

ТРИАЗИНОВЫЕ ПЕСТИЦИДЫ: СТРУКТУРА, ДЕЙСТВИЕ НА ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ, ПРОЦЕССЫ ДЕГРАДАЦИИ

© 2006 г.

О. Н. ГОРБАТОВА,

А. В. ЖЕРДЕВ, О. В. КОРОЛЕВА

Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Москва

I. Введение. II. Структура триазиновых пестицидов. III. Циркуляция триазиновых пестицидов в экосистемах. IV. Общие принципы действия атразина и его метаболизм. V. Действие триазиновых пестицидов на живые организмы. VI. Дegradaция триазиновых соединений. VII. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

В связи с широким применением пестицидов большое внимание уделяется проблеме их токсичного воздействия на компоненты природных сообществ, транслокации и трансформации в системах растение–почва–вода. Интенсивность транслокации определяется преимущественно свойствами почв и климатическими факторами [1–4]. При рассмотрении биотической трансформации пестицидов ключевым элементом являются почвенные микроорганизмы. Влияя на микробное сообщество, пестициды изменяют направленность и скорость процессов, определяющих плодородие почвы [5].

В настоящем обзоре принципы биodeградации пестицидов рассмотрены на примере одного из наиболее широко используемых

Принятые сокращения: АБТС – 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновая кислота), ВК – виолуровая кислота, ГА – 2-гидроксиатразин, ГАК – 3-гидроксиантраниловая кислота, ГБТ – 1-гидроксибензотриазол, ГФИ – N-гидроксифталиимид, ДАХТ – диаминохлортриазин, ДИА – деизопропилатразин, ДЭА – деэтилатразин, Лип – лигнинпероксидаза, ПХ – пероксидаза из корней хрена, ТЕМПО – 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-N-оксил, Atz – атразинхлорогидролаза, GST – глутатион S-трансфераза, MnP – марганецпероксидаза.

Адрес для корреспонденции: olia77@yandex.ru (О.Н. Горбатова).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 04-04-49679.

соединений – гербицида атразина и структурно близких ему триазиновых гербицидов.

Атразин и продукты его метаболизма широко представлены в биогеоценозах многих стран и различных природных зон. При сельскохозяйственном применении они легко уходят в грунтовые воды. Описаны разнообразные негативные эффекты воздействия триазиновых гербицидов как на растительные, так и на животные организмы [6–10]. Показана генотоксичность атразина; имеется ряд данных о его влиянии на организм человека [11–15]. Но поскольку триазиновые гербициды на сегодняшний день остаются неотъемлемой частью сельскохозяйственных технологий, то речь идет не об отказе от них, а о выборе оптимальных стратегий трансформации и удаления из окружающей среды.

Данный обзор посвящен характеристике триазиновых гербицидов, общим принципам их деструкции и влиянию на живые организмы.

II. СТРУКТУРА ТРИАЗИНОВЫХ ПЕСТИЦИДОВ

Триазины – гетероциклические соединения, структурную основу которых составляет шестичленный ароматический цикл с тремя атомами азота. На практике преимущественно используются симметричные триазины (сим-триазины) с атомами азота в положениях 1, 3 и 5 (рис. 1). Эти вещества получают при взаимодействии трихлорциануровой кислоты с различными соединениями. Два атома хлора в кислоте замещаются другими группами, а третий либо остается, либо заменяется на метилтио- или метоксигруппу. Сим-триазины используются как пестициды, отбеливатели, красители, дезинфектанты и взрывчатые вещества [16–20]. Использование сим-триазинов в качестве пестицидов началось с середины 1950-х годов, причем они применяются для борьбы с сорными растениями (гербициды), хотя некоторые представители этой группы проявляют фунгицидные и инсектицидные свойства.

Сим-триазины группы (1) (см. рис. 1) с алифатическим радикалом при экзоциклическом азоте нестабильны и поэтому не используются [21]. При замене этого радикала на ароматический уменьшается гербицидная и возрастает фунгицидная активность. Наиболее активен в этом отношении 2,4-дихлор-6-(2-хлорфениламино)-1,3,5-триазин (анилазин), используемый для борьбы с болезнями растений.

Соединения группы (2) проявляют высокую гербицидную активность при условии, что углеводородные радикалы при экзоциклическом азоте содержат не более четырех атомов углерода. Такая же закономерность наблюдается и в ряду соединений (3).

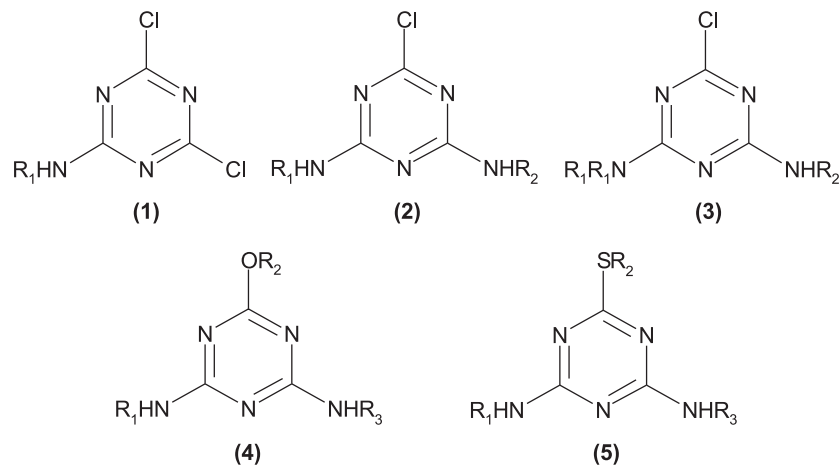


Рис. 1. Структура основных классов сим-триазиновых гербицидов:

(1) – 2,4-дихлор-6-алкиламино-1,3,5-триазин; (2) – 2-хлор-4,6-бис(алкиламино)-1,3,5-триазин; (3) – 2-хлор-4-алкиламино-6-диалкиламино-1,3,5-триазин; (4) – 2-алкокси-4,6-бис(алкиламино)-1,3,5-триазин; (5) – 2-алкилтио-4,6-бис(алкиламино)-1,3,5-триазин.

Замена атома галогена на гидроксил приводит к полной потере гербицидной активности, тогда как замена галогена на алкоксил (4) или алкилтиогруппу (5) изменяет лишь избирательность действия при сохранении гербицидных свойств. Гербицидные свойства наиболее выражены у соединений этого ряда, содержащих в алкокси- или алкилтиогруппе один атом углерода, хотя гербицидными свойствами могут обладать и вещества с более крупным радикалом R_2 [21]. Введение вместо галогена 2-хлоралкилтио-, бензилтио- или бензилоксигруппы приводит к снижению фитонцидности и появлению фунгицидных свойств.

Гербицидное действие проявляется также у 2-фтор-, 2-азидо-, 2-трифтораллилокси-, 2-N-метил-N-цианамино- и 4,6-бис(алкиламино)-2-метил-1,3,5-триазинов. В качестве специфических гербицидов избирательного воздействия на определенные группы растений предложены 2-алкилокси-, 2-алкилтио-, 2-галоген-, 2-циан-, 2-алкил-4-циклоалкил-6-алкил-1,3,5-триазины. Гербицидной активностью обладают также диамино-1,3,5-триазины, содержащие при экзоциклическом азоте вторичные, третичные, непредельные и другие углеводородные радикалы, как незамещенные, так и с заместителями (циан-, метокси- и др.).

Сим-триазиновые гербициды применяются, в основном, для борьбы с однолетними двудольными и однодольными растениями. Атразин, например, эффективен против горца вьюнкового, горчицы полевой, пастушьей сумки, редьки дикой и некоторых других сорных растений.

В табл. 1 суммированы сведения о наиболее широко используемых триазиновых гербицидах [16–21]. По масштабам производства и потребления сим-триазины – одна из ведущих групп гербицидов, причем основная роль в этой группе соединений принадлежит атразину [9, 22, 23]. Объем мирового производства атразина превышает 500 тонн в год [24]. Атразин включен в список контролируемых пестицидов в странах Европейского Сообщества [24].

III. ЦИРКУЛЯЦИЯ ТРИАЗИНОВЫХ ПЕСТИЦИДОВ В ЭКОСИСТЕМАХ

Пестициды распространяются далеко за пределы обрабатываемых территорий. При распылении на полях часть молекул попадает в почву, воду, часть оседает на растениях. Пестициды, попавшие на растение, могут проникать в его ткани и разлагаться, а частично подвергаться фотодеградациии на поверхности растения или испарению [25]. Убыль пестицидов в почве определяется их устойчивостью, эффективностью их адсорбции и испарения [26]. В почве гербициды разлагаются или проникают в водоносные слои, например, с дождевой влагой.

В зависимости от строения скорость разложения пестицида колеблется в широких пределах. 4,6-Бис(алкиламино)-2-хлор-1,3,5-триазины (к которым относится и атразин) намного стабильнее, чем 4,6-бис(алкиламино)-2-метилтио-1,3,5-триазины. Это связано с относительно быстрым окислением метилтиогруппы и легким гидролизом образовавшегося сульфона.

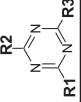
Атразин и симазин относятся к среднесохраняющимся (6–26 месяцев) гербицидам [17, 27]. Поэтому на обработанных атразином участках даже на следующий год рекомендуют сеять культуры, устойчивые к действию препарата. Полное разложение наступает через 18–20 месяцев, однако скорость процесса зависит от климатических условий: в теплом климате пестициды разрушаются быстрее [17, 21, 26].

По способности к миграции в почве основные триазиновые пестициды можно расположить в следующий ряд: симазин > атразин > прометрин > пропазин [28].

Уже через месяц после внесения гербицида в почве обнаруживаются его метаболиты: гидроксизатразин (ГА), дезилатразин (ДЭА)

Таблица 1

Производные 1,3,5-триазина, применяемые в качестве гербицидов [21]

R1	R2			Название препарата	Раствори- мость в во- де, мг/л	ЛД50 млеко- питающих, мг/кг	Культуры, которые защищает гербицид
		R1	R3				
Cl	NHC ₂ H ₅		NHC ₂ H ₅	Симазин, принцип, аква- зин, гезагон	5	5000	Кукуруза
Cl	NHC ₂ H ₅		NHCH(CH ₃) ₂	Атразин, гезаприм, пи- тезин, зеалос-10	33	3080	Кукуруза, сорго, сахарный тростник
Cl	NHCH(CH ₃) ₂		NHCH(CH ₃) ₂	Пропазин, гезамил, милотард	8,6	5000	Сорго, морковь
Cl	NHC ₂ H ₅		NHC(CH ₃) ₃	Тербутилазин, гардо- прим	8,5	2160	Овощные культуры, куку- руза, картофель
Cl	NHC ₂ H ₅		N(C ₂ H ₅) ₂	Триэтазин	20	1750	Картофель, хризантемы
Cl	NHC ₂ H ₅		NHCCN(CH ₃) ₂	Цианазин, бладекс, фортрол	171	149-334	Кукуруза, картофель, соя
Cl	NHC ₂ H ₅		NHCH ₂ COOC ₂ H ₅	Эглиназин-этил	300	>10000	Зерновые культуры
Cl	NHCH(CH ₃) ₂		NHC ₃ H ₅ -цикло	Ципразин, оутофокс	-	410-1200	Избирательный гербицид
Cl	NHCCN(CH ₃) ₂		NHC ₃ H ₅ -цикло	Проциазин	300	290	Кукуруза
N ₃	NHC ₂ H ₅		NHC(CH ₃) ₃	WL-9385	72	460	Злаки
N ₃	SCH ₃		NHCH(CH ₃) ₂	Азипротрин, мезоранил	75	5833	Капуста
CH ₃	OCH ₃		NHCONHS [2-ClC ₆ H ₄]O ₂	Хлорсульфурон	28000	5545-6293	Зерновые культуры, лен
CH ₃	OCH ₃		NHCONHS [2-(CH ₃ COO)C ₆ H ₄]O ₂	DPX-T6376, метсульфу- ронметил	9500	5000	Зерновые культуры
OCH ₃	NHC ₂ H ₅		NHCH(CH ₃) ₂	Атрагон, гезагамин	1654	1465	Кофе, ананас, сахарный тростник
OCH ₃	NHC ₂ H ₅		NHCHCH ₂ C ₂ H ₅	Секбумитон, сумитон	600	2680	Люцерна
OCH ₃	NHC ₂ H ₅		NHC(CH ₃) ₃	Тербумитон	130	482-651	Цитрусовые, корнеплоды
OCH ₃	NHCH(CH ₃) ₂		NHCH(CH ₃) ₂	Прометон	620	2980	Несельскохозяйственные площади

и деизопропилатразин (ДИА). Через 3 месяца основная масса этих трех соединений наблюдается в поверхностном слое (до 10 см) и лишь следовые количества – в более глубоких слоях. На глубине до 10 см сохраняются сам атразин и два его метаболита: ДЭА и ДИА. В более глубоких слоях (10-20 см) накапливается только ДИА, менее токсичный по сравнению с атразином [17, 29].

IV. ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ДЕЙСТВИЯ АТРАЗИНА И ЕГО МЕТАБОЛИЗМ

В аккумуляции и разложении атразина участвуют различные группы организмов – высшие растения, водоросли, беспозвоночные, позвоночные, бактерии и грибы (рис. 2). Токсичность атразина в основном изучалось на высших растениях, беспозвоночных и позвоночных (включая млекопитающих и человека). Как потенциальные деструкторы преимущественно рассматриваются микроорганизмы, обладающие соответствующими специфическими ферментными системами.

В разложении пестицидов, помимо биотических, участвуют и абиотические факторы (см. рис. 2). Следует отметить также антропогенные промышленные системы деградации – ультразвуковая обработка, озонирование и др.

Принципиальные варианты химической трансформации атразина представлены на рис. 3 [30]. Обычно сначала происходит дегалогенирование с заменой атома хлора на гидроксил, затем – последовательное деалкилирование двух радикалов, а на заключительной стадии – образование циануровой кислоты и распад гетероциклического кольца до биурета, мочевины, углекислого газа и аммиака. Но последовательность распада может быть и другой: деалкилирование, дегидроксилирование, образование циануровой кислоты и ее распад.

V. ДЕЙСТВИЕ ТРИАЗИНОВЫХ ПЕСТИЦИДОВ НА ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ

ВЫСШИЕ РАСТЕНИЯ И ВОДОРΟΣЛИ

Атразин относится к системным гербицидам, не являющимся, однако, рострегулирующим фактором. Проникая в растение, он влияет на фотосинтез и другие процессы. Листья поврежденных растений изменяют окраску, постепенно увядают и отмирают.

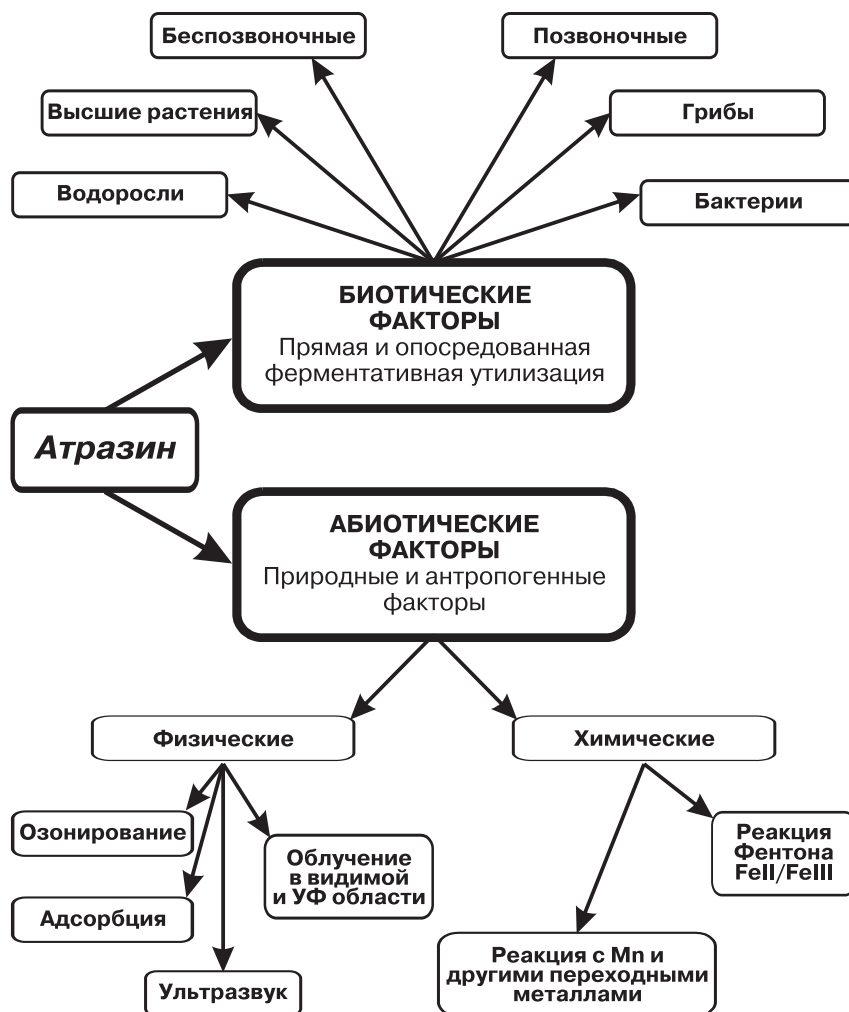


Рис. 2. Факторы, принимающие участие в аккумуляции и разложении атразина.

Гербицидное действие большинства сим-триазинов основано прежде всего на торможении реакции Хилла. Они блокируют отток электронов от акцепторной части фотосистемы II, т.е. нарушают нециклический транспорт электронов [31, 32]. Результатом ингибирования является вытеснение электронного акцептора Q_B молекулой триазина. Ингибиторы фотосистемы II можно разделить

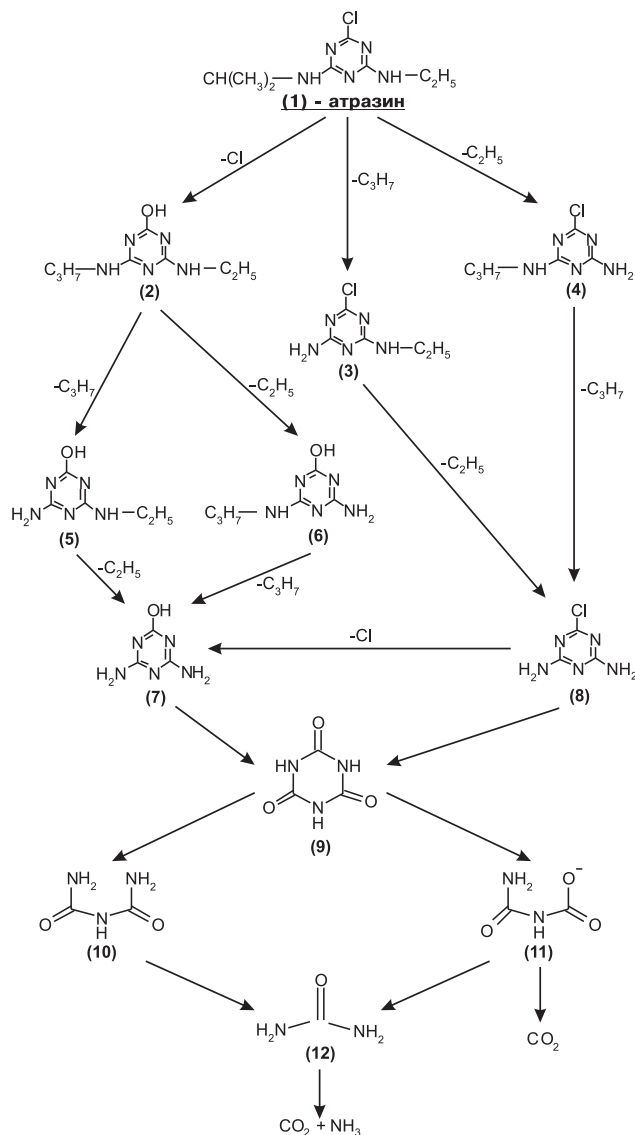


Рис. 3. Трансформация атразина в окружающей среде [30].

Продукты деградации атразина (1): 2-гидроксиатразин (2), деизопропилатразин (3), деэтилатразин (4), деизопропил-2-гидроксиатразин (5), деэтил-2-гидроксиатразин (6), 2-гидрокси-4,6-амино-1,3,5-триазин (7), 2-хлоро-4,6-амино-1,3,5-триазин (8), циануровая кислота кето-форма (9), биурет (10), аллофанат (11), мочеви́на (12).

на два типа: сериновый тип и гистидиновый тип. Эти гербициды связываются с серином 264 или гистидином 215 протеина D1 фотосистемы II. Триaziновые гербициды относятся к сериновому типу ингибиторов.

Концентрации атразина в диапазоне 1–10 мкг/л влияют на жизнедеятельность как плавающих, так и прикрепленных фотосинтетиков [8]. Такие концентрации наблюдаются во многих водоемах, которые контактируют с обрабатываемыми атразином полями. Более высокие (10–20 мкг/л) концентрации вызывают гибель неустойчивых и угнетение устойчивых видов планктона. При концентрации более 500 мкг/л фотосинтез всех неустойчивых видов полностью ингибируется. Характерный результат действия атразина на водные растения – уменьшение размеров клеток и снижение биомассы. Наиболее чувствительны к атразину макрофиты [10].

БЕСПОЗВОНОЧНЫЕ

Зоопланктон. Действие атразина на водные экосистемы часто приводит к торможению роста и размножения многих видов зоопланктона. При этом наблюдается смена доминирующих в сообществе видов. Так, описано вытеснение видов *Diaphanosoma brachyurum* и *Tropocyclops prasinus mexicanus* коловратками, прежде всего *Keratella cochlearis* [9].

Брюхоногие. Уменьшение популяций брюхоногих под действием атразина является следствием сокращения их кормового ресурса – водорослей [9, 33].

Ракообразные. В одновидовых тестах обнаружено негативное влияние высоких концентраций пестицида на ракообразных. Например, выживаемость *Gammarus fasciatus* снижается при концентрации атразина 940 мкг/л, но неизменна при концентрации 490 мкг/л и ниже [7, 34].

Водные насекомые. Атразин в концентрациях порядка 20–100 мкг/л влияет на выживаемость, рост и развитие насекомых, оплодотворение и личиночные стадии которых происходят в водоемах. Так, на личинках комаров *Chironomus tentans* показано, что атразин в концентрации выше 230 мкг/л уменьшает процент окукливаний и увеличивает частоту аномального развития [7, 9].

ПОЗВОНОЧНЫЕ

Рыбы. Под действием атразина в концентрациях от 3 мкг/л могут меняться физиология рыб (в частности, уменьшается скорость роста) и их поведение [9]. В ряде случаев изменения в поведении влияют на структуру сообщества: появляется разобщение в стае,

особи стремятся к поверхности воды [35] или, наоборот, – к темному нижнему слою водоема [9].

Атразин метаболизируется в почках рыб и затем выделяется через жабры. Большая поверхность, участие в дыхании, осморегуляции и кислотно-основном балансе делают жабры рыб чувствительным индикатором качества воды. Минимальная концентрация атразина, вызывающая гистологические изменения в жабрах и почках, – 5 мкг/л, такой уровень часто наблюдается в поверхностных слоях воды [9]. При концентрации атразина 500 мкг/л жабры начинают разрушаться, а при концентрации порядка 5000 мкг/л разрушение эпителия жаберных нитей приводит к образованию в жабрах выраженных повреждений [9].

Примером косвенного действия ксенобиотика является снижение биомассы рыб из-за деструкции растений-макрофитов в водах, содержащих 100–500 мкг/л атразина [9].

Птицы. Воздействию пестицидов на птиц посвящено немного публикаций. Известны работы по изучению влияния хлорсодержащих органических пестицидов, таких как гексахлорциклогексан, гексахлорбензол, линдан, эндрин, полихлорированные бифенилы и др. [36, 37]. Действие атразина изучалось на куриных эмбрионах [38] (гербицид Hungazin PK50WP, содержащий 50% атразина и 50% наполнителей) и на птицах в стадии полового созревания [39]. При введении в яйцо препарата Hungazin в высоких концентрациях, отражающих уровни загрязнения при защите растений, наблюдалось увеличение смертности эмбрионов [38]. На смертность мужских особей японского перепела атразин не влиял, но при концентрации 1000 мкг/кг снижался аппетит птиц и замедлялась скорость их роста [39]. Атразин в такой концентрации оказывал влияние на уровень и соотношение гормонов в крови: концентрация тестостерона повышалась, а лютеинизирующего гормона – снижалась. В концентрации выше 1000 мкг/кг атразин может влиять на репродуктивную способность птиц, но эти эффекты непостоянны и слабо выражены [39].

Млекопитающие. Атразин и его аналоги вызывают различные нарушения в организме млекопитающих [11, 13, 14]. В соответствии с принятой классификацией токсичных для человека соединений [27], атразин относится к умеренно опасным пестицидам – третий класс опасности.

Для России предельно допустимой концентрацией атразина в почве считается 10 мкг/кг, в воде – 2 мкг/л [40]. Уровень атразина, определяемый в питьевой воде, часто превышает максимальный уровень загрязнения 3 мкг/л, установленный Агентством по защите

окружающей среды США [11]. Установлено, что атразин, пропазин и симазин вызывают развитие опухоли молочной железы у крыс. Атразин приводит также к прекращению овуляции, снижению уровня тестостерона и воспалению предстательной железы. Пороговый уровень достоверного онкогенного эффекта варьирует от 3 мкг/л (для пропазина) до 100 мкг/л (для симазина) [11].

На нескольких линиях клеток человека было показано, что атразин, симазин и пропазин индуцируют активность ароматазы – фермента, осуществляющего превращение андрогенов в эстрогены [12].

БАКТЕРИИ И ГРИБЫ

Имеются многочисленные, часто противоречивые сведения о влиянии триaziновых пестицидов на микрофлору почв. Отмечено как стимулирование, так и ингибирование различных групп микроорганизмов.

После обработки атразином наблюдался значительный рост численности плесневых грибов, среди которых доминировали роды *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma* и *Mucor* [17]. В ряде случаев внесение атразина и симазина стимулировало микрофлору, участвующую в трансформации азота и углерода. Активизировались процессы нитрификации, в почве накапливалось больше нитратов [17]. Наиболее чувствительны к действию симазина сапрофитные бактерии, олигонитрофилы и грибы. Симазин и атразин по-разному влияют на развитие почвенных стрептомицетов.

Даже однократная обработка почвы гербицидами приводит к изменению видового состава микроорганизмов, но особенно серьезные последствия влечет за собой систематическое применение гербицидов. При многолетнем использовании симазина описано увеличение количества бактерий с $3,5 \cdot 10^6$ до $5,5 \cdot 10^6$ клеток на 1 г почвы, тогда как в случае атразина количество бактерий несколько снижалось – до $3,2 \cdot 10^6$ клеток/г [17]. Применение этих гербицидов приводит к исчезновению одних видов микроорганизмов и появлению других.

Действие триaziнов на фототрофные микроорганизмы может быть стимулирующим, ингибирующим или нейтральным, что зависит как от природы триазина, так и от его концентрации. Многие триaziновые гербициды влияют на синтез хлорофилла и активность ряда ферментов, в том числе участвующих в метаболизме азота. В частности, показано, что атразин оказывает стимулирующее действие на рост *Azotobacter giacommelloi*, пиразин угнетает их рост, симазин подавляет синтез бактериохлорофилла у *Rhodospirillum rubrum* [26].

VI. ДЕГРАДАЦИЯ ТРИАЗИНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

ВЫСШИЕ РАСТЕНИЯ И ВОДОРΟΣЛИ

Механизм деструкции ксенобиотика растениями достаточно хорошо изучен для сельскохозяйственных культур. Рассмотрим этот процесс на примере кукурузы.

Дегградация атразина кукурузой (рис. 4) происходит при участии цитохром Р450-зависимых монооксигеназ и цитохром Р450-зависи-

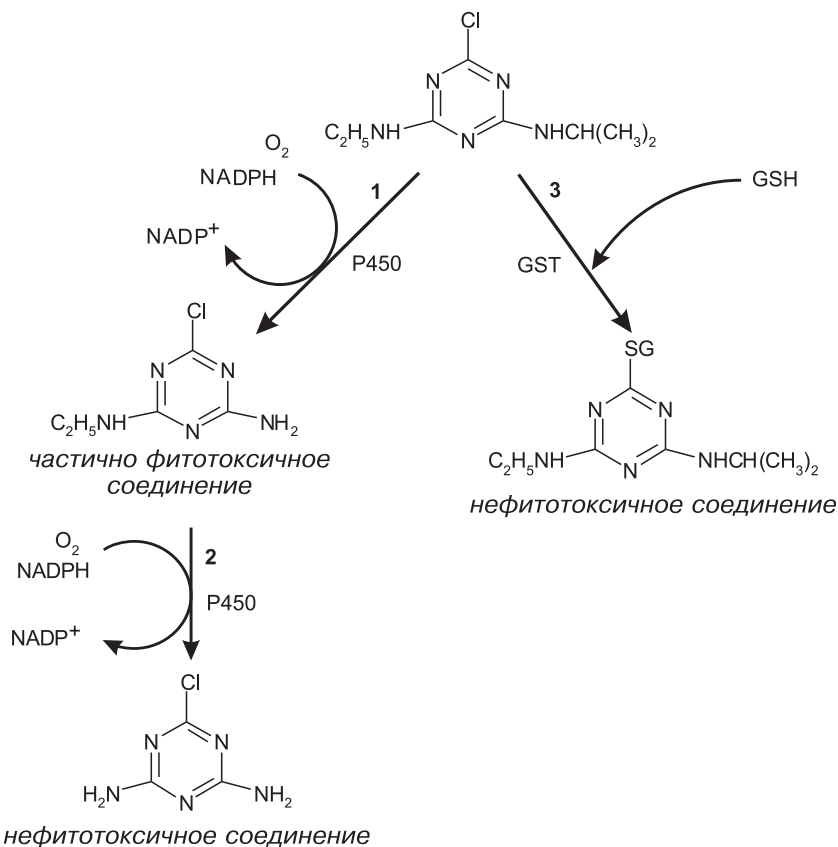


Рис. 4. Метаболизм атразина кукурузой [41].

(P450) – P450 ферменты: монооксигеназа и эстераза; GSH – глутатион; GST – глутатион S-трансфераза. Реакция 1 – моно-N-деалкилирование атразина с помощью фермента P450; реакция 2 – дальнейшее моно-N-деалкилирование атразина с помощью фермента P450; реакция 3 – глутатион-конъюгация атразина с помощью глутатион S-трансферазы.

мых эстераз или с помощью глутатион-S-трансферазы (GST), которая активна при замещении атома хлора в позиции 2 атразина [41]. 2-Гидроксипроизводные атразина нефитотоксичны, в отличие от таких производных, как ДЭА и ДИА.

Перспективно создание генетически модифицированных растений, устойчивых к гербициду. Например, Бодэ с соавт. [42] описали биотрансформацию атразина в культуре табачных клеток, в которую введены два вида человеческого Р450. Полностью нефитотоксичный деалкилированный атразин, деэтилдеизопротилазин, образовывался только в трансгенной культуре.

Полагают, что в растениях, устойчивых к действию 4,6-бис(алкиламино)-2-хлор-1,3,5-триазинов, происходит их быстрый гидролиз с образованием нетоксичного для растений 2-гидроксипроизводного [11].

Водоросли также трансформируют триазины. Так, *Chloridella simplex* способна к деградации атразина, а *Chlorella vulgaris* – симазина [9]. Эти водоросли активно поглощают триазины и могут их частично метаболизировать до водорастворимых продуктов.

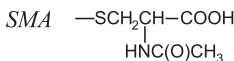
МЛЕКОПИТАЮЩИЕ

Ряд метаболитов триазинов был обнаружен в моче человека и крыс. Главные пути биотрансформации хлор-сим-триазинов (рис. 5) – N-деалкилирование системой цитохрома Р450 и глутатион-конъюгация исходного или N-деалкилированного метаболита с образованием конъюгата меркаптуровой кислоты, выводимого из организма [11, 13, 14]. Среди выделяемых продуктов преобладает диаминохлортриазин (ДАХТ) – 26–40%, за ним следуют ДАХТ-меркаптурат, ДЭА и в небольшом количестве (до 1%) ДИА.

БАКТЕРИИ

В литературе содержится много данных об утилизации атразина бактериями. Как можно видеть из табл. 2, одни бактерии минерализуют атразин, разлагая его до углекислого газа и аммиака, другие же ограничиваются получением полупродуктов – ГА, ДЭА и ДИА.

Rhodococcus sp. NI86/21 содержит цитохром Р450 монооксигеназу, осуществляющую окислительное деалкилирование атразина [43]. Деалкилированные метаболиты дегалогенируются s-триазин-гидролазой (TrzA) [43], не взаимодействующей с нативным атразином. Из *E. coli* выделен фермент атразинхлорогидролаза (Atz), превращающий атразин в гидроксипатразин [43]. Такую же каталитическую активность проявляли *Rhizobium sp. PATR*, *Agrobacterium radiobacter J14a* и *Ralstonia pickettii D* [43].



Реакции 1, 1а, 2, 2а – N-деалкилирование хлор-сим-триазинов с помощью гепатической P450-цитохромной системы; реакции 1б, 2б, 2в, 3 – глутатион-конъюгация исходного или N-деалкилированного метаболита в меркаптуратный конъюгат; реакция 4 – дегалогенирование ДАХТ.

Таблица 2
Некоторые атразин-метаболизирующие
бактериальные штаммы [53]

Штамм	Конечный продукт деструкции
<i>Agrobacterium radiobacter</i> J14a	CO ₂
<i>Clavibacter michiganese</i> ATZ1	ОН-атразин + N-этиламмелид
<i>Nocardioides</i> sp.	ОН-атразин + N-этиламмелид
<i>Pseudoaminobacter</i> sp.	CO ₂
<i>Pseudomonas</i> sp.	ДЭА + ДИА
<i>Pseudomonas</i> sp. ADP	CO ₂ + NH ₄ ⁺
<i>Pseudomonas</i> sp. CN1	Циануровая кислота + CO ₂
<i>Pseudomonas</i> sp. YAYA6	CO ₂
<i>Ralstonia basilensis</i> M91-3	Биурет + CO ₂ + NH ₄ ⁺
<i>Rhizobium</i> sp. PATR	ОН-атразин
<i>Rhodococcus</i> sp. N186/21	ОН-изопропилатразин

Показана гомология генов *atzABC* *Pseudomonas* sp. ADP в пяти утилизирующих атразин изолятах [44]. Скорость минерализации коррелирует с наличием и числом этих генов. Предложено несколько путей деструкции атразина и близких к нему сим-триазинов. На рис. 6 представлен один из них, включающий четыре этапа: дегалогенирование, N-деалкилирование, деаминирование и расщепление ароматического кольца.

Существование общих механизмов деградации атразина подтверждается обнаружением в различных географических регионах микроорганизмов, способных осуществлять разные этапы трансформации атразина: деалкилирование (в среде, лимитируемой по углероду); минерализация с использованием атразина в качестве единственного источника углерода и энергии; утилизация гетероциклического азота [45–48].

Бактерии ризосферы ряда растений (суданская трава, рожь, пшеница и др.) не способны к эффективной деградации атразина [49], в то время как бактериальная масса ризосферы кукурузы успешно осуществляет этот процесс [50].

Кодама и соавт. [51] выделили новую бактериальную культуру (*Moraxella (Branhamella) ovis* N5C), участвующую в деградации симазина.

В работе [52] описана совместная трансформация атразина, осуществляемая двумя видами бактерий: *Pseudomonas* sp. CN1 и *Clavibacter michiganese* ATZ1. Вначале *C. michiganese* ATZ1 метаболизировал атразин до N-этиламмелида, затем *P. sp.* CN1 превращал

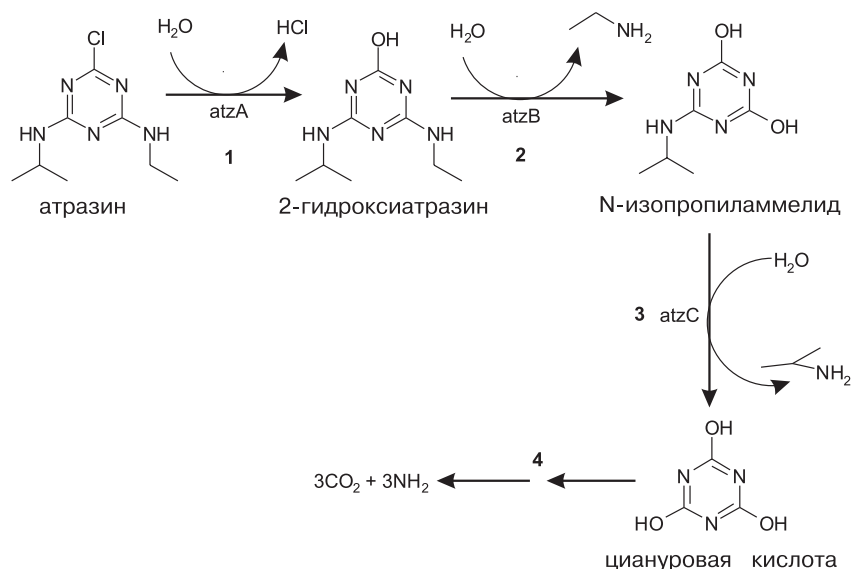


Рис. 6. Метаболизм атразина у *Pseudomonas sp.* штамм ADP [44].

Реакция 1 – дегалогенирование атразина при участии фермента, кодируемого геном *atzA*; реакции 2, 3 – N-деалкилирование и деаминирование метаболита при участии ферментов, кодируемых генами *atzB* и *atzC*; реакция 4 – расщепление гетероциклического кольца.

этот продукт в циануровую кислоту и далее осуществлял разрушение кольца. Переход атразина в 2-гидроксиатразин происходил при участии фермента, кодируемого геном *atzA* или его гомологом. Превращение гидроксиатразина в N-этиламелид находилось под контролем гена *atzB*. Кодированный геном *atzC* фермент катализировал переход амелида в циануровую кислоту. В отсутствие *C. michiganese* ATZ1 процесс трансформации атразина оказался невозможным.

Выделено несколько почвенных микробных ассоциаций и монокультур, утилизирующих атразин (см. табл. 2). Для этой цели наиболее широко используется *Pseudomonas sp. ADP*. Очищение этим штаммом почвы, загрязненной атразином, было продемонстрировано в работе [54]. Выявлена последовательность генов *P. sp. ADP atzA*, *atzB*, *atzC* и *atzD*, кодирующих ферменты аэробной деградации атразина [44, 52, 53]. Кауфманн и Мандельбаум [55] выделили и охарактеризовали атразинхлорогидролазу из *P. sp. ADP*, способную конвертировать атразин в 2-гидроксиатразин. Процесс деградации

лучше идет в монокультуре *P. sp. ADP*, чем в сообществе с другими денитрифицирующими бактериями [56]. Топп [57] сравнил деградацию атразина в почве различными монокультурами бактерий и показал, что *P. sp. ADP* минерализует атразин наиболее эффективно.

При изучении свойств бактерии *R. basilensis M91-3* выяснилось, что этот штамм может полностью минерализовать атразин в аэробных и анаэробных условиях [58, 59], причем процесс тормозился в присутствии как цианазина (см. табл. 1), так и неорганического азота (сульфата аммония) [60]. Взаимосвязь между метаболизмом азота и атразина у *R. basilensis M91-3* подтверждена и другими авторами [61].

Взрывчатое вещество гексагидро-1,3,5-тринитро-1,3,5-триазин, структурно близкое к триазиновым гербицидам, можно на 90% разрушить с помощью *Rhodococcus sp. DN22* [62].

В последнее время началось использование мутантов фототрофных бактерий, сохраняющих в присутствии гербицидов способность к росту, выделению кислорода и азотфиксации, что крайне важно для их агробиологического применения. Так, получен устойчивый к азидаатразину мутант пурпурной бактерии *Rhodobacter sphaeroides* [26].

Приведенные данные свидетельствуют о наличии высокоспецифичных ферментативных систем деградации атразина, в которых последовательные стадии процесса катализируются разными ферментами. Ксенобиотик служит фактором стресса для микроорганизмов; адаптация к нему включает формирование на генетическом уровне метаболических путей деструкции.

ГРИБЫ

Ферменты, участвующие в деградации атразина

Почвенные дрожжи *Lipomyces starkeyi* были протестированы [63] на способность трансформировать 5 триазинов: атразин, симазин, аметрин, цианазин и прометрин. Деградация определялась по росту колоний на твердой среде, отражающему ассимиляцию дрожжами триазинов в качестве источника азота. Однако механизм убыли триазиновых пестицидов *L. starkeyi* неизвестен.

Известно, что грибы белой гнили могут разрушать пестициды, полициклические ароматические углеводороды, полихлорированные ароматические соединения, красители и т.д. [64–66]. Наибольший интерес в качестве биодеструктора пестицидов вызывает *Phanerochaete chrysosporium* [66], способный минерализовать хлор- и фосфорсодержащие органические пестициды. В этих превращениях главную роль играют основные окислительные ферменты грибов.

У базидиомицетов к ним относятся лигнинпероксидазы (ЛиП, Е.С. 1.11.1.14), марганецпероксидазы (МнП, Е.С. 1.11.1.13) и голубые лакказы (Е.С. 1.10.3.2). Все они обладают широким спектром действия.

ЛиП способны к одноэлектронному окислению диметоксифенильных субстратов с образованием катионрадикальных интермедиатов. Лигнинпероксидазы были выделены из возбудителя белой гнили – гриба *Phanerochaete chrysosporium*. Все изоферменты ЛиП – мономерные гемогликопротеины. ЛиП содержит как соседствующие с гемом, так и отдаленные Са-связывающие сайты. Активный центр ЛиП – гемовый карман – сходен с закрытой структурой активного центра пероксидазы хрена (ПХ) и отличается от других гемсодержащих белков: глобинов, каталазы, хлорпероксидазы и цитохрома Р450, у которых гем экспонирован наружу. Каталитический цикл ЛиП включает двухэлектронное окисление ферри-(Fe^{3+}) формы фермента перекисью водорода до оксоферрила (Fe^{4+}O) и катион-радикала.

МнП окисляют фенольные компоненты лигнина. Среди грибов, обладающих только МнП-активностью, следует указать *Phlebia radiata*, который характеризуется наивысшим уровнем минерализации лигнина (до 71%) при росте в жидкой среде. МнП структурно сходна с ЛиП и ПХ [67]. МнП запускает неферментативные процессы, инициируемые комплексами Mn^{3+} или вторичными медиаторами. Медиатором МнП может быть, например, глутатион [68, 69], образующий при одноэлектронном окислении ионом Mn^{3+} высокоактивные тиолрадикалы. Большую роль в активности МнП играют Mn^{2+} , Mn^{3+} , перекись водорода, кислород и оксалат [70–72], изменяя скорость каталитической реакции.

Лакказы – самые распространенные представители ферментов, способные преобразовывать ароматические соединения [67]. Помимо грибов белой гнили, лакказы обнаружены у многих возбудителей мягкой гнили, почвенных сапротрофных и фитопатогенных грибов (аскомицетов [73] или их гифомицетных анаморфов), а также у многих агариковых грибов, растущих на почвенном или растительном субстрате. Большинство лакказ окисляет ароматические соединения со свободным фенольным гидроксилем, аминифенолы, ароматические диамины [67, 74–76]. Лакказы успешно используются при деградации трихлорфенолов, алкенов, красителей, пестицидов и др. [66, 77–79].

Многие лакказы относятся к «голубым», т.е. медьсодержащим белкам, которые катализируют восстановление молекул кислорода до молекул воды. Лакказы непосредственно окисляют широкий круг одноэлектронных восстановителей. Редокс-потенциалы лакказ разного

происхождения располагаются в диапазоне от 0,4 В (*Myceliophthora thermophila*) до 0,8 В (*Trametes villosa*, *Pycnoporus cinnabarinus*).

Часть лакказ стимулируется индукторами – гваяколом, таннином, феруловой и синаповой кислотами, сирингалдазином, 2,5-ксилидином, вератровым спиртом, гуминовыми кислотами и др. С другой стороны, лакказы *Lentinus edodes*, *Agaricus bisporus*, *Schizophyllum commune* – типично конститутивные ферменты, биосинтез которых определяется собственным метаболизмом гриба [67, 80–82].

При разработке систем биodeградации значительное внимание уделяется более стабильным препаратам иммобилизованных ферментов. Для лакказ также показано более длительное сохранение активности после иммобилизации [83, 84]. Иммобилизованную лакказу совместно с медиатором используют для окисления токсиантов, в частности – промышленных красителей [85].

Методом иммуноферментного анализа нами [86] было проведено сравнение эффективности деградации атразина тремя базидиальными культурами: *Coriolus hirsutus*, *Coriopsis fulvocinerea* (лакказная активность преобладает над MnII) и *Cerrena maxima* (MnII активность выше лакказной). В качестве индукторов использовались гваякол и сирингалдазин. Обнаружена взаимосвязь между деградацией гербицида и лакказной активностью штаммов. Наиболее эффективной оказалась деструкция культурой *C. fulvocinerea*, индуцируемой гваяколом: утилизировалось до 98% атразина. В остальных вариантах опытов деградация также была высокой и достигала 68–94%.

При изучении ряда древоразрушающих и почвенных грибов (*C. maxima*, *C. fulvocinerea*, *Coriolus hirsutus*, термофильный целлюлолитик *Penicillium* sp. 13, нецеллюлолитические организмы *Humicola lanuginosa* spp. 5 и 12, мезофильный микромицет – продуцент фенолоксидаз *Mycelia sterilia* ИНБИ 2-26) было установлено [87, 88], что ни один из термофильных штаммов не разлагал атразин при глубинном культивировании. В отличие от них возбудители белой гнили *C. maxima*, *C. fulvocinerea*, *C. hirsutus*, активные продуценты лакказы, разлагали до 80–92% атразина в течение 40 суток. Штамм *Mycelia sterilia* ИНБИ 2-26, также продуцирующий лакказу, разлагал до 70% атразина в течение 17 суток. Из неспоронной культуры *M. sterilia* ИНБИ 2-26 с помощью протопластов были выделены лакказные и безлакказные клоны [89], рост которых несколько стимулировался в присутствии 20 мкг/мл атразина. Степень деградации атразина этими клонами составляла 68% в трехнедельных культурах. Следовательно, разложение атразина штаммом *M. sterilia* ИНБИ 2-26 не связано с внеклеточной лакказной активностью.

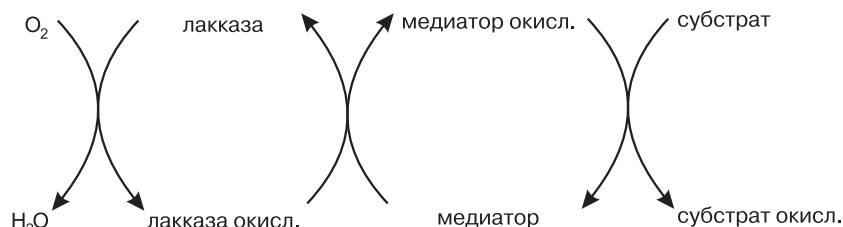


Рис. 7. Схема окислительной деградации субстратов системой лакказы/медиатора.

Представления о субстратной специфичности лакказ расширились после обнаружения медиаторов – веществ, способных опосредованно (через окисление лакказой) участвовать в окислении нефенольных соединений. При помощи медиаторов окислению подвергаются соединения с редокс-потенциалом, превышающим потенциал лакказ [67, 90]. На рис. 7 приведена общая схема окисления субстрата ферментом в присутствии медиатора.

Хорошими медиаторами лакказы являются соединения, имеющие -NO, -NOH либо HRNOH-группы [90–94]. Например, показана эффективность в этой роли N-(4-цианофенил)-ацетогидроксамовой кислоты [92].

Дегградация атразина низшими и высшими грибами осуществляется при помощи неспецифических к данному ксенобиотику ферментативных систем и в ряде случаев в присутствии медиаторов, что обеспечивает образование радикалов, которые и взаимодействуют с ксенобиотиком. Таким образом, дегградация может проходить двумя путями – ферментативным и опосредованно ферментативным (или фермент-инициированным образованием радикалов).

Помимо этого, может осуществляться и неферментативная деструкция триазиновых соединений.

Неферментативная дегградация триазиновых соединений

Trametes versicolor продуцирует соединения массой 1–5 кДа, которые катализируют окислительно-восстановительную реакцию между молекулярным кислородом и донором электронов, высвобождая гидроксил-радикал [95]. Системы F(II)/H₂O₂ и F(III)/H₂O₂ применяются для окисления хлорбензолов, атразина, симазина, алахлора, малатиона и других пестицидов [96–98]. В работе [99] для разрушения атразина, симазина и пропазина использовался порошок железа.

Ма и соавт. [100] озонировали атразин в присутствии Mn^{II} и бикарбоната или *tert*-бутанола. Радикальная реакция приводила к образованию низкомолекулярного полярного продукта. Лейтнер и соавт. [101] обнаружили эффективную деструкцию атразина при сочетании гамма-облучения и пропускаемого через раствор кислоты. В работе [102] был осуществлен фотолиз атразина при облучении в видимой и УФ-области в присутствии порфиринового или фталоцианинового комплексов, что позволило получить в качестве продукта циануровую кислоту. Замена этих комплексов на диоксид титана сократила время полужизни атразина при том же продукте деструкции [103]. После обработки раствора атразина ультразвуком среди продуктов распада получали диоксид углерода, что свидетельствовало о полном разрушении триазинового кольца [104]. При фотореакции, сенсibilизированной рибофлавином, главным продуктом деструкции был деэтиламиндеизопропиламинатразин, т.е. в данной реакции не прошло даже дегалогенирование [105].

Неферментативная деградация ксенобиотиков, в частности атразина, является радикальным процессом вне зависимости от происхождения и вида радикала. Радикалы могут генерироваться в результате ферментативных реакций или под воздействием ряда физико-химических факторов – озонирования, УФ облучения и др.

VII. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотренные в обзоре данные позволяют сделать вывод о том, что деградация атразина и структурно близких триазиновых соединений может осуществляться различными путями с участием физико-химических процессов и ферментативных реакций. Для создания эффективных технологий очистки наибольший интерес представляют микробиологические способы деструкции.

Эффективная утилизация атразина описана для бактерий родов *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Rhizobium*, *Ralstonia*, *Agrobacterium*, *Clavibacter*, *Nocardioide*s. Грибы мало изучались на предмет деструкции триазиновых соединений, однако в последние годы предложены новые подходы (например, сочетание лакказы с медиаторами), существенно повышающие эффективность процессов биodeградации.

В перспективе комплексное использование различных методов биоремедиации природной среды позволит повысить ее эффективность и применять ее по отношению к широкому ряду токсикантов. Для детоксикации почв представляется целесообразным использование их естественной микрофлоры, но с увеличением доли организмов,

способных к деструкции ксенобиотиков [18, 106–108]. Очистку вод можно осуществлять с помощью как физических, так и ферментативных методов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Garmouma, M., Chevreuil, M. (1998) *Water Air Soil Pollut.*, **108**, 129–148.
2. Foreman, W.T., Majewski, M.S., Golsby, D.A., Wiebe, F.W., Coupe, R.H. (2000) *Sci. Total Environ.*, **248**, 213–216.
3. Tindall, J.A., Vencill, W.K. (1995) *J. Hydrol.*, **166**, 37–39.
4. Zaruk, D., Alae, M., Sverko, E., Comba, M. (1998) *Anal. Chim. Acta*, **376**, 113–117.
5. Sannino, F., Gianfreda, L. (2001) *Chemosphere*, **45**, 417–425.
6. Bester, K. (2000) *Helgol Mar. Res.*, **54**, 95–98.
7. Dewey, S.L. (1986) *Ecology*, **67**, 148–162.
8. Lakshminarayana, J.S.S., O'Neil, H.J., Jonnavithula, S.D., Leger, D.A., Milburn, P.H. (1992) *Environ. Pollut.*, **76**, 201–210.
9. Graymore, M., Stagnitti, F., Allinson, G. (2001) *Environ. Intern.*, **26**, 483–495.
10. Hall, L.W., Anderson, R.D., Ailstock, M.S. (1997) *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **33**, 261–267.
11. U.S. EPA Office of Pesticide Programs. Health Effect Division. The grouping of a series of triazine pesticides based on a common mechanism of toxicity. (2002). USA, 4–37.
12. Sanderson, J.T., Letcher, R.J., Heneewe, M., Giesy, J.P., van den Berg, M. (2001) *Environ. Health Persp.*, **109**, 1027–1031.
13. Timchalk, C., Dryzga, M.D., Langvardt, P.W., Kastl, P.E., Osborne, D.W. (1990) *Toxicol.*, **61**, 27–40.
14. Buchholz, B.A., Fultz, E., Haack, K.W., Vogel, J.S., Gilman, S.D., Gee, S.J., Hammock, B.D., Hui X., Wester R.C., Maibach H.I. (1999) *Anal. Chem.*, **71**, 3519–3525.
15. Ribas, G., Surrallés, J., Carbonell, E., Creus, A., Xamena, N., Marcos, R. (1998) *Mutation Res.*, **416**, 93–99.
16. Мельников, Н.Н., Новожилов, К.В., Белан, С.П. Пестициды и регуляторы роста растений. Справочник. (1995) М.: Химия, 31–194.
17. Микробная деградация пестицидов. (1991) Ред. Либерштейн И.И. Кишинев: Штиинца, 7–33.
18. Groom, C.A., Beaudet, S., Halasz, A., Paquet, L., Hawari, J. (2001) *J. Chromatogr. A*, **909**, 53–60.
19. Halasz, A., Groom, C., Zhou, E., Paquet, L., Beaulieu, C., Deschamps, S., Corriveau, A., Thiboutot, S., Ampleman, G., Dibois, C., Hawari, J. (2002) *J. Chromatogr. A*, **963**, 411–418.
20. Harvey, S.D., Galloway, H., Krupsha, A. (1997) *J. Chromatogr. A*, **775**, 117–124.
21. Мельников, Н.Н. Пестициды. Химия, технология и применение. (1987) М.: Химия, 639–647.
22. Barcelo, D. (1991) *Analyst*, **116**, 681–689.
23. Каспаров, В.А., Промоненков, В.К. Применение пестицидов за рубежом. (1990) М.: Агропромиздат. 224 сс.

24. Saari, L.L. Prognosis for discovering new herbicide sites of action. (1999) Cambridge: The Royal Society of Chemistry. Thomas Graham House, 368–385.
25. Zongmao, C., Haibin, W. (1997) Environ. Monit. Assessment, **44**, 303–313.
26. Поведение пестицидов и химикатов в окружающей среде. Труды советско-американского симпозиума, Айова-Сити, США, октябрь 1987. (1991) Л.: Гидрометеиздат, 41–47, 311–315, 355–357.
27. Пестициды. Справочник. (1992) М.: Агропромиздат, 25.
28. Деградация пестицидов при комплексной защите сельскохозяйственных культур от вредных организмов. Симпозиум (Рига, 1987, материалы). (1990) Л.: ВИЗР, 74–79.
29. Wang, Y.-S., Duh J.-R., Lin K.-Y., Chen Y.-L. (1996) Bull. Environ. Contam. Toxicol., **57**, 743–750.
30. Behrendt, H., Altschuh, J., Sixt, S., Gastеiger, J., Hollering, R., Kostka, T. (1999) Chemosphere, **38**, 1811–1823.
31. Soskic, M., Plavsic, D., Trinajstic, N. (1997) J. Mol. Struct., **394**, 57–65.
32. Kornerova, M., Hola, D., Chodova, D. (1998) Photosynthetica, **35**, 265–268.
33. Davies, P.E., Cook, L.S.J., Barton, J.L. (1994) Aust. J. Mar. Freshwater Res., **45**, 209–226.
34. Davies, P.E., Cook, L.S.J., Goenarso, D. (1994) Environ. Toxicol. Chem., **13**, 1341–1354.
35. Saglio, P., Trijasse, S. (1998) Arch. Environ. Contam. Toxicol., **35**, 484–491.
36. Henny, C.J., Galushin, V.M., Khokhlov, A.N., Malovichko, L.V., Iljukh, M.P. (2003) Bull. Environ. Contam. Toxicol., **71**, 163–169.
37. Hoshi, H., Minamoto, N., Iwata, H., Shiraki, K., Tatsukawa, R., Tanabe, S., Fujita, S., Hirai, K., Kinjo, T. (1998) Chemosphere, **36**, 3211–3221.
38. Szabo, R., Keseru, M., Fejes, S., Budai, P., Juhasz, E., Pongracz, A. (2004) Commun. Agric. Appl. Biol. Sci., **69**, 811–814.
39. Wilhelms, K.W., Cutler, S.A., Proudman, J.A., Anderson, L.L., Scanes, C.G. (2005) Toxicol. Sci., **86**, 152–160.
40. Ларина, Г.Е. (2002) Агрохимия, **4**, 54–64.
41. Pesticide Chemistry and Bioscience. The Food Environment Challenge. (1999) Cambridge: The Royal Society of Chemistry. Thomas Graham House, 259–262.
42. Bode, M., Stobe, P., Thiede, B., Schuphan, I., Schmidt, B. (2003) Pest. Manag. Sci., **60**, 49–58.
43. Wackett, L.P., Sadowsky, M.J., Martinez, B., Shapir, N. (2002) Appl. Microbiol. Biotechnol., **58**, 39–45.
44. De Souza, M.L., Seffernick, J., Martinez, B., Sadowsky, M.J., Wackett, L.P. (1998) J. Bacteriol., **180**, 1951–1954.
45. Bichat, F., Sims, G.K., Mulvaney, R.L. (1999) Soil Sci. Soc. Amer. J., **63**, 100–110.
46. Mandelbaum, R.T., Allan, B.H., Wackett, L.P. (1995) Appl. Environ. Microbiol., **61**, 1451–1457.
47. Topp, E., Mulbry, W.M., Zhu, H., Nour, S.M., Cuppels, D. (2000) Appl. Environ. Microbiol., **66**, 3134–3141.
48. Topp, E., Zhu, H., Nour, S.M., Houot, S., Lewis, M., Cuppels, D. (2000) Appl. Environ. Microbiol., **66**, 2773–2782.
49. Fang, C., Radosevich, M., Fuhrmann, J.J. (2001) Soil Biol. Biochem., **33**, 671–678.

50. Piutti, S., Hallet, S., Rousseaux, S., Philippot, L., Soulas, G., Martin-Laurent, F. (2002) *Biol. Fertil. Soils*, **36**, 434–441.
51. Kodama, T., Ding, L., Yoshida, M., Yajima, M. (2001) *J. Mol. Catalysis B*, **11**, 1073–1078.
52. De Souza, M.L., Newcombe, D., Alvey, S., Crowley, D.E., Hay, A., Sadowsky, M.J., Wackett, L.P. (1998) *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 178–184.
53. Ralebitso, T.K., Senior, E., van Verseveld, H.W. (2002) *Biodegradation*, **13**, 11–19.
54. Newcombe, D.A., Crowley, D.E. (1999) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **51**, 877–882.
55. Kauffmann, C., Mandelbaum, R.T. (1998) *J. Biotechnol.*, **62**, 169–176.
56. Katz, I., Dosoretz, C.G., Mandelbaum, L.T., Green, M. (2001) *Water Res.*, **35**, 3272–3275.
57. Topp, E. (2001) *Biol. Fertil. Soils*, **33**, 529–534.
58. Crawford, J.J., Sims, G.K., Mulvaney, R.L., Radosevich, M. (1998) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **49**, 618–623.
59. Crawford, J.J., Traina, S.J., Tuovinen, O.H. (2000) *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **64**, 624–634.
60. Gebendinger, N., Radosevich, M. (1999) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **51**, 375–381.
61. Rhine, E.D., Fuhrmann, J.J., Radosevich, M. (2003) *Microb. Ecol.*, **46**, 145–160.
62. Coleman, N.V., Nelson, D.R., Duxbury, T. (1998) *Soil Biol. Biochem.*, **30**, 1159–1167.
63. Nishimura, K., Yamamoto, M., Nakagomi, T., Takiguchi, Y., Naganuma, T., Uzuka, Y. (2002) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **58**, 848–852.
64. Bending, G.D., Friloux, M., Walker, A. (2002) *FEMS Microbiol. Lett.*, **212**, 59–63.
65. Mori, T., Kondo, R. (2002) *FEMS Microbiol. Lett.*, **213**, 127–131.
66. Pointing, S.B. (2001) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **57**, 20–33.
67. Болобова, А.В., Аскадский, А.А., Кондращенко, В.И., Рабинович, М.Л. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Ферменты, модели, процессы (т. 2). (2002) М.: Наука, 343 сс.
68. D'Annibale, A., Crestini, C., Di Mattia, E., Sermanni, G.G. (1996) *J. Biotechnol.*, **48**, 231–239.
69. Haas, R., Tsivunchyk, O., Steinbach, K., v. Low, E., Scheibner, K., Hofrichter, M. (2004) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **63**, 564–566.
70. Palma, C., Moreira, M.T., Feijoo, G., Lema, J.M. (1997) *Biotechnol. Lett.*, **19**, 263–267.
71. Van Aken, B., Agathos, S.N. (2002) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **58**, 345–351.
72. Scheel, T., Holker, U., Ludwig, S., Hofer, M. (2000) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **54**, 686–691.
73. Kiiskinen, L.-L., Viikari, L., Kruus, K. (2002) *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **59**, 198–204.
74. Kulys, J., Krikstopaitis, K., Ziemys, A., Schneider, P. (2002) *J. Mol. Catalysis B*, **18**, 99–108.
75. Aktas, N., Tanyolac, A. (2003) *J. Mol. Catalysis B*, **22**, 61–69.
76. Carunchio, F., Crescenzi, C., Girelli, A.M., Messina, A., Tarola, A.M. (2001) *Talanta*, **55**, 189–200.
77. Mayer, A.M., Staples, R.C. (2002) *Phytochem.*, **60**, 551–565.

78. Wang, C.-J., Thiele, S., Bollag, J.-M. (2002) Arch. Environ. Contam. Toxicol., **42**, 1–8.
79. Kang, K.-H., Dec, J., Park, H., Bollag, J.-M. (2002) Water Res., **36**, 4907–4915.
80. Mougin, C., Kollmann, A., Jolival, C. (2002) Biotechnol. Lett., **24**, 139–142.
81. Скоробогатько, О.В., Степанова, Е.В., Гаврилова, В.П., Ярополов, А.И. (1996) Прикл. биохим. микробиол., **32**, 524–528.
82. Горбатова, О.Н., Степанова, Е.В., Королева, О.В. (2000) Прикл. биохим. микробиол., **36**, 272–277.
83. Rogalski, J., Dawidowicz, A., Jozwik, E., Leonowicz, A. (1999) J. Mol. Catalysis B, **6**, 29–39.
84. Rogalski, J., Jozwik, E., Hatakka, A., Leonowicz, A. (1995) J. Mol. Catalysis A, **95**, 99–108.
85. Reyes, P., Pickard, M.A., Vazquez-Duhalt, R. (1999) Biotechnol. Lett., **21**, 875–880.
86. Горбатова, О.Н., Королева, О.В., Ландесман, Е.О., Степанова, Е.В., Жердев, А.В. (2006) Прикл. биохим. микробиол., **42**, 496–502.
87. Королева, О.В., Степанова, Е.В., Ландесман, Е.О., Васильченко, Л.Г., Хромоныгина, В.В., Жердев, А.В., Рабинович, М.Л. (2002) Прикл. биохим. микробиол., **38**, 413–418.
88. Koroleva, O.V., Stepanova, E.V., Landesman, E.O., Vasilchenko, L.G., Khromonygina, V.V., Zherdev, A.V., Rabinovich, M.L. (2001) Toxicol. Environ. Chem., **80**, 175–188.
89. Васильченко, Л.Г., Хромоныгина, В.В., Королева, О.В., Ландесман, Е.О., Гапоненко, В.В., Ковалева, Т.А., Козлов, Ю.П., Рабинович, М.Л. (2002) Прикл. биохим. микробиол., **38**, 534–539.
90. Call, H.P., Mucke, I. (1997) J. Biotechnol., **53**, 163–202.
91. Fabbrini, M., Galli, C., Gentili, P. (2002) J. Mol. Catalysis B, **16**, 231–240.
92. Geng, X., Li, K., Xu, F. (2004) Appl. Microbiol. Biotechnol., **64**, 493–496.
93. Cantarella, G., Galli, C., Gentili, P. (2004) New J. Chem., **28**, 366–372.
94. Xu, H., Lai, Y.-Z., Slomczynski, D., Nakas, J.P., Tanenbaum, S.W. (1997) Biotechnol. Lett., **19**, 957–960.
95. Tanaka, H., Itakura, S., Enoki, A. (1998) J. Biotechnol., **74**, 57–70.
96. Gallard, H., De Laat, J. (2000) Water Res., **34**, 3107–3116.
97. Gallard, H., De Laat, J. (2001) Chemosphere, **42**, 405–413.
98. Huston, P.L., Pignatello, G.G. (1999) Water Res., **33**, 1238–1246.
99. Ghauch, A., Suptil, J. (2000) Chemosphere, **41**, 1835–1843.
100. Ma, J., Graham, N.J.D. (2000) Water Res., **34**, 3822–3828.
101. Leitner, N.K.V., Berger, P., Gehringer, P. (1999) Radiation Phys. Chem., **55**, 317–322.
102. Hequet, V., Le Cloirec, P., Gonzalez, C., Meunier, B. (2000) Chemosphere, **41**, 379–386.
103. Hequet, V., Gonzalez, C., Le Cloirec, P. (2001) Water Res., **35**, 4253–4260.
104. Petrier, C., David, B., Laguian, S. (1996) Chemosphere, **32**, 1709–1718.
105. Cui, H., Hwang, H.-M., Zeng, K., Glover, H., Yu, H., Liu, Y. (2002) Chemosphere, **47**, 991–999.
106. Copley, S.D. (2000) Trends in Biochem. Sci., **25**, 261–265.

107. *Chua, H., Yu, P.H.F., Lo, W., Sin, S.N.* (2001) *Science Total Environ.*, **266**, 221–228.
108. *Oh, K.-H., Kim, Y.-J.* (1998) *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **61**, 702–708.