антибиотиков

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)	
	Дерново-подзолистая почва	Серая лесная почва
Бензилпенициллин	r=0,7887; p=0,007	r=0,1049; p=0,773
Окситетрациклин	r=0,6649; p=0,036	r=0,0467; p=0,898
Тилозин	r=-0,9034; p=0,000	r=-0,7050; p=0,023
Окситетрациклин + Бензилпенициллин	r=0,1673; p=0,644	r=-0,1470; p=0,685
Бензилпенициллин + Тилозин	r=-0,4705; p=0,170	r=-0,3937; p=0,260
Окситетрациклин + Тилозин	r=-0,9507; p=0,000	r=-0,8065; p=0,005
Окситетрациклин + Бензилпенициллин + Тилозин	r=-0,2942; p=0,409	r=-0,3944; p=0,259

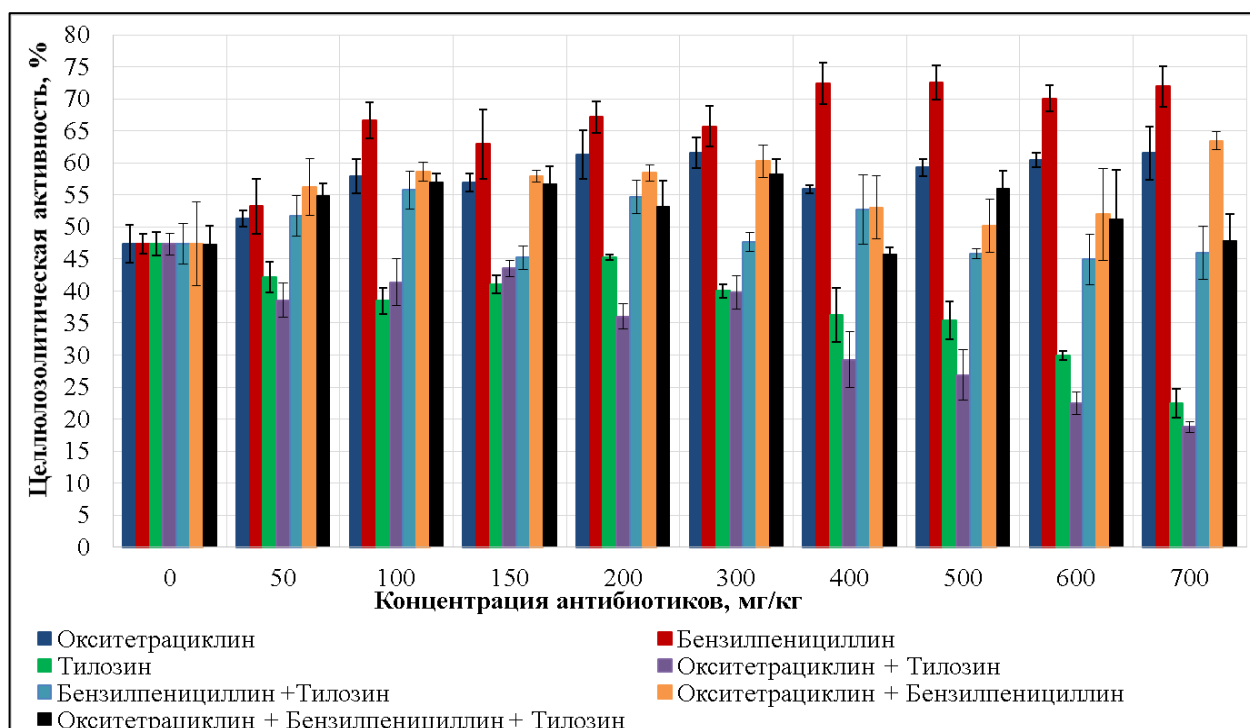


Рисунок 49. Зависимость целлюлозолитической активности дерново-подзолистой почвы от концентрации антибиотиков

Целлюлозолитическая активность контрольного образца дерново-подзолистой почвы составила $47,35\% \pm 2,11\%$. Дозозависимое увеличение данного показателя выявлено при загрязнении почвы бензилпенициллином и окситетрациклином ($p < 0,05$, таблица 21). Смесь бензилпенициллина и окситетрациклина также стимулировала активность целлюлазы, но это воздействие не являлось дозозависимым ($p > 0,05$, таблица 21). Дозозависимое снижение исследуемого показателя установлено при загрязнении тилозином и его смесью с окситетрациклином ($p < 0,05$, таблица 21). Комбинация бензилпенициллина с тилозином оказывала незначительное стимулирующее влияние на активность фермента при 50–200 мг/кг и ингибирующее при 500–700 мг/кг, смесь трех антибиотиков усиливала целлюлозолитическую активность дерново-подзолистой почвы при всех концентрациях, кроме 400 мг/кг и 700 мг/кг. Корреляционных зависимостей целлюлозолитической активности дерново-подзолистой почвы от концентраций смесей бензилпенициллина с тилозином и трех антибиотиков выявлено не было ($p > 0,05$, таблица 21).

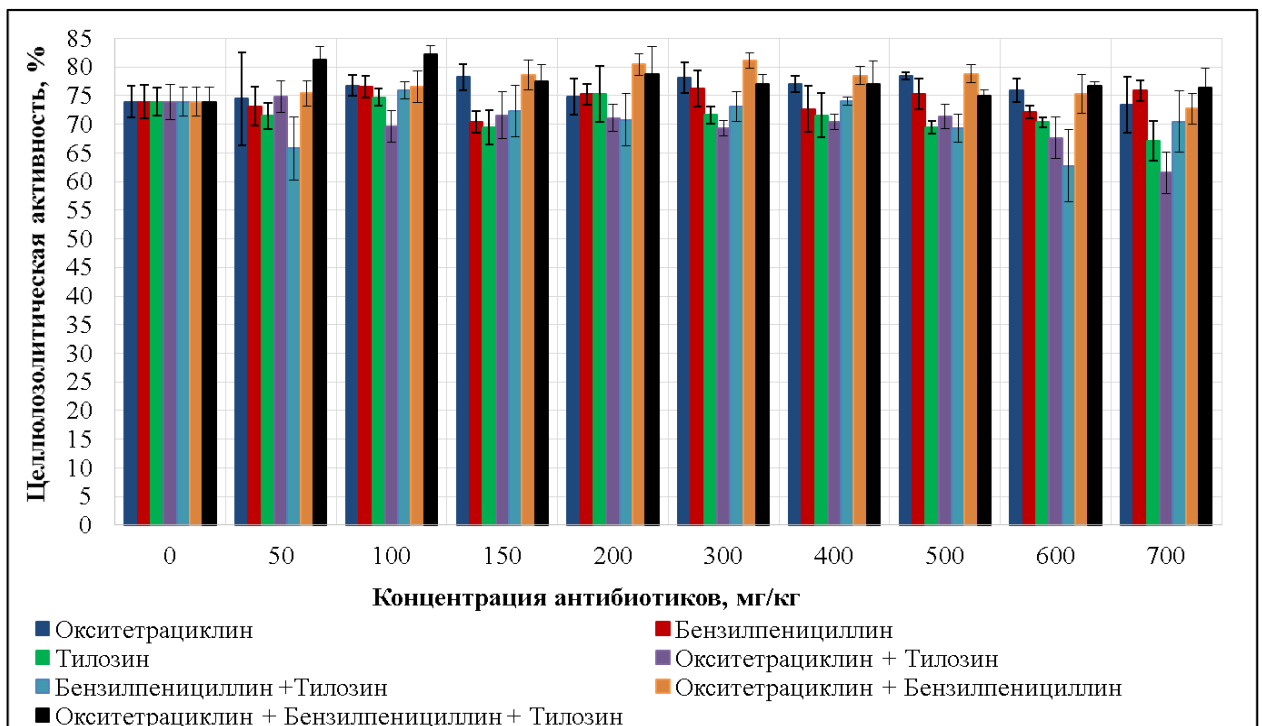


Рисунок 50. Зависимость целлюлозолитической активности серой лесной почвы от концентрации антибиотиков

Целлюлозолитическая активность контрольного образца серой лесной почвы составила $73,96\% \pm 2,67\%$. Таким образом, исследуемая серая лесная почва характеризуется более высокой целлюлозолитической активностью в сравнении с дерново-подзолистой, что может быть связано с более высоким содержанием гумуса и близкой к нейтральной реакции среды. Полученные данные также демонстрируют большую устойчивость целлюлозолитической активности серой лесной почвы в сравнении с дерново-подзолистой в ответ на загрязнение антибиотиками. Статистически значимое дозозависимое снижение целлюлозолитической активности установлено при загрязнении тилозином и его смеси окситетрациклином ($p < 0,05$, таблица 21). Незначительное увеличение активности фермента установлено при воздействии окситетрациклина, его смеси с бензилпенициллином при 50–600 мг/кг и смеси трех антибиотиков на всем диапазоне концентраций, однако корреляционной зависимости целлюлозолитической активности от концентрации данных препаратов не установлено, также не выявлено зависимости от концентраций бензилпенициллина и его смеси с тилозином ($p > 0,05$, таблица 21).

Увеличение целлюлозолитической активности при воздействии антибактериальных препаратов, может быть связано с преобладающей ролью грибов в процессе разрушения клетчатки. Данные организмы не относятся к спектру действия используемых антибиотиков, что, вероятно, приводило к увеличению грибной биомассы на фоне уменьшения бактериальной биомассы, в связи с чем целлюлозолитическая активность не подверглась значительным изменениям. Более того, грибы способны использовать убитых бактерий в качестве дополнительного источника энергии и обладают способностью к детоксикации, в следствии чего являются более устойчивыми к воздействию токсических веществ, в сравнении с другими организмами. Соотношение грибов к бактериям в почве увеличивается с повышением pH, и является более высоким для серых лесных почв в сравнении с дерново-подзолистыми, что может объяснить большую устойчивость целлюлозолитической активности серой лесной

почвы в данном исследовании. Ингибирующий эффект тилозина может быть обусловлен наличием в составе используемого препарата дополнительных веществ, таких как пропиленгликоль и гидроксиметилбензол, усиливающих его антисептическое воздействие как по отношению к бактериям, так и грибам. А также, предположительно, связано с установленными изменениями в составе бактериального сообщества в сторону преобладания бактерий р. *Pseudomonas* (рисунок 41) и отличием кластера данного микробиома от других образцов (рисунок 43). Однако данные показатели не являлись статистически значимыми ($p > 0,05$, таблица 21).

4.2.3. Нитрифицирующая активность

Результаты корреляционного анализа зависимости нитрифицирующей активности почв от концентрации антибиотиков представлены в таблице 22.

Таблица 22. Результаты корреляционного анализа зависимости нитрифицирующей активности почв от концентрации антибиотиков

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)	
	Дерново-подзолистая почва	Серая лесная почва
Бензилпенициллин	r=0,6959; p=0,025	r=-0,3011; p=0,398
Окситетрациклин	r=-0,6375; p=0,047	r=-0,0626; p=0,864
Тилозин	r=-0,7245; p=0,018	r=-0,6920; p=0,027
Окситетрациклин + Бензилпенициллин	r=0,2671; p=0,456	r=-0,8228; p=0,003
Бензилпенициллин + Тилозин	r=-0,9573; p=0,000	r=-0,8014; p=0,005
Окситетрациклин + Тилозин	r=-0,9458; p=0,000	r=-0,5175; p=0,126
Окситетрациклин + Бензилпенициллин + Тилозин	r=-0,8771; p=0,001	r=-0,8210; p=0,004

График зависимости нитрифицирующей активности дерново-подзолистой почвы от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 51.

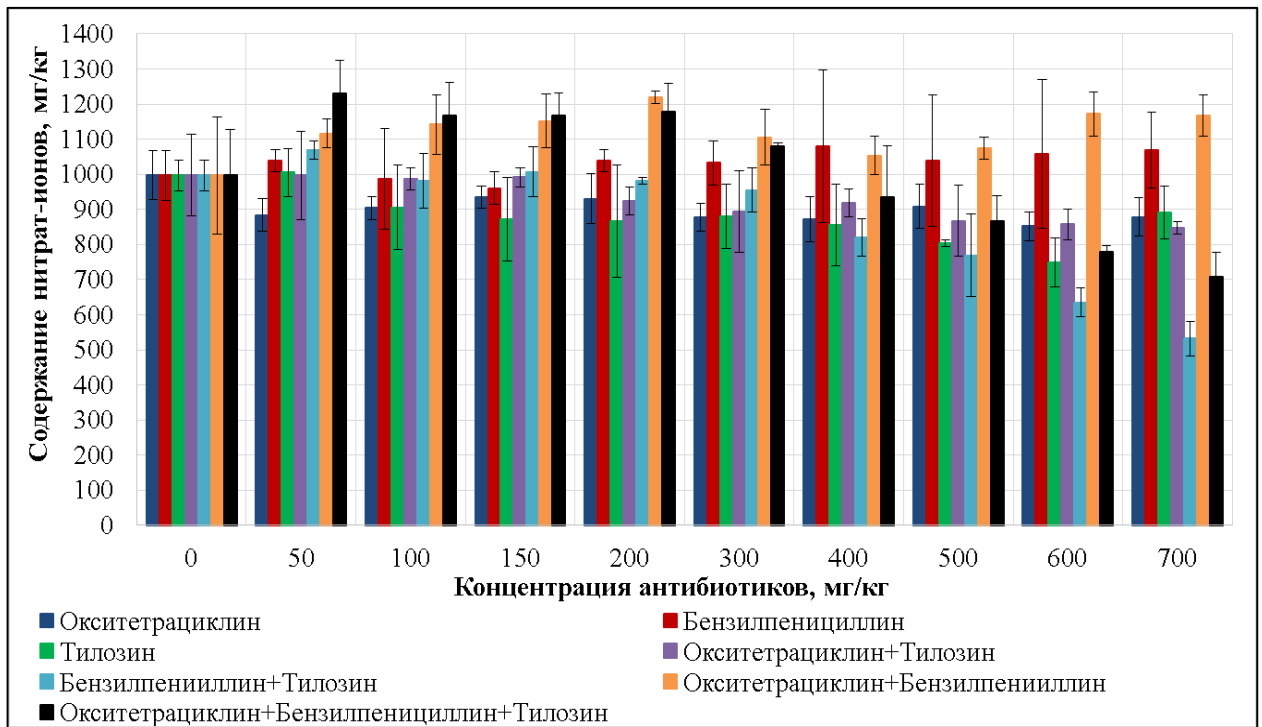


Рисунок 51. Зависимость нитрифицирующей активности дерново-подзолистой почвы от концентрации антибиотиков

Содержание нитрат-ионов в контрольном образце составило $996,7 \pm 53,04$ мг/кг. Дозозависимое увеличение нитрифицирующей активности дерново-подзолистой почвы выявлено при загрязнении бензилпенициллином ($p < 0,05$, таблица 22). Зависящее от концентрации препаратов ингибирование исследуемого показателя установлено при воздействии окситетрациклина, тилозина, их смеси, а также комбинации бензилпенициллина с тилозином ($p < 0,05$, таблица 22). При воздействии смеси окситетрациклина с бензилпенициллином наблюдалось усиление нитрифицирующей активности дерново-подзолистой почвы, однако, оно не являлось дозозависимым ($p > 0,05$, таблица 22). Кроме того, усиление процесса нитрификации было отмечено при загрязнении 50–300 мг/кг тройной смеси

антибиотиков, однако, увеличение концентрации препаратов вызывало дозозависимое снижение нитрификации ($p < 0,05$, таблица 20).

График зависимости нитрифицирующей активности серой лесной почвы от концентрации антибактериальных препаратов представлен на рисунке 52.

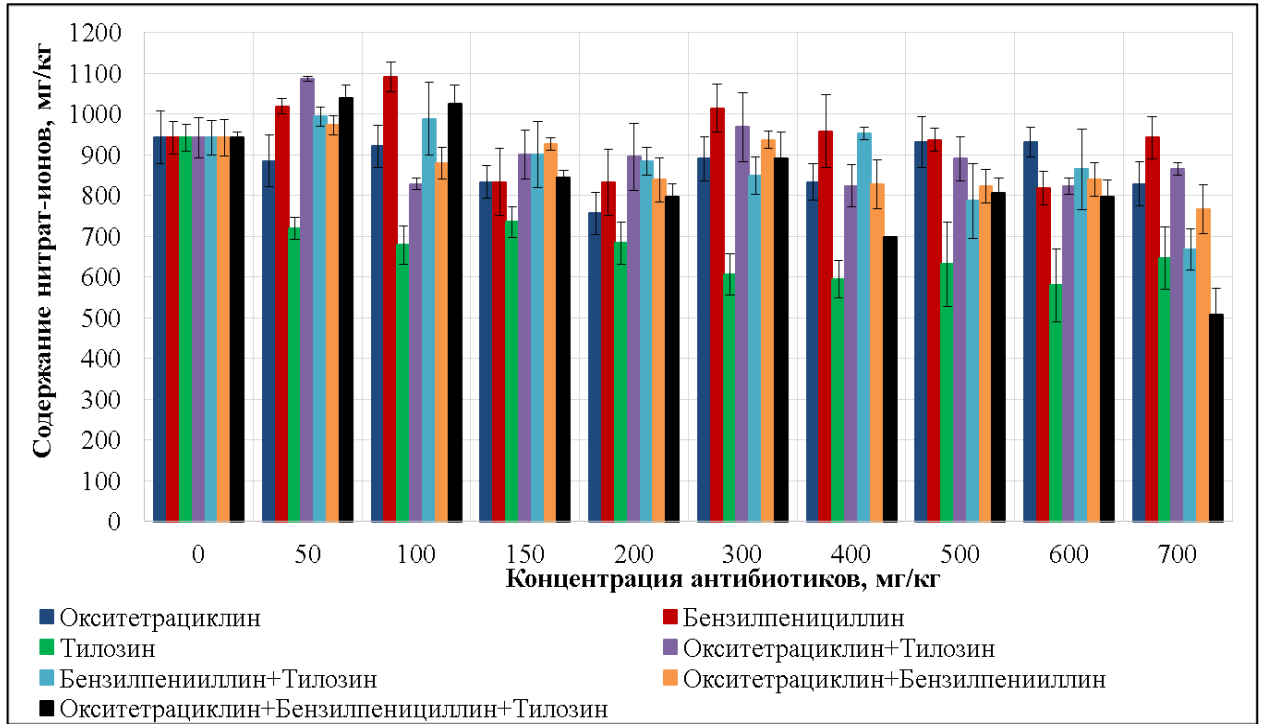


Рисунок 52. Зависимость нитрифицирующей активности серой лесной почвы от концентрации антибиотиков

Содержание нитрат-ионов в контрольном образце составило $942,33 \pm 41,13$ мг/кг. Дозозависимое ингибирование нитрификации в серой лесной почве установлено при воздействии тилозина, его смеси с бензилпенициллином, комбинации трех антибиотиков, а также окситетрациклина с бензилпенициллином ($p < 0,05$, таблица 22). Однако отмечено повышение содержания нитрат-ионов в почве при концентрациях бензилпенициллина 50, 100, 300 мг/кг, бинарных смесей (окситетрациклина с тилозином, бензилпенициллина с тилозином, окситетрациклина с бензилпенициллином) при 50 мг/кг, комбинации трех антибиотиков при 50 мг/кг и 100 мг/кг.

Таким образом, установленная нитрифицирующая активность дерново-подзолистой почвы превышает данный показатель серой лесной почвы, что может быть связано с более высоким содержанием нитрат-ионов (таблица 1), как следствие, с большим содержанием нитрифицирующих организмов.

Результаты исследования структуры микробиома дерново-подзолистой почвы, загрязненной антибактериальными препаратами выявили, что нитрифицирующие организмы были представлены археями семейства *Nitrososphaeraceae* (рисунок 41). Таким образом, повышение нитрат-ионов при воздействии бензилпенициллина может быть связано с его эффективностью против грамположительных бактерий и невозможностью подавлять нитрифицирующие микроорганизмы. Более широкий спектр действия окситетрациклина и тилозина способствовал снижению нитрифицирующей активности. Снижение нитрификации в почве под действием тилозина также можно объяснить увеличением в составе микробиоты бактерий р. *Pseudomonas*, участвующих в процессах денитрификации (рисунок 41).

4.2.4. Уреазная активность

Результаты корреляционного анализа зависимости уреазной активности почв от концентрации антибиотиков представлены в таблице 23.

Графики зависимости уреазной активности дерново-подзолистой и серой лесной почв от концентрации антибактериальных препаратов представлены на рисунках 53–54 соответственно.

Таблица 23. Результаты корреляционного анализа зависимости уреазной активности почв от концентрации антибиотиков

Антибиотики	Коэффициент корреляции Пирсона (r), доверительный интервал (p)	
	Дерново-подзолистая почва	Серая лесная почва
Бензилпенициллин	r=-0,3337; p=0,346	r=-0,6983; p=0,025
Окситетрациклин	r=-0,7525; p=0,012	r=-0,1625; p=0,654
Тилозин	r=-0,4443; p=0,198	r=-0,3536; p=0,316
Окситетрациклин + Бензилпенициллин	r=-0,5670; p=0,087	r=-0,1594; p=0,660
Бензилпенициллин + Тилозин	r=-0,2160; p=0,549	r=-0,0798; p=0,827
Окситетрациклин + Тилозин	r=-0,7121; p=0,021	r=-0,7240; p=0,018
Окситетрациклин + Бензилпенициллин + Тилозин	r=-0,5432; p=0,105	r=-0,0673; p=0,853

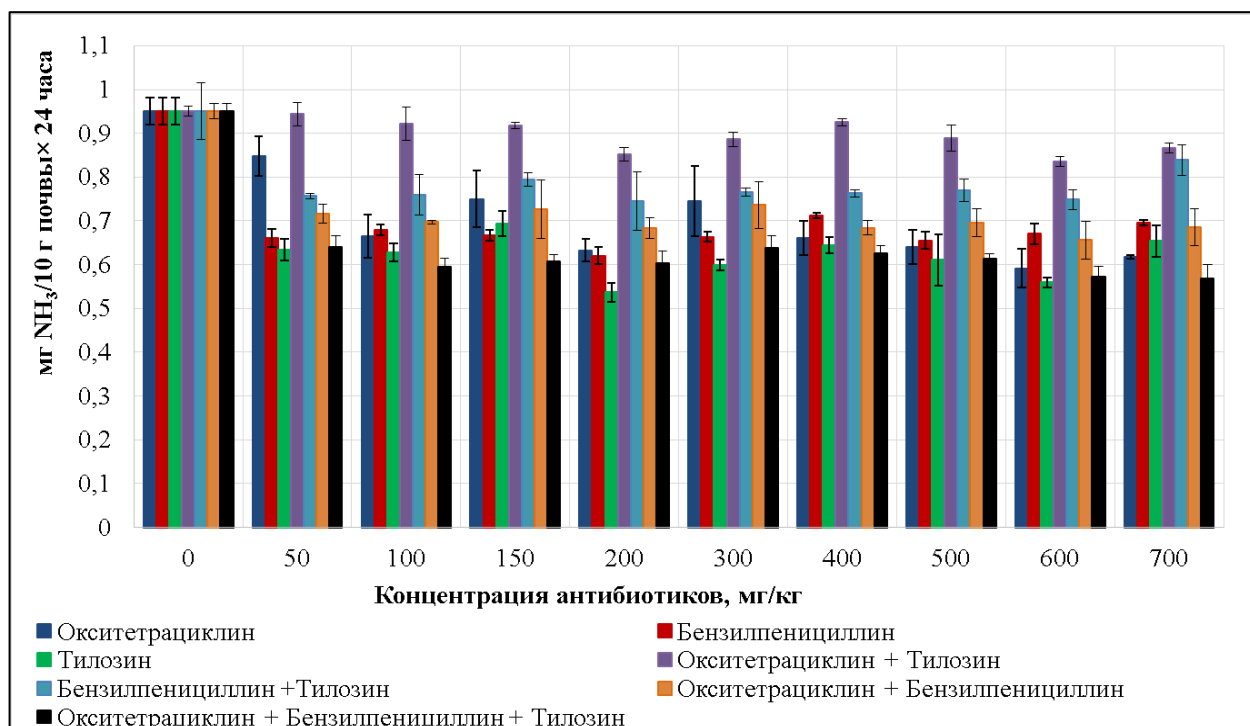


Рисунок 53. Зависимость уреазной активности дерново-подзолистой почвы от концентрации антибиотиков

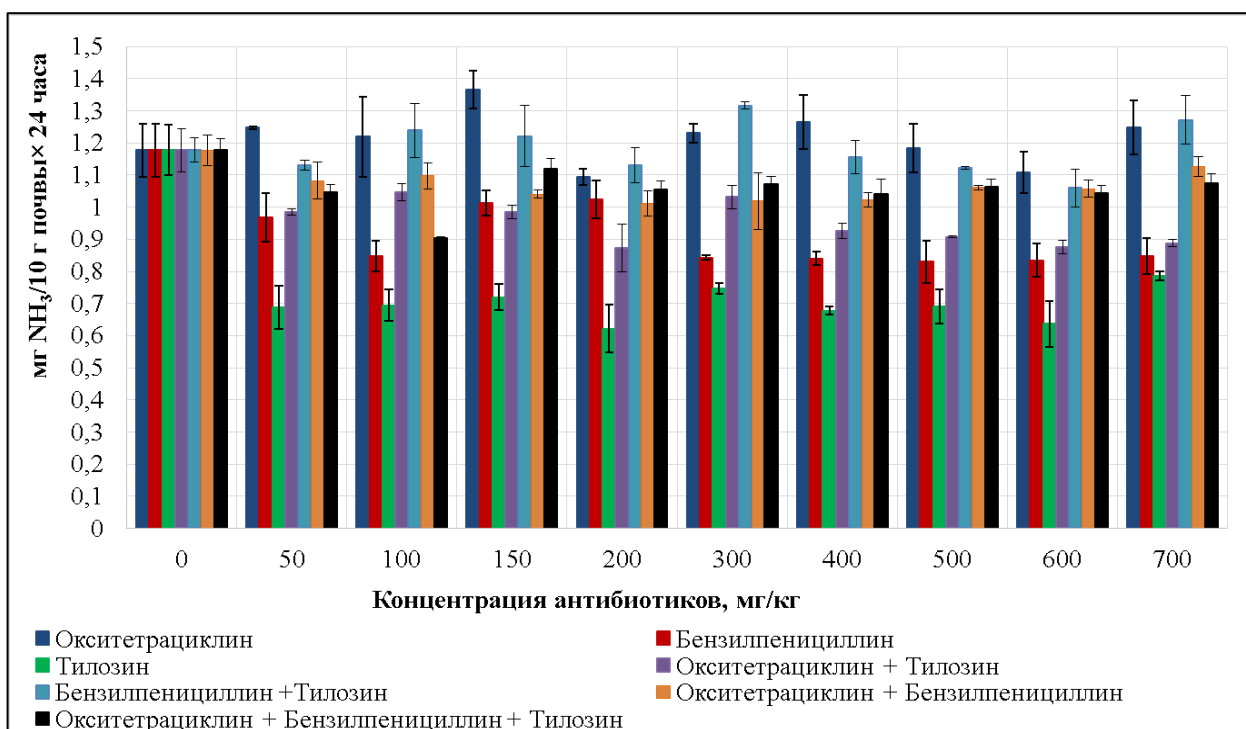


Рисунок 54. Зависимость уреазной активности серой лесной почвы от концентрации антибиотиков

По степени обогащенности уреазой дерново-подзолистая почва характеризовалась как очень бедная с содержанием аммиака 0,951 г/10 г почвы×24 часа. Загрязнение антибиотиками приводило к ингибированию уреазной активности, являющемуся дозозависимым при применении окситетрациклина и его смеси с тилозином ($p < 0,05$, таблица 23). Наибольшее снижение, демонстрирующее эффект синергизма, установлено при воздействии смеси трех препаратов, однако оно не было дозозависимым ($p > 0,05$, таблица 23). Не установлено корреляционных зависимостей уреазной активности дерново-подзолистой почвы от концентрации бензилпенициллина, его бинарных смесей с окситетрациклином и тилозином ($p > 0,05$, таблица 23).

По степени обогащенности уреазой серая лесная почва характеризовалась как очень бедная с содержанием аммиака 1,178 г NH₃/10 г почвы×24 часа. Дозозависимое снижение активности фермента установлено при загрязнении бензилпенициллином и смесью окситетрациклина с тилозином ($p < 0,05$, таблица 23). Ингибирующее воздействие также было выявлено при воздействии тилозина,

смеси окситетрациклина с бензилпенициллином и комбинации трех антибиотиков, однако оно не являлось дозозависимым ($p > 0,05$, таблица 23). Наибольшее токсическое воздействие было характерно при внесении тилозина. Окситетрациклин и смесь бензилпенициллина с тилозином проявляли незначительное, как стимулирующее, так и ингибирующее влияние, в зависимости от внесенной дозы. Корреляционных зависимостей уреазной активности серой лесной почвы от концентраций окситетрациклина и смеси бензилпенициллина с тилозином не выявлено ($p > 0,05$, таблица 23).

Таким образом, установленная уреазная активность серой лесной почвы превышает данный показатель дерново-подзолистой почвы, что может быть связано с более высоким содержанием аммонийного азота (таблица 1), как следствие, с большим содержанием организмов, осуществляющих процесс разложения карбамида.

Результаты исследования антибактериальных препаратов на уреазную активность дерново-подзолистой и серой лесной почв демонстрируют преимущественно ингибирующее воздействие антибиотиков.

Незначительное повышение уреазной активности серой лесной почвы при воздействии окситетрациклина при 50–500 мг/кг и 700 мг/кг и смеси бензилпенициллина с тилозином при 100, 150, 300, 700 мг/кг может быть объяснено возможностью почвенной микрофлоры использовать антибактериальные препараты в качестве источника углерода.

Сравнение результатов воздействия антибиотиков на исследуемые дерново-подзолистую и серую лесную почвы демонстрирует различный ответ. Более высокие значения уреазной активности, рН, содержание органического углерода и аммиачного азота в контрольном образце серой лесной почвы могли способствовать большей устойчивости к воздействию вносимых препаратов.

Ингибирование уреазной активности может быть связано с изменением содержания архей семейства *Nitrososphaeraceae*, представители которых способны использовать мочевины в качестве субстрата, что подтверждается описанными выше результатами исследования структуры микробиома почв,

загрязненных антибактериальными препаратами (рисунок 41). Однако уменьшение содержания этих микроорганизмов не оказало значительного влияния на композицию микробиома почвы в связи с их низким содержанием.

Ингибирование активности уреазы может привести к снижению содержания минерального азота, увеличению фитотоксичного цианата аммония, а повышение – к потерям азота из почвы в составе аммиака. В целом изменение активности данного фермента способно оказывать негативное влияние на химический состав почвы, нарушая азотный цикл и снижая плодородие.

Выводы к главе

1. Исследование структуры прокариотического сообщества дерново-подзолистой почвы в ответ на воздействие 200 мг/кг бензилпенициллина, окситетрациклина, тилозина демонстрирует его устойчивость.

2. Метагеномное профилирование по 16S рРНК выявило доминирование грамотрицательных бактерий рода *Tychotheta* в контрольной почве, а также при обработке бензилпенициллином и окситетрациклином. Загрязнение тилозином привело к смещению композиции микробиома в сторону доминирования бактерий рода *Pseudomonas*. Структура бактериальных сообществ дерново-подзолистой почвы в контроле и при воздействии антибиотиков статистически значимо не отличается по видовому или филогенетическому разнообразию, доминированию какого-либо таксона ($p > 0,05$). Основные таксономические группы бактерий не претерпевают значимых изменений ($p > 0,05$), однако меняется их обилие.

3. Загрязнение антибактериальными препаратами приводит к изменению ферментативной активности дерново-подзолистой и серой лесной почв.

4. Наименее токсичным для энзиматических показателей антибактериальным препаратом является β -лактамный бензилпенициллин, характеризующийся наименьшим спектром воздействия, и оказывающий дозозависимое стимулирование каталазной, целлюлозолитической и

нитрифицирующей активностей дерново-подзолистой почвы. Макролид тилозин проявляет выраженное токсическое влияние на ферментативные процессы, являющееся дозозависимым для целлюлозолитической и нитрифицирующей активностей обеих почв. Окситетрациклин стимулирует целлюлозолитическую активность и ингибирует каталазную, нитрифицирующую, уреазную активности дерново-подзолистой почвы.

5. Дерново-подзолистая почва, характеризующаяся более кислой реакцией среды, меньшим содержанием гумуса и подвижных форм калия, менее устойчива к воздействию антибиотиков по исследуемым показателям ферментативной активности в сравнении с серой лесной почвой.

6. Комбинированное воздействие растворов антибиотиков и солей тяжелых металлов на каталазную активность дерново-подзолистой почвы оказывает антагонистическое воздействие сульфата никеля по отношению к эффекту стимуляции каталазной активности бензилпенициллином и усиление ингибирующего действия окситетрациклина при увеличении концентрации нитрата свинца в почве.

ВЫВОДЫ

1. Влияние антибактериальных препаратов на развитие однодольных и двудольных растений на начальном этапе онтогенеза различается в зависимости от группы антибиотика. Растворы антибиотиков оказывают видоспецифичное токсическое влияние на растения в ювенильной стадии развития. Эффекты воздействия зависят от группы препарата и его концентрации. Наименее токсичный для обеих тест-культур – β -лактамный бензилпенициллин. Наиболее токсичными являются окситетрациклин и его смеси с другими антибиотиками. Тилозин, относящийся к группе макролидов, проявляет сильное токсическое воздействие на пшеницу и слабое на кресс-салат.

2. Эффекты воздействий растворов антибиотиков и почв, загрязненных теми же препаратами, отличаются. При загрязнении дерново-подзолистой почвы, наибольшее токсическое воздействие на культивируемую пшеницу оказал бензилпенициллин, наименьшее – смесь трех антибиотиков. Данные результаты демонстрируют некорректность прямой экстраполяции эффектов фитотоксичности антибиотиков на почвы, загрязненные антибиотиками.

3. Антибиотики различных групп по-разному воздействуют на ферментативную активность почвы. Дерново-подзолистая почва менее устойчива к загрязнению антибактериальными препаратами в сравнении с серой лесной почвой по энзиматическим показателям. Наименее токсичным является β -лактамный бензилпенициллин, оказывающий дозозависимое стимулирование каталазной, целлюлозолитической и нитрифицирующей активностей дерново-подзолистой почвы. Макролид тилозин проявляет выраженное дозозависимое токсическое влияние на целлюлозолитическую и нитрифицирующую активность обеих почв. Окситетрациклин стимулирует целлюлозолитическую активность и ингибирует каталазную, нитрифицирующую, уреазную активности дерново-подзолистой почвы.

4. Метагеномное профилирование по 16S рРНК показало доминирование грамотрицательных бактерий рода *Tychonema* в контрольном

образце почвы, которое сохранилось при обработке бензилпенициллином и окситетрациклином, однако, при загрязнении тилозином, композиция микробиома сместилась в сторону доминирования бактерий рода *Pseudomonas*.

5. Несмотря на способность антибиотиков изменять показатели ферментативной активности дерново-подзолистой почвы, выявлена устойчивость структуры её прокариотического сообщества. Вероятно, почва, как природное биокосное тело, способна поддерживать свою микробную структуру, даже несмотря на довольно сильное внешнее воздействие, что говорит о её высокой саморегулирующей способности.

6. Комбинированное воздействие растворов антибактериальных препаратов с растворами солей тяжелых металлов приводит к изменению фитотоксических эффектов индивидуального влияния поллютантов, зависящему от состава смеси. Выявлено антагонистическое воздействие сульфата никеля по отношению к эффекту стимуляции каталазной активности бензилпенициллином и усиление ингибирующего действия окситетрациклина при увеличении концентрации нитрата свинца в почве.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акименко, Ю. В. Влияние загрязнения антибиотиками на биологические свойства чернозема обыкновенного : монография / Ю. В. Акименко, К. Ш. Казеев, С. И. Колесников. – Ростов-на-Дону : Изд-во Южного федерал. ун-та, 2015. – 154 с. – ISBN 978-5-9275-1797-8.
2. Акименко, Ю. В. Экологические последствия загрязнения чернозема антибиотиками : монография / Ю. В. Акименко, К. Ш. Казеев, С. И. Колесников. – Ростов-на-Дону : Изд-во Южного федерал. ун-та, 2013. – 120 с. – ISBN 978-5-9275-1185-3.
3. Алексеев, Ю. В. Тяжелые металлы в агроландшафте / Ю. В. Алексеев. – Санкт-Петербург: Изд-во ПИЯФ РАН, 2008. – 216 с. – ISBN 978-5-86763-213-7.
4. Алексеев, Ю. В. Тяжелые металлы в почвах и растениях / Ю. В. Алексеев. – Ленинград: Агропромиздат, 1987. – 142 с.
5. Ашихмина Т. Я. Микроорганизмы как агенты биомониторинга и биоремедиации загрязненных почв / Т.Я. Ашихмина, Л. И. Домрачева, Л. В. Кондакова; под общ. ред. Т. Я. Ашихминой, Л.И. Домрачевой. – Киров : Науч. изд-во ВятГУ, 2018. – 254 с. – ISBN 978-5-98228-170-8.
6. Водяницкий, Ю. Н. Загрязнение почв тяжелыми металлами / Ю. Н. Водяницкий, Д. В. Ладонин, А. Т. Савичев ; МГУ. – Москва : Типография Россельхозакадемии, 2012. – 304 с. – ISBN 978-5-85941-456-7.
7. Водяницкий, Ю. Н. Загрязнение почв тяжелыми металлами и металлоидами : монография / Ю. Н. Водяницкий . – Москва : Изд-во МГУ , 2017. – 191 с. – ISBN 978-5-904761-67-7.
8. Водяницкий, Ю. Н. Тяжелые и сверхтяжелые металлы и металлоиды в загрязненных почвах / Ю. Н. Водяницкий. – Москва: Изд-во Почвенного института им. В. В. Докучаева Россельхозакадемии, 2009. – 182 с. – ISBN 978-5-85941-327-0.

9. Воронина, Л. П. Оценка биологической активности промышленных гуминовых препаратов / Л. П. Воронина, О. С. Якименко, В. А. Терехова // *Агрохимия*. – 2012. – №6. – С. 45–52.
10. Вырасткова, К.А. Исследование природных изолятов микромицетов на целлюлозолитическую активность / К. А. Вырасткова, И. Г. Широких // *Advanced Science*. – 2017. – № 1 (5). – С. 2.
11. Грибная и бактериальная микробная биомасса (селективное ингибирование) и продуцирование CO₂ и N₂O дерново-подзолистыми почвами постагрогенных биогеоценозов / Н. Д. Ананьева, Е. В. Стольникова, Е. А. Сусьян, А. К. Ходжаева // *Почвоведение*. – 2010. – № 11. – С. 1387–1393.
12. Дабахов, М. В. Тяжелые металлы: экотоксикология и проблемы нормирования / М. В. Дабахов, Е. В. Дабахова, В. И. Титова. – Н. Новгород : Изд-во ВВАГС, 2005. – 165 с. – ISBN 5-85152-446-4.
13. Дмитриев, Е. А. Математическая статистика в почвоведении / Е. А. Дмитриев. – Москва: Изд-во МГУ, 1972. – 292 с.
14. Егоров, Н. С. Основы учения об антибиотиках : учеб. для студентов вузов / Н. С. Егоров. – 6-е изд., перераб. и доп. – Москва : Изд-во МГУ : Наука, 2004. – 524 с. – ISBN 5-211-04669-2.
15. Единый государственный реестр почвенных ресурсов России. Версия 1.0: коллективная монография. – Москва: Изд-во Почвенного ин-та им. В. В. Докучаева Россельхозакадемии, 2014. – 768 с.
16. Зинченко, М. К. Ферментативные процессы в серых лесных почвах Верхневолжья / М. К. Зинченко. – Иваново: Верхневолжский ФАНЦ, 2019. –140 с. – ISBN 978-5-6043342-0-1.
17. Зинченко, С. И. Почвы и растения / С. И. Зинченко, М. А. Мазиров, М. К. Зинченко. – Владимир: Транзит-Икс, 2008. – 284 с. – ISBN 978-5-8311-0387-8.
18. Ильин, В. Б. Тяжелые металлы и неметаллы в системе почва-растение / В. Б. Ильин ; отв. ред. А. И. Сысо ; Российская акад. наук, Сибирское отд-ние, Ин-т почвоведения и агрохимии. – Новосибирск : Изд-во Сибирского отд-ния РАН, 2012. – 220 с. – ISBN 978-5-7692-1229-1.

19. Ильин, В.Б. Тяжелые металлы в системе почва-растение / В. Б. Ильин. – Новосибирск : Наука, 1991. – 151 с. – ISBN 5-02-029422-5.
20. Казеев, К. Ш. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований / К. Ш. Казеев, С. И. Колесников, В. Ф. Вальков. – Ростов-на-Дону: Изд-во РГУ, 2003. – 216 с. – ISBN 5-9275-0065-X.
21. Каталог сортов зерновых и зернобобовых культур владимирского научно-исследовательского института сельского хозяйства Россельхозакадемии. – Суздаль : ГНУ ВНИИСХ, 2010. – 24 с.
22. Комаров, В. И. Агрехимическая и агроэкологическая характеристика почв сельскохозяйственного назначения Владимирской области / В. И. Комаров, К. Е. Барина. – Владимир, – 2008. – 179 с.
23. Ланчини, Д. Антибиотики: пер. с англ. / Д. Ланчини, Ф. Паренти. – Москва: Мир, 1985. – 272 с.
24. Лисовицкая, О.В. Фитотестирование: основные подходы, проблемы лабораторного метода и современные решения / О. В. Лисовицкая, В. А. Терехова // Доклады по экологическому почвоведению. – 2010. – №1, вып. 13. – С. 1–18.
25. Методика выполнения измерений всхожести семян и длины корней проростков высших растений для определения токсичности техногенно-загрязненных почв / Л. П. Капелькина, Т. В. Бардина, Л. Г. Бакина [и др.]. – Санкт-Петербург: «Фора-принт», 2009. – 19 с. (М-П-2006 ФР.1.39.2006.02264).
26. Методика измерений биологической активности гуминовых веществ методом фитотестирования (“Фитоскан”). ФР.1.31.2012.11560 / В. А. Терехова, О. С. Якименко, Л. П. Воронина, К. А. Кыдралиева. – Москва : Доброе слово, 2014. – 24 с.
27. Наплекова, Н. Н. Метаболиты аэробных целлюлозоразрушающих микроорганизмов и их роль в почвах / Н. Н. Наплекова ; под ред. Р. А. Цильке. – Новосибирск: Изд-во Новосибирского гос. аграрного ун-та, 2010. – 228 с.
28. Научные основы систем земледелия Владимирской области / И. В. Бирюков, О. А. Савмохина, С. М. Лукин, А. А. Григорьев; под общей ред. И. В. Бирюкова, С. И. Зинченко ; Российская академия сельскохозяйственных наук

(Россельхозакадемия) ; Владимирская область, Администрация, Департамент сельского хозяйства и продовольствия ; Государственное научное учреждение "Владимирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства" (ГНУ ВНИИСХ) – Владимир : ГНУ ВНИИСХ Россельхозакадемии, 2009 – 308 с. – ISBN 978-5-93907-044-7.

29. Николаева, О. В. Совершенствование лабораторного фитотестирования для экотоксикологической оценки почв / О. В. Николаева, В. А. Терехова // Почвоведение. – 2017. – № 9. – С. 1141–1152.

30. Окорков, В. В. Удобрения и плодородие серых лесных почв Владимирского ополья / В. В. Окорков. – Владимир: ВООО ВОИ, 2006. – 356 с. – ISBN 5-93907-024-8.

31. Основные микробиологические и биохимические методы исследования почвы: метод. рекомендации / под ред. Возняковской Ю.М. – Ленинград : ВНИИСХМ, 1987. – 47 с.

32. Оценка влияния антибиотиков ампициллина и тилозина на ферментативную активность дерново-подзолистой почвы и их токсичности для культурных растений / Трифонова, Т.А., Чеснокова, С.М., Космачева, А.Г.// Теоретическая и прикладная экология. – 2020. – № 2. – С. 150-156.

33. Оценка экологического состояния основных почв юга России в условиях загрязнения антибиотиками : монография / Ю. В. Акименко, О. В. Чуварарева, С. И. Колесников [и др.]. – Ростов-на-Дону; Таганрог : Изд-во Южного федерал. ун-та, 2019. – 114 с. – ISBN 978-5-9275-3247-6.

34. Применение фитотестирования для решения задач экологического почвоведения / В. А. Терехова, Л.П. Воронина, О.В. Николаева, [и др.] // Использование и охрана природных ресурсов в России. – 2016. – № 3. – С. 37–41.

35. Проворов, Н. А. Генетические основы эволюции растительно-микробного симбиоза / Н. А. Проворов, Н. И. Воробьев; ред. И.А. Тихонович. – Санкт-Петербург : Информ-Навигатор, 2012. – 400 с. – ISBN 978-5-9902181-6-1.

- 36.** Равин, Н. В. Метагеномика как инструмент изучения «некультивируемых» микроорганизмов / Н. В. Равин, А. В. Марданов, К. Г. Скрыбин // Генетика. – 2015. – Т. 51, № 5. – С. 519–528.
- 37.** Сазыкин, Ю. О. Антибиотики как ингибиторы биохимических процессов. / Ю. О. Сазыкин; АН СССР, Ин-т биохимии им. А. Н. Баха. – Москва : Наука, 1968. – 447 с.
- 38.** Сезонная динамика биомассы микроорганизмов в дерново-подзолистой почве / Д. А. Никитин, Т. И. Чернов, А. Д. Железова, [и др.] // Почвоведение. – 2019. – № 11. – С. 1356–1364.
- 39.** Сезонная динамика запасов и структуры микробной (бактериальной и грибной) биомассы в дерново-подзолистой почве / Д. А. Никитин, С. С. Комаристая, С. А. Никитина, [и др.] // Успехи медицинской микологии. – 2018. – Т. 19. – С. 39–42.
- 40.** Сидорович, М. М. Мониторинг воздействия факторов среды на рост и онтогенетическую координацию роста органов проростка пшеницы озимой методом фитотестирования / М. М. Сидорович, О. П. Кундельчук // Труды БГУ. – 2016. – Т. 11 – С. 170–178.
- 41.** Соотношение грибов и бактерий в биомассе разных типов почв, определяемое селективным ингибированием / Н. Д. Ананьева, Е. А. Сусьян, О. В. Чернова, [и др.] // Микробиология. – 2006. – Т. 25, №6. – С. 1–7.
- 42.** Столбова, В.В. Использование стандартных фитотестов для оценки токсичности городских почв со сложным ксенобиотическим профилем / В. В. Столбова, Г. И. Агапкина, Д. В. Берегела // Вестник Московского Университета. Серия 17. Почвоведение. – 2012. – №2. – С. 14–19.
- 43.** Терехова, В. А. Функционирование почв в меняющихся условиях окружающей среды / В. А. Терехова; отв. ред. С. А. Шоба. – Москва: ГЕОС, 2015. – 164 с. – ISBN 978-5-89118-690-3.
- 44.** Терехова, В.А. Биотестирование почв: подходы и проблемы / В.А. Терехова // Почвоведение. – 2011. – № 2. – С. 190–198.

- 45.** Терехова, В.А. Микروмицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем / В.А. Терехова ; Ин-т проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Ин-т экологического почвоведения МГУ. – Москва : Наука, 2007. – 215 с. – ISBN 5-02-034200-9.
- 46.** Титова, В. И. Изменение целлюлозолитической активности дерново-подзолистой супесчаной, светло-серой лесной легкосуглинистой и черноземной оподзоленной среднесуглинистой почв при их механическом нарушении / В.И. Титова, С.С. Шахов // Пермский аграрный вестник. – 2015. – №3 (11). – С. 32-37.
- 47.** Титова, В. И. Методы оценки функционирования микробоценоза почвы, участвующего в трансформации органического вещества: научно-метод. пособие / В. И. Титова, А. В. Козлов. – Нижний Новгород : Нижегородская с.-х. академия, 2012. – 64 с. – ISBN 978-5-903180-67-7.
- 48.** Тихонович, И. А. Симбиозы растений и микроорганизмов: молекулярная генетика агросистем будущего / И. А. Тихонович, Н. А. Проворов. – Санкт-Петербург : Изд-во СПб. ун-та, 2009. – 210 с. – ISBN 978-5-288-04883-8.
- 49.** Умаров, М. М. Микробиологическая трансформация азота в почве / М. М. Умаров, А. В. Кураков, А. Л. Степанов. – Москва: ГЕОС, 2007. – 138 с. – ISBN 5-89118-315-7.
- 50.** Хазиев, Ф. Х. Методы почвенной энзимологии / Ф. Х. Хазиев; Ин-т биологии Уфим. НЦ. – Москва: Наука, 2005. – 252 с. – ISBN 5-02-033940-7.
- 51.** Химическая энциклопедия. В 5 т. Т. 4: Пол-Три / гл. ред. Н. С. Зефирова.- М.: Большая Российская энциклопедия, 1995. - 638 с. – ISBN 5-85270-092-4.
- 52.** Чернов, Т. И. Метагеномный анализ прокариотных сообществ профилей почв Европейской части России : дис. ...канд. биолог. наук: 03.02.03 / Чернов Тимофей Иванович ; МГУ. – Москва, 2016. – 111 с.
- 53.** Черных, Н. А. Экологическая безопасность и устойчивое развитие. Кн. 5: Экотоксикологические аспекты загрязнения почв тяжелыми металлами / Н. А. Черных, Н. З. Милащенко, В. Ф. Ладонин. – Пушкино: ОНТИ ПНЦ РАН, 2001. – 148 с. – ISBN 5-201-14491-8.

- 54.** Шведова, Л.В. Миграция кадмия и свинца в растения при внесении в почву отработанного активного ила / Л. В. Шведова, А. П. Куприяновская, А. В. Невский // Экология и промышленность России. – 2004. – № 10. – С. 28–31.
- 55.** A review of plant-pharmaceutical interactions: from uptake and effects in crop plants to phytoremediation in constructed wetlands / P. N. Carvalho, M. C. P. Basto, C. M. R. Almeida, H. Brix // Environmental Science and Pollution Research International. – 2014. – Vol. 21. – P. 11729–11763.
- 56.** Acute impact of erythromycin and tetracycline on the kinetics of nitrification and organic carbon removal in mixed microbial culture / T. Katipoglu-Yazan, I. Pala-Ozkok, E. Ubay-Cokgor, D. Orhon // Bioresource Technology. – 2013. – Vol. 144. – P. 410–419.
- 57.** Adverse effects of erythromycin on the structure and chemistry of activated sludge / J. N. Louvet, C. Giammarino, O. Potier, M. N. Pons // Environmental Pollution. – 2010. – Vol. 158, iss. 3. – P. 688–693.
- 58.** Alterations in soil microbial activity and N-transformation processes due to sulfadiazine loads in pig-manure / A. Kotzerke, S. Sharma, K. Schauss, [et al.] // Environmental Pollution. – 2008. – Vol. 153, iss. 2. – P. 315–322.
- 59.** Alterations in total microbial activity and nitrification rates in soil due to amoxicillin-spiked pig manure / A. Kotzerke, M. Fulle, S. Sharma, [et al.] // Journal of Plant Nutrition and Soil Science. – 2011. – Vol. 174, iss. 1. – P. 56–64.
- 60.** Aminov, R. I. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes / R. I. Aminov, R. I. Mackie // FEMS Microbiology Letters. 2007. – Vol. 271, iss. 2. – P. 147–161.
- 61.** Analysis of aged sulfadiazine residues in soils using microwave extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry / M. Förster, V. Laabs, M. Lamshöft, [et al.] // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2008. – Vol. 391. – P. 1029–1038.
- 62.** Analysis, fate and effects of the antibiotic sulfadiazine in soil ecosystems / K. Schauss, A. Focks, H. Heuer, [et al.] // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2009. – Vol. 28, iss. 5. – P. 612–618.

- 63.** Antibiotic uptake by plants from manure-amended soils / R. J. Bassil, I. I. Bashour, F. T. Sleiman, Y. A. Abou-Jawdeh // *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. – 2013. – Vol. 48, iss. 7. – P. 570–574.
- 64.** Antibiotic Uptake by Plants from Soil Fertilized with Animal Manure / K. Kumar, S. C. Gupta, S. K. Baidoo, [et al.] // *Journal of Environmental Quality*. – 2005. – Vol. 34, iss. 6. – P. 2082–2085.
- 65.** Antibiotic use and abuse: A threat to mitochondria and chloroplasts with impact on research, health, and environment / X. Wang, D. Ryu, R. H. Houtkooper, J. Auwerx // *Bioessays*. – 2015. – Vol. 37, iss. 10. – P. 1045–1053.
- 66.** Antibiotics impact plant traits, even at small concentrations / V. Minden, A. Deloy, A. M. Volkert, [et al.] // *AoB Plants*. – 2017. – Vol. 9, iss. 2. – plx010.
- 67.** Arikan, O. A. Management of antibiotic residues from agricultural sources: use of composting to reduce chlortetracycline residues in beef manure from treated animals / O. A. Arikan, W. Mulbry, C. Rice // *Journal of Hazardous Materials*. – 2009. – Vol. 164, iss. 2–3. – P. 483–489.
- 68.** Aristilde, L. Inhibition of photosynthesis by a fluoroquinolone antibiotic / L. Aristilde, A. Melis, G. Sposito // *Environmental Science & Technology*. – 2010. – Vol. 44, iss. 4. – 1444–1450.
- 69.** Assessment of erythromycin toxicity on activated sludge via batch experiments and microscopic techniques (epifluorescence and CLSM) / J.-N. Louvet, Y. H., G. Attika, D. Dumas, [et al.] // *Process Biochemistry*. – 2010. – Vol. 45, iss. 11. – P. 1787–1794.
- 70.** Bartíkova, H. Veterinary drugs in the environment and their toxicity to plants / H. Bártíková, R. Podlipná, L. Skálová // *Chemosphere*. – 2016. – Vol. 144. – P. 2290–2301.
- 71.** Batchelder, A. R. Chlortetracycline and Oxytetracycline Effects on Plant Growth and Development in Liquid Cultures / A. R. Batchelder // *Journal of Environmental Quality*. – 1981. – №10. – P. 515–518.

- 72.** Batchelder, A. R. Chlortetracycline and Oxytetracycline Effects on Plant Growth and Development in Soil Systems / A. R. Batchelder // *Journal of Environmental Quality*. – 1982. – №11. – P. 675–678.
- 73.** Białk-Bielińska, A., Maszkowska, J., Puckowski A., Stepnowski P. (March 26th 2014). Exposure and Hazard Identification of Sulphonamides in the Terrestrial Environment, *Environmental Risk Assessment of Soil Contamination*, Maria C. Hernandez-Soriano, IntechOpen, DOI: 10.5772/57265. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/46143>
- 74.** Bloem, E. Report on effects of graded antibiotics on soil parameters / E. Bloem. – BONUS deliverable 2.4 – 2016. – 12 P.
- 75.** Böckelmann, U. Quantitative PCR monitoring of antibiotic resistance genes and bacterial pathogens in three European artificial groundwater recharge systems / U. Böckelmann, H.-H. Dörries, M. N. Ayuso-Gabella, [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2009. – Vol. 75, № 1. – P. 154–163.
- 76.** Bouki, C. Detection and fate of antibiotic resistant bacteria in wastewater treatment plants: A review / C. Bouki, D. Venieri, E. Diamadopoulos // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2013. – Vol. 91. – P. 1–9.
- 77.** Bradel-Tretheway, B. Remission of the Free-branching Pattern of *Euphorbia pulcherrima* by Tetracycline Treatment / B. Bradel-Tretheway, W. Preil, H. Jeske // *Journal of Phytopathology*. – 2008. – Vol. 148, iss. 11–12. – P. 587–590.
- 78.** Burgos, J. M. Presence of Multidrug-Resistant Enteric Bacteria in Dairy Farm Topsoil / J. M. Burgos, B. A. Ellington, M. F. Varela // *Journal of Dairy Science*. – Vol. 88, iss. 4. – 2005. – P. 1391–1398.
- 79.** Cascone, A. Flumequine uptake and the aquatic weed, *Lemna minor* L./ A. Cascone, C. Forni, L. Migliore // *Water, Air, & Soil Pollution*. – 2004. – Vol. 156. – P. 241–249.
- 80.** Chitescu, C. L. Uptake of oxytetracycline, sulfamethoxazole and ketoconazole from fertilised soils by plants / C. L. Chitescu, A. I. Nicolau, A. A. M. Stolker // *Food Additives & Contaminants: Part A*. – 2013. – Vol. 30, iss. 6. – P. 1138–1146.

- 81.** Colinas, C. Population responses of target and non-target forest soil-organisms to selected biocides / C. Colinas, E. Ingham, R. Molina // *Soil Biology and Biochemistry*. – 1994. – Vol. 26. – P. 41–47.
- 82.** Combined effects of chlortetracycline and dissolved organic matter extracted from pig manure on the functional diversity of soil microbial community / B. Liu, Y. Li, X. Zhang, [et al.] // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2014. – Vol. 74. – P. 148–155.
- 83.** Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries / I. Chantziaras, F. Boyen, B. Callens, J. Dewulf // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2014. – Vol. 69, iss. 3. – P. 827–834.
- 84.** Co-selection of antibiotic and metal resistance / C. Baker-Austin, M. S. Wright, R. Stepanauskas, J. V. McArthur // *Trends in Microbiology*. – 2006. – Vol.14, iss. 4. – P. 176–182.
- 85.** Cycoń, M. Antibiotics in the Soil Environment—Degradation and Their Impact on Microbial Activity and Diversity / M. Cycoń, A. Mroziak, Z. Piotrowska-Seget // *Frontiers in Microbiology*. – 2019. – Vol. 10: 338.
- 86.** Daghrir, R. Tetracycline Antibiotics in the Environment. A Review / R. Daghrir, P. Drogui // *Environmental Chemistry Letters*. – 2013. – Vol. 11. – P. 209–227.
- 87.** Daniel, R. The Metagenomics of Soil / R. Daniel // *Nature Reviews Microbiology*. – 2005. – Vol. 3. – P. 470–478.
- 88.** Degradation and metabolite production of tylosin in anaerobic and aerobic swine manure lagoons / A. C. Kolz, T. B. Moorman, S. K. Ong, [et al.] // *Water Environment Research*. – 2005. – Vol. 77, iss. 1. – P. 49–56.
- 89.** Depletion of chlortetracycline during composting of aged and spiked manures / Y. Bao, Q. Zhou, L. Guan, Y. Wang // *Waste Management*. – 2009. – Vol. 29, iss. 4. – P. 1416–1423.
- 90.** Development of a rapid biolistic assay to determine changes in relative levels of intracellular calcium in leaves following tetracycline uptake by pinto bean plants / M. H. Farkas, E.-R. E. Mojica, M. Patel, [et al.] // *The Analyst*. – 2009. – Vol. 134, iss. 8. – P. 1594–1600.

- 91.** Ding, C. Effect of antibiotics in the environment on microbial populations / C. Ding, J. He // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2010. – Vol 87. – P. 925–941.
- 92.** Dissipation of sulfamethazine and tetracycline in the root zone of grass and tree species / C.-H. Lin, K. W. Goyne, R. J. Kremer, [et al.] // *Journal of Environmental Quality*. – 2010. – Vol. 39, iss. 4. – P. 1269–1278.
- 93.** Distribution and Accumulative Pattern of Tetracyclines and Sulfonamides in Edible Vegetables of Cucumber, Tomato, and Lettuce / M. B. M. Ahmed, A. U. Rajapaksha, J. E. Lim, [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2015. – Vol. 63, (2). – P. 398–405.
- 94.** Distribution of sulfamethazine, chlortetracycline and tylosin in manure and soil of Canadian feedlots after subtherapeutic use in cattle / M.-O. Aust, F. Godlinski, G. R. Travis, [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2008. – Vol. 156, iss. 3. – P. 1243–1251.
- 95.** Dokianakis, S. N. On the effect of pharmaceuticals on bacterial nitrite oxidation / S. N. Dokianakis, M. E. Kornaros, G. Lyberatos // *Water Science and Technology*. – 2004. – Vol. 50, iss. 5. – P. 341–346.
- 96.** Dolliver, H. Sulfamethazine Uptake by Plants from Manure-Amended Soil / H. Dolliver, K. Kumar, S. Gupta // *Journal of Environmental Quality*. – 2007. – Vol. 36, iss. 4. – P. 1224–1230.
- 97.** Du, L. Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems. A review / L. Du, W. Liu // *Agronomy for Sustainable Development*. – 2012. – Vol. 32. – P. 309–327.
- 98.** Effect of antibiotics in beef cattle feces on nitrogen and carbon mineralization in soil and on plant growth and composition / D. K. Patten, D. C. Wolf, W. E. Kunkle, L. W. Douglass // *Journal of Environmental Quality*. – 1980. – Vol. 9. – P. 167–172.
- 99.** Effect of sulfonamide antibiotics on microbial diversity and activity in a Californian Mollic Haploxeralf. / I. R. Gutiérrez, N. Watanabe, T. Harter, [et al.] // *Journal of Soils and Sediments*. – 2010. – Vol. 10. – P. 537–544.

- 100.** Effect of sulphadimethoxine contamination on barley (*Hordeum distichum* L., Poaceae, Liliopsida) / L. Migliore, G. Brambilla, P. Casoria, [et al.] // *Agriculture, Ecosystems & Environment*. – 1996. – Vol. 60. – P. 121–128.
- 101.** Effect of Two Broad-Spectrum Antibiotics on Activity and Stability of Continuous Nitrifying System / J. L. Campos, J. M. Garrido, R. Méndez, J. M. Lema // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. – 2001. – Vol. 95. – P. 1–10.
- 102.** Effect of veterinary oxytetracycline on functional diversity of soil microbial community / W. Liu, N. Pan, W. Chen, [et al.] // *Plant, Soil and Environment*. – 2012. – Vol. 58. – P. 295–301.
- 103.** Effect on plants of sulphadimethoxine used in intensive farming (*Panicum miliaceum*, *Pisum sativum* and *Zea mays*) / L. Migliore, G. Brambilla, S. Cozzolino, L. Gaudio // *Agriculture, Ecosystems & Environment*. – 1995. – Vol. 52, iss. 2–3. – P. 103–110.
- 104.** Effects of cycloheximide on photosynthetic abilities, reflectance spectra and fluorescence emission spectra in *Phyllostachys edulis* / P. Gao, Z. Zuo, X. Wu, [et al.] // *Trees*. – 2016. – Vol. 30, iss. 3. – P. 719–732.
- 105.** Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor* / F. Pomati, A. G. Netting, D. Calamari, B. A. Neilan // *Aquatic Toxicology*. – 2004. – Vol. 67, iss. 4. – P. 387–396.
- 106.** Effects of fosmidomycin on plant photosynthesis as measured by gas exchange and chlorophyll fluorescence / M. Possell, A. Ryan, C. E. Vickers, [et al.] // *Photosynthesis Research*. – 2010. – Vol. 104, iss. 1. – P. 49–59.
- 107.** Effects of oxytetracycline on archaeal community, and tetracycline resistance genes in anaerobic co-digestion of pig manure and wheat straw / X. Wang, H. Pan, J. Gu, [et al.] // *Environmental Technology*. – 2016. – Vol. 37, iss. 24. – P. 3177–3185.
- 108.** Effects of Oxytetracycline on Growth and Chlorophyll Fluorescence in Rape (*Brassica campestris* L.) / Y. Chen, Z. Wang, Z. Shen, [et al.] // *Polish Journal of Environmental Studies*. – 2017. – Vol. 26, iss. 3. – P. 995–1001.
- 109.** Effects of Oxytetracycline on Methane Production and the Microbial Communities During Anaerobic Digestion of Cow Manure / X. Ke, C.-Y. Wang, R.-D.

- Li, Y. Zhang // *Journal of Integrative Agriculture*. – 2014. – Vol. 13, iss. 6. – P. 1373–1381.
- 110.** Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities / F. Liu, G.-G. Ying, R. Tao, [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2009. – Vol. 157, iss. 5. – P. 1636–1642.
- 111.** Effects of slurry from sulfadiazine- (SDZ) and difloxacin- (DIF) medicated pigs on the structural diversity of microorganisms in bulk and rhizosphere soil / R. Reichel, I. Rosendahl, E. T. H. M. Peeters, [et al.] // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2013. – Vol. 62. – P. 82–91.
- 112.** Effects of sulfadiazine-contaminated fresh and stored manure on a soil microbial community / U. Hammesfahr, A. Kotzerke, M. Lamshöft, [et al.] // *European Journal of Soil Biology*. – 2011. – Vol. 47, iss. 1. – P. 61–68.
- 113.** Effects of sulfamethoxazole on soil microbial communities after adding substrate / L. A. Demoling, E. Bååth, G. Greve, [et al.] // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2009. – Vol. 41, iss. 4. – P. 840–848.
- 114.** Effects of sulphadimethoxine on cosmopolitan weeds (*Amaranthus retroflexus* L., *Plantago major* L. and *Rumex acetosella* L.) / L. Migliore, C. Civitareale, G. Brambilla, [et al.] // *Agriculture, Ecosystems & environment*. – 1997. – Vol. 65, iss. 2. – P. 163–168.
- 115.** Effects of Ten Antibiotics on Seed Germination and Root Elongation in Three Plant Species / D. G. Hillis, J. Fletcher, K. R. Solomon, P. K. Sibley // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2011. – Vol. 60. – P. 220–232.
- 116.** Effects of tylosin as a disturbance on the soil microbial community / K. Westergaard, A. K. Müller, S. Christensen, [et al.] // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2001. – Vol. 33, iss. 15. – P. 2061–2071.
- 117.** Effects of water stress on protein expression and physiological properties of different genotype wheat (*Triticum aestivum* L.) sprouts / M. Dai, X.-P. Deng, S.-S. Yang, [et al.] // *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. – 2009. – Vol. 20, iss. 9. – P. 2149–2156.

- 118.** Efficacy of carbonaceous nanocomposites for sorbing ionizable antibiotic sulfamethazine from aqueous solution / C. Zhang, C. Lai, G. Zeng, [et al.] // *Water Research*. – 2016. – Vol. 95 – P. 103–112.
- 119.** *Encyclopedia of Toxicology, Four-Volume Set: Encyclopedia of Toxicology*, 2nd ed./ B. Anderson, A. de Peyster, S. C. Gad, [et al.]. – Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2005. – Vol. 1. – 794 p.
- 120.** Enrofloxacin and ciprofloxacin uptake by plants from soil / M. Lillenberg, S.V. Litvin, L. Nei, [et al.] // *Agronomy Research*. – 2010. – Vol. 8, iss. 1. – P. 807–814.
- 121.** Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil / S. T. Bates, D. Berg-Lyons, J. G. Caporaso, [et al.] // *The ISME Journal*. – 2010. – Vol. 5. – P. 908–917.
- 122.** Farkas, M. H. Determination of enzyme kinetics and glutathione conjugates of chlortetracycline and chloroacetanilides using liquid chromatography-mass spectrometry / M. H. Farkas, J. O. Berry, D. S. Aga // *The Analyst*. – 2007. – Vol. 132, iss. 7. – P. 664–671.
- 123.** Farkas, M.H. Chlortetracycline detoxification in maize via induction of glutathione S-transferases after antibiotic exposure / M. H. Farkas, J. O. Berry, D. S. Aga // *Environmental Science and Technology*. – 2007. – Vol. 41, iss. 4. – P. 1450–1456.
- 124.** Fate of Antibiotics in Soil / R. Akram, A. Amin, M. Z. Hashmi, [et al.] // In: Hashmi M., Strezov V., Varma A. *Antibiotics and Antibiotics Resistance Genes in Soils*. *Soil Biology*. – 2017. – Vol 51. – P. 207– 220.
- 125.** Fungi-to-bacteria ratio in soils of European Russia / N. D. Ananyeva, S. Castaldi, E. V. Stolnikova, [et al.] // *Archives of Agronomy and Soil Science*. – 2015. – Vol. 61, iss. 4. – P. 427–446.
- 126.** Gavalchin, J. The persistence of fecal-borne antibiotics in soil / J. Gavalchin, S. E. Katz // *Journal of AOAC International*. – 1994. – Vol. 77, iss. 2. – P. 481–485.
- 127.** Genotoxicity of Tetracycline as an Emerging Pollutant on Root Meristem Cells of Wheat (*Triticum aestivum* L.) / X. Xie, Q. Zhou, Q. Bao, [et al.] // *Environmental Toxicology*. – 2011. – Vol. 26, iss. 4. – P. 417–423.

- 128.** Gómez, J. The effect of antibiotics on nitrification processes / J. Gomez, R. Mendez, J. M. Lema // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. – 1996. – Vol. 57–58. – P. 869–876.
- 129.** Grenni, P. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review / P. Grenni, V. Ancona, A. B. Caracciolo // *Microchemical Journal*. – 2018. – Vol. 136. – P. 25–39.
- 130.** Guanosine tetra- and pentaphosphate synthase activity in chloroplasts of a higher plant: association with 70S ribosomes and inhibition by tetracycline / K. Kasai, T. Kanno, Y. Endo, [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2004. – Vol. 32, iss. 19. – 5732–5741.
- 131.** Gujarathi N. P. Oxytetracycline inactivation by putative reactive oxygen species released to nutrient medium of *Helianthus annuus* hairy root cultures / N. P. Gujarathi, J. C. Linden // *Biotechnology and Bioengineering*. – 2005. – Vol. 92. – P. 393–402.
- 132.** Halling-Sørensen, B. Inhibition of Aerobic Growth and Nitrification of Bacteria in Sewage Sludge by Antibacterial Agents / B. Halling-Sørensen // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2001. – Vol. 40. – P. 451–460.
- 133.** Hammesfahr, U. Combined effects of the antibiotic sulfadiazine and liquid manure on the soil microbial-community structure and functions / U. Hammesfahr, R. Bierl, S. Thiele-Bruh // *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. – 2011. – Vol. 174, iss. 4. – P. 614–623.
- 134.** Hashmi, M. Z. Antibiotics and Antibiotics Resistance Genes in Soils Monitoring, Toxicity, Risk Assessment and Management / M. Z. Hashmi, V. Strezov, A. Varma // Edition: 1ST. Publisher: Springer International Publishing. AG. – 2017. – 420 p. – ISBN: 978-3-319-66259-6.
- 135.** Hormetic effect(s) of tetracyclines as environmental contaminant on *Zea mays* / L. Migliore, F. Godeas, S. P. De Filippis, [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2009. – Vol. 158, iss. 1. – P. 129–134.
- 136.** Hu, X. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables, and groundwater from organic vegetable bases, northern China / X. Hu,

Q. Zhou, Y. Luo // *Environmental Pollution*. – 2010. – Vol. 158, iss. 9. – P. 2992–2998.

137. Impact of chlortetracycline and sulfapyridine antibiotics on soil enzyme activities / A. Molaei, A. Lakzian, R. Datta, [et al.] // *International Agrophysics*. – 2017. – Vol. 31. – P. 499–505.

138. Impact of sulfadiazine and chlorotetracycline on soil bacterial community structure and respiratory activity / Y. Zielesny, J. Groeneweg, H. Vereecken, W. Tappe // *Soil Biology & Biochemistry*. – 2006. – Vol. 38, iss. 8. – P. 2372–2380.

139. Impact of the antibiotic sulfadiazine and pig manure on the microbial community structure in agricultural soils / U. Hammesfahr, H. Heuer, B. Manzke, [et al.] // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2008. – Vol. 40, iss. 7. – P. 1583–1591.

140. Increased pollution-induced bacterial community tolerance to sulfadiazine in soil hotspots amended with artificial root exudates / K. K. Brandt, O. R. Sjøholm, K. A. Krogh, [et al.] // *Environmental Science & Technology*. – 2009. – Vol. 43, iss. 8. – P. 2963–2968.

141. Influence of ciprofloxacin on microbial community structure and function in soils / H. Cui, S.-P. Wang, J. Fu, [et al.] // *Biology and Fertility of Soils*. – 2014. – Vol. 50. – P. 939–947.

142. Influence of difloxacin-contaminated manure on microbial community structure and function in soils / A. Kotzerke, U. Hammesfahr, K. Kleineidam, [et al.] // *Biology and Fertility of Soils*. – 2011. – Vol. 47, iss. 2. – P. 177–186.

143. Influence of nine antibiotics on key secondary metabolites and physiological characteristics in *Triticum aestivum*: leaf volatiles as a promising new tool to assess toxicity / O. Opreș, F. Copaciu, M. L. Soran, [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2013. – Vol. 87. – P. 70–79.

144. Influence of tetracycline exposure on the growth of wheat seedlings and the rhizosphere microbial community structure in hydroponic culture / Q. Yang, J. Zhang, W. Zhang, [et al.] // *Journal of Environmental Science and Health Part B*. – 2010. – Vol. 45. – P. 1–8.

- 145.** Inhibition of Protein Synthesis in Chloroplasts from Plant Cells by Virginiamycin / C. Cocito, O. Tiboni, F. Vanlinden, O. Ciferri // *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences.* – 1979. – Vol. 34, iss. 12. – P. 1195–1198.
- 146.** Investigation of sulfonamide, tetracycline, and quinolone antibiotics in vegetable farmland soil in the Pearl River Delta Area, Southern China / Y.-W. Li, X.-L. Wu, C.-H. Mo, [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* – 2011. – Vol. 59, iss. 13. – P. 7268–7276.
- 147.** Jjemba, P. K. The effect of chloroquine, quinacrine, and metronidazole on both soybean plants and soil microbiota / P. K. Jjemba // *Chemosphere.* – 2002. – Vol. 46, iss. 7. – P. 1019–1025.
- 148.** Kaczala, F. The Occurrence of Veterinary Pharmaceuticals in the Environment: A Review / F. Kaczala, S. E. Blum // *Current Analytical Chemistry.* – 2016. – Vol. 12, iss. 3. – P. 169–182.
- 149.** Khan, A. S. Genetic variability and correlation among seedling traits of wheat (*Triticum aestivum*) under water stress / A. S. Khan, S. Ul-Allah, S. Sadique // *International Journal of Agriculture and Biology.* – 2010. – Vol. 2, iss. 2. – P. 247–250.
- 150.** Kümmerer, K. Significance of antibiotics in the environment / K. Kümmerer // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* – 2003. – Vol. 52, iss. 1. – P. 5–7.
- 151.** Laboratory models to evaluate phytotoxicity of sulphadimethoxine on terrestrial plants / L. Migliore, C. Civitareale, S. Cozzolino, [et al.] // *Chemosphere.* – 1998. – Vol. 37, iss. 14–15. – P. 2957–2961.
- 152.** Long-term wastewater irrigation of vegetables in real agricultural systems: concentration of pharmaceuticals in soil, uptake and bioaccumulation in tomato fruits and human health risk assessment / A. Christou, P. Karaolia, E. Hapeshi, [et al.] // *Water Research.* – 2017. – Vol. 109. – P. 24–34.
- 153.** Mathews, S. Biosolid-borne tetracyclines and sulfonamides in plants / S. Mathews, D. Reinhold // *Environmental Science and Pollution Research.* – 2013. – Vol. 20. – P. 4327–4338.
- 154.** McCoy, R. E. Uptake, translocation and persistence of oxytetracycline in coconut palm / McCoy, R. E. // *Phytopathology.* – 1976. – Vol. 66. – P. 1039–1042.

- 155.** Mehta, A. Antibiotic inhibition of pectolytic and cellulolytic enzyme activity in two *Fusarium* species / A. Mehta, S. Chopra, P. Mehta // *Mycopathologia*. – 1993. – Vol. 124. – P. 185–188.
- 156.** Migliore, L. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants / L. Migliore, S. Cozzolino, M. Fiori // *Chemosphere*. – 2003. – Vol. 52, iss. 7. – P. 1233–1244.
- 157.** Migliore, L. Phytotoxicity to and uptake of flumequine used in intensive aquaculture on the aquatic weed, *Lythrum salicaria* L. / L. Migliore, S. Cozzolino, M. Fiori // *Chemosphere*. – 2000. – Vol. 40, iss. 7. – P. 741–750.
- 158.** Mineralization, metabolism and formation of non-extractable residues of ¹⁴C-labelled organic contaminants during pilot-scale composting of municipal biowaste / N. Hartlieb, T. Ertunc, A. Schaeffer, W. Klein // *Environmental Pollution*. – 2003. – Vol. 126, iss. 1. – P. 83–91.
- 159.** Modelling antibiotics transport in a waste stabilization pond system in Tanzania / C. C. Møller, J. J. Weisser, S. Msigala, [et al.] // *Ecological Modelling*. – 2016. – Vol. 319. – P. 137–146.
- 160.** Møller, I. M. Chlortetracycline and the transmembrane potential of the inner membrane of plant mitochondria / I. M. Møller, C. J. Kay, J. M. Palmer // *Biochemical Journal*. – 1986. – Vol. 237, iss. 3. – P. 765–771.
- 161.** Multiple effects of antibiotics on chloroplast and nuclear gene expression / P. Mulo, S. Pursiheimo, C.-X. Hou, [et al.] // *Functional Plant Biology*. – 2003. – Vol. 30. – P. 1097–1103.
- 162.** NGS: высокопроизводительное секвенирование : монография / Д. В. Ребриков, Д. О. Коростин, Е. С. Шубина, В. В. Ильинский ; под общ. ред. Д. В. Ребрикова. – 3-е изд. – Москва : Лаборатория знаний, 2020. – 235 с. – ISBN 978-5-00101-654-0.
- 163.** Nickell, L. G. Antibiotics and Their Effects on Plant / L. G. Nickell, A. C. Finlay // *Agricultural and Food Chemistry*. – 1954. – Vol. 2, №4. – P. 178–182.
- 164.** Norman, A.G. Terramycin and plant growth / A. G. Norman // *Agronomy Journal*. – 1955. – V. 47. P. 585–587.

- 165.** Occurrence and Distribution of Selected Veterinary Antibiotics in Soils, Sediments and Water Adjacent to a Cattle Manure Composting Facility in Korea / J.-E. Lim, S.-C. Kim, H. Y. Lee, [et al.] // Journal of Korean Society of Environmental Engineers. – 2009. – Vol. 31, №.10. – P. 845–854.
- 166.** Occurrence and Environmental Fate of Veterinary Antibiotics in the Terrestrial Environment / K.-R. Kim, G. Owens, S.-I. Kwon, [et al.] // Water Air and Soil Pollution. – 2011. – Vol. 214. – P. 163–174.
- 167.** Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden / D. Bendz, N. A. Paxéus, T. R. Ginn, F. J. Loge // Journal of Hazardous Materials. – 2005. – Vol. 122, iss. 3. – P. 195–204.
- 168.** Occurrence and risk assessment of antibiotics in water and lettuce in Ghana / D. Azanu, B. Styryshave, G. Darko, [et al.] // Science of The Total Environment. – 2018. – Vol. 622–623. – P. 293–305.
- 169.** Occurrence of antibiotics in eight sewage treatment plants in Beijing, China / L. Gao, Y. Shi, W. Li, [et al.] // Chemosphere. – 2012. – Vol. 86, iss. 6. – P. 665–671.
- 170.** O'Connor, S. Analysis of tetracycline antibiotics in soil: advances in extraction, clean-up, and quantification / S. O'Connor, D. S. Aga // Trends in Analytical Chemistry. – 2007. – Vol. 26, iss. 6. – P. 456–465.
- 171.** OECD. Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. OECD Guide lines for the Testing of Chemicals. Section 2. OECD Publishing. Paris, – 2006. – 21 p.
- 172.** Okpokwasili, G.C. Effects of antimicrobial agents on the activity and survival of *Aeromonas hydrophila* and nitrifying bacteria in vitro / G.C. Okpokwasili, F.N. Eleke // Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka. – 1997. – Vol. 25, iss. 3. – P. 231–240.
- 173.** Oxytetracycline on functions and structure of soil microbial community / W. Chen, W. Liu, N. Pan, [et al.] // Journal of Soil Science and Plant Nutrition. – 2013. – Vol. 13, iss. 4. – P. 967–975.

- 174.** Pharmaceuticals in the Environment in Italy: Causes, Occurrence, Effects and Control / E. Zuccato, S. Castiglioni, R. Fanelli[et al.] // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2006. – Vol. 13. – P. 15–21.
- 175.** Physiological and potential genetic toxicity of chlortetracycline as an emerging pollutant in wheat (*Triticum aestivum* L.) / X. Xie, Q. Zhou, Z. He, Y. Bao // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2010. – Vol. 29, № 4. – P. 922–928.
- 176.** Phytotoxic Antibiotic Sulfadimethoxine Elicits a Complex Hormetic Response in the Weed *Lythrum Salicaria* L. / L. Migliore, A. Rotini, N. L. Cerioli, [et al.] // *Dose Response*. – 2010. – Vol. 8, iss. 4. – P. 414–272.
- 177.** Phytotoxicity of sulfamethazine soil pollutant to six legume plant species / A. I. Piotrowicz-Cieślak, B. Adomas, G. Nałecz-Jawecki, D. J. Michalczyk // *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*. 2010. – Vol. 73, iss. 17–18. – P. 1220–1229.
- 178.** Picó, Y. Vicente Andreu. Fluoroquinolones in soil – risks and challenges / Y. Picó, V. Andreu // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2007. – Vol. 387. – P.1287–1299.
- 179.** Reduced Antimicrobial Potencies of Oxytetracycline, Tylosin, Sulfadiazin, Streptomycin, Ciprofloxacin, and Olaquinox Due to Environmental Processes / B. Halling-Sørensen, G. Sengeløv, F. Ingerslev, L. B. Jensen // *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2003. – Vol. 44, iss. 1. – P. 7–16.
- 180.** Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy / S. Castiglioni, R. Bagnati, R. Fanelli, [et al.] // *Environmental Science & Technology*. – 2006. – Vol. 40, iss. 1. – P. 357–363.
- 181.** Roose-Amsaleg, C. Do antibiotics have environmental side-effects? Impact of synthetic antibiotics on biogeochemical processes / C. Roose-Amsaleg, A. M. Laverman // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2016. – Vol. 23. – P. 4000–4012.
- 182.** Sarmah, A. K. A Global Perspective on the Use, Sales, Exposure Pathways, Occurrence, Fate and Effects of Veterinary Antibiotics (VAs) in the Environment / A.

- K. Sarmah, M. T. Meyer, A. B. A. Boxall // *Chemosphere*. – 2006. – Vol. 65. – P. 725–759.
- 183.** Schmitt, H. The Effects of Veterinary Antibiotics on Soil Microbial Communities. Ph.D. Thesis, Universiteit Utrecht, Utrecht, The Netherlands. – 2005. – 195 p.
- 184.** Selected Veterinary Pharmaceuticals in Agricultural Water and Soil from Land Application of Animal Manure / W. Song, Y. Ding, C. T. Chiou, H. Li // *Journal of Environmental Quality*. – 2010. – Vol. 39, iss. 4. – P. 1211–1217.
- 185.** Søbørg, T. Chemical stability of chlortetracycline and chlortetracycline degradation products and epimers in soil interstitial water / T. Søbørg, F. Ingerslev, B. Halling-Sørensen // *Chemosphere*. – 2004. – Vol. 57, iss. 10. – P. 1515–1524.
- 186.** Soil bacterial community response to sulfadiazine in the soil–root zone / R. Reichel, L. Michelini, R. Ghisi, S. Thiele-Bruhn // *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. – 2015. – Vol. 178, iss. 3. – P. 499–506.
- 187.** Sorption behavior of sulfamethazine on unamended and manure-amended soils and short-term impact on soil microbial community / M. V. Pinna, P. Castaldi, P. Deiana, [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2012. – Vol. 84. – P. 234–242.
- 188.** Stress-related phenomena and detoxification mechanisms induced by common pharmaceuticals in alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants / A. Christou, C. Antoniou, C. Christodoulou, [et al.] // *Science of The Total Environment*. – 2016. – Vol. 557–558. – P. 652–664.
- 189.** Structural and functional alterations induced by two sulfonamide antibiotics on barley plants / L. Michelini, N. La Rocca, N. Rascio, R. Ghisi // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2013. – Vol. 67. – P. 55–62.
- 190.** Survival strategies of ammonia-oxidizing archaea (AOA) in a full-scale WWTP treating mixed landfill leachate containing copper ions and operating at low-intensity of aeration / Y. Yang, C. W. Herbold, M.-Y. Jung, [et al.] // *Water Research*. – 2021. – Vol. 191. – 116798.

- 191.** Tasho, R. P. Effect of Sulfadimethoxine, Oxytetracycline, and Streptomycin Antibiotics in Three Types of Crop / R. P. Tasho, S.-H. Ryu, J.-Y. Cho // *Applied Sciences*. – 2020. – Vol. 10, iss. 3. – P. 1111.
- 192.** Tetracycline accumulates in *Iberis sempervirens* L. through apoplastic transport inducing oxidative stress and growth inhibition / G. D. Marco, A. Gismondi, L. Canuti, [et al.] // *Plant Biology*. 2014. – Vol. 16, iss. 4. – P. 792–800.
- 193.** Tetracyclines disturb mitochondrial function across eukaryotic models: a call for caution in biomedical research / N. Moullan, L. Mouchiroud, X. Wang, [et al.] // *Cell Reports*. – 2015. – Vol. 10, iss. 10. – P. 1681–1691.
- 194.** The cycle of veterinary antibiotics in the ecosystem / L. van de Vijver, C. Verwer, G. Smolders, [et al.] // The Netherlands, Driebergen : Louis Bolk Institute. – 2016. – 31 P.
- 195.** The Effect of Clarithromycin Toxicity on the Growth of Bacterial Communities in Agricultural Soils / L. Rodríguez-González, V. Santás-Miguel, C. Campillo-Cora, [et al.] // *Processes*. – 2021. – 9. – 1303.
- 196.** The effect of cooking on veterinary drug residues in food: IV. Oxytetracycline / M. D. Rose, J. Bygrave, W. H. Farrington, G. Shearer // *Food Additives and Contaminants*. – 1996. – Vol. 13, iss. 3. – P. 275–286.
- 197.** The effects of residual tetracycline on soil enzymatic activities and plant growth / X. Wei, S. C. Wu, X. P. Nie, [et al.] // *Journal of Environmental Science and Health – Part B*. – 2009. – Vol. 44, iss. 5. – P. 461–471.
- 198.** The potential implications of reclaimed wastewater reuse for irrigation on the agricultural environment: the knowns and unknowns of the fate of antibiotics and antibiotic resistant bacteria and resistance genes – a review / A. Christou, A. Agüera, J. M. Bayona, [et al.] // *Water Research*. – 2017. – Vol. 123. – P. 448–467.
- 199.** The presence of tetracycline in cow manure changes the impact of repeated manure application on soil bacterial communities / L. Chessa, S. Jechalke, G.-C. Ding, [et al.] // *Biology and Fertility of Soils*. – 2016. – Vol. 52. – P. 1121–1134.

- 200.** The veterinary antibiotic oxytetracycline and Cu influence functional diversity of the soil microbial community / W.-D. Kong, Y.-G. Zhu, B.-J. Fu, [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2006. – Vol. 143, iss. 1. – P. 129–137.
- 201.** Thiele-Bruhn, S. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass / S. Thiele-Bruhn, I.-C. Beck // *Chemosphere*. – 2005. – Vol. 59, iss. 4. – P. 457–465.
- 202.** Thiele-Bruhn, S. Microbial inhibition by pharmaceutical antibiotics in different soils –dose-response relations determined with the iron(III) reduction test / S. Thiele-Bruhn // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 2005. – Vol. 24, iss. 4. – P. 869–876.
- 203.** Tolls, J. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review / J. Tolls // *Environmental Science & Technology*. – 2001. – Vol. 35, iss. 17. – P. 3397–3406.
- 204.** Toth, J. D. Veterinary antibiotics at environmentally relevant concentrations inhibit soil iron reduction and nitrification / J. D. Toth, Y. Feng, Z. Dou // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2011. – Vol. 43, iss. 12. – P. 2470–2472.
- 205.** Toxic effect of tetracycline exposure on growth, antioxidative and genetic indices of wheat (*Triticum aestivum* L.) / X. Xie, Q. Zhou, D. Lin, [et al.] // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2011. – Vol. 18. – P. 566–575.
- 206.** Toxic effects of chlortetracycline on maize growth, reactive oxygen species generation and the antioxidant response / B. Wen, Y. Liu, P. Wang, [et al.] // *Journal of Environmental Sciences*. 2012. – Vol. 24. – P. 1099–1105.
- 207.** Toxicity and reductions in intracellular calcium levels following uptake of a tetracycline antibiotic in *Arabidopsis* / S. M. Bowman, K. E. Drzewiecki, E.-R. E. Mojica, [et al.] // *Environmental Science & Technology*. – 2011. – Vol. 45, iss. 20. – P. 8958–8964.
- 208.** Toxicity of the antimicrobial oxytetracycline to soil organisms in a multi-species-soil system (MS·3) and influence of manure co-addition / S. Boleas, C. Alonso, J. Pro, [et al.] // *Journal of Hazardous Materials*. – 2005. – Vol. 122, iss. 3. – P. 233–241.
- 209.** Treated wastewater irrigation: uptake of pharmaceutical and personal care products by common vegetables under field conditions / X. Wu, J. L. Conkle, F. Ernst,

- J. Gan // *Environmental Science & Technology*. – 2014. – Vol. 48, iss. 19. – P. 11286–11293.
- 210.** Uptake and effects of a mixture of widely used therapeutic drugs in *Eruca sativa* L. and *Zea mays* L. plants / M. Marsoni, F. De Mattia, M. Labra, [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2014. – Vol. 108. – P. 52–57.
- 211.** Uptake and translocation of metformin, ciprofloxacin and narasin in forage- and crop plants / T. Eggen, T. N. Asp, K. Grave, V. Hormazabal // *Chemosphere*. – 2011. – Vol. 85, iss. 1. – P. 26–33.
- 212.** Uptake of antibiotics from irrigation water by plants / D. Azanu, C. Morley, G. Darko, [et al.] // *Chemosphere*. – 2016. – Vol. 157. – P. 107–114.
- 213.** Uptake of oxytetracycline and its phytotoxicity to alfalfa (*Medicago sativa* L.) / W. D. Kong, Y. G. Zhu, Y. C. Liang, [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2007. – Vol. 147, iss. 1. – P. 187–193.
- 214.** Uptake of Veterinary Medicines from Soils into Plants / A. B. A. Boxall, P. Johnson, E. J. Smith, [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2006. – Vol. 54, iss. 6. – P. 2288–2297.
- 215.** Ureolytic Prokaryotes in Soil: Community Abundance and Diversity / M. Oshiki, M. Araki, Y. Hirakata, [et al.] // *Microbes and Environments*. – 2018. – Vol. 33, iss. 2. – P. 230–233.
- 216.** Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: evaluation of transfer to manure and soil / M. De Liguoro, V. Cibin, F. Capolongo, [et al.] // *Chemosphere*. – 2003. – Vol. 52, iss. 1. – P. 203–212.
- 217.** USP Veterinary Pharmaceutical Information Monographs—Antibiotics / J. Riviere, P. Lees, J. Elliott, [et al.] // *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. – 2003. – Vol. 26. – P. 1–271.
- 218.** Verlicchi, P. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment – a review / P. Verlicchi, M. Al Aukidy, E. Zambello // *Science of The Total Environment*. Vol. 429. – P. 123–155.

- 219.** Waksman, S. A. *Microbial Antagonisms and Antibiotic Substances* / S. A. Waksman // The Commonwealth Fund, N.Y. – 1945. – 350 P.
- 220.** Wheat Growth and Photosynthesis as Affected by Oxytetracycline as a Soil Contaminant / Z.-J. Li, X.-Y. Xie, S.-Q. Zhang, Y. Liang // *Pedosphere*. – 2011. – Vol. 21, iss. 2. – P. 244–250.
- 221.** Zhang, J. *Arthrobacter cupressi* sp. nov., an actinomycete isolated from the rhizosphere soil of *Cupressus sempervirens* / J. Zhang, Y. Ma, H. Yu // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. – 2012. – Vol. 62. – P. 2731–2736.