

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В. ЛОМОНОСОВА

ФАКУЛЬТЕТ ПОЧВОВЕДЕНИЯ

---

*На правах рукописи*

**АСТАЙКИНА**

**АНЖЕЛИКА АНАТОЛЬЕВНА**

**Оценка экологических рисков применения пестицидов в  
Российской Федерации: экспериментальные исследования,  
математическое моделирование**

Специальность 03.02.08 – экология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук,  
профессор Яковлев А.С.

Москва – 2019

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	4
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	11
1.1. Экологическая оценка пестицидов .....	11
1.1.1. Экологическая опасность пестицида и ее классификации.....	12
1.1.2. Экологический риск применения пестицидов .....	18
1.2. Инструментарии экологической оценки пестицидов .....	20
1.3. Агрегированные индикаторы риска негативного воздействия .....	25
1.4. Влияние пестицидов на почвенные организмы .....	26
1.5. Проблемы нормирования и мониторинга пестицидов в Российской Федерации.....	35
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	39
2.1. Исследованные пестициды .....	39
2.2. Полевой эксперимент .....	41
2.3. Лизиметрический эксперимент.....	43
2.5. Метеорологические показатели .....	48
2.6. Математические модели.....	49
2.7. Методика оценки опасности и риска применения пестицидов для водных и для почвенных организмов.....	51
2.8. Обобщение результатов расчета и составление рейтинга рисков .....	52
2.9. Методы оценки влияния пестицидов на дождевых червей.....	53
2.10. Методы оценки влияния пестицидов на микробное сообщество почвы .....	55
2.11. Статистическая обработка результатов.....	58
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....	60
3.1. Разложение и профильная миграция пестицидов в почвах.....	60
3.2. Пестициды в лизиметрических водах .....	67
3.3. Прогноз по модели PEARL 4.4.4 .....	70
3.4. Статистический анализ результатов моделирования .....	72

3.5. Прогноз концентрации пестицидов в почве и в воде .....	76
3.6. Токсичность и биоаккумуляция.....	80
3.6.1. Оценка токсичности пестицидов для почвенных и для водных организмов.....	80
3.6.2. Аккумуляция пестицидов в организмах дождевых червей и гидробионтов.....	85
3.7. Экологические риски применения пестицидов для окружающей среды .....	88
3.8. Оценка воздействия пестицидов на почвенные организмы.....	93
3.8.1. Оценка влияния пестицидов на дождевых червей и на прокариотное сообщество их кишечного тракта.....	93
3.8.2. Оценка влияния пестицидов на микробное сообщество агродерново-подзолистой почвы.....	102
Заключение .....	116
Выводы .....	119
Список опубликованных работ по теме диссертации .....	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	124
ПРИЛОЖЕНИЕ А .....	147
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	151
ПРИЛОЖЕНИЕ В .....	161
ПРИЛОЖЕНИЕ Г.....	162

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** В современном сельском хозяйстве высокая урожайность без применения средств химической защиты растений не достижима (Skevas, 2013). Обеспечение продовольствием экспоненциально растущего населения, как отдельного региона, так и планеты в целом требует либо непрерывно увеличивать площади пахотных земель (экстенсивный метод), что в долгосрочной перспективе невозможно, поскольку земельный ресурс жестко ограничен и подвержен неизбежной деградации (Яковлев, 2018), либо улучшать сельскохозяйственные территории на базе специальных современных технологий (интенсивный метод). Использование средств химической защиты растений призвано повысить урожайность сельскохозяйственных культур при снижении негативного воздействия применяемых пестицидов на человека и на нецелевые организмы (Schäfer, 2019, Streissl, 2018). Добиться подобного снижения возможно тремя способами: 1) совершенствованием системы государственного регулирования и мониторинга влияния пестицидов на окружающую среду; 2) оценкой рисков применения пестицидов с учетом почвенно-климатических условий конкретного региона; 3) финансированием научных разработок новых пестицидов с минимальной токсичностью. Первый и второй из вышеперечисленных способов тесно взаимосвязаны. Экологическая оценка применения пестицидов - первая ступень в процедуре их государственной регистрации (Handford, 2015, Alix, 2015). Такая оценка включает в себя: во-первых, классификацию опасности пестицида, во-вторых, оценку риска негативного воздействия пестицида (Voivin, 2017). Соответствующие исследования позволяют установить регламент применения пестицида. Этот регламент обеспечивает эффективность и безопасность применения пестицида для человека и окружающей среды. Инструментарии экологической оценки применения пестицидов постоянно совершенствуются: формируются новые базы данных экотоксикологических

свойств пестицидов (Van Ravenzwaay, 2012, Kegley, 2014), создаются новейшие модели расчета риска негативного воздействия пестицидов (Jager, 2011, Van der Voet, 2015, Albert, 2016), предлагаются агрегированные индикаторы риска (Stenrød, 2008). Настоящая работа направлена на разработку таких индикаторов в системе «почва-поверхностные воды». К тому же в научном сообществе широко обсуждается вопрос о замене ныне существующего гигиенического нормирования загрязнителей (включая пестициды) нормированием экологическим (Воробейчик, 2004, Яковлев, 2013, Горбатов, 2013, ГН 1.2.3539-18, 2018). Для пестицидов всегда известно – где, когда и сколько поступает пестицида в конкретный природный объект, в отличие от других загрязнителей окружающей среды (Астайкина, 2016). Проведенная сравнительная оценка существующих норм применения пестицидов с гигиеническими нормативами для пестицидов (ПДК/ОДК) в почве показала: норма применения для трети пестицидов (от общего количества зарегистрированных) выше значений гигиенических нормативов для тех же пестицидов (Горбатов, 2017). Следовательно, государственный мониторинг пестицидов нуждается в реформировании (Горбатов, 2019).

**Объект и предмет исследования.** В настоящей работе предметом исследования являлись процессы, происходящие в окружающей среде под воздействием пестицидов. Объекты изучения: дерново-подзолистая почва, темно-каштановая почва, чернозем типичный, лизиметрические воды, *Eisenia foetida* и *Lumbricus terrestris*, микробные комплексы агродерново-подзолистой почвы и кишечного тракта *L. terrestris*.

**Цель работы** – оценить экологические риски применения пестицидов в Российской Федерации для формирования приоритетного списка пестицидов, подлежащих мониторингу в почве и в поверхностных водах.

**Задачи исследования:**

1. Определить инструментарий для оценки рисков применения пестицидов для нецелевых почвенных и водных организмов.

2. Изучить поведение пестицидов в трех климатических зонах Европейской части России и сравнить фактические концентрации пестицидов в почвах с данными полученными по модели PEARL.

3. Провести прогноз концентрации всех действующих веществ пестицидов, разрешенных для применения в РФ, в модельном водном объекте, используя математическую модель STEP 1-2 и максимальные рекомендованные нормы применения пестицидов.

4. Составить рейтинг пестицидов по агрегированному показателю риска для гидробионтов (HARIP) и дождевых червей.

5. Изучить влияние препаративной формы пестицидов на дождевых червей, микробное сообщество их желудочно-кишечного тракта и дерново-подзолистой почвы.

6. Составить список пестицидов для нормирования и мониторинга в почвах и в поверхностных водах Российской Федерации.

### **Научная новизна исследования.**

При оценке экологических рисков применения пестицидов впервые использован системный подход, основанный на данных, полученных в результате полевых и лабораторных экспериментов с использованием математического моделирования. Агрегированный показатель риска негативного воздействия пестицидов для гидробионтов и для дождевых червей – это сумма трех показателей: численного выражения риска проявления острой токсичности, численного выражения риска проявления хронической токсичности и коэффициента BCF. Впервые для расчета этого показателя использованы данные математического моделирования концентрации пестицидов в почве и в воде.

Методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) впервые исследовано воздействие пестицидов на структуру микробного сообщества кишечного тракта дождевого червя *Lumbricus terrestris*. Показано, что в кишечниках *L. terrestris* под влиянием пестицидов увеличивается

представленность филумов *Proteobacteria* (на 45% в 10-кратной норме применения препаратов) и *Bacteroidetes* и снижается представленность *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Tenericutes*.

Установлено, что пестициды оказывают наибольшее влияние на грибное сообщество почвы по сравнению с прокариотным, для которого показано изменение только обилия филумов актинобактерий и протеобактерий. Исследование грибных сообществ по результатам молекулярно-генетического анализа во всех почвенных образцах выявило два доминирующих отдела грибов – *Ascomycota* ( $72.6 \pm 8.0\%$ ) и *Basidiomycota* ( $26.0 \pm 7.7\%$ ). При этом, в образцах с 10 кратными нормами применения пестицидов (как в смеси, так и по отдельности) обнаружено увеличение численности представителей отдела *Basidiomycota* (на 32% по сравнению с контролем).

По результатам исследований сформулированы следующие **защищаемые положения:**

1. Показана эффективность математических моделей PEARL 4.4.4. и STEP 1-2 для оценки рисков применения пестицидов в почвенно-климатических условиях Европейской части России.
2. Впервые показана методологическая целесообразность использования индикатора агрегированного риска для мониторинга почв и поверхностных вод при применении пестицидов.
3. Обоснована необходимость проведения теста на токсичность препаративных форм пестицидов для дождевых червей *Eisenia foetida*.
4. Выявлена экологическая целесообразность изучения структурного состава микробного комплекса почв, а также прокариотного сообщества кишечного тракта *Lumbricus terrestris* при оценке риска негативного воздействия пестицидов, как в краткосрочной, так и в долгосрочной перспективе.

**Практическая значимость.** Разработанную систему оценки экологических рисков негативного воздействия пестицидов на объекты окружающей среды целесообразно положить в основу государственного управления применением и обращением пестицидов в Российской Федерации. Агрегированный показатель риска воздействия пестицидов на водные и почвенные организмы необходимо использовать при составлении рейтинга пестицидов-загрязнителей. Рейтинги эти предназначены для использования в системе экологического мониторинга почв и поверхностных вод. Полученные данные по изменению микробных комплексов в кишечном тракте дождевого червя и в дерново-подзолистой почве под влиянием пестицидов целесообразно использовать в качестве биоиндикаторов состояния почв, загрязненных пестицидами. Результаты этой работы могут быть включены в профильный учебный курс по экологической опасности и риску применения пестицидов и агрохимикатов.

**Личный вклад автора.** Все этапы работы проведены лично автором или при его непосредственном участии: отбор и анализ почвенных образцов и лизиметрических вод, математическое моделирование, исследование почвенных организмов, выделение кишечных трактов дождевых червей *Lumbricus terrestris*, подготовка образцов для секвенирования, а также статистическая обработка полученных результатов.

**Выполнение работы было поддержано** грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 18-316-00054 «Изменения в микробном сообществе кишечного тракта дождевых червей как индикатор токсичности пестицидов» на 2018-2020 годы под руководством соискателя.

**Апробация работы.** Материалы диссертации были представлены на конференциях:

1. SETAC Europe 29th Annual Meeting, Хельсинки, Финляндия, 2019;
2. 8th Young Environmental Scientists meeting, Гент, Бельгия, 2019;

3. Агрэколагічныя і эканамічныя аспекты прымянення сродкаў хімізацыі ў ўмовах біялагізацыі сельскагаспадарчага вытворства, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н.Прянишникова», Россия, 2018;
4. XVIII Всероссийское совещание по почвенной зоологии памяти Беллы Рафаиловны Стригановой, Москва, Россия, 2018;
5. Workshop: «Some promising technologies for sustainable development of forestry and agricultural production», Москва, 2018;
6. The International Workshop «New environmentally friendly technologies of agriculture: problems and prospects» Denpasar, Бали, Индонезия, 2018;
7. Международный симпозиум «Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии», Москва, 2016;
8. Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2016», МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, 2016.
9. Международный конгресс почвоведов «Soil Science in International Year of Soils», Сочи, 2015.
10. Современные системы и методы фитосанитарной экспертизы, ВНИИФ, Москва, 2015.
11. XVII Докучаевские молодежные чтения «Новые вехи в развитии почвоведения», Санкт-Петербург, 2014.
12. Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2013», Москва, 2013.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 16 работ: 4 статьи в рецензируемых научных журналах, включенных в список Scopus, Web of Science, RSCI Web of science, ВАК, 12 тезисов докладов на российских и международных научных конференциях.

**Благодарности.** Автор выражает признательность научному руководителю, д.б.н., профессору А.С. Яковлеву, к.б.н. В.С. Горбатову, д.б.н., профессору

А.Л. Степанову, д.б.н., профессору Е.В. Шеину, к.б.н. Ю.Л. Мешалкиной, к.б.н. М.Н. Маслову, к.б.н. Р.А. Стрелецкому, к.б.н. О.В. Николаевой и к.б.н. В.В. Тихонову за дельные замечания при выборе темы и объектов исследования, за помощь в обобщении экспериментального материала и за квалифицированные консультации в процессе написания настоящей работы.

# ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

## 1.1. Экологическая оценка пестицидов

Перечень данных, требуемых для экологической оценки пестицида и для последующей регистрации, примерно одинаков в развитых странах мира: в Европейском Союзе (ЕС Regulation No 1107, 2009), США (СГС, 2015), в странах Организации Экономического Сотрудничества и Развития (Environment monographs N77, 1994), в Российской Федерации (Распоряжение Минсельхоза России №26-р, 2013). Традиционно он включает две группы сведений: 1) поведение пестицида в окружающей среде и 2) его экотоксикологию. В обобщенном виде требуемая при регистрации информация об экологических показателях пестицида представлена в табл. 1 и 2. Способность пестицида сохраняться и распределяться в природной среде (загрязнять ее) характеризуется показателями его поведения в объектах окружающей среды (табл. 1).

**Таблица 1**

Основные показатели поведения пестицида в окружающей среде, требуемые при его регистрации

Среда (объект)	Процесс	Показатель
Почва	Разложение	Период полуразложения $DT_{50}$
	Адсорбция	Коэффициент сорбции (Kd, Koc)
Вода	Разложение	Период полуразложения $DT_{50}$
	Адсорбция	Коэффициент сорбции (Kd, Koc)
	Растворение	Растворимость в воде S
Воздух	Испарение	Константа Генри H
	Разложение	Период полуразложения $DT_{50}$
Живые организмы	Биоаккумуляция	Коэффициент биоаккумуляции BCF

Естественно, что невозможно изучить воздействие пестицида на всё многообразие видов организмов, обитающих в природе. Поэтому за истекшие полвека в процессе совершенствования процедуры регистрации пестицидов, ведущие мировые научные и экспертные сообщества,

международные и национальные организации, регулирующие оборот и безопасность применения пестицидов, определили минимум представительных нецелевых видов организмов, для которых оценивается экотоксичность пестицида при его регистрации (табл. 2).

**Таблица 2**

Представительные нецелевые виды организмов и основные показатели экотоксичности пестицида, требуемые при его регистрации

Среда обитания	Группа организмов	Представительный нецелевой вид	Показатель
Почва	Млекопитающие	Крысы	$LD_{50}^1, NOEL^2$
	Насекомые	Медоносные пчелы	$LD_{50}^1$
		Дождевые черви	$LC_{50}^3, NOEC^4$
	Почвенные организмы	Почвенные микроорганизмы	Изменение интегральных показателей тестов, оценивающих влияние пестицида на трансформацию углерода и азота (% к контролю)
Вода	Рыбы	Один вид рыб, обитающий в холодных водоемах и один – в теплых водоемах	$LC_{50}^3, NOEC^4$
	Зоопланктон	Дафнии	$LC_{50}^3, NOEC^4$
	Водоросли	Пресноводные зеленые и диатомовые водоросли; цианобактерии (сине-зеленые водоросли)	$EC_x^5, NOEC^4$
Воздух	Млекопитающие	Крысы	$LC_{50}^3, NOEC^4$

1.  $LD_{50}$  - средняя доза вещества, вызывающая гибель половины членов испытываемой группы
2. NOEL (no observed effect level): недействующий уровень вещества
3.  $LC_{50}$  - концентрация пестицида в окружающей среде, которая вызывает смерть (гибель) половины (50%) организмов
4. NOEC (no observed effect concentration): максимальная недействующая концентрация вещества
5.  $EC_x$  - концентрация средняя эффективная: концентрация токсиканта в воде, вызывающая изменение тест-реакции тест-объектов на 50% при установленных условиях экспозиции в течение заданного срока наблюдений.

### 1.1.1. Экологическая опасность пестицида и ее классификации

Под экологической опасностью пестицида понимается способность пестицида оказывать негативное воздействие на окружающую среду. Классификации опасности пестицидов необходимы для маркировки и составления паспортов безопасности, чтобы предупредить о возможных негативных эффектах на окружающую среду и определить меры их

устранения при неправильном применении пестицидов, их транспортировке, хранении, чрезвычайных ситуациях. Кроме того, они используются:

- при установлении ограничений применения пестицидов (например, для препаратов, рекомендуемых для применения в личном подсобном хозяйстве);
- для принятия решений об объеме и детализации исследований по оценке экологического риска применения регистрируемых пестицидов (границы классов используются как триггеры);
- для ранжирования действующих веществ пестицидов по степени их экологической опасности.

При классификации опасности пестицидов их распределяют по видам и классам. Вид опасности определяет характер проявления опасного свойства пестицида: пожароопасность, взрывоопасность, токсичность для какого-либо вида организмов. Класс является мерой опасности пестицида. В некоторых случаях в пределах класса выделяют более мелкие единицы опасности – категории.

Тенденция последнего десятилетия – замена существующих национальных классификаций опасностей пестицидов глобальными. В 2015 году опубликована уже шестая редакция правил и рекомендаций ООН «Согласованная на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химической продукции» (СГС, 2015), которая является гармонизированной общемировой позицией по классификациям многих видов опасностей химикатов. Этот документ рекомендован ООН для внедрения в национальные системы регулирования обращения химической продукции и, как результат, классификации опасности СГС уже вошли в российские нормативные документы – ГОСТы (ГОСТ 31340-2007; ГОСТ Р 32419-2013; ГОСТ Р 32424-2013).

Экологический раздел в СГС представлен следующими основными подразделами: опасность для водной среды и опасность для озонового слоя. Рассмотрим подробнее первый раздел – опасность для водной среды.

Классификация опасности для водных организмов построена на использовании основных элементов: острой и хронической токсичности в водной среде, потенциала биоаккумуляции или фактической биоаккумуляции и разложения (биотического или абиотического) химического вещества. Показатели острой и хронической токсичности пестицидов определены для следующих водных организмов: для рыб (типичный представитель – радужная форель, *Oncorhynchus mykiss*), для водных беспозвоночных (дафнии, *Daphnia magna*), для водорослей (зеленые водоросли, в основном – *Selenastrum capricornutum*). Показатели острой токсичности пестицидов – LC<sub>50</sub> и EC<sub>50</sub> (96-часовые тесты для рыб и 48-часовые для дафний, соответственно), их хронической токсичности NOEC (14-21 суточные тесты) для этих же гидробионтов, а также токсичности для водорослей (EC<sub>50</sub>) и биоаккумуляции в рыбах (BCF), как правило, определены по методикам испытаний химикатов Организации Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР).

Ранжирование свойств какого-либо вещества по классам опасности, проявляемым в его острой токсичности, определяется лишь на основе данных по острой токсичности (LC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>). Несколько иначе происходит классификация опасности для веществ, обладающих хронической токсичностью (NOEC). Критерии классификации в этом случае основаны на применении многоуровневого подхода, при котором необходимо решить, достаточна ли имеющаяся информация о хронической токсичности для классификации вещества по опасности в долгосрочной перспективе. При отсутствии необходимых данных по хронической токсичности опасность можно классифицировать по острой токсичности и по данным о разложении и биоаккумуляции.

Критерии и классификации опасности СГС для наземных организмов разрабатываются в настоящее время.

На переходный период (до полной разработки и внедрения СГС) при выборе классификаций экологической опасности для российской системы регулирования обращения пестицидов рекомендуется руководствоваться, прежде всего, следующими принципами: использовать классификации опасности для химической продукции, которые уже разработаны и рекомендованы на глобальном уровне межправительственными организациями (классификации СГС) и вошли в российские ГОСТы; если классификации СГС отсутствуют, то использовать опубликованные классификации, которые нашли широкое применение в международной или отечественной практике регулирования обращения пестицидов; классифицируемые показатели экологической опасности необходимо получать стандартными унифицированными экспериментальными методами. Некоторые классификации экологической опасности пестицидов, применяемые в данной работе, приведены ниже (табл. 3-10). Они взяты из соответствующего руководства, которое используется в российской системе регистрации пестицидов (Руководство по классификациям экологической опасности пестицидов, 2010).

**Таблица 3**

Классификация опасности пестицидов по острой токсичности для гидробионтов<sup>1,2</sup>

LC <sub>50</sub> / EC <sub>50</sub> , мг/л	Класс	Краткая характеристика опасности	Символ	Сигнальное слово
≤ 1,0	1	Чрезвычайно токсично для водных организмов		Осторожно
> 1,0 - ≤ 10	2	Токсично для водных организмов	Нет	Нет
> 10 - ≤ 100	3	Вредно для водных организмов	Нет	Нет
> 100	Нет	Нет	Нет	Нет

1- ГОСТ 32424-2013 Классификация опасности химической продукции по воздействию на окружающую среду. Основные положения

2- ГОСТ 31340-2013 Предупредительная маркировка химической продукции. Общие требования  
Отнесение пестицидов к веществам, обладающим хронической токсичностью для водной среды, проводят на основании данных, приведенных в табл. 4.

**Таблица 4**

Классификация опасности пестицидов по хронической токсичности для гидробионтов<sup>1,2</sup>

NOЕС, мг/л	Класс	Краткая характеристика опасности	Символ	Сигнальное слово
<b>Действующие вещества, способные к быстрому разложению<sup>3</sup></b>				
≤ 0,01	1	Чрезвычайно токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями		Осторожно
> 0,01 - ≤ 0,1	2	Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями		Нет
> 0,1 - ≤ 1,0	3	Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями	Нет	Нет
> 1,0	Не классифицируется	Нет	Нет	Нет
<b>Действующие вещества, не способные к быстрому разложению<sup>4</sup></b>				
≤ 0,1	1	Чрезвычайно токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями		Осторожно
> 0,1 – ≤ 1,0	2	Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями		Нет
> 1,0	Не классифицируется	Нет	Нет	Нет

1- ГОСТ 32424-2013 Классификация опасности химической продукции по воздействию на окружающую среду. Основные положения

2 - ГОСТ 31340-2013 Предупредительная маркировка химической продукции. Общие требования

3 - Биоразложение в воде – DT<sub>50</sub> < 16 суток

4 - Биоразложение в воде – DT<sub>50</sub> > 16 суток

**Таблица 5**

Классификации пестицидов по их опасности для млекопитающих<sup>1-2</sup>

Класс опасности	Краткая характеристика опасности	Острая оральная токсичность, LD <sub>50</sub> , мг/кг
1	Чрезвычайно токсичный	≤5
2	Очень высокотоксичный	>5 - ≤50
3	Высокотоксичный	>50 - ≤300
4	Среднетоксичный	>300 - ≤2000
5	Слаботоксичный	>2000 - ≤5000

Не классифицируется	Практически не токсичный	>5000
---------------------	--------------------------	-------

- 1- Руководство по классификациям экологической опасности пестицидов. Б. Вяземы, ВНИИФ, 2010, 17 с.
- 2- Руководство ОЭСР № 423 аналог ГОСТ 32644-2014 «Метод определения класса острой токсичности»

**Таблица 6**

Классификации острой токсичности и опасности пестицидов для дождевых червей<sup>1-2</sup>

Класс опасности	Краткая характеристика опасности	Острая токсичность, LC <sub>50</sub> , мг/кг
1	Чрезвычайно токсичный	≤1
	Высокотоксичный	>1 - ≤10
2	Среднетоксичный	>10 - ≤100
3	Слаботоксичный	>100 - ≤ 1000
Не классифицируется	Практически не токсичный	> 1000

- 1- Руководство по классификациям экологической опасности пестицидов. Б. Вяземы, ВНИИФ, 2010, 17 с
- 2- Руководство ОЭСР № 207 аналог ГОСТ 33036-2014 «Определение острой токсичности для дождевых червей»

**Таблица 7**

Классификации острой контактной токсичности и опасности пестицидов для медоносных пчел<sup>1-2</sup>

Класс опасности	Краткая характеристика опасности	LD <sub>50</sub> , мкг/пчелу
1	Чрезвычайно токсичный	≤0,1
	Высокотоксичный	>0,1 - ≤1
2	Среднетоксичный	>1 - ≤10
3	Слаботоксичный	>10 - ≤100
Не классифицируется	Практически не токсичный	>100

- 1- Руководство по классификациям экологической опасности пестицидов. Б. Вяземы, ВНИИФ, 2010, 17 с
- 2- Методические рекомендации по оценке действия и потенциальной опасности пестицидов для медоносных пчел, 2001

**Таблица 8**

Классификация действующих веществ пестицидов по стойкости в почве<sup>1-2</sup>

Класс стойкости	Критерии стойкости	
	DT <sub>50</sub> , сутки	DT <sub>90</sub> , сутки
Нестойкий	< 7	< 21
Малостойкий	7 – 21	21 – 70
Среднестойкий	22 – 60	71 – 200
Стойкий	61 – 120	201 – 400
Очень стойкий	> 120	> 400

- 1- Руководство по классификациям экологической опасности пестицидов. Б. Вяземы, ВНИИФ, 2010, 17 с
- 2- Руководства ОЭСР № 307, 304 А, аналоги ГОСТ 32633-2014, ГОСТ 32640-2014

Таблица 9

Классификация пестицидов по их подвижности в почве<sup>1-2</sup>

Класс подвижности	Коэффициент сорбции $K_{oc}$ , см <sup>3</sup> /г
Очень подвижный	< 15
Подвижный	15 – 74
Среднеподвижный	75 – 499
Малоподвижный	500 – 4000
Неподвижный	> 4000

1- Руководство по классификациям экологической опасности пестицидов. Б. Вяземы, ВНИИФ, 2010, 17 с

2- Руководство ОЭСР № 106 аналог ГОСТ 33060-2014 «Изучение адсорбции/десорбции замкнутым равновесным методом»

Таблица 10

Классификация подвижности пестицидов в системе вода-воздух<sup>1-2</sup>

Класс подвижности (летучести)	Константа Генри (безразмерная величина)
Нелетучий	< 0,0001
Малолетучий	0,0001-0,0003
Среднелетучий	0,0003-0,01
Летучий	0,01-1
Очень летучий	> 1

1- Руководство по классификациям экологической опасности пестицидов. Б. Вяземы, ВНИИФ, 2010, 17 с

### 1.1.2. Экологический риск применения пестицидов

Агентство по защите окружающей среды (EPA) в США так определяет экологический риск: «оценка вероятности воздействия химических веществ, заболеваний, изменений климата на окружающую среду (<https://www.epa.gov/risk/ecological-risk-assessment>)». В Европе профильные экологические организации (OECD, SETAC, ECETOC) детально разрабатывают регламенты оценки экологического риска (<http://www.eea.europa.eu/publications/GH-07-97-595-EN-C2/chapter6h.html>).

В законодательстве Российской Федерации экологический риск понимается как «вероятность наступления события, имеющего неблагоприятные последствия для природной среды...» (ФЗ №7 «Об охране окружающей среды», 2002). Для пестицидов экологический риск определяется вероятностью проявления их опасности (прежде всего токсичности) в условиях окружающей среды.

Существует два метода оценки экологического риска применения пестицидов: вероятностный и детерминированный.

Вероятностный метод позволяет учесть вариабельность распределения пестицида в окружающей среде, а также учесть неопределенности, связанные с ограниченным количеством испытуемых видов организмов. Для вероятностной оценки риска обычно используется широкий диапазон распределения экологических показателей (например, концентрация пестицида в воде и его токсичность для гидробионтов). Результатом такой оценки является значение вероятности неблагоприятного события при применении пестицида, например, угнетение развития или гибель водных организмов. Главный недостаток вероятностной оценки риска – трудность получения и обработки экспериментальных данных, необходимых для этого метода оценки. Этот недостаток ограничивает использование вероятностного метода в регулировании применения пестицидов ([www.penreg.ru](http://www.penreg.ru)).

Детерминированный метод оценки экологического риска существенно проще, поскольку здесь используют фиксированные значения токсичности и концентрации пестицидов в природных объектах. Показателем риска рассчитанного этим методом служит  $R = \text{Toxicity/Exposure Ratio}$ . Например, для водных организмов  $R = LC_{50} (\text{NOEC})/C_{\text{вода}}$ , для дождевых червей  $R = LC_{50} (\text{NOEC})/C_{\text{почва}}$  (Горбатов, 2013). Значения вариабельности и неопределенности заложены при расчете коэффициентов безопасности «fixed safety factors». Коэффициенты безопасности, в свою очередь, варьируют от 5 до 100 в зависимости либо от точности прогноза (математическое моделирование) либо от значения погрешности эксперимента (концентрации пестицидов в воде и в почве). Детерминированный метод рекомендован Европейским Союзом для оценки риска негативного воздействия пестицидов на гидробионтов, наземных организмов, птиц и млекопитающих (Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology, 2002; Guidance Document on Terrestrial

Ecotoxicology, 2002; Guidance of EFSA. Risk Assessment for Birds and Mammals, 2009).

## **1.2. Инструментарии экологической оценки пестицидов**

Математические модели эффективно используются при экологической оценке пестицидов (Горбатов, Кононова, 2011, Schäfer, 2019).

Полевые и лабораторные эксперименты охватывают, разумеется, небольшую часть тех агроситуаций, когда применяются пестициды. Особенно это справедливо по отношению к России с ее разнообразными почвенно-климатическими зонами. В этом случае наиболее приемлемым и менее затратным способом оценить поведение пестицидов в окружающей среде является использование компьютерного моделирования. Математические модели широко используются для моделирования почвенных процессов. В 2016 году был опубликован аналитический обзор о моделировании почвенных процессов, в котором предлагалось рассматривать физико-химические и биологические процессы в почвах во взаимосвязи с экологическими сервисами (Vereecken Н. и др., 2016). Существуют и комплексные математические модели, которые включают в себя несколько блоков входных данных, например, пестицид-метеоданные-почва. Они используются для прогноза концентраций пестицидов в почвах, в грунтовых и поверхностных водах и в приземном слое воздуха.

В Европейском Союзе рабочая группа проекта FOCUS в соответствии с Regulation (EC) No 1107/2009 рекомендует использовать для оценки поведения пестицидов в окружающей среде при их регистрации на европейском и национальном уровне модели MACRO\_DB, PEARL, PRZM, PELMO, STEP 1-2, SWASH, TOXSWA.

Более чем 20 летний опыт использования моделей в ЕС для оценки риска миграции пестицидов свидетельствует о том, что разные страны пользуются различными моделями. Таким образом, выбор моделей для применения при оценке рисков в значительной степени является

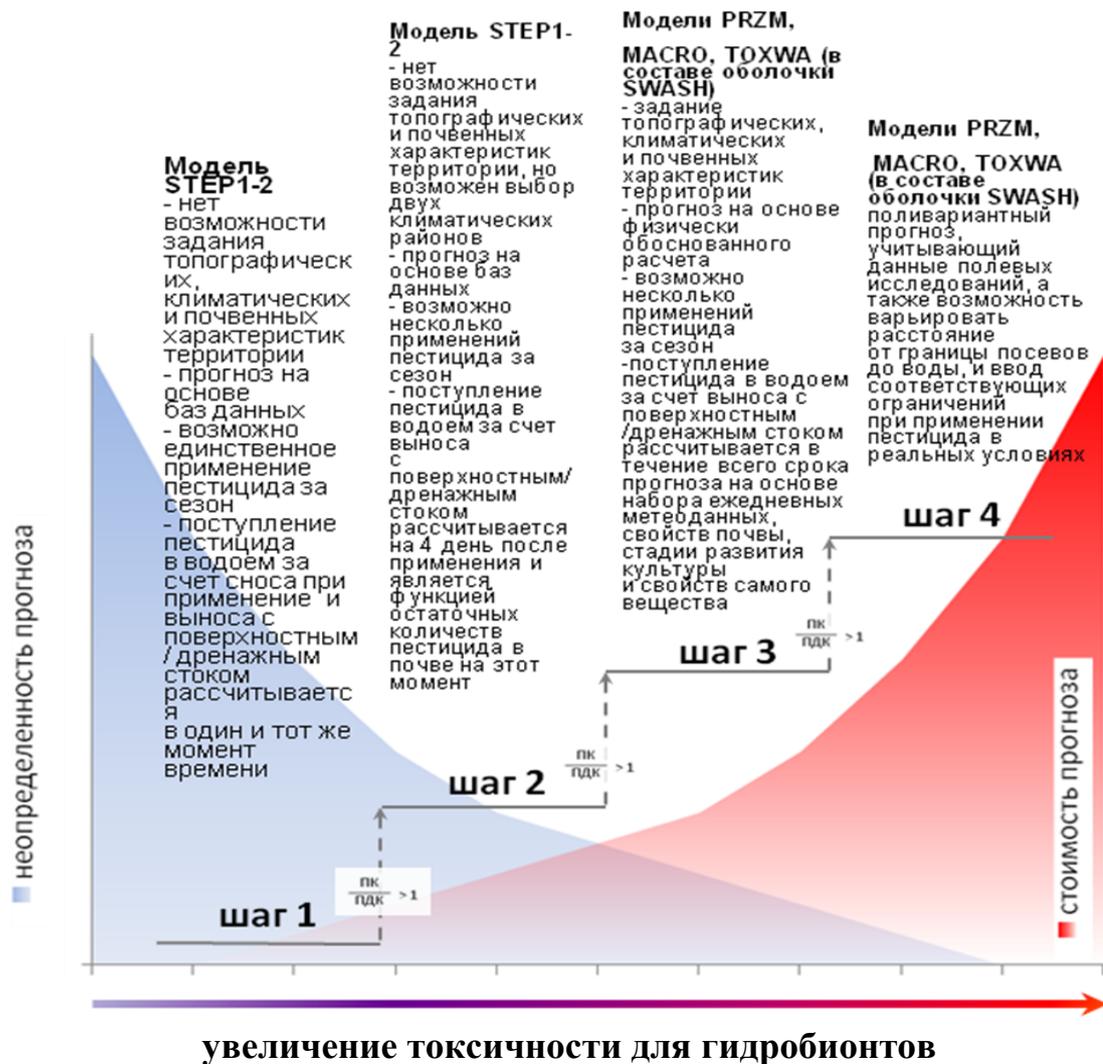
субъективным делом экспертов, вовлеченных в процесс регистрации, и зависит от удобства интерфейса модели. Ни одна из моделей не является идеальной, но их оценка и сравнение результатов моделирования с экспериментальными полевыми данными, проведенные в Европейском Союзе, показали достаточную адекватность прогноза реальным данным, что дало возможность реализовать потенциал моделей в полной мере (Francaviglia et al, 2000; Gottesbüren et al, 2000; Trevisan et al, 2003; Jarvis et al, 2000).

В России также было проведено тестирование моделей MACRO\_DB, PEARL и PELMO в полевых и в лизиметрических опытах, включая их исследование и калибровку, которое показало удовлетворительное качество прогноза поведения пестицидов в окружающей среде (прежде всего в почвах) с помощью данных моделей (Колупаева, 2017).

Модель PEARL – хроматографическая потоковая модель, в которую входит подмодель SWAP для расчетов водного потока и почвенной температуры. Экспериментальным обеспечением гидрофизического блока модели являются основные гидрофизические функции: основная гидрофизическая характеристика (ОГХ), а также функция влагопроводности. Перенос веществ в почве описывается конвективно-дисперсионным уравнением, а динамика разложения – уравнением кинетики первого порядка. Сорбция пестицидов равновесных участков почвы описывается изотермой Фрейндлиха. Сорбция на неравновесных участках – с помощью более сложного кинетического уравнения, учитывающего различие коэффициентов сорбции для равновесных и неравновесных участков (Scorza R.P.J., Voesten J.J.T.I., 2005).

Для математического моделирования концентрации пестицидов в поверхностных водах широко применяется комплекс моделей, представленных на рис. 1. Суть данного механизма в следующем: на каждом

дальнейшем шаге используются модели большей сложности и более реальные входные данные для них.



**Рис.1.** Схема пошаговой детализации моделирования концентрации пестицида в поверхностных водоемах

Шаг 1 (вариант «худшего случая») предполагает одномоментное поступление пестицида в водоем за счет его сноса при обработке и с поверхностным стоком/дренажом. Разложение пестицида в водоеме учитывается с помощью уравнения кинетики 1-го порядка. Для расчета концентраций пестицида в водоеме необходимо знать дозу примененного действующего вещества и показатель скорости его разложения в системе вода/донный осадок –  $DT_{50}$  (осадок/вода). Почвенно-климатические и топографические особенности территории не задают. Выходными данными

расчета являются максимальная концентрация пестицида в системе вода/донный осадок и динамика его концентрации в системе «вода-осадок» водоема в течение 100 суток.

Шаг 2 учитывает возможное рекомендуемое многократное применение пестицида за вегетационный сезон и возможность перехвата вещества растениями. На данном шаге необходима более детальная информация о разложении пестицида -  $DT_{50}$  (почва),  $DT_{50}$  (осадок),  $DT_{50}$  (вода). Вынос пестицида с поверхностным стоком модель рассчитывает спустя 4 дня после последнего применения пестицида. Для того чтобы более точно отразить все возможные пути поступления пестицида в поверхностные воды, учесть влияние сельскохозяйственной культуры, типа водоема, топографии, почвы и климатических особенностей территории в Шаге 3 и Шаге 4 необходим комплекс более сложных моделей. В ЕС рекомендована компьютерная программная оболочка SWASH, состоящая из трех моделей миграции пестицида в поверхностные водоемы: за счет сноса при обработке (расчетный модуль Drift Calculator), выноса пестицида в водоем с дренажным (модель MACRO) и поверхностным стоками (модель PRZM). Четвертая модель TOXWA описывает поведение пестицида собственно в водоеме.

В стандартные сценарии для всех моделей включены несколько заданных типов водоемов. В качестве модельного водного объекта в модели STEP 1-2 используется один простой вид водоема со следующими параметрами: отношение ширины к его длине 1:10 при уклоне 5%, глубина – 30 см, мощность донного осадка – 5 см. Модель принимает в расчет перехват пестицида культурой, а также учитывает воздушный снос пестицида на поверхность водоема при обработке поля и его миграцию в водоем за счет поверхностного стока и дренажа из почвы. В шаге 3 предусмотрены более реалистичные типы водоемов. Первый — это открытый динамичный водоток, представляющий собой часть реки длиной 100 м и шириной 1 м и имеющий прямоугольное поперечное сечение, его глубина 0.3-1.5 м и

уровень постоянен даже в течение периодов очень низкой нагрузки за счет расположенной вниз по течению плотины. Рассматриваемый водоток питается дренажной разгрузкой и поверхностным стоком с территории площадью 100 га, находящейся вверх по течению. Предполагается, что в дополнении к прилегающему к водотоку полю (1 га), пестицид будет вноситься в тот же самый день на территорию выше по течению, составляющую 20 % от области питания потока. Таким образом, водоток получает пестицид с 1 га прилегающей области и с 20 га выше по течению. Поверхностный сток с взвешенными частицами почвы учитывают с полосы шириной 20 м, примыкающей к водотоку.

Второй вариант водоема – закрытый полустатичный (запруда) – используется для комплекса моделей SWASH. Размер запруды 30x30 м, средняя глубина составляет – 1м (0.3-1.5м). Водоем питается постоянным потоком, в дополнение к которому с дренажным и поверхностным стоком поступает дополнительный объем воды с площади 45 га. Поток воды с твердым стоком, содержащим сорбированный пестицид, поступает только с площади 600 м<sup>2</sup>, которая соответствует части прилегающей территории вдоль одной из сторон водоема шириной 20 м. Отток из запруды идет через водослив с шириной порога 0.5 м. Более подробное описание применения моделей PRZM, MACRO, TOXWA (в составе SWASH) приведено в работе В.С. Горбатова и А.А. Кононовой (2010).

### **1.3. Агрегированные индикаторы риска негативного воздействия**

Для объединения разнородных данных в один удобный показатель – индикатор риска, применяют разнообразные методы агрегирования этих данных. В последние годы интерес к агрегированным показателям, как относительно простым и доступным инструментам планирования риска и принятия решений, значительно вырос как со стороны органов, регулирующих регистрацию и применение пестицидов, так и со стороны их потребителей. Неудивительно, что уже предложены десятки таких индикаторов, предприняты попытки их систематизации и выбора наиболее приемлемых (например, проект Европейского Союза «CAPER» (Reus и др., 2002)).

Первые попытки разработки экологических индикаторов пестицидов связаны с оценкой их вреда для окружающей среды в целом, включая различные нецелевые виды организмов (Соколов, Стрекозов, 1975; Pease и др., 1996; Swanson и др., 1997). Например, в 1992 году Higley и Wintersteen (1992) впервые рассчитали экономический ущерб от использования пестицидов. В 1993 году появилось первое руководство по комплексной оценке риска загрязнения пестицидами водных объектов (Hornsby, 1993). К концу двадцатого столетия насчитывалось уже девять экологических индикаторов риска (Van der Werf, 1996; Levitan, 1997; Hart, 1997; Falconer, 1998).

В проекте Европейского Союза «CAPER», упомянутом выше, дана сравнительная характеристика этих индикаторов, а также приведено подробное описание их расчета (Reus и др., 2002). Но они оказались не совсем удачными, прежде всего из-за того, что ни один вид организмов не является одинаково чувствительным ко всем пестицидам.

В США индикаторы экологического риска были разработаны в рамках проекта по комплексной борьбе с вредителями сельскохозяйственных культур (Kogan, 1998). Так Thomas J. Greitens (2007) впервые на базе

экспериментальных исследований (данные, полученные от четырех фермерских хозяйств) показал релевантность использования экологических индикаторов риска для прогноза негативного воздействия пестицидов. При этом только три индикатора из девяти исследованных прошли валидацию: SYNOPS (Германия), the multi-attribute toxicity factor (США), the environmental impact quotient (США).

Большее развитие получили экологические индикаторы риска пестицидов для отдельных природных сред (вода, почва, воздух) и различных групп нецелевых организмов. В частности стоит отметить проект Организации Экономического Сотрудничества и Развития (ОЭСР), в рамках которого специально для гидробионтов разработаны три индикатора риска пестицидов: REXTOX, ADSCOR и SYSCOR (Report of the OECD Pesticide Aquatic Risk Indicators Expert Group, 2002), применимые в масштабах государства, региона и фермерского хозяйства для отдельных культур, пестицидов и их комбинаций (Den Hond и др., 2008; Spikkerud, 2002). Общими недостатками этих трех индикаторов являются их сложность и использование скоринга для оценки уровня воздействия вместо более реалистичных моделей прогноза концентраций пестицидов в воде.

#### **1.4. Влияние пестицидов на почвенные организмы**

##### *Влияние пестицидов на дождевых червей*

Неблагоприятным последствием использования пестицидов является потеря биологического разнообразия (Hole и др., 2005). Из-за специфики применения большинства пестицидов первыми с негативным воздействием сталкиваются почвенные организмы. Например, уже зафиксированы случаи полного отсутствия дождевых червей в пахотных горизонтах почв (Stroud, 2019). В дальнейшем это может привести к деградации почвенного покрова - ухудшению структуры, внесению все большего количества органических и минеральных удобрений.

Впервые о возможности использования дождевых червей как универсальных биоиндикаторов загрязнения почв заговорили в 1980-х годах (Callahan, 1984). С этого времени дождевые черви стали основным тестовым видом в испытаниях по оценке токсичности новых ксенобиотиков, а также для расчета рисков негативного воздействия загрязнителей на объекты окружающей среды (Sanchez-Hernandez, J. C., 2006).

Дождевые черви обладают рядом преимуществ по сравнению с другими видами-биоиндикаторами: они быстро размножаются, легко культивируются в лабораторных условиях и при этом являются чувствительными ко многим антропогенным загрязнителям, в т.ч. пестицидам и тяжелым металлам (Lowe and Butt, 2005; Yasmin and D'Souza, 2007; Edwards and Bohlen, 1996; Greig-Smith, 1992; Spurgeon и др., 2003). Механизмы поступления ксенобиотиков в организм дождевых червей могут быть различны: непосредственное потребление с питательным субстратом, всасывание поверхностью кожного покрова (Shahla and D'souza, 2010). При этом степень участия того или иного механизма в поглощении токсикантов зависит от природы загрязнителя. Например, гидрофобные вещества ( $\log K_{ow} > 6$ , где  $\log K_{ow}$  - коэффициент распределения органических соединений в системе октанол — вода) поступают преимущественно через кишечный тракт дождевых червей (Jager, T. и др., 2003).

Дождевые черви являются представительным видом организмов, по которому оценивают токсичность и опасность пестицидов для почвенной макрофауны. Тестовым видом служат черви *Eisenia foetida*. Основным показателем острой токсичности  $LC_{50}$  для этого вида червей определяют по общепринятой методике, изложенной в руководстве ОЭСР (OECD, 207, 1984). В Российской Федерации существует аналог международного стандарта – ГОСТ 33036-2014.

Изучения влияния пестицидов на дождевых червей проводятся как в лабораторных, так и в полевых условиях (Bauer and Römbke, 1997; Rodriguez-

Castellanos and Sanchez-Hernandez, 2007; Brulle et al, 2010). Способы оценки этого воздействия можно разделить по уровням организации живого организма: клеточный (экспрессия генов и активность ферментов), организменный (выживаемость, репродуктивная способность и поведенческие реакции) и популяционно-видовой (структура популяции).

На клеточном уровне пестициды могут приводить к повреждению молекулы ДНК дождевых червей (Casabé и др. 2007; Klobučar и др. 2011), нарушать активность ферментов, обладающих антиоксидантными свойствами (Booth and O'Halloran 2001). Органофосфорные инсектициды влияют на активность карбоксилэстеразы и холинэстеразы. Пестициды нарушают стабильность лизосомальных мембран, происходит увеличение сухой массы тела червей и размеров лизосом при поступлении токсиканта (Svendsen и др. 2004).

На организменном уровне воздействие пестицидов оценивают по выживаемости особей и способности к репродуктивности, при этом используют параметр  $LC_{50}$  – концентрация токсиканта, вызывающая гибель 50% особей вида и  $NOEC$  – недействующая концентрация. Например, для водных организмов значения параметров  $LC_{50}$  и  $NOEC$  могут быть схожи. Однако, как было показано в дальнейшем, для наземных организмов параметр  $NOEC$  может быть ниже  $LC_{50}$ , что говорит о том, что пестицид оказывает большее влияние на репродуктивную способность организма (Van Gestel и др., 1992).

Из трёх групп пестицидов наиболее токсичны для дождевых червей инсектициды и фунгициды, относящиеся к следующим классам веществ: органофосфаты, никотиноиды, стробилурины, триазолы и карбаматы (Wang, Y. и др., 2012).

Еще одним параметром, используемым для оценки влияния пестицидов на репродуктивную способность, является подсчет количества коконов,

образуемых дождевыми червями (Addison and Holmes, 1995 и Neuhauser and Callahan, 1990).

Среди тестов, основанных на поведенческих реакциях дождевых червей в ответ на внесение токсиканта, наибольшее распространение получил тест на избегание и миграцию из зоны загрязнения (ISO 17512–1 2008).

На популяционно-видовом уровне влияние пестицидов оценивается по изменению численности, плотности и биомассы популяции дождевых червей в полевых условиях. Проведение исследования такого уровня – очень трудоёмкий процесс. Здесь необходимо учитывать множество факторов, таких как географическое местоположение, тип почвы, время и метод пробоотбора, а также наличие культуры в севообороте. Оцениваемыми параметрами на этом этапе исследования могут быть плотность дождевых червей (количество особей на м<sup>2</sup>) и биомасса (г на м<sup>2</sup>) (Römbke и др., 2004 и Iglesias и др., 2003). На сегодняшний день, из-за сложности проведения экспериментов в литературе мало данных о таком виде воздействия пестицидов (Pelosi и др., 2014).

Как было указано ранее, параметры LC<sub>50</sub> и NOEC используются для оценки острой токсичности пестицидов и способности влиять на репродуктивную функцию дождевых червей. Значения этих параметров можно найти в международных базах данных пестицидов (EFSA OpenFoodTox database, PPDB, US-EPA ECOTOX database). Однако анализ этих баз показал, что в большинстве случаев данные о токсичности пестицида для дождевых червей есть только по острой токсичности и практически всегда отсутствуют данные по репродуктивной токсичности, также мало данных по этой проблеме и в научной литературе (Pelosi и др., 2014). Более того, в экспериментах по определению показателей острой/хронической токсичности пестицида для дождевых червей используется один препарат или одно действующее вещество пестицида.

В условиях интенсивного сельского хозяйства для борьбы с вредителями растений применяются смеси из фунгицидов, инсектицидов и гербицидов. Эффекты при совместном применении нескольких пестицидов практически не исследованы. Yang (2018) отмечают, что на сегодняшний день опубликовано всего лишь несколько работ посвященных данной проблеме.

Так Zhang Q. и др. (2006) установили, что смесь из ацетохлора и метамидофоса (гербицида и инсектицида) привела к синергетическому эффекту по отношению к дождевым червям; *E. foetida*: суммарная потеря биомассы и смертность дождевых червей была значительно больше, чем в группе, где пестициды вносили по отдельности. Совершенно противоположный результат был получен Springett и Gray (1992), где смесь из глифосата и каптана (гербицида и фунгицида) оказала меньший эффект на дождевых червей, чем отдельное применение глифосата.

Совместное применение таких инсектицидов, как циперметрин и хлорпирифос привело к увеличению острой и хронической токсичности пестицидов для *Eisenia foetida andrei*. Например, в смеси при концентрации действующих веществ 5 мг/кг было зафиксировано значительное снижение биомассы и репродуктивной способности дождевых червей. При отдельном внесении циперметрина и хлорпирифоса в такой же концентрации авторами не зафиксированы какие-либо негативные воздействия пестицидов на *Eisenia foetida andrei* (Zhou, и др., 2011).

Chen C. с соавторами (2014) сравнили токсичность трех действующих веществ для *E.foetida* при совместном применении и внесении по отдельности. При отдельном применении действующие вещества по значениям острой токсичности расположились в следующем порядке: атразин > лямбда-цигалотрин > бутахлор. Во всех вариантах эксперимента смесь этих пестицидов вызывала большие токсические эффекты, чем сами

действующие вещества по отдельности, за исключением пары бутахлор – лямбда-цигалотрин.

Yang G. и др. (2017) провели исследование по влиянию смеси из четырех действующих веществ: хлорпирифоса, фенобукарба, клотианидина и ацетохлора (три инсектицида и гербицид). Тест на острую токсичность данных пестицидов показал, что параметр  $LC_{50}$  оказался значительно ниже, чем у действующих веществ по отдельности, т.е. в совокупности действующие вещества являются более токсичными для дождевых червей.

В отечественных работах по изучению токсичности пестицидов для дождевых червей были получены данные, что хлорорганические соединения, как правило, малотоксичны для дождевых червей и высокотоксичны для микроартропод. Фосфорорганические соединения и карбаматы, напротив, имеют сильное токсическое действие на червей и малотоксичны для микроартропод, причем препараты в виде эмульсий более токсичны, чем суспензии и дусты (Воронова Л.Д., 1987).

Терещенко П.В. установил в лабораторных условиях, что при контактном и контактно-кишечном действии гербицидов черви проявляют защитную реакцию, теряют подвижность, завязываются в узелки и образуют капсулы, со временем (в основном на 40 сутки) черви восстанавливали свои жизненные функции. Также автором было исследовано влияние инсектицидов разных групп (хлорорганические, фосфорорганические и пиретроиды) на дождевых червей по прямому контактному действию. Эксперимент показал высокую устойчивость дождевых червей к воздействию испытанных инсектицидов. Определенную роль в этом могут играть механизмы слизиотделения червей. (Терещенко П. В., 1998).

Воронцов В.В. оценил в лабораторных условиях влияние инсектицида и гербицида на смертность и репродуктивные показатели дождевых червей, *Lumbricus terrestris*. Они оказались чувствительными к воздействию малых концентраций хлорорганического пестицида тиаметоксама. Прометрин в

концентрациях от 0.01 до 0.1 г/кг почвы не оказал влияния на смертность дождевых червей (Воронцов В. В., 2012).

Эмирова Д.Э. получила показатели острой токсичности препарата БИ-58 (400 г/л диметоата) для дождевых червей. Автором было установлено, что препарат в исследованном диапазоне концентраций (0.05-0.4 мл/л) оказывал негативное влияние на дождевых червей, проявляющееся в выраженном угнетении двигательной активности животных (50-85%). Дозы препарата 0.1-0.4 мл/л приводили к смертности животных в пределах 5-15% (Эмирова Д.Э., 2014).

#### *Влияние пестицидов на микробное сообщество почвы*

Одной из основных проблем, связанных с загрязнением почвы пестицидами, является их воздействию на структуру и активность микробных сообществ (Druille и др., 2013; Alvarez-Martín и др., 2016).

Ранее было установлено, что микробные сообщества почвы в целом могут быть устойчивыми к пестицидной нагрузке (Moogman, 1989), хотя результаты этих исследований довольно противоречивы. Существенные различия в оценке влияния пестицидов на микробные комплексы почв характерны даже для одного из самых изученных действующих веществ гербицидов – глифосата. Было установлено отсутствие значимого воздействия на биоразнообразие микробного сообщества лесных и окультуренных почв, или выявлены только кратковременные эффекты, выраженные в увеличении количества культивируемых бактерий, что указывает на обеднение видового состава (Busse и др., 2001; Ratcliff и др., 2006). Исследование хронической токсичности глифосата не выявило значимых различий физиологического профиля бактериальных сообществ полей с многолетним применением глифосата и контрольных участков (Allegrini и др., 2015). С другой стороны, при изучении влияния глифосата на ризосферных бактерий кукурузы и генно-модифицированной сои зафиксировано уменьшение числа псевдомонад, бактерий окисляющих

марганец и ауксин-продуцирующих ризобактерий (Barriuso и др., 2010; Zobiolo и др., 2011).

Для других действующих веществ пестицидов также имеется противоречивая информация об их влиянии на микробное сообщество почвы. Например, при помощи градиентного гель-электрофореза в денатурирующих условиях (DDGE) показано влияние диурона, линурона, хлоротолурона на структуру микробного сообщества почвы в случае их длительного применения (10 лет), проявляющегося в уменьшении биоразнообразия (Ratcliff и др., 2006). В 2-недельном эксперименте было обнаружено воздействие хлороталонила на почвенные бактерии родов *Cytophaga*, *Flavobacterium*, *Bacteroides* и грибы из классов аскомицетов и зигомицетов (Sigler, Turco, 2002). Бутахлор и карбофуран при содержании 2 мкг/г оказывали негативное воздействие на анаэробных азотфиксаторов в рисовых чеках, однако при более высоком содержании был зафиксирован положительный эффект (Jena и др., 1987). Для атразина показано, что высокие нормы применения (10-1000 мг/кг) вызывают обеднение видового состава бактерий, при одновременном увеличении числа культивируемых форм (Ros, и др., 2006).

Для грибных сообществ почвы наибольшее количество данных получено для арбускулярной микоризы, жизненно важной для роста и развития большинства сельскохозяйственных растений. Наиболее существенно влияние фунгицидов, которые воздействуют не только на фитопатогенные, но и на остальные почвенные грибы (Lo, 2010). Так, методом ПЦР-анализа и DGGE установлено, что карбендазим практически полностью подавляет рост арбускулярной микоризы в лабораторных экспериментах, но в полевых условиях этот эффект имеет лишь временный характер (Ipsilantis и др., 2012). Также выявлено, что такие фунгициды как манкоцеб и беномил ингибируют рост и образование спор *Rhizophagus fasciculatus*, являющегося доминантом среди микоризных грибов,

ассоциированных с просо (Channabasava и др., 2015). Беномил может ингибировать микоризные грибы гороха *Glomus etunicatum* и *Gigaspora rosea* (Schreiner и др., 1997), причем ингибирующий эффект наблюдается вплоть до 82 суток после применения пестицида. Druille и др. (2013) обнаружили, что применение глифосата снижает жизнеспособность спор арбускулярной микоризы и снижает колонизацию корней уже при низких нормах применения. С помощью пиросеквенирования было показано, что такие пестициды как каптан, металаксил, флудиоксонил, тирам и трифлуксистеробин вызывают обеднение видового разнообразия микоризных грибов гороха и нута в условиях тепличного эксперимента (Jin, и др., 2013).

Внесение пестицидов может также влиять на микробный метаболизм (Álvarez-Martín и др., 2016), воздействуя на процессы утилизации углеродных субстратов и нитрификации (Jacobsen and Hjelmsø, 2014). Большинство исследований свидетельствует о том, что пестициды оказывают минимальное влияние на микробную активность почвы в полевых условиях (Bromilow и др., 1996; Busse и др., 2001), что может быть связано с комплексностью и избыточностью пула почвенных микроорганизмов, т.е. потери функций не происходит ввиду высоких темпов физиологической и эволюционной адаптации микроорганизмов к нарушениям. С другой стороны, существует вероятность того, что незначительные изменения в структуре или функционировании сообщества могут все же уменьшить способность к дальнейшей адаптации или к устойчивости к другим стрессовым воздействиям (Rose и др., 2016). Этот факт в частности указывает на необходимость более внимательного изучения влияния пестицидов на показатели биоразнообразия микробных сообществ, в том числе с применением современных методов. В целом, не смотря на то, что сам факт негативного воздействия пестицидов на бактерии и грибы установлен, масштабы этого явления, наличие и длительность хронических эффектов, последствия системного применения пестицидов для микробного сообщества

почв так и не определены (Lo, 2010). На данный момент задача оценки влияния пестицидов на грибные и прокариотные сообщества почв осложнена тем, что классические культуральные методы не в состоянии зафиксировать происходящие изменения, поэтому необходимы исследования с привлечением молекулярно-генетических и биомаркерных методов в сочетании с классическими (Imfeld, Vuilleumier, 2010; Lo, 2010).

### **1.5. Проблемы нормирования и мониторинга пестицидов в Российской Федерации**

#### *Почвы*

Мониторинг пестицидов в почвах проводит Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды. Результаты мониторинга периодически публикуются в ежегодном сборнике (Мониторинг пестицидов..., 2017). Контроль содержания пестицидов в почвах охватывает 30-40 регионов РФ, включает в себя отбор 2-3 тысяч проб и анализ 20-30 действующих веществ пестицидов. Содержание пестицидов в почве регламентирует гигиенический норматив: предельно допустимая концентрация (ПДК) действующего вещества пестицида в почве.

Действующее гигиеническое обоснование ПДК для химических загрязнителей почвы (в том числе пестицидов) базируется на четырех показателях вредности, которые определяются экспериментально. Этими показателями являются: транслокационный (переход в растения), миграционно-водный, миграционно-воздушный и общесанитарный (Методические рекомендации..., 1982). Первые три показателя характеризуют способность вещества переходить из почвы в растения и сопредельные среды (воду и воздух), причем последний – оценивает влияние вещества на способность почвы самоочищаться. ПДК вещества в почве – это наименьшая его концентрация, не вызывающая превышение ПДК вещества в воде, воздухе и МДУ в растениях, не влияющая на почвенный микробиоценоз и способность почвы к самоочищению. Накопленный опыт

разработки ПДК пестицидов в почве показал, что основными лимитирующими факторами при обосновании ПДК являются транслокационный и водно-миграционный.

Пригодность этого норматива для реальной оценки загрязнения почв пестицидами вызывает сомнения. Проведенная Горбатовым и др. (2017) сравнительная оценка максимально рекомендуемых норм применения 213-ти действующих веществ пестицидов и их ПДК/ОДК в почве показала, что для трети пестицидов норма применения выше значений их гигиенических нормативов. Такие пестициды по формальным показателям нельзя регистрировать и применять в России. Однако для оставшихся двух третей пестицидов ситуация неопределенная: возможно ли их применять в дозах, превышающих рекомендуемые нормы применения?

Главная проблема действующего норматива содержания пестицидов в почве – методологическая, поскольку для обоснования ПДК пестицидов в почве применяется тот же подход, что и для остальных веществ-загрязнителей. Однако для пестицидов либо всегда известна, либо может быть спрогнозирована с большой степенью точности их исходная концентрация в почве. Именно для максимальной нормы при разработке и регистрации пестицидов оцениваются все риски загрязнения окружающей среды. В почве не должно быть пестицидов больше, чем максимально рекомендуемая норма их применения.

Проблема действующих нормативов связана также с использованием в экспериментах по обоснованию ПДК модельного почвенного эталона (МПЭ). МПЭ – это песок или песчаная почва с низкой сорбционной способностью, обусловленной либо отсутствием, либо невысоким содержанием гумуса и илистой фракции почвенных минералов. Почвы с такими свойствами в Российской Федерации распространены не столь широко и мало используются для выращивания сельскохозяйственной продукции с применением пестицидов. Кроме того, около трети современных

действующих веществ пестицидов (среди гербицидов – около 75%) являются слабыми или сильными кислотами. Сорбция таких веществ почвой и их доступность растениям зависит от величины рН, которая в почвах варьирует широко, при этом процесс сорбции полностью исключается при разработке ПДК ионогенных пестицидов в почве. По указанным причинам миграционные и транслокационные опыты с использованием МПЭ нередко искажают реальную картину миграции пестицидов из почв в сопредельные среды и растения.

Таким образом, система нормирования и мониторинга пестицидов в почве нуждается в усовершенствовании. Данная работа как раз и направлена на решение этой задачи.

#### *Поверхностные воды*

В 2015 году Правительством РФ установлен «Перечень загрязняющих веществ, в отношении которых применяются меры государственного регулирования» (Распоряжение Правительства РФ от 08.07.2015 г. №1316-р). Среди двухсот веществ-загрязнителей водных объектов, подлежащих государственному регулированию, есть и пятнадцать действующих веществ пестицидов (альдрин, атразин, гексахлорбензол, ГХЦГ, 2,4-Д, дильдрин, каптан, карбофос, ДДТ, ДДД, прометрин, симазин, трифлуралин, ТХАН, фозалон). Большая часть пестицидов из этого списка (за исключением 2,4-Д, карбофоса, прометрина и фозалона) давно запрещена на территории Российской Федерации (Справочник пестицидов и агрохимикатов, 2019). И, напротив, в приведенном перечне загрязняющих веществ отсутствуют зарегистрированные в РФ пестициды с гораздо более высоким уровнем риска для гидробионтов.

Таким образом, при формировании списка приоритетных пестицидов, подлежащих первоочередному регулированию и ограничениям применения, необходим научно-обоснованный подход к изучению негативного воздействия пестицидов на гидробионтов. Подобный подход базируется, во-

первых, на показателях токсичности пестицидов для гидробионтов, во-вторых, на концентрации пестицидов в воде и, в-третьих, на способности пестицидов к биоаккумуляции.

## **ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Исследованные пестициды**

Прогноз концентрации пестицидов в поверхностных водах и в почвах проводили для всех действующих веществ гербицидов, фунгицидов и инсектицидов (всего двести веществ), входящих в состав пестицидных препаратов, зарегистрированных в Российской Федерации (Справочник пестицидов и агрохимикатов, 2019).

Для дальнейших экспериментальных исследований на основании отбора по критериям стойкости и подвижности в почве, а также способности к биоаккумуляции и токсичности для нецелевых видов организмов выбрали одиннадцать действующих веществ: ленацил, метсульфурон-метил, триаллат, пириметанил, фенпропиморф, хлорантранилипрол, флубендиамид, паклобутразол, метрибузин, имидаклоприд, беномил.

Источниками данных о физико-химических и экотоксикологических свойствах указанных пестицидов служила международная база данных PPDB (Lewis, 2015), в основу которой положены результаты испытаний, полученные в процессе разработки и регистрации пестицидов, а также открытые научные публикации.

Наиболее важные свойства выбранных для экспериментальных исследований пестицидов приведены в табл. 11.

Таблица 11

Физико-химические свойства пестицидов и показатели их поведения в почве

Действующее вещество	Вид активности	Растворимость в воде при 20°C (мг/л)	Давление насыщенных паров при 25°C (Па)	Период полуразложения (сутки), среднее	Константа сорбции органическим веществом $K_{oc}$ (мл/г)
Ленацил	Гербицид	2.9	$1.7 \times 10^{-9}$	14	165
Метсульфурон-метил	Гербицид	2790	$1.4 \times 10^{-11}$	23	4
Триаллат	Гербицид	4.1	$12 \times 10^{-3}$	58	3034
Метрибузин	Гербицид	1165	$0.121 \times 10^{-3}$	11.5	3.14
Хлорантранилипрол	Инсектицид	0.9	$6.3 \times 10^{-12}$	597	244
Имидаклоприд	Инсектицид	610	$4.0 \times 10^{-10}$	187	225
Флубендиамид	Инсектицид	0.029	$0.1 \times 10^{-3}$	500	1076
Пириметанил	Фунгицид	121	$1.1 \times 10^{-3}$	55	301
Фенпропиморф	Фунгицид	4.32	$3.9 \times 10^{-3}$	20	4382
Беномил	Фунгицид	2	$5 \times 10^{-6}$	67	1900
Паклобутразол	Фунгицид	22.9	$1.9 \times 10^{-6}$	120	400

В соответствии с классификацией стойкости пестицидов в почве хлорантранилипрол, имидаклоприд, флубендиамид относятся к очень стойким ( $DT_{50} > 120$  суток), беномил и паклобутразол – к стойким ( $DT_{50} = 61-120$  суток), метсульфурон-метил, триаллат, пириметанил – к среднестойким ( $DT_{50} = 22-60$  суток) и ленацил, фенпропиморф, метрибузин – к малостойким ( $DT_{50} = 7-21$  суток) в почве действующим веществам пестицидов (ГОСТ 32633, 2014).

По классификации подвижности пестицидов в почве фенпропиморф относится к неподвижным ( $K_{oc} > 4000$  мг/л), флубендиамид, беномил, триаллат – к малоподвижным ( $K_{oc} = 500-4000$  мг/л), ленацил, пириметанил, хлорантранилипрол, имидаклоприд и паклобутразол – к среднеподвижным ( $K_{oc} = 75-499$  мг/л), метсульфурон-метил и метрибузин – к очень подвижным ( $K_{oc} < 15$  мг/л) в почве действующим веществам пестицидов (ГОСТ 33060, 2014).

## 2.2. Полевой эксперимент

Скорость деградации ленацила, метсульфурон-метила, триаллата, пириметанила, фенпропиморфа, хлорантранилипрола, флубендиамида, паклобутразола, метрибузина изучали в почвах трех климатических зон России. Полевые колоночные и мелкоделяночные опыты были заложены на дерново-подзолистой почве (Московская область, Одинцовский район), черноземе типичном (Курская область, Медвенский район) и темно-каштановой почве (Саратовская область, пригород г. Энгельса). Свойства пахотных горизонтов этих почв приведены в табл. 12.

Таблица 12

Характеристика пахотных горизонтов исследуемых почв

Район исследований, тип почвы	C <sub>орг.</sub> , %	pH <sub>водн.</sub>	Гранулометрический состав
Московская область, дерново-подзолистая	1.5	5.6	Среднесуглинистая
Курская область, чернозем типичный	4.9	6.0	Тяжелосуглинистая
Саратовская область, темно-каштановая	2.5	7.1	Среднесуглинистая

Для определения показателей разложения ( $DT_{50}/DT_{90}$ ) пестицидов в исследуемых почвах был заложен полевой колоночный опыт.

Данная методика (Колупаева, 1992) позволяет точно дозировать количество внесенного в почву пестицида и исключает его поверхностный смыв, что дает возможность более корректно оценить показатели его деградации и миграции в почве. Перед началом эксперимента с глубины 0-10 см был отобран смешанный образец почвы. Почву высушивали до воздушно-сухого состояния, размалывали на мельнице и пропускали через сито с диаметром отверстий 1 мм. В одноразовые парафиновые стаканчики брали навески почвы по 50 г, которые обрабатывали водным раствором препаративных форм действующих веществ пестицидов в максимальной рекомендуемой норме применения с учетом кратности обработок. Выбранные дозы внесения препаратов пестицидов были одинаковыми как для полевых опытов, так и для прогноза по модели PEARL (исключение – в

50 раз завышенная норма применения пириметанила, рекомендуемого для обработки семян в очень низкой дозировке, что осложняло его анализ в почве). Обработанную почву в стаканчиках тщательно перемешивали и переносили в полиэтиленовые пакеты (8 × 16 см, 10 шт.), два из которых помещали в морозильную камеру до последующего анализа (срок 0 суток).

На типичном ровном участке поля (без растений) в почву с помощью насадки и молотка забивали трубы из полипропилена (с внутренним диаметром 100 мм, длиной 300 мм) таким образом, чтобы над поверхностью почвы оставался край трубы высотой около 20 мм. Трубы размещали друг от друга на расстоянии около 2 м (8 труб для каждого препарата). На выровненную поверхность почвы в трубе равномерно высыпали из полиэтиленовых пакетов обработанную препаратом навеску почвы и слегка ее уплотняли и засыпали сверху 10 мм слоем необработанной почвы.

Образцы почвы для анализа отбирали через 8, 15, 57 и 98 суток. В указанное время трубы выкапывали с помощью лопаты. В лабораторных условиях с помощью длинного шпателя почвенную колонку разделяли на три слоя по 10 см высотой. Образцы взвешивали, определяли влажность и хранили до анализа в полиэтиленовых пакетах в морозильнике при температуре -18°C.

Для проведения полевого мелкоделяночного опыта во всех трех почвенно-климатических зонах были заложены экспериментальные делянки площадью 100 м<sup>2</sup>. Делянки поддерживались в состоянии пара. Опрыскивание поверхности почвы проводили с помощью ранцевого опрыскивателя с расходом рабочей жидкости 300 л/га.

Отбор почвы для анализа проводили через 0 (1 час), 7, 15, 60 и 90 суток после обработки буром с глубины 0-10, 10-20, 20-30 см, составляя из 10 индивидуальных смешанный образец массой 2.5 кг. Пробы хранили в морозильнике при температуре -18°C.

### 2.3. Лизиметрический эксперимент

Лизиметрический метод позволяет исследовать не только направленность, масштаб и интенсивность процессов трансформации и миграции пестицидов в сопряженных агроэкосистемах, но и оценить движущие силы этих процессов (Кауричев, 1996). В 1960 году для проведения сравнительной оценки различных методов окультуривания дерново-подзолистых почв были построены Большие лизиметры Почвенного стационара МГУ. Лизиметры представляют собой бетонные резервуары площадью 8 м<sup>2</sup> и глубиной 175 см, разделенные стенкой толщиной 0.5 м. Внутренняя поверхность лизиметров покрыта гидроизоляционным материалом – брезолом, затем выложена кислотоупорными плитками на битуме. Для сбора и регистрации объема фильтрационных вод дно каждого лизиметра оборудовано воронкой диаметром 25 см с трубкой, выведенной в галерею под лизиметрами, и спроектировано с уклоном в сторону общей стенки. В лизиметрах нижние 20-30 см заполнены дренажом – песчано-гравийной засыпкой, состоящей из крупного, среднего и мелкого гравия, покрытого 10 см слоем кварцевого песка. Остальные 150 см занимает дерново-подзолистая почва, привезенная в 1961 году из Подольского района Московской области. Почва была помещена в лизиметры по горизонтам в соответствии с различными способами мелиоративной обработки. Первые исследования физических свойств почв, посевы и учет урожая проводились З.А. Корчагиной. Более подробное описание вариантов мелиоративной обработки и строения почвенных профилей можно найти в работе Л.О. Карпачевского (Карпачевский, Умарова, 2003). До 1998 года на лизиметрических установках поддерживали семипольный севооборот с преобладанием многолетних трав. С 1998 года и до настоящего времени почвы находятся в парующем состоянии. Все данные о функционировании лизиметрических почв полностью обеспечены метеонаблюдениями обсерватории МГУ.

Для настройки модели PEARL в 2015 году были получены экспериментальные данные по миграции паклобутразола. Опыт был проведен на лизиметрах № 5 и 6, заполненных дерново-подзолистой среднесуглинистой почвой с нормальным строением почвенного профиля. В таблице 13 представлены физико-химические свойства этой почвы.

**Таблица 13**

Характеристика дерново-подзолистой среднесуглинистой почвы (Большой лизиметр)

Горизонт	Глубина, см	Песок (0,05-2,0 мм), %	Пыль (0,002-0,05мм), %	Глина (<0,002 мм), %	$\rho_b^*$ , кг/м <sup>3</sup>	pH <sub>водн.</sub>	C <sub>орг.**</sub> , %	Kф***, м/сут
A <sub>пах</sub>	0-20	5,3	89,7	5,0	1280	5,81	2,18	0,70
A <sub>2</sub>	20-35	4,1	88,8	7,1	1450	5,73	0,77	0,54
B <sub>1</sub>	35-60	5,9	89,8	4,3	1490	5,73	0,65	0,36
B <sub>2</sub>	60-120	7,6	86,2	6,2	1500	4,50	0,60	0,18
B <sub>3</sub>	120-150	18,4	75,5	6,1	1560	4,50	0,81	0,08

\*  $\rho_b$  – плотность почвы,

\*\* Сорг – содержание органического углерода,

\*\*\* Кф – коэффициент фильтрации

В июне месяце на поверхность указанных лизиметров внесли паклобутразол с помощью опрыскивателя в дозах 0.125 кг/га и 1.0 кг/га по действующему веществу, что составляет рекомендованную однократную и увеличенную в 8 раз норму применения. Отбор почвенных образцов осуществляли в день обработки и на 123 сутки после обработки. Лизиметрические воды отбирали по мере заполнения мерных сосудов вплоть до наступления морозного периода. Отобранные образцы почвы и воды до анализа хранили в морозильной камере при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ .

#### **2.4. Аналитические методы определения пестицидов в почве и воде**

*Анализ ленацила, метсульфурон-метила, триаллата, пириметанила, фенпропиморфа, хлорантранилипрола*

Анализ пестицидов осуществляли методами высокоэффективной жидкостной и газожидкостной хроматографии, используя соответствующие методические указания Роспотребнадзора. Результаты определения

остаточных количеств указанных пестицидов в почвах были любезно предоставлены лабораторией химии окружающей среды ВНИИФ.

#### *Анализ флубендиамида*

За основу используемой методики определения флубендиамида в почве взят метод, разработанный фирмой Байер Кропсайенс (Brumhard and Schuld, 2005), но с одним существенным изменением – традиционный статический метод экстракции был заменен более эффективной ускоренной экстракцией флубендиамида ацетонитрилом в субкритических условиях.

Извлечение флубендиамида из почвы методом субкритической экстракции проводили на автоматическом экстракторе ASE 200 (Инструкция по эксплуатации, 1997) . В качестве экстрагента использовали ацетонитрил.

Условия экстракции:

- температура - 100°C;
- давление – 1500 psi;
- время преднагрева ячейки – 1 мин;
- время статической выдержки – 10 мин;
- объем промывки растворителем – 70 %;
- время продувки ячейки азотом – 60 сек;
- число циклов – 2.

Для экстракции применяли ячейки объемом 33 мл. К 20 г воздушно-сухой почвы, пропущенной через сито 1 мм, добавляли 20 г прокаленного кварцевого песка и тщательно перемешивали. Смесь количественно переносили в экстракционную ячейку. Оставшийся свободный объем ячейки заполняли прокаленным песком.

Полученный после ASE 200 экстракт концентрировали на ротационном вакуумном испарителе Rotavapor R-124 (Buchi) при температуре водяной бани не выше 40°C до объема 1-2 мл. Остаток количественно переносили в стеклянный флакон и ацетонитрилом доводили объем экстракта до 5 мл. Для проведения аналитического определения в хроматографический виал

отбирали 0.65 мл полученного экстракта и добавляли 0.35 мл 0.02М уксусной кислоты. В случае высоких концентраций флубендиамида в экстрактах использовали их разбавление подвижной фазой (обычно 1:10).

Содержание флубендиамида в пробах определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием на приборе Agilent 6520 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS.

Условия хроматографирования:

- колонка–Hewlett Packard RP-8, р-р зерна сорбента 5 мкм, 200×4.6 мм;
- температура термостата – 40°C;
- объем вводимой пробы – 50 мкл;
- скорость потока элюента – 1.0 мл/мин
- режим элюирования – изократический;
- подвижная фаза – 0.02М уксусная кислота : ацетонитрил (35:65 по объему).

Время удерживания флубендиамида на колонке составило ~ 7.5 мин. Общее время анализа – 13 мин.

Параметры масс-спектрометра:

- источник ионизации – электроспрей;
- полярность – отрицательная;
- скорость подачи газа (азота) в источник – 3 л/мин;
- температура газа – 325°C;
- давление газа в распылителе – 15 psi;
- ионизирующее напряжение – -4250 вольт;
- напряжение фрагментации – -225 вольт;
- напряжение на входном конусе – -65 вольт;
- энергия в ячейке соударений (газ – азот) – 20;
- режим регистрации – MS/MS;
- флубендиамид:
- материнский ион – 681 m/z;

- дочерний ион – 254 m/z;

Количественное содержание флубендиамида определяли методом абсолютной калибровки. В качестве стандартов использовали растворы флубендиамида с концентрациями 100; 50; 5; 10; 1; 0.5; 0.1 мкг/л. Типичные хроматограммы для некоторых концентраций вещества и калибровочный график даны в Приложении А.

Для данного аналитического метода определения флубендиамида инструментальный предел обнаружения (limit of detection – LOD) составлял 0.015 мкг/кг. Предел количественного определения (limit of quantification – LOQ) равнялся 0.5 мкг/кг.

#### *Анализ паклобутразола*

За основу были взяты Методические указания (МУК 4.1.2785-10.4.1, 2010). Метод основан на газохроматографическом определении остаточных количеств паклобутразола на капиллярной колонке с регистрацией вещества на термоионном детекторе (ТИД) после экстракции из почвенных образцов органическим растворителем, очистки экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с силикагелем.

Количественное определение проводили методом абсолютной калибровки. Открываемость паклобутразола на уровне 0.10 мг/кг в дерново-подзолистой почве – 87.6%, черноземе типичном – 90.3%, каштановой почве – 86.1%. Стандартные растворы паклобутразола: основной 0.1 мг/мл в ацетоне, для открываемости – 2.0 мкг/мл в ацетоне; для калибровочного графика – 0.25-2.0 мкг/мл в смеси гексан-этилацетат (8:2). Предел обнаружения паклобутразола в почве – 0.040 мг/кг.

Калибровочный график для определения паклобутразола и типичные хроматограммы стандартных растворов приведены в Приложении А (рис. 3-4).

#### *Анализ имидаклоприда, беномила, метрибузина*

Экстракция пестицидов проводилась смесью ацетонитрила и воды (95:5) в течение 15 минут на вибрационной платформе (скорость 2400 об мин<sup>-1</sup>, амплитуда – 4 мм), и далее в течение 5 минут в ультразвуковой ванне (160 Гц). Для повышения эффективности экстракции на платформе в пробирки добавлялись три металлических шарика диаметром 5 мм. Далее экстракты центрифугировались в течение 5 минут при 13400 g, надосадочная жидкость дополнительно пропускалась через фильтр с диаметром пор 0.45 мкм. Экстракция проводилась дважды, экстракты объединялись, общий объем доводился до 40 мл ацетонитрилом, затем 10 мл экстракта упаривались на роторном испарителе (40°C) до объема <0.5 мл. Остаток почвы переносился в хроматографические виалы и обрабатывался двумя порциями ацетонитрила по 0.5 мл в ультразвуковой ванне в течение 30 сек. Объем экстракта в виалах доводился до 1.5 мл ацетонитрилом, если это было необходимо. Анализ проводился при помощи ВЭЖХ Agilent 1200 series с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектором (6520 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS Agilent Technologies, источник ионизации – электроспрей (+), колонка Phenomenex Hydro-RP C18 4 мкм 4.6×100 мм, подвижная фаза – вода и метанол с добавкой муравьиной кислоты (10 мМ), объем вводимой пробы – 5 мкл).

## **2.5. Метеорологические показатели**

Метеоданные в момент проведения полевых экспериментов (ежесуточные минимальная и максимальная температуры воздуха, температура почвы и осадки) и среднегодовалые данные характеризуются показателями, приведенными в Приложении Б.

Для моделирования водного режима дерново-подзолистой почвы использовали метеоданные обсерватории МГУ (максимальная и минимальная температуры, общая солнечная радиация, ежедневные осадки, давление пара и скорость ветра). Метеостанция расположена в 100 м от места проведения лизиметрического эксперимента.

## 2.6. Математические модели

В работе использовали модели PEARL 4.4.4 и STEP 1-2. Их широко применяют для прогноза концентраций пестицидов в почвах, в грунтовых и в поверхностных водах в Европейском Союзе (FOCUS surface water scenarios, 2001) и в Российской Федерации (Горбатов, 2010).

### Модель PEARL 4.4.4

PEARL – хроматографическая потоковая модель, которая основана на дифференциальном конвективно-диффузионном уравнении переноса веществ в почве без учета наличия в почве макропор и трещин (Leistra et al, 2000; Tiktak и др., 2000). Краткое описание модели приведено в табл. 14.

Таблица 14

Характеристика модели PEARL

Процесс	Движение	Потоки воды в почве рассчитываются согласно закону Дарси и уравнению Ричардса. Для определения основных гидрофизических функций используется уравнение Ван-Генухтена .
	Разложение пестицида в почве	Деградация вещества описывается уравнением кинетики I порядка. Влияние температуры описывается уравнением Аррениуса, влажности – экспоненциальным законом.
	Сорбция	Полагается, что одновременно протекают 2 типа сорбции: равновесная, которая происходит мгновенно и количество сорбированного вещества определяется уравнением Фрейндлиха и неравновесная (процесс описывается с помощью уравнения кинетики 1-го порядка и уравнения Фрейндлиха).
Входные данные	Почва	1. $C_{орг}$ (кг/кг). 2. Плотность почвы (кг/м <sup>3</sup> ). 3. pH. 4. Гранулометрический состав. 5. Параметры уравнения Ван-Генухтена.
	Пестицид	1. $K_{ом}$ (л/кг). 2. $DT_{50}$ (сут.). 3. Давление пара (Па). 4. Растворимость в воде (мг/л). 5. Доза по д. в. (кг/га). 6. Способ обработки.
	Метеоданные	Файл метеоданных: максимальная и минимальная температуры воздуха, осадки, солнечная радиация, скорость ветра, давление пара.

Выходные данные	По водному режиму	1. Сток на нижней границе каждого слоя (мм). 2. Испарение с поверхности почвы (мм).
	По пестициду	1. Остаточные количества в почве послойно (мкг/кг). 2. Суммарный вынос с вертикальным стоком. 3. Концентрация в стоке. 4. Количество вещества, испарившегося с поверхности почвы. 5. Концентрация вещества в жидкой и твердой фазах в равновесно-сорбированном и неравновесно-сорбированном состояниях.

Экспериментальным обеспечением данной модели являются физико-химические свойства почв, а также климатические данные регионов, в которых применяются пестициды. В совокупности это называется стандартным сценарием модели, от выбора которого зависит качество прогноза и соответствие расчетных концентраций пестицидов концентрациям в полевых условиях.

В нашей работе использовали стандартные сценарии для Московской, Курской и Саратовской области. Свойства почв сценариев были близки к тем, которые приведены в табл. 12, метеоданные соответствовали фактическим погодным условиям года проведения полевых опытов, а сельскохозяйственная культура отсутствовала (пар).

Настройку модели PEARL 4.4.4 по параметрам водного режима трех типов почв и по физико-химическим свойствам пестицидов проводили, как описано в работе Кокорева А.А. (2009).

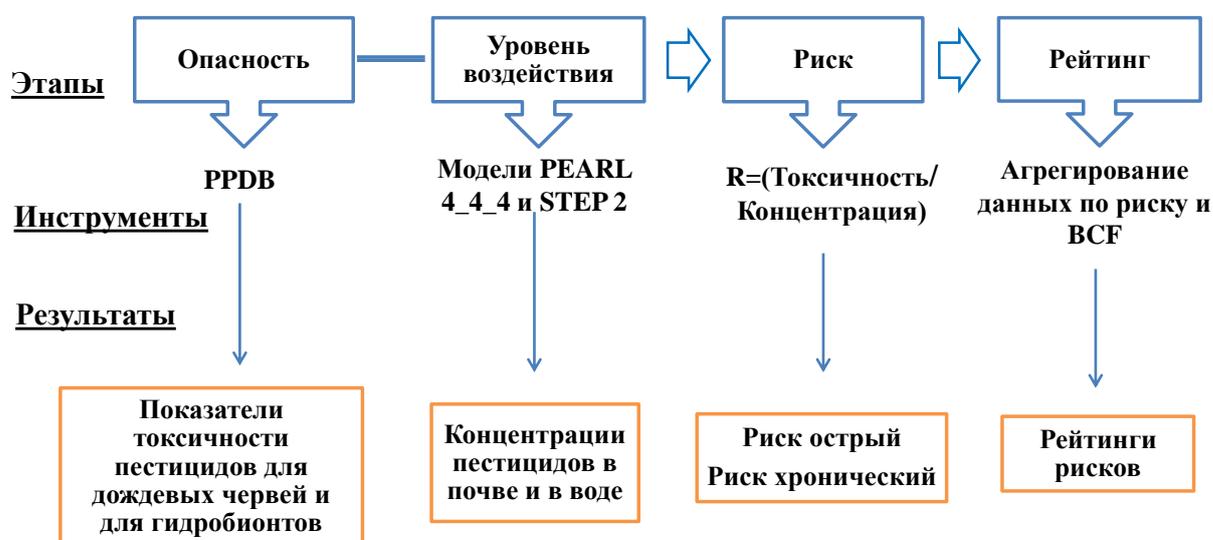
#### *Модель STEP 1-2*

Для прогноза концентраций пестицидов в поверхностных водоемах использована модель STEP 1-2, разработанная в Европейском Союзе (Surface Water Tool, 2001). Это достаточно простая универсальная модель с ограниченным количеством входных данных, не требующая детальной информации о свойствах почв, рельефе и метеоусловиях. Она позволяет рассчитать максимальные актуальные и средневзвешенные концентрации пестицида в воде на 1, 2, 4, 7, 14, 21, 28, 42, 50 и 100 сутки после его применения. В качестве модельного водного объекта в STEP 1-2

используется один простой вид водоема со следующими параметрами: отношение ширины к его длине 1:10 при уклоне 5%, глубина – 30 см, мощность донного осадка – 5 см. Модель принимает в расчет перехват пестицида культурой, а также учитывает воздушный снос пестицида на поверхность водоема при обработке поля и его миграцию в водоем за счет поверхностного стока и дренажа из почвы. Для прогноза концентраций пестицидов в поверхностных водах и последующих расчетов их рисков для гидробионтов использовали максимально рекомендуемые однократные нормы применения пестицидов на основных сельскохозяйственных культурах, выращиваемых в России. Если пестицид применяется только для обработки семян, то его норму применения рассчитывали с учетом гектарной нормы высева культуры.

## 2.7. Методика оценки опасности и риска применения пестицидов для водных и для почвенных организмов

Поэтапная схема процедур оценки опасности, рисков и определения рейтингов агрегированного риска пестицидов для гидробионтов и для дождевых червей приведена на рис. 2.



**Рис. 2.** Схема поэтапной оценки опасности и риска применения пестицидов для гидробионтов и для дождевых червей

Опасность пестицида - способность оказывать негативное воздействие на нецелевые виды организмов. Одним из основных видов опасностей

пестицида является его токсичность. В данной работе для характеристики опасностей использовали показатели острой ( $LC_{50}$  или  $EC_{50}$ ) и хронической (NOEC) токсичностей для этих организмов. Значения этих показателей токсичности брали из базы данных свойств пестицидов PPDB (Pesticide Property Data Base), в основу которой положены результаты испытаний, полученные в процессе разработки и регистрации пестицидов, а также открытые научные публикации.

Риск пестицида – это возможность реализации его опасности (прежде всего токсичности) в зависимости от условий окружающей среды и от регламента применения пестицида. Количественно риски острой и хронической токсичностей пестицида для дождевых червей и для гидробионтов характеризовали отношениями показателей токсичности пестицида к его прогнозируемым концентрациям в почве и в воде соответственно. Прогноз концентраций пестицидов в почве осуществляли по математической модели PEARL 4.4.4, в воде поверхностного водоема – по модели STEP 1-2.

Для обобщения нормализованных показателей риска острой и хронической токсичности, а также коэффициентов биоаккумуляции пестицидов использовали один из самых простых и общепринятых методов агрегирования данных – сложение баллов, который позволил составить рейтинги агрегированных рисков пестицидов для дождевых червей и водных организмов. Таким образом, агрегированный показатель риска негативного воздействия пестицидов - сумма численного выражения риска проявления острой токсичности, численного выражения риска проявления хронической токсичности и коэффициента BCF.

## **2.8. Обобщение результатов расчета и составление рейтинга рисков**

Достаточно большое количество исходных данных (показатели токсичности для различных групп гидробионтов и почвенных организмов), характеризующих разные стороны негативного воздействия пестицидов на

нецелевые организмы, осложняет их сравнительную оценку. Поэтому в данной работе использовали следующие приемы обобщения и уменьшения объемов исходной информации:

1) использование данных по токсичности пестицида только для наиболее чувствительной группы гидробионтов;

2) преобразование показателей токсичности и концентрации в коэффициенты риска острой  $R_{\text{остр}}$  и хронической  $R_{\text{хрон}}$  токсичности:

$$R_{\text{остр}} = LC_{50} (EC_{50}) / C_{\text{макс}},$$

где  $LC_{50}$  или  $EC_{50}$  – полуэффективная концентрация пестицида,  $C_{\text{макс}}$  – максимальная прогнозируемая концентрация пестицида в воде;

$$R_{\text{хрон}} = \text{NOEC} / C_{21 \text{ сутки}},$$

где  $\text{NOEC}$  – неэффективная наблюдаемая концентрация пестицида,  $C_{21 \text{ сутки}}$  – средневзвешенная за 21 сутки прогнозируемая концентрация пестицида в воде;

3) приведение разнородных данных по рискам и биоаккумуляции в один формат – баллы (нормализация данных);

4) суммирование баллов по рискам обоих видов токсичности и биоаккумуляции и преобразование их в индикатор агрегированного риска пестицидов для гидробионтов HARIP (Hydrobionts Aggregate Risk Indicator for Pesticides).

## **2.9. Методы оценки влияния пестицидов на дождевых червей**

### *Оценка острой токсичности пестицидов для дождевых червей*

Для эксперимента были выбраны пестицидные препараты, активно применяемые в сельском хозяйстве против комплекса болезней зерновых, сахарной свеклы и картофеля – Лазурит, СП (700 г/кг метрибузина) – гербицид, Танрек, ВРК (200 г/л имидаклоприда) – инсектицид и Бенорад, СП (500 г/кг беномила) – фунгицид. Метрибузин отличается низкой сорбционной способностью ( $K_{oc}=38$ ) и довольно высокой растворимостью (~1.2 г/л), что обуславливает его хорошую биодоступность. Имидаклоприд и основной

метаболит бенонила – карбендазим из-за своей высокой стойкости в почве ( $DT_{50} > 60-120$  суток) могут длительно воздействовать на почвенные микроорганизмы. Препараты официально зарегистрированы и применяются на территории России. По результатам анализа рынка пестицидов за 2010-2016 годы данные действующие вещества входят в 50 наиболее продаваемых средств химической защиты растений.

Лабораторный эксперимент заложили на искусственном почвенном субстрате, состоящем из 10% сфагнового торфа, 20% каолиновой глины и 70% промышленного песка: контроль без обработки; шесть вариантов с разными действующими веществами (имидаклоприд, метрибузин и бенонил) и препаратами (Лазурит, СП, Танрек, ВРК и Бенорад, СП) в геометрически ранжированных концентрациях: метрибузин – 200; 400; 600; 800 и 1000 мг/кг; имидаклоприд – 1; 2; 5; 10; и 20 мг/кг; бенонил – 1; 2; 5; 10 и 15 мг/кг. Вариант с комплексом пестицидов (Лазурит, СП + Танрек, ВРК + Бенорад, СП) в концентрациях, исходя из значения параметра  $LC_{50}$  для самого токсичного из трех пестицидов, определенного при индивидуальном внесении.

Влажность почвы в эксперименте поддерживали периодической добавкой бидистиллированной воды на уровне 60% полной влагоемкости. Эксперимент проходил в четырех повторностях при постоянной температуре (20°C) в стеклянных сосудах накрытых перфорированной пленкой. Масса влажной почвы в каждом сосуде составляла 500 г. Внесение пестицидов проводили следующим образом: сначала препаратом обрабатывали предварительно прокаленный в муфельной печи при 600°C песок массой 20 г, а затем этот песок перемешивали с 500 г почвы. В контрольные варианты вносили необработанный песок. В каждый сосуд помещали по 10 особей дождевых червей *Eisenia foetida*. Продолжительность теста на острую токсичность пестицидов – 14 дней.

В варианте с *Lumbricus terrestris* и дерново-подзолистой почвой эксперимент был заложен аналогичным образом с тем отличием, что на один сосуд с почвой брали 3 дождевых червя.

Также в ходе реализации проекта для сравнения показателей токсичности препаратов и действующих веществ было решено провести эксперименты по оценке острой токсичности действующих веществ, трех препаратов на их основе и их смеси по стандартной методике (ГОСТ 33036-2014) с *Eisenia foetida* на искусственном почвенном субстрате.

#### *Выделение кишечников дождевых червей Lumbricus terrestris*

Выжившие особи *Lumbricus terrestris* в тестах, а также в контроле были отобраны для анализа прокариотного сообщества кишечного тракта. Для выделения кишечников очищенных от пищи, червей замораживали на морозильном столике (элемент Пелтье) до  $-16^{\circ}\text{C}$  и вскрывали сразу после разморозки, при этом не допускали повторного замораживания-оттаивания (Бызов, 2015). Изоляты микроорганизмов хранили в пробирках Eppendorf на соответствующих средах с 25% глицерина при  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### **2.10. Методы оценки влияния пестицидов на микробное сообщество**

#### **ПОЧВЫ**

Образцы агрогумусового горизонта агродерново-подзолистой типичной почвы (Классификация и диагностика..., 2004) отбирали на экспериментальном участке в Одинцовском районе Московской области ( $55^{\circ}34'42''\text{N}$   $36^{\circ}34'32''\text{E}$ ). В течение последних 5 лет данный участок находился под паром и не обрабатывался пестицидами и агрохимикатами. Содержание органического углерода в почве составляет 1.5%, рН водной вытяжки 5.6, плотность почвы –  $1.13 \text{ г см}^{-3}$ , по гранулометрическому составу исследуемая почва относится к среднему суглинку. Образцы почвы были высушены на воздухе и просеяны через сито 1 мм.

В лабораторном инкубационном эксперименте использовали аналогичные препараты пестицидов: Лазурит, СП, Танрек, ВРК и Бенорад,

СП. Препараты пестицидов вносились в соответствии со средней рекомендованной для применения в Российской Федерации и 10-кратной нормой применения. Норма применения составила для гербицида – 1.4 л/га (0.98 кг/га метрибузина), для инсектицида – 0.1 л/га (0.02 кг/га имидаклоприда), для фунгицида 3 кг/га (1.5 кг/га беномила). Перед началом инкубационного эксперимента образцы почвы (100 г) перемешивались в ступке с 20 мл дистиллированной воды (контрольный вариант) или с 20 мл водного раствора препарата. Подготовленные таким образом образцы помещались в стеклянные сосуды объемом 250 мл, закрывались пленкой Parafilm® M, препятствующей испарению воды, и инкубировались в термостате при температуре +25°C. Для активизации гидролитического комплекса почвенных микроорганизмов одна из серий эксперимента проводилась с внесением в почву крахмало-минеральной смеси (5 г кг<sup>-1</sup> крахмала + 1 г кг<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> и (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Все этапы лабораторного эксперимента проводили в трехкратной повторности. Схема инкубационного опыта приведена в табл. 15.

**Таблица 15**

Схема проведения инкубационного эксперимента

№	Внесение препаратов пестицидов		Внесение крахмало-минеральной смеси	Срок инкубации, сут
	способ	норма		
1	Контроль		-	7, 14, 28, 56
2	индивидуальное	1-кратная рекомендованная	-	14
3	индивидуальное	10-кратная рекомендованная	-	14
4	индивидуальное	1-кратная рекомендованная	+	14
5	индивидуальное	10-кратная рекомендованная	+	14
6	Контроль		+	7, 14, 28, 56
7	смесь	1-кратная рекомендованная	-	7, 14, 28, 56
8	смесь	10-кратная рекомендованная	-	7, 14, 28, 56
9	смесь	1-кратная рекомендованная	+	7, 14, 28, 56
10	смесь	10-кратная рекомендованная	+	7, 14, 28, 56

### *Оценка разнообразия 16S и ITS-1 рРНК в почве*

Для проведения анализа нуклеотидных последовательностей 16S рРНК почвенная микроколонка (0.3-0.4 г) извлекалась при помощи бура и хранилась до анализа при температуре -70 °С. Выделение тотальной ДНК проводилось при помощи набора реагентов FastDNA<sup>®</sup> SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, Irvine, CA) согласно рекомендациям производителя. Образцы выделенной ДНК разбавлялись 500-кратно. Амплификация варибельного участка V4 гена 16S рРНК проводилась в 1 раунд с использованием системы праймеров с двухиндексным мультиплексированием образцов, описанной в статье (Fadrosh и др., 2014). Амплификация варибельного участка ITS1 проводилась с использованием следующих праймеров: BITS (5'–CTACCTGCGGARGGATCA–3') и B58S3 (5'–GAGATCCRTTGYTRAAAGTT–3') как описано в статье (Mukherjee и др., 2014). Очистка ПЦР продуктов проводилась с помощью набора Cleanup Mini kit (ЗАО Евроген, Россия) для выделения ДНК из реакционных смесей. Концентрация полученных библиотек 16S рРНК и ITS-1 в растворе измерялась с помощью флуориметра Qubit<sup>®</sup> (Invitrogen, USA) с применением Quant-iT<sup>™</sup> dsDNA High-Sensitivity Assay Kit. Очищенные ампликоны смешивались эквимольно в соответствии с полученными концентрациями. Качество полученной библиотеки, подготовленной для секвенирования, оценивалось с помощью электрофореза в агарозном геле. Дальнейшая пробоподготовка и секвенирование пулированного образца проводилось с помощью MiSeq Reagent Kit v2 (500 циклов) и секвенатора MiSeq (Illumina, USA). Первичный анализ (демультиплексирование) проводилось в соответствии с описанием в статье (Fadrosh и др., 2014) с использованием программы QIIME версии 1.9.1. Итоговая длина ридов составила 252 п.н. Анализ состава грибного сообщества проведен только для вариантов обработки почвы фунгицидом беномилом, а также смесью пестицидов.

### *Оценка биомассы микробного комплекса почв*

Углерод микробной биомассы почвы ( $C_{\text{микр}}$ ) рассчитывали методом субстрат-индуцированного дыхания (СИД) согласно Anderson, Domsch (1978). Скорость СИД определяли по продукции C-CO<sub>2</sub> через 3 ч после внесения в почву 0.2 мл 10%-ного раствора глюкозы.

*Определение азотфиксирующей и денитрифицирующей способности почв*

Для определения нитрогеназной активности использовали метод восстановления ацетилена в этилен с пересчетом количества образовавшегося этилена в количество фиксированного азота в соотношении 1:3. Скорость образования закиси азота оценивалась в анаэробных условиях (после продувки флаконов аргоном) с внесением ацетилена в качестве ингибитора редуктазы закиси азота. Все измерения проводили в пятикратной повторности. Суммарную потенциальную продукцию азотфиксации и денитрификации рассчитывали для всего периода инкубации образцов.

### **2.11. Статистическая обработка результатов**

Статистический анализ данных проводили в программах Excel и STATISTICA 10. На графиках и в тексте результаты представлены как средние значения и указано стандартное отклонение (SD), если не сказано иначе.

Визуализацию данных по оценке рисков негативного воздействия пестицидов провели в программной среде R с использованием пакета «ggplot2».

Расчеты показателей острой токсичности пестицидов для дождевых червей (LC<sub>50</sub>) были выполнены с использованием программы MedCalc Version 18.2.1 (MedCalc Software, Бельгия).

Биоинформатический и статистический анализы проведены в онлайн-системе для обработки метагеномных данных Knomics-Biota (Efimova и др., 2018). Таксономический состав образцов был оценен путем классификации по базе данных последовательностей гена 16S и ITS-1 рРНК Greengenes

версии 13.5 с помощью классификатора RDP. Оценка  $\alpha$ -разнообразия (таксономического богатства сообществ) проводилась с помощью программы QIIME версии 1.9.1. Для определения достоверности попарного различия сообществ по составу микробного комплекса и вклада исследуемых факторов в данное различие использовался непараметрический дисперсионный анализ (функция ADONIS пакета VEGAN языка R) с оценкой достоверности.

Проверка статистических гипотез проводилась с уровнем значимости 0.05, если не сказано иначе.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1. Разложение и профильная миграция пестицидов в почвах

Исследования, посвященные скорости деградации пестицидов в почвах трех климатических зон России, проводились в несколько этапов: для ленацила, метсульфурон-метила, триаллата, пириметанила, фенпропиморфа, хлорантранилипрола (с 1999 по 2011 годы); для флубендиамида, паклобутразола и метрибузина (с 2013 по 2017 годы).

Выбор действующих веществ пестицидов определен поставленной нами задачей: изучение переноса и деградации пестицидов разных классов стойкости и подвижности в почве (от очень стойкого до малостойкого, от очень подвижного до неподвижного). В наше исследование также попали основные группы пестицидов в соответствии с их целевыми объектами: фунгициды, гербициды и инсектициды. Физико-химические свойства действующих веществ пестицидов приведены в Главе 2.

Сотрудниками ВНИИ фитопатологии был проведен первый этап полевого эксперимента. Автор данной работы провел второй этап и статистически обработал результаты первого этапа.

В проанализированных образцах был проведен расчет содержания пестицидов (мг/кг). В этом расчете были использованы данные хроматограмм (площадей пиков пестицида), градуировочного графика, массы навески почвы, объема экстракта и его разбавления, а также веса слоя почвы.

Концентрация флубендиамида, паклобутразола и метрибузина (мг/кг) в дерново-подзолистой почве, черноземе типичном и темно-каштановой почве приведена в табл. 16-22.

Таблица 16

Результаты определения флубендиамида в дерново-подзолистой почве  
(Московская область, полевой колonoчный опыт)

Дата пробо-отбора	Время после обра-ботки, сутки	Слой почвы, см	Вес слоя почвы в колонке, кг	Содержание флубенди-амида, мг/кг	Количество флубенди-амида в слое, мг	% от внесенного количества флубенди-амида
5.06.13г.	0	–	0.050*	0.430	0.215	100.0
13.06.13г.	8	0-10	1.038	0.193	0.200	93.0
20.06.13г.	15	0-10	1.106	0.183	0.202	94.0
		10-20	1.230	не обн.	не обн.	
01.08.13г.	57	0-10	1.070	0.132	0.141	
		10-20	1.152	0.010	0.012	71.2
		20-30	1.131	не обн.	не обн.	
11.09.13г.	98	0-10	1.266	0.110	0.139	
		10-20	0.949	0.006	0.006	67.4
		20-30	1.049	не обн.	не обн.	

\* – навеска почвы (50 г), обработанная в лаборатории инсектицидом Белт и внесенная на поверхность колонки.

Таблица 17

Результаты определения флубендиамида в черноземе типичном тяжелосуглинистом  
(Курская область, полевой колonoчный опыт)

Дата пробо-отбора	Время после обра-ботки, сут.	Слой почвы, см	Вес слоя почвы, кг	Содержание флубенди-амида, мг/кг	Количество флубенди-амида в слое, мг	% от внесенного количества флубенди-амида
04.06.13г.	0	–	0.050*	4.100	0.205	100.0
11.06.13г.	7	0-10	0.969	0.171	0.166	81.0
19.06.13г.	15	0-10	1.006	0.147	0.148	80.0
		10-20	0.934	0.018	0.017	
03.08.13г.	60	0-10	0.828	0.139	0.115	
		10-20	0.978	0.013	0.013	62.4
		20-30	1.039	не обн.	не обн.	
05.10.13г.	123	0-10	0.807	0.113	0.091	
		10-20	0.944	0.007	0.007	47.8
		20-30	0.967	не обн.	не обн.	

\* – навеска почвы (50 г), обработанная в лаборатории инсектицидом Белт и внесенная на поверхность колонки.

Таблица 18

Результаты определения флубендиамида в каштановой почве  
(Саратовская область, мелкоделяночный опыт)

Дата пробоотбора	Время после обработки, сутки	Слой почвы, см	Содержание флубендиамида, мг/кг	% от внесенного количества флубендиамида
11.06.13г.	0	0-10	0.196	100.0
18.06.13г.	7	0-10	0.178	90.8
26.06.13г.	15	0-10	0.140	71.4
		10-20	не обн.	
10.08.13г.	60	0-10	0.115	62.8
		10-20	0.008	
		20-30	не обн.	
09.09.13г.	90	0-10	0.092	46.9
		10-20	не обн.	
		20-30	не обн.	

Таблица 19

Результаты определения паклобутразола в дерново-подзолистой почве  
(Московская обл.)

Дата пробоотбора	Время после обработки, сут.	Слой почвы, см	Вес слоя почвы, кг	Содержание паклобутразола, мг/кг	Количество паклобутразола в слое, мг	% от внесен. количества паклобутразола
08.06.15г.	0	–	0.050*	1.980	0.099	100.0
15.06.15г.	7	0-10	0.906	0.113	0.102	103.0
22.06.15г.	14	0-5	0.456	0.257	0.117	118.2
		5-10	0.452	не обн.	не обн.	
06.07.15г.	28	0-5	0.625	0.135	0.084	84.8
		5-10	0.722	не обн.	не обн.	
		10-15	0.423	не обн.	не обн.	
03.08.15г.	56	0-5	0.510	0.130	0.066	66.7
		5-10	0.700	не обн.	не обн.	
		10-15	0.599	не обн.	не обн.	
31.08.15г.	84	0-5	0.577	0.113	0.065	65.7
		5-10	0.547	не обн.	не обн.	
		10-15	0.631	не обн.	не обн.	
30.09.15г.	114	15-20	0.503	не обн.	не обн.	28.3
		0-5	0.702	0.040	0.028	
		5-10	0.603	не обн.	не обн.	

\* – навеска почвы, обработанная в лаборатории.

Таблица 20

Результаты определения паклобутразола в черноземе типичном тяжелосуглинистом  
(Курская обл.)

Дата пробо- отбора	Время после обра- ботки, сут.	Слой почвы, см	Вес слоя почвы, кг	Содержание паклобутра- зола, мг/кг	Количество паклобутра- зола в слое, мг	% от внесенного количества паклобутра- зола
11.06.15г.	0	–	0.050*	5.650	0.113	100.0
18.06.15г.	7	0-10	0.894	0.104	0.093	82.3
27.06.15г.	16	0-10	0.847	0.102	0.086	76.1
		10-20	1.036	не обн.	не обн.	
12.07.15г.	31	0-10	0.732	0.111	0.081	71.7
		10-20	1.050	не обн.	не обн.	
14.08.15г.	64	0-10	0.772	0.087	0.067	59.3
		10-20	0.923	не обн.	не обн.	
11.09.15г.	92	0-10	0.709	0.088	0.062	54.9
		10-20	0.693	не обн.	не обн.	
		20-30	0.908	не обн.	не обн.	

\* – навеска почвы, обработанная в лаборатории.

Таблица 21

Результаты определения паклобутразола в темно-каштановой почве  
(Саратовская обл.)

Дата пробо- отбора	Время после обра- ботки, сут.	Слой почвы, см	Содержание паклобутразола, мг/кг	% от внесенного количества паклобутразола
16.06.15	0	0-10	0.404	100.0
23.06.15	7	0-10	0.353	87.4
01.07.15	15	0-10	0.156	38.6
		10-20	не обн.	
16.07.15	30	0-10	0.113	28.0
		10-20	не обн.	
15.08.15	60	0-10	0.089	22.0
		10-20	не обн.	
14.09.15	90	0-10	0.060	14.9
		10-20	не обн.	
		20-30	не обн.	

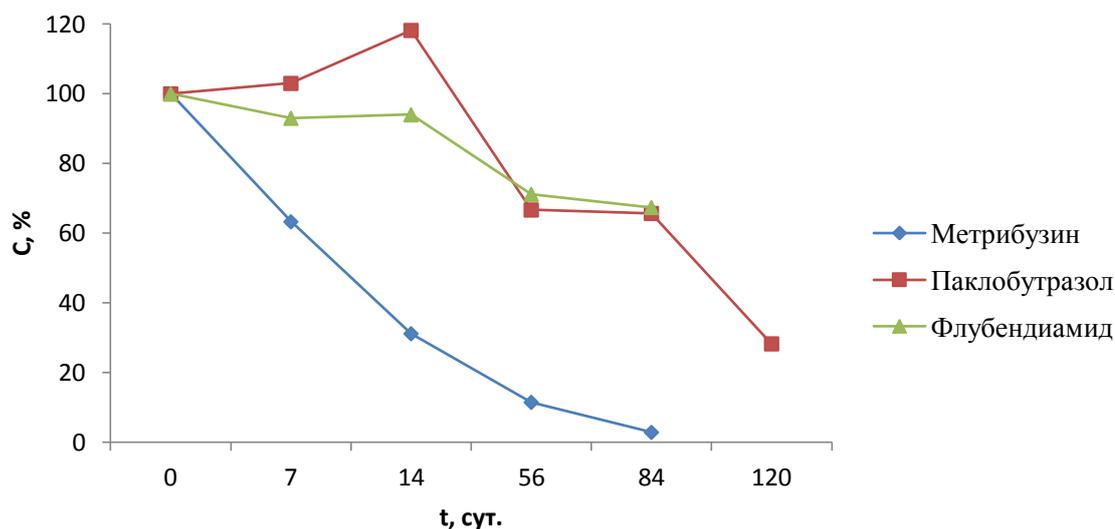
Таблица 22

Результаты определения метрибузина в дерново-подзолистой почве  
(Московская обл.)

Время	Повторность	Слой, см	Вес, кг	Содержание метрибузина, мг/кг	Количество в слое, мг	% средний	% от внесенного количества
0	среднее	-	0.050	13.800	0.690	100	100
7	1	0-5	0.447	0.913	0.408	59.1	63.3
		5-10	0.423	н/о	н/о	н/о	н/о
14	2	0-5	0.589	0.789	0.465	67.4	
		5-10	0.615	0.376	0.231	33.5	31.2
28	1	0-5	0.357	н/о	н/о	н/о	н/о
		5-10	0.561	0.357	0.200	29.0	
56	2	0-5	0.617	0.231	0.143	20.7	18.1
		5-10	0.584	н/о	н/о	н/о	н/о
84	1	0-5	0.509	0.210	0.107	15.5	
		5-10	0.412	0.215	0.089	12.9	11.5
120	2	0-5	0.509	н/о	н/о	н/о	н/о
		5-10	0.547	н/о	н/о	н/о	н/о
120	1	0-5	0.502	0.140	0.070	10.1	
		5-10	0.297	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
120	2	0-5	0.661	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
		5-10	0.634	н/о	н/о	н/о	н/о
120	1	0-5	0.515	н/о	н/о	н/о	н/о
		5-10	0.331	0.060	0.020	2.9	5.8
120	2	0-5	0.432	0.047	0.020	2.9	
		5-10	0.450	н/о	н/о	н/о	<0.05
120	1	0-5	0.352	н/о	н/о	н/о	<0.05
		5-10	0.445	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
120	2	0-5	0.511	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
		5-10	0.520	н/о	н/о	н/о	н/о

\* – навеска почвы, обработанная в лаборатории.

Динамика содержания указанных пестицидов в пахотном слое (0-20 см)  
дерново-подзолистой почвы показана на рис. 3.



**Рис. 3.** Динамика остаточных количеств метрибузина, паклобутразола и флубендиамида в дерново-подзолистой почве

Временным показателем разложения пестицидов в почве служил период полуразложения -  $DT_{50}$ . Для расчета использовались данные по суммарному содержанию изученных пестицидов во всех слоях почвы. Кроме того, эти данные, сведенные в таблицы (см. табл. 16-22), после их аппроксимации описывались уравнением кинетики 1-го порядка с точностью сравнимой с погрешностью измерений.

$$C = C_0 * e^{-kt},$$

где  $C_0$  – исходное содержание пестицида в почве;

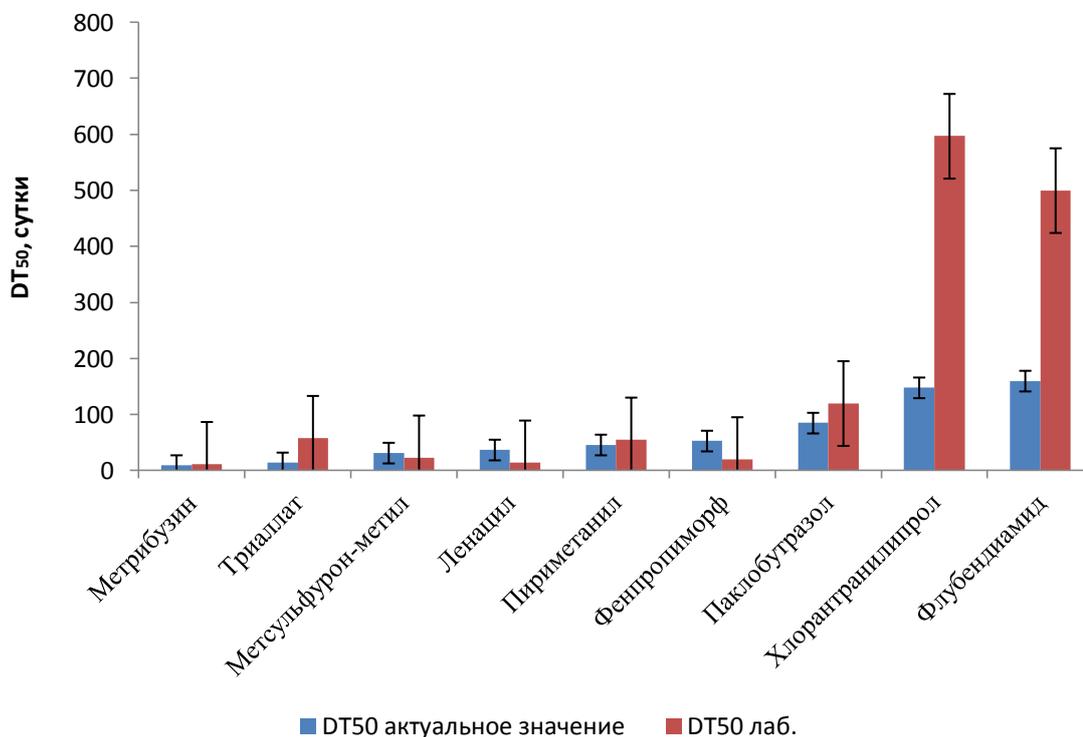
$C$  – содержание пестицида в почве в момент времени  $t$ ;

$k$  – константа скорости разложения;

$e$  – основание натурального логарифма.

Коэффициенты корреляции  $\ln C/C_0$  в зависимости от  $t$  линеаризованной формы уравнения, приведенного выше, равны -0,97, -0,97 и - 0,95 для дерново-подзолистой почвы, чернозема типичного и каштановой почвы, соответственно: разложение с заданной точностью описывалось уравнением кинетики I порядка.

Средние величины периодов полураспада  $DT_{50}$  девяти пестицидов представлены на рис. 4. Сравнивались значения  $DT_{50}$ , полученные в полевых условиях со значениями  $DT_{50 \text{ лаб.}}$ , взятыми из международной базы данных PPDB.



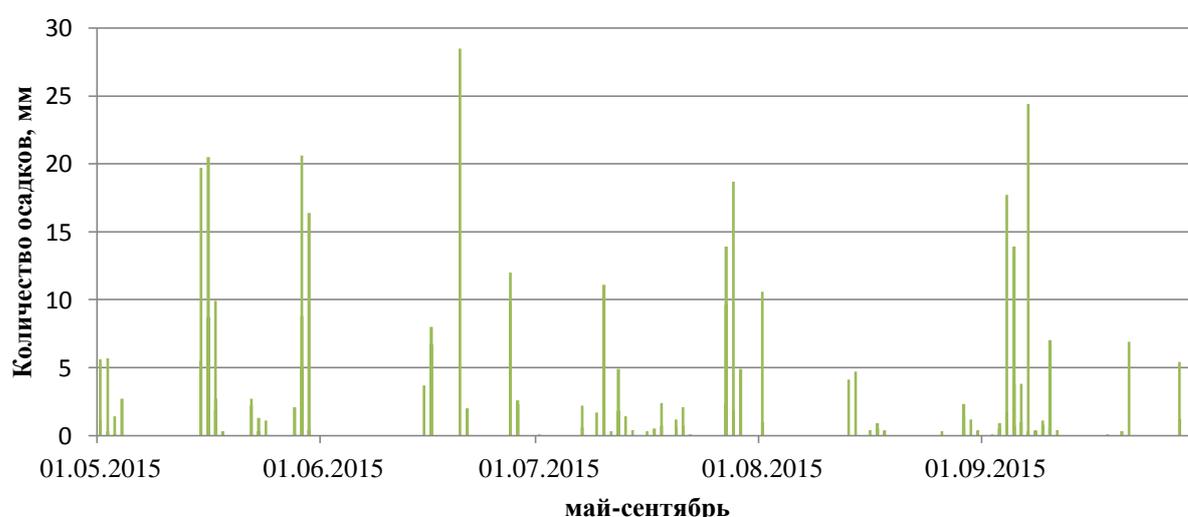
**Рис. 4.** Средние величины периодов полураспада  $DT_{50}$  пестицидов в полевых и в лабораторных условиях. Планки погрешности обозначают доверительный интервал при  $\alpha=0.05$

Для большей части изученных пестицидов, как выяснилось, полураспад в полевых условиях происходит быстрее, чем в лабораторных, что обусловливается значительными колебаниями температуры и влажности почвы. Эти колебания, в свою очередь, ускоряют микробиологические и химические процессы деградации пестицидов (Goring, 1975). Полевые эксперименты подтвердили целесообразность использования  $DT_{50 \text{ лаб.}}$  для моделирования худшего случая, как для краткосрочного, так и для долгосрочного прогноза концентрации пестицидов в почвах.

### 3.2. Пестициды в лизиметрических водах

Натурные лизиметрические исследования представляют интерес в нескольких аспектах. Во-первых, такие эксперименты позволяют оценить вероятность проникновения пестицидов в грунтовые воды. Во-вторых, результаты этих исследований эффективно используются для параметризации математических моделей, симулирующих перенос пестицидов в почвах (Сметник, Шеин, 2005). В-третьих, лизиметрические исследования являются связующим звеном между лабораторными и полевыми экспериментами (Сметник, 2000).

Для настройки модели PEARL 4.4.4 по водному режиму дерново-подзолистой почвы базовыми данными являются количество и динамика распределения осадков в период проведения исследований. На величину лизиметрического стока, как было показано в работах Умаровой (1995), Леоновой (2003), Кокоревой (2009), существенно влияет количество осадков не за весь гидрологический год (октябрь-апрель и май-сентябрь), а только за второй период (май-сентябрь). На рис. 5 представлена динамика осадков за май-сентябрь.



**Рис. 5.** Динамика осадков в период проведения исследований (май-сентябрь)

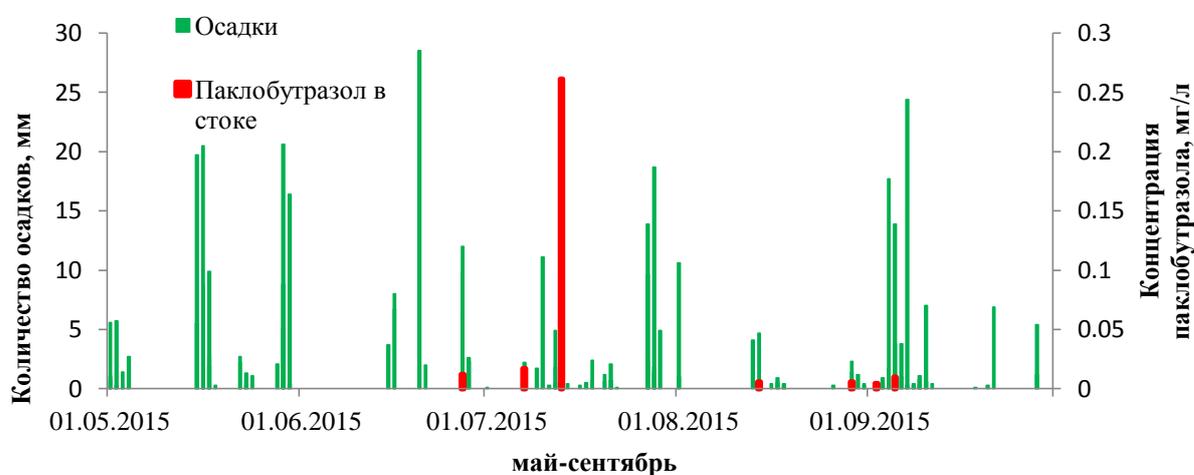
За второй гидрологический период общее количество выпавших осадков составило 447 мм, при этом величина стока в лизиметре № 5 – 196

мм, а в лизиметре № 6 – 276 мм. Сравнение данных по осадкам и количеству лизиметрической воды показывает, что после ливневых дождей в обоих лизиметрах резко увеличивается интенсивность стока. Академик Спиридонов, характеризуя водный режим дерново-подзолистой почвы, отмечает наличие прямой зависимости между интенсивностью выпавших осадков и линейной скоростью передвижения влаги по почвенным горизонтам (Спиридонов, 2003).

Профильная миграция паклобутразола в лизиметрах показала, что основное количество пестицида сосредоточено в верхнем слое почвы (10–см) в течение всего периода наблюдений. В этом слое в конце вегетационного сезона содержание паклобутразола составило 0.1% от внесенного количества (217 мг/S<sub>6</sub> лизиметра или 1.0 кг/га по д.в.) пестицида.

При норме применения (0.125 кг/га по д.в.) паклобутразол в инфильтрате обнаружили дважды, а при норме 8-кратной (1.0 кг/га по д.в.) паклобутразол детектировали семь раз. В лизиметрическом стоке концентрация пестицида варьировалась от 0.002 – 0.261 мг/л.

От внесенного количества (111 мг/S<sub>5</sub> лизиметра и 217 мг/S<sub>6</sub> лизиметра, соответственно) суммарный вынос с лизиметрическими водами составил 0.01% в первом лизиметре и 0.2% во втором (рис. 6).



**Рис. 6.** Концентрация паклобутразола (мг/л) в лизиметрических водах в зависимости от количества осадков (мм)

Паклобутразол удалось обнаружить только в периоды интенсивных осадков. То есть за две недели после обработки выпало 76.3 мм осадков, а за месяц – 101.6 мм. Максимальная концентрация пестицида в лизиметрической воде (0.261 мг/л) была зафиксирована в период обильных дождей на 27 сутки после обработки. Такая концентрация экстремально превышает допустимый уровень содержания пестицида в питьевой воде по нормативам Европейского Союза (0.1 мкг/л) (<http://www.egeis-toolbox.org>).

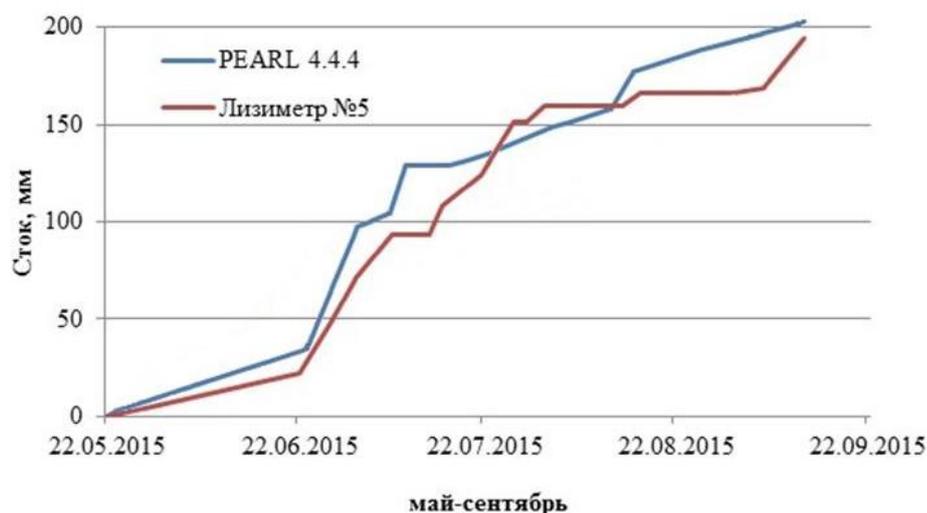
Анализ почвенных проб показал, что концентрация паклобутразола удерживалась постоянно в верхнем слое дерново-подзолистой почвы (10 см). Именно этим слоем и была ограничена профильная миграция пестицида. Лизиметрический эксперимент, однако, скорректировал наше понимание профильной миграции как процесса. Паклобутразол, как выяснилось, выносится вместе с инфильтратом за пределы почвенного профиля и проникает в грунтовые воды, несмотря на то, что по принятой классификации он относится к веществам средней подвижности. Это объясняется тем, что пестициды, применяемые в сельскохозяйственных зонах с дерново-подзолистыми среднесуглинистыми почвами, с высокой вероятностью по макропорам способны перемещаться в грунтовые воды.

### 3.3. Прогноз по модели PEARL 4.4.4

Для повышения точности прогноза, для сходимости измеренных и рассчитанных величин была проведена настройка модели PEARL 4.4.4 по параметрам водного режима почвы и по параметрам пестицида. На точность прогноза при этом, как было показано в профильных публикациях (Кокорева, 2009), наибольшее влияние оказывают физические параметры уравнения Ван Генухтена для аппроксимации ОГХ.

В данной работе для настройки модели по параметрам водного режима использовали экспериментальные данные ОГХ для дерново-подзолистой почвы, чернозема типичного и темно-каштановой почвы.

На рис. 7 показаны кривые стока в дерново-подзолистой почве по данным лизиметрического эксперимента и по данным настроенной модели PEARL 4.4.4.



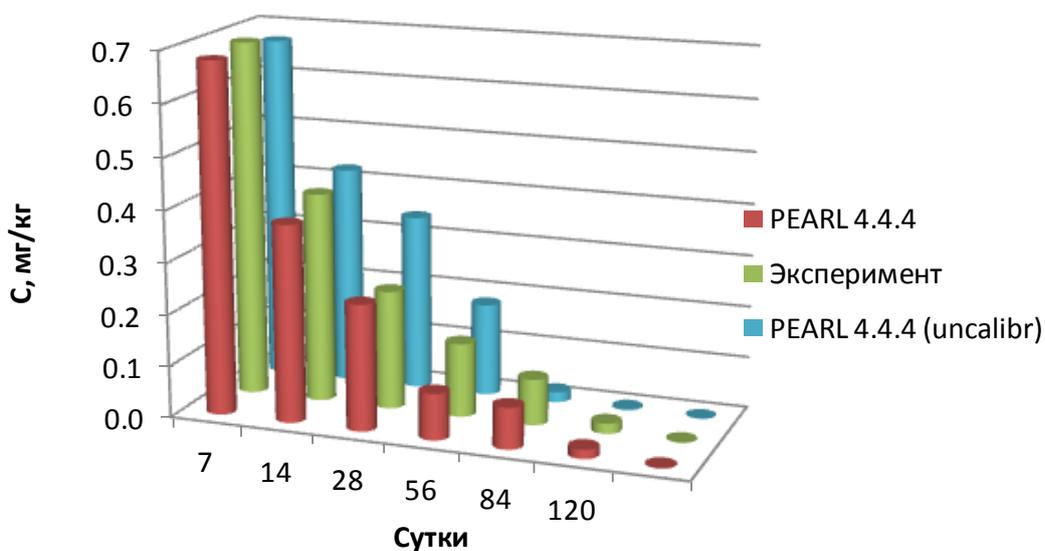
**Рис. 7.** Кумулятивные кривые стока в дерново-подзолистой почве по данным эксперимента и модели PEARL 4.4.4

Количественная оценка величины модельного и реально измеренного стока в дерново-подзолистой почве лизиметров г. Москвы убедительно продемонстрировала, что модель PEARL 4.4.4 удовлетворительно описывает водный режим с высокой точностью и может эффективно быть использована в прочих климатических зонах с другим типом почв.

Подобные процедуры по настройке водного блока модели PEARL 4.4.4 провели для чернозема типичного и темно-каштановой почвы.

Второй этап настройки модели – это настройка по физико-химическим свойствам пестицида (см. выше, Глава 2). Здесь использовали данные собственных полевых исследований.

Динамика остаточных количеств метрибузина в дерново-подзолистой почве представлена на рис. 8. Для построения диаграмм на указанном рисунке использованы, во-первых, экспериментальные данные, во-вторых, данные математического прогноза на базе модели PEARL 4.4.4. При этом вторые данные, для сравнения, фиксировались до настройки модели, а затем после настройки.

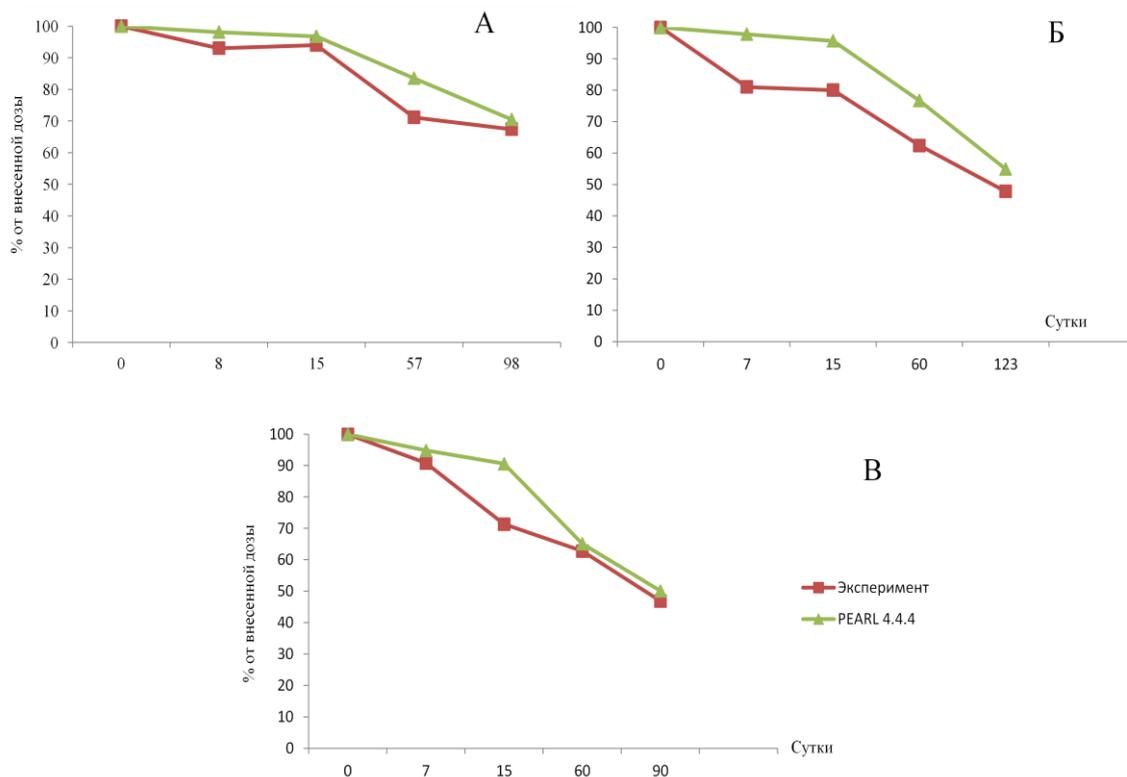


**Рис. 8.** Динамика остаточных количеств метрибузина в дерново-подзолистой почве

В варианте до настройки наблюдается заметное завышение остаточных количеств метрибузина в слое 0-20 см по сравнению с экспериментальными данными (см. рис.8).

Степень точности прогноза по модели PEARL 4.4.4 принципиально не понизилась, сохранилась и в варианте с флубендиамидом. Здесь использовались физико-химические свойства уже этого пестицида, а

настройка сохранялась по водному режиму для трёх типов почв: дерново-подзолистой почвы, чернозема типичного, темно-каштановой почвы (рис. 9).



**Рис. 9.** Динамика остаточных количеств флубендиамида в трёх типах почв, где А – дерново-подзолистая почва, Б – чернозём типичный, В – тёмно-каштановая почва

После настройки модели по водному блоку и физико-химическим свойствам пестицида мы добились сходимости прогнозных и реальных значений (см. рис. 8 и 9).

В Приложении В приведены расчетные концентрации паклобутразола в сравнении с концентрациями, измеренными в почвах трех типов.

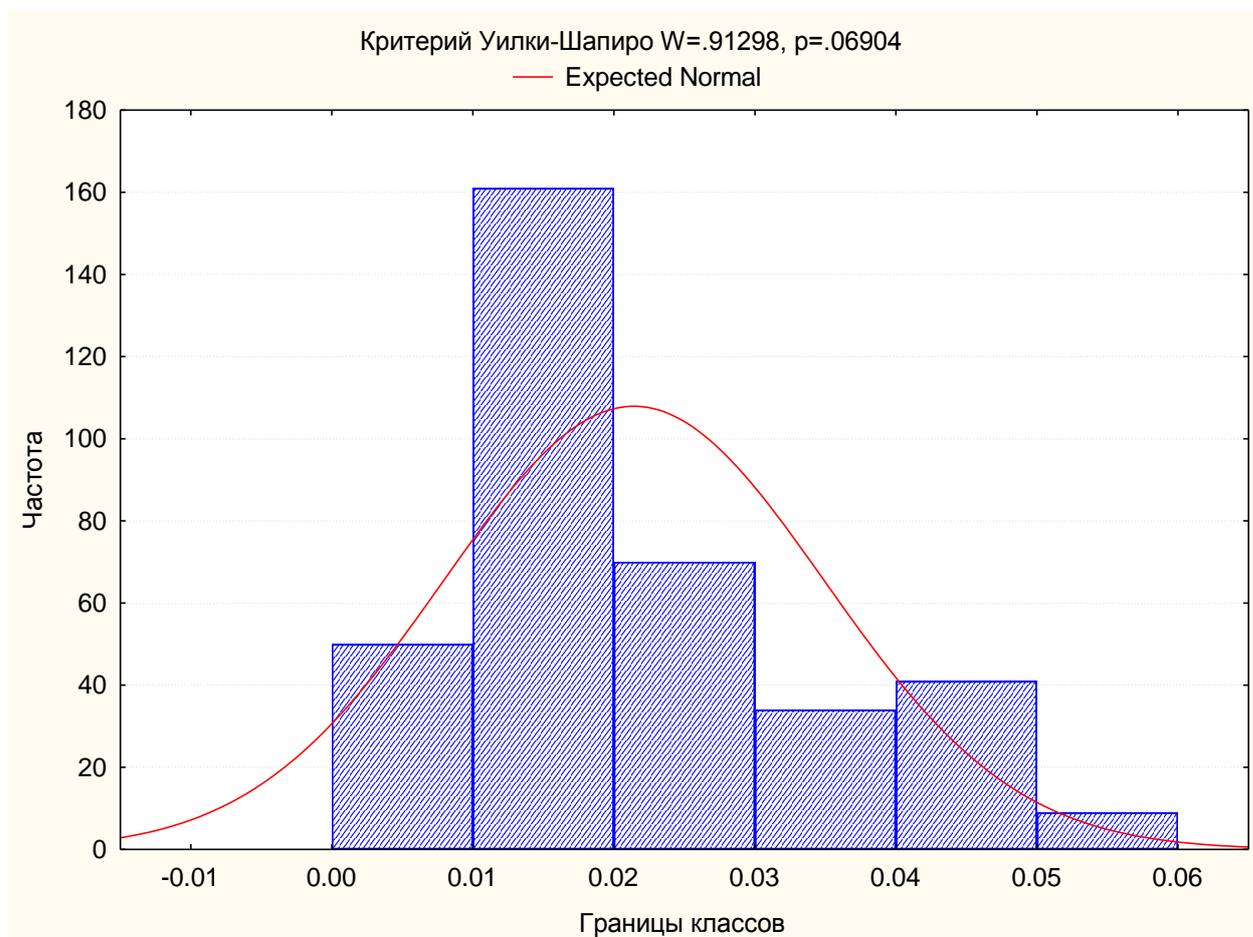
### 3.4. Статистический анализ результатов моделирования

Вывод о том, что прогнозируемая и измеренная концентрация пестицидов в почвах совпадает с заданной точностью, подтверждается статистическими критериями.

В данной работе таковыми критериями являются: оценка распределения ошибок моделирования (с указанием значения критерия

Уилки-Шапиро), характеристика разброса погрешностей в виде «box & whisker plots» и анализ ошибок аппроксимации.

Диаграмма распределения ошибок моделирования для модели PEARL 4.4.4, настроенной предварительно, приведена на рис. 10.



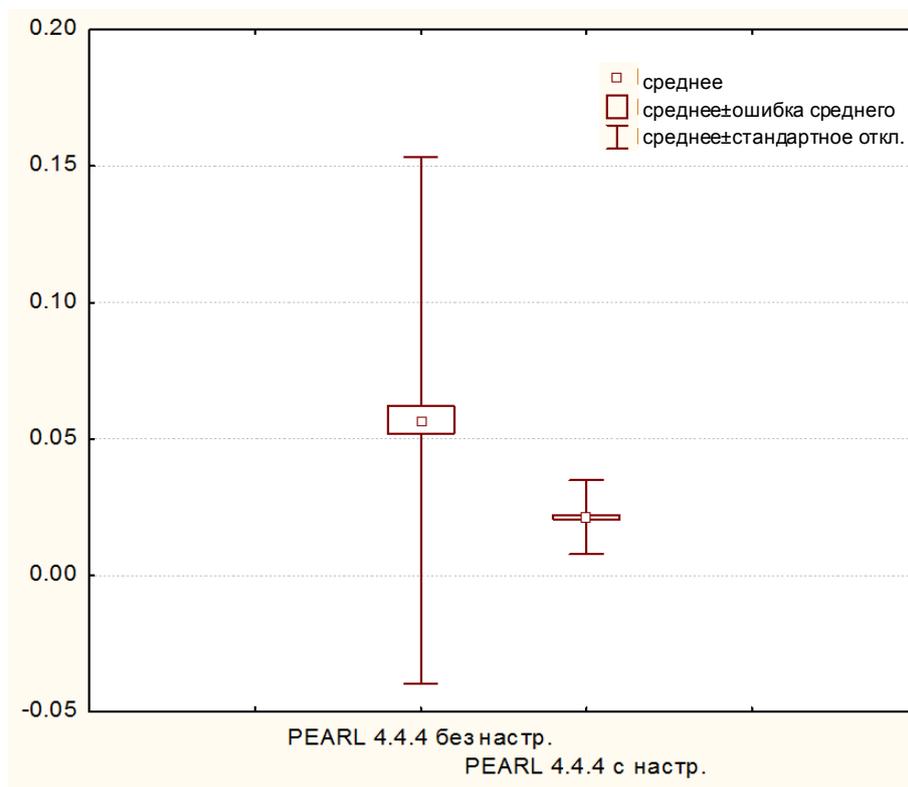
**Рис. 10.** Диаграмма распределения ошибок моделирования концентрации паклубутразола в дерново-подзолистой почве

Критерий Уилки-Шапиро составляет 0.91 при уровне достоверности  $p=0.07$  (гипотеза принимается при  $p>0.05$ ), что позволяет сделать вывод: данное распределение относится к распределению нормального вида. Средняя величина погрешности, однако, отлична от нуля. Следовательно, ощутимо возрастает вероятность ошибок прогноза.

Статистический анализ данных, полученных в результате использования предварительно настроенной модели PEARL 4.4.4, выявил то,

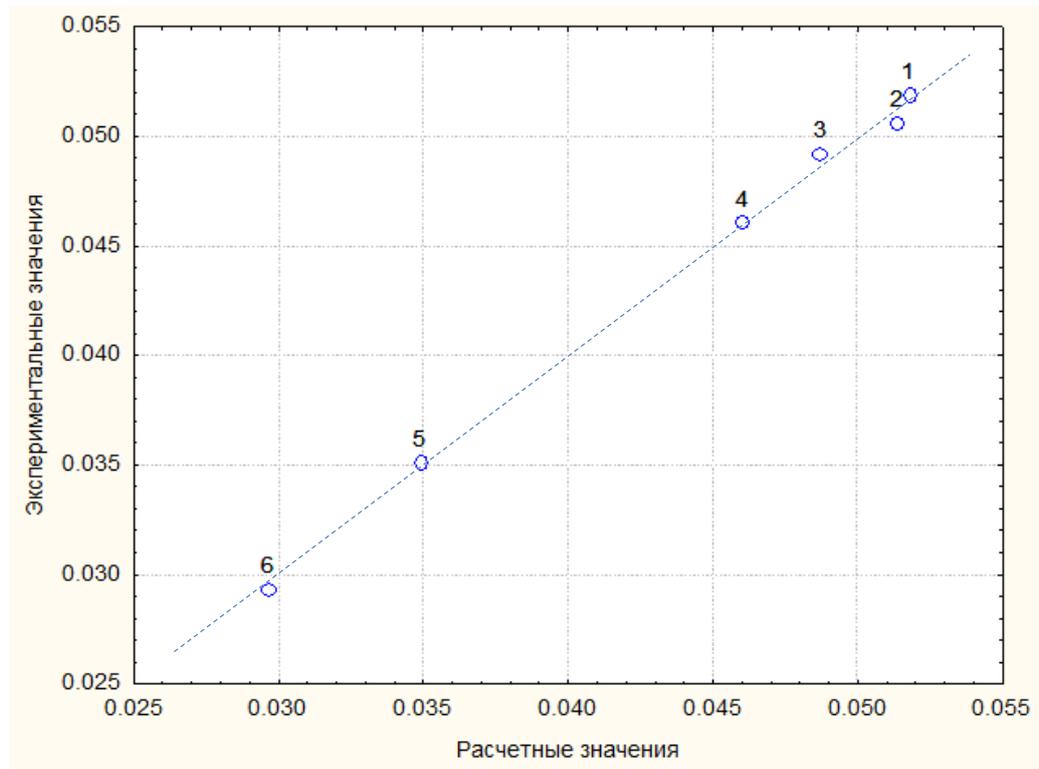
что стандартная ошибка средней погрешности моделирования приблизилась к нулевому значению.

Средняя погрешность, стандартное отклонение и стандартная ошибка средней погрешности моделирования приведены на рис. 11.



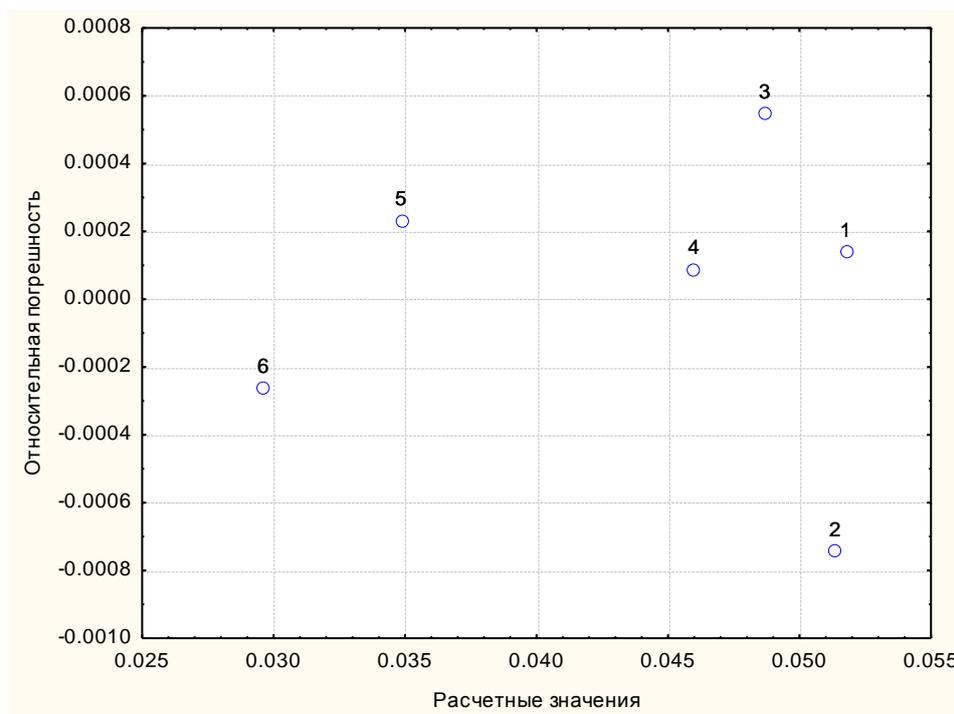
**Рис. 11.** Характеристики статистического распределения ошибок моделирования концентрации паклобутразола в дерново-подзолистой почве

Результаты анализа зависимости экспериментальных значений от расчётных представлены на рис. 12.



**Рис. 12.** Зависимость реальных величин от расчетных по модели PEARL 4.4.4

По теории на графике (рис. 12) должна быть биссектриса угла, т.е. совпадение реальных и расчетных значений, но в данном случае точки оказываются по разные стороны от прямой, это свидетельствует о наличии систематических ошибок. Однако окончательный вывод о наличии/отсутствии систематических ошибок моделирования можно сделать только после анализа зависимости ошибок аппроксимации от расчетной величины по модели PEARL 4.4.4. (рис. 13).



**Рис. 13.** Зависимость распределения погрешностей от расчетной величины по модели PEARL 4.4.4.

Как показано на рис. 13 ошибки аппроксимации имеют случайный разброс. Максимальные случайные ошибки наблюдаются в точках 3 (около 0.00058) и 2 (-0.00078). Однако данные ошибки не значительны по величине и можно утверждать, что систематические ошибки прогноза концентрации пестицида по модели PEARL 4.4.4. отсутствуют.

Релевантность прогноза по модели PEARL 4.4.4, после ее настройки, сохранилась и для других почвенно-климатических зон, где постоянно применяются пестициды. Это подтверждается уменьшением относительной ошибки моделирования.

Таким образом, с вероятностью не менее 95% (величина уровня значимости 0.05, принятая в науках о Земле) модель PEARL 4.4.4 релевантно описывает природные явления переноса и разложения пестицидов в почвах.

### **3.5. Прогноз концентрации пестицидов в почве и в воде**

Прогноз необходим для расчета рисков негативного воздействия пестицидов при использовании их в сельском хозяйстве. При этом оценивались риски воздействия на дождевых червей и на водные организмы.

После настройки модели и проверки релевантности прогноза рассчитали концентрацию всех пестицидов, разрешенных к применению на территории РФ. Данные о физико-химических свойствах пестицидов брали из базы PPDB. Рекомендованную норму применения по действующему веществу рассчитывали исходя из концентрации данного вещества в препарате, количества обработок и максимальной нормы расхода препарата (в кг/га; л/га; кг/т; л/т).

#### *Пестициды в почве*

Прогноз по модели PEARL 4.4.4 показал: гербициды после их применения сконцентрированы максимально в пахотном слое дерново-подзолистой почвы. Объясняется это высокой нормой их применения по сравнению с нормой применения фунгицидов и инсектицидов. Через 56 суток после применения пестицидов картина складывается иначе: в почвах сохраняются преимущественно фунгициды. Объясняется это более высокой стойкостью фунгицидов в почве (величина периода полураспада  $DT_{50} > 60$  суток) по сравнению с величиной стойкости инсектицидов и гербицидов. Значения расчетных концентраций приведены в табл. 23.

## Рейтинг концентрации пестицидов в почве

Рейтинг, баллы	C <sub>макс</sub>		C <sub>56 сутки</sub>	
	Пестицид	мг/кг	Пестицид	мг/кг
1	Метамитрон	1.747	Метамитрон	0.796
2	Просульфокарб	1.664	Пендиметалин	0.757
3	Пропизохлор	0.899	Меди сульфат	0.720
4	Алюминия фосэтил	0.832	С-Метолахлор	0.242
5	Каптан	0.832	Прохлораз	0.233
6	Пендиметалин	0.824	Кломазон	0.104
7	Бентазон	0.799	Клотианидин	0.101
8	Метирам	0.728	Клофентизин	0.100
9	Прометрин	0.728	Карбендазим	0.081
10	Меди сульфат	0.720	Флуазинам	0.067
11	Ленацил	0.666	Пиридабен	0.065
12	С-Метолахлор	0.641	Фенмедифам	0.063
13	Хлороталонил	0.624	Пираклостробин	0.058
14	Хлоридазон	0.541	Клопиралид	0.048
15	Манкоцеб	0.532	Дифеноконазол	0.048
16	Меди оксихлорид	0.510	Пропиконазол	0.046
17	МЦПА (ДМА соль)	0.499	Боскалид	0.040
18	Напропамид	0.468	Эпоксиконазол	0.039
19	Глифосат (ИПА соль)	0.449	Феназахин	0.028
20	Диазинон	0.449	Имидаклоприд	0.027

Затем прогнозируемые концентрации были использованы для расчета рисков воздействия острой/хронической токсичности.

*Пестициды в воде*

Токсичность пестицида для гидробионтов проявится, если пестицид в достаточной концентрации присутствует в водоеме. Концентрация пестицида в воде поверхностного водоема зависит от нормы применения данного пестицида, особенностей его поведения и миграции в экосистему после применения. Пестицид попадает в водоем под воздействием воздушного сноса, дренажных вод, жидкого и твердого стока. Все описанные процессы и факторы при прогнозе концентрации пестицида в водоеме воспроизводит модель STEP 1-2 (Surface Water Tool, 2001). STEP 1-2 обычно завышает реальную концентрацию пестицидов в воде модельного водоема. По данным экспериментов (Knabel, 2012), подобное завышение для инсектицидов фиксировались в 86% наблюдений. Связано это с тем, что STEP 1-2 основана

на использовании упрощенных механизмов распределения пестицидов в системе «почва-водоем». Подобные упрощения, однако, существенно не влияют на качество прогноза. Концентрации пестицидов в воде по модели STEP 1-2 в большинстве случаев пригодны для сравнительной оценки риска негативного воздействия пестицидов на водные организмы.

Прогноз по модели STEP 1-2 показал, что поверхностные воды прежде всего будут загрязняться гербицидами, которые занимают первые 11 позиций в рейтинге концентраций; затем в воду попадут фунгициды и инсектициды, которых 3 и 2, соответственно (см. табл. 24).

**Таблица 24**

Рейтинг концентрации пестицидов в воде

Рейтинг, баллы	$C_{\text{макс}}$		$C_{21 \text{ сутки}}$	
	Пестицид	мкг/л	Пестицид	мкг/л
1	Метамитрон	227	Метамитрон	123
2	Бентазон	99	Бентазон	91
3	Ленацил	81	Ленацил	75
4	Прометрин	72	Прометрин	61
5	С-Метолахлор	69	Хлоридазон	57
6	Пропизохлор	67	Метрибузин	43
7	Просульфокарб	66	Пропизохлор	42
8	Хлоридазон	65	Метазахлор	41
9	МЦПА	60	Этофумезат	37
10	Этофумезат	52	МЦПА	36
11	Метрибузин	51	С-Метолахлор	36
12	Хлороталонил	47	Напропамид	34
13	Метазахлор	44	Флуорохлоридон	32
14	Напропамид	41	Диметенамид-П	27
15	Пропамокарб	39	Пропамокарб	23
16	Флуорохлоридон	37	Диметоат	21
17	Диметенамид-П	36	Кломазон	18
18	Тербутилазин	33	Изопротурон	18
19	2,4-Д	33	Клопиралид	16
20	Диазинон	29	Ацифлуорфен	15

Миграции гербицидов в водоемы, кроме высоких норм их применения, способствуют низкая сорбция и умеренная стойкость гербицидов в почве. Миграция гербицидов также обуславливается их использованием на ранних стадиях развития защищаемой сельскохозяйственной культуры.

## **3.6. Токсичность и биоаккумуляция**

### **3.6.1. Оценка токсичности пестицидов для почвенных и для водных организмов**

При оценке рисков воздействия пестицидов принимается в расчет информация о токсичности ксенобиотика для организма, а также информация о его концентрации в объектах окружающей среды. Как упоминалось выше, концентрации пестицидов (более двухсот действующих веществ) в почвах и в водных объектах мы получали, используя прогнозные модели. Как оказалось, настроенные модели затем могут эффективно использоваться для прогноза концентрации пестицидов с другими входными данными: по климатическим условиям, по физико-химическим свойствам пестицида, по времени и по норме применения. Поэтому, настроив модели прогноза, следует приступить к исследованию эмпирических данных по токсичности пестицидов для нецелевых видов организмов. Перечисление основных видов нецелевых организмов, на которых проводятся испытания пестицидов, приведено в Главе 1. Здесь мы рассмотрим влияние пестицидов на дождевых червей и гидробионтов.

#### *Оценка токсичности пестицидов для дождевых червей*

На базе списка разрешенных к применению на территории РФ пестицидов и на данных, полученных из базы PPDB (Pesticide Property Database, 2019), мы провели оценку влияния острой и хронической токсичности двухсот действующих веществ на дождевых червей.

В таблице 25 в порядке убывания представлено двадцать наиболее токсичных пестицидов для дождевых червей (значения показателей острой и хронической токсичности  $LC_{50}$  и NOEC, соответственно).

Таблица 25

## Список наиболее токсичных пестицидов для дождевых червей

Рейтинг, баллы	Острая токсичность		Хроническая токсичность	
	Пестицид	LC <sub>50</sub> , мг/кг	Пестицид	НОЕС, мг/кг
1	Тефлутрин	1.00	Эпоксиконазол	0.08
2	Пикоксистробин	3.40	Бета-цифлутрин	0.13
3	Карбендазим	5.40	Пиклорам	0.17
4	Бифентрин	8.00	Имидаклоприд	0.18
5	Ацетамиприд	9.00	Дифеноконазол	0.20
6	Беномил	10.50	Бета-циперметрин	0.24
7	Эсфенвалерат	10.60	Гамма-цигалотрин	0.25
8	Имидаклоприд	10.70	Пиридабен	0.29
9	Тиофанат-метил	13.20	Тебуфенпирад	0.34
10	Клотианидин	13.21	Пиракlostробин	0.44
11	Феназахин	13.25	Флуазинам	0.48
12	Пиридабен	19.00	Феназахин	0.60
13	Метомил	19.00	Абамектин	0.72
14	Тебуфенпирад	20.50	Ципроконазол	0.75
15	Фозалон	22.50	Кломазон	0.80
16	Димоксистробин	23.65	Пропиконазол	0.83
17	Фенамидон	25.00	Тиофанат-метил	0.85
18	Диметоат	31.00	Фенпироксимат	0.90
19	Абамектин	33.00	Карбендазим	1.00
20	Фенпироксимат	34.70	Бифентрин	1.07

В представленный список пестицидов вошли по параметру LC<sub>50</sub> инсектициды (70%) и фунгициды (30%). Иная картина сложилась по параметру НОЕС: инсектициды (50%), фунгициды (40%) и гербициды 10%.

В соответствии с классификацией опасности химикатов для дождевых червей (Глава 1), 5 из двухсот пестицидов относятся к 1-му классу, 26 пестицидов – к 2-му классу и 153 пестицида – к 3-му классу опасности по острой токсичности.

Значения хронической токсичности пестицидов, взятые из международных баз данных и европейских отчетов, найдены только для 108 действующих веществ из двухсот.

#### *Оценка токсичности пестицидов для гидробионтов*

Данные о токсичности для водных организмов пестицидов, применяемых в РФ, до настоящего времени не были систематизированы. На базе информации из PPDB (Pesticide Property Database, 2019) составлены рейтинги острой и хронической токсичности двухсот действующих веществ

пестицидов (80 гербицидов, 73 фунгицидов и 47 инсектицидов), разрешенных в Российской Федерации (Справочник пестицидов и агрохимикатов, 2019). В табл. 26 двадцать наиболее токсичных пестицидов для трех групп гидробионтов представлены в порядке убывания: рыб (показатели острой и хронической токсичности  $LC_{50}$  и  $NOEC$ , соответственно); дафний ( $EC_{50}$  и  $NOEC$ ) и водорослей ( $EC_{50}$ ). Среди перечисленных в табл. 16 пестицидов – инсектициды (80%), фунгицидов и гербицидов по 10% в среднем. Причем гербициды токсичнее всего для водорослей, как и ожидалось.

Классификация опасности веществ для водной среды обычно включает в себя показатели их токсичности для наиболее чувствительной группы гидробионтов. Пример подобного обобщения данных приведен в табл. 27, где представлены показатели токсичности двадцати пестицидов.

Рейтинги двадцати наиболее токсичных пестицидов для гидробионтов

Рейтинг, баллы	Рыбы		Дафнии		Водоросли
	LC <sub>50</sub>	NOEC	EC <sub>50</sub>	NOEC	EC <sub>50</sub>
1	Гамма-цигалотрин	Бета-цифлутрин	Гамма-цигалотрин	Бифентрин	Дифлюфеникан
2	Тефлутрин	Бифентрин	Тефлутрин	Гамма-цигалотрин	Флумиоксазин
3	Бета-цифлутрин	Альфа-циперметрин	Хлорпирифос	Дельтаметрин	Прометрин
4	Эсфенвалерат	Циперметрин	Бифентрин	Тефлутрин	Флуфенацет
5	Лямбда-цигалотрин	Дельтаметрин	Абамектин	Зета-циперметрин	Додин
6	Бифентрин	Тау-флювалинат	Зета-циперметрин	Пирипроксифен	Спироксамин
7	Дельтаметрин	Перметрин	Пиримифос-метил	Альфа-циперметрин	Фамоксадон
8	Бета-циперметрин	Гамма-цигалотрин	Альфа-циперметрин	Дифлубензурон	Пендиметалин
9	Зета-циперметрин	Хлорпирифос	Эсфенвалерат	Циперметрин	Флурохлоридон
10	Пиридабен	Фенпироксимат	Бета-цифлутрин	Эсфенвалерат	Трифлостробин
11	Тау-флювалинат	Лямбда-цигалотрин	Циперметрин	Малатион	Прохлораз
12	Хлорпирифос	Эсфенвалерат	Лямбда-цигалотрин	Пиримифос-метил	Эсфенвалерат
13	Альфа-циперметрин	Бета-циперметрин	Бета-циперметрин	Пиридабен	Эмамектин бензоат
14	Циперметрин	Зета-циперметрин	Дельтаметрин	Фенитротион	Ленацил
15	Абамектин	Феназахин	Перметрин	Люфенурон	С-Метолахлор
16	Феназахин	Фамоксадон	Малатион	Бета-цифлутрин	Просульфурон
17	Пиракlostробин	Манкоцеб	Фозалон	Фозалон	Флорасулам
18	Фамоксадон	Тебуфенпирад	Клофентизин	Тау-флювалинат	Меди гидроксид
19	Перметрин	Проквиназид	Хлорфлуазурон	Спиромезифен	Этабоксам
20	Клофентизин	Хлороталонил	Пиридабен	Бета-циперметрин	Азимсульфурон

Рейтинги токсичности пестицидов для наиболее чувствительной группы гидробионтов

Рейтинг, баллы	Острая токсичность			Хроническая токсичность		
	Пестицид	LC <sub>50</sub> (EC <sub>50</sub> ), мкг/л	Гидробионт	Пестицид	NOEC, мкг/л	Гидробионт
1	Гамма-цигалотрин	0.035	Рыбы	Бифентрин	0.0013	Дафнии
2	Тефлутрин	0.06	Рыбы	Гамма-цигалотрин	0.002	Дафнии
3	Бета-цифлутрин	0.068	Рыбы	Дельтаметрин	0.0041	Дафнии
4	Хлорпирифос	0.1	Дафнии	Тефлутрин	0.008	Дафнии
5	Эсфенвалерат	0.1	Рыбы	Бета-цифлутрин	0.01	Рыбы
6	Бифентрин	0.11	Дафнии	Зета-циперметрин	0.01	Дафнии
7	Абамектин	0.12	Дафнии	Пирипроксифен	0.015	Дафнии
8	Зета-циперметрин	0.14	Дафнии	Альфа-циперметрин	0.03	Рыбы
9	Лямбда-цигалотрин	0.21	Рыбы	Циперметрин	0.03	Рыбы
10	Пиримифос-метил	0.21	Дафнии	Дифлубензурон	0.04	Дафнии
11	Альфа-циперметрин	0.22	Дафнии	Эсфенвалерат	0.052	Дафнии
12	Дифлюфеникан	0.25	Водоросли	Малатион	0.06	Дафнии
13	Дельтаметрин	0.26	Рыбы	Тау-флювалинат	0.064	Рыбы
14	Циперметрин	0.3	Дафнии	Пиримифос-метил	0.08	Дафнии
15	Бета-циперметрин	0.39	Рыбы	Пиридабен	0.086	Дафнии
16	Перметрин	0.6	Дафнии	Фенитротрион	0.087	Дафнии
17	Малатион	0.7	Дафнии	Люфенурон	0.1	Дафнии
18	Пиридабен	0.72	Рыбы	Перметрин	0.12	Рыбы
19	Фозалон	0.74	Дафнии	Фозалон	0.14	Дафнии
20	Клофентизин	0.8	Дафнии	Хлорпирифос	0.14	Рыбы

В приведенном рейтинге оказались 19 инсектицидов и гербицид дифлюфеникан. При этом среди наиболее чувствительных гидробионтов существенно преобладают дафнии. Согласно классификациям опасности химической продукции для водной среды (табл. 3 и 4 Глава 1), большинство пестицидов (137 из двухсот, разрешенных в РФ) по острой токсичности относятся к опасности 1-го класса. По хронической токсичности 90 пестицидов представляют собой опасность 1-го класса. Несмотря на то, что многие пестициды относятся к опасности 1-го класса, проявление такой опасности в реальных конкретных условиях применения пестицидов не всегда наблюдаемо и зависит от концентрации пестицидов в поверхностных водных объектах.

### **3.6.2. Аккумуляция пестицидов в организмах дождевых червей и гидробионтов**

Пестициды не только способны загрязнять водоемы и оказывать токсическое воздействие на водные организмы, но и, аккумулируясь в последних, по трофическим цепям поступают в наземные организмы (птицы, млекопитающие). Способность пестицида к биоаккумуляции в рыбах традиционно оценивается в лабораторных экспериментах (ГОСТ 32538-2013). Способность эта характеризуется коэффициентом биоаккумуляции (BioConcentration Factor – BCF): чем выше значение коэффициента, тем больше вероятность накопления пестицида в тканях рыб.

В рейтинге пестицидов по способности к биоаккумуляции (табл. 28), как и в рейтинге токсичности, доминируют инсектициды – их 14, гербицидов – 4, фунгицидов – 2.

Для дождевых червей, в отличие от гидробионтов, значения коэффициентов биоаккумуляции в международных базах данных отсутствуют. Несмотря на разработанные мировые стандарты (OECD 317, 2010) реальная научная оценка биоаккумуляции в дождевых червях осуществляется только на базе математических расчетов, без сверки с результатами лабораторных экспериментов. Для расчета коэффициента биоаккумуляции используется

значение коэффициента распределения пестицида между октанолом и водой ( $K_{ow}$ ) и значения аппроксимированных констант. Однако для пестицидов с высоким коэффициентом распределения в системе октанол/вода расчетные значения BCF существенно расходятся с экспериментальными данными (Katagi, 2015) и математический расчет здесь не применим. Тем не менее, скриннинговая оценка опасности пестицидов, опирающаяся на математических расчетах, релевантна при выборе пестицидов для последующего мониторинга.

В последнее время специалистами широко используется уравнение Connel и Markwell (Connel, Markwell, 1990) для расчета BCF в тканях дождевых червей:

$$\log BCF = 1.0 \times \log K_{ow} - 0.6 \quad (n = 100, r^2 = 0.91)$$

Это уравнение было использовано в данной работе.

В организмах дождевых червей, также как и в организмах гидробионтов, инсектициды обладают высокой способностью к биоаккумуляции. Из двадцати пестицидов, отобранных из 200 действующих веществ по максимальному значению коэффициента биоаккумуляции, инсектицидов оказалось 17, гербицидов – 2, фунгицидов – 1 (табл. 28).

Таблица 28

## Рейтинг биоаккумуляции пестицидов в рыбах и дождевых червях

Пестицид	Вид активности	BCF рыбы	Пестицид	Вид активности	BCF д.черви
Люфенурон	Инсектицид	5300	Тау-флювалинат	Инсектицид	2630
Пендиметалин	Инсектицид	5100	Бифентрин	Инсектицид	1000
Лямбда-цигалотрин	Гербицид	4982	Зета-циперметрин	Инсектицид	1000
Эсфенвалерат	Инсектицид	3250	Тефлутрин	Инсектицид	631
Фамоксадон	Инсектицид	3000	Пиридабен	Инсектицид	589
Гамма-цигалотрин	Фунгицид	2240	Эсфенвалерат	Инсектицид	437
Клетодим	Инсектицид	2100	Перметрин	Инсектицид	316
Тау-флювалинат	Гербицид	1979	Бета-цифлутрин	Инсектицид	200
Бифентрин	Инсектицид	1703	Альфа-циперметрин	Инсектицид	158
Оксифлуорфен	Инсектицид	1637	Бета-циперметрин	Инсектицид	158
Пропаргит	Гербицид	1635	Хлорфлуазурон	Инсектицид	158
Фенпироксимат	Инсектицид	1601	Пропаргит	Инсектицид	126
Дельтаметрин	Инсектицид	1400	Циперметрин	Инсектицид	89
Тефлутрин	Инсектицид	1400	Феназахин	Инсектицид	81
Пирипроксифен	Инсектицид	1379	Лямбда-цигалотрин	Инсектицид	79
Хлорпирифос	Инсектицид	1374	Проквиназид	Фунгицид	79
Дифлюфеникан	Гербицид	1276	Пендиметалин	Гербицид	63
Гекситазокс	Инсектицид	1100	Пирипроксифен	Инсектицид	59
Флуазиам	Фунгицид	1025	Имазамокс	Гербицид	58
Тебуфенпирад	Инсектицид	953	Люфенурон	Инсектицид	33

Способность к накоплению инсектицидов в тканях, как водных организмов, так и дождевых червей связана с химическим сродством, т.е. липофильностью пестицида с органическими веществами. Величину липофильности пестицида определяет коэффициент распределения ксенобиотика между октанолом и водой ( $K_{ow}$ ). Возрастание величины  $K_{ow}$  коррелирует с вероятностью проникновения пестицида сквозь клеточную мембрану. Корреляция между этим коэффициентом,  $LC_{50}$  и BCF показана в публикациях посвященных биоаккумуляции пестицидов в организмах дождевых червей (Lord и др., 1980; Connell, Markwell, 1990; Katagi, 2015). Кроме того, это было подтверждено проведенным ранжированием всех

действующих веществ по  $K_{ow}$ . Как и в случае с коэффициентом биоаккумуляции в рейтинг вошли преимущественно инсектициды.

Таким образом, проанализировав результаты ранжирования пестицидов по значениям острой и хронической токсичности и по коэффициенту ВСФ, переходим к расчету риска негативного воздействия пестицидов.

### **3.7. Экологические риски применения пестицидов для окружающей среды**

Показателем негативного воздействия пестицида на нецелевые виды организмов служит отношение токсичности данного пестицида к его концентрации в почве, в воде и в атмосфере (в случае летучести пестицида). Это отношение является численной характеристикой риска негативного воздействия пестицида. Иными словами, чем меньше величина отношения, тем выше риск. В соответствии с международными регламентами (Guidance, 2013) риск проявления острой токсичности пестицидов признается низким в тех случаях, когда показатель  $LC_{50}(EC_{50})/C_{\text{макс}} \geq 100$  для рыб и беспозвоночных и  $\geq 10$  – для водорослей. И, напротив, риск признается высоким при  $LC_{50}(EC_{50})/C_{\text{макс}} < 100$  для рыб и беспозвоночных и  $< 10$  – для водорослей. Риск проявления хронической токсичности признается низким, если  $NOEC/C_{21} \geq 10$  и признается высоким при  $NOEC/C_{21} < 10$ . А для дождевых червей риск проявления острой токсичности пестицидов признан низким в тех случаях, когда  $LC_{50}/C_{\text{макс}} \geq 100$  и, напротив, аналогичный риск высок при  $LC_{50}/C_{\text{макс}} < 100$ . При  $NOEC/C_{56} \geq 5$  риск проявления хронической токсичности минимален, а при  $NOEC/C_{56} < 5$  риск наибольший.

#### *Риск проявления токсичности пестицидов для гидробионтов*

В табл. 29 приводятся численные показатели риска проявления острой/хронической токсичности пестицидов для наименее резистентной группы гидробионтов<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Отбор указанной группы из трех групп гидробионтов был сделан по следующему принципу: была отобрана группа с минимальным числовым значением отношения токсичности к концентрации, притом с высоким риском негативного воздействия пестицидов на гидробионтов.

Таблица 29

Риски проявления токсичности пестицидов для гидробионтов				
Рейтинг, баллы	Риск			
	Острая токсичность		Хроническая токсичность	
	Пестицид	б/р*	Пестицид	б/р*
1	Хлорпирифос	0,017	Дифлубензурон	0,033
2	Прометрин	0,029	Хлорпирифос	0,042
3	Диазинон	0,034	Диазинон	0,057
4	Тефлутрин	0,057	Тефлутрин	0,093
5	Ленацил	0,097	Фозалон	0,117
6	Малатион	0,111	Бифентрин	0,126
7	Дифлюфеникан	0,113	Пирипроксифен	0,165
8	Фозалон	0,115	Фенитротион	0,172
9	Клофентизин	0,121	Карбендазим	0,235
10	С-Метолахлор	0,134	Малатион	0,329
11	Флуорохлоридон	0,134	Гамма-цигалотрин	0,408
12	Бета-цифлутрин	0,139	Бета-цифлутрин	0,476
13	Пропизохлор	0,198	Дельтаметрин	0,482
14	Абамектин	0,324	Хлороталонил	0,588
15	Хлороталонил	0,364	Пиридабен	0,653
16	Метазахлор	0,374	Диметоморф	0,873
17	Метрибузин	0,407	Метомил	0,933
18	Пиридабен	0,423	Тебуконазол	0,935
19	Лямбда-цигалотрин	0,431	Циперметрин	1,167
20	Тербутилазин	0,441	Пендиметалин	1,208

\* - безразмерная величина

По воздействию острой и хронической токсичности на гидробионтов из двухсот рассматриваемых пестицидов к категории низкого риска отнесены соответственно 122 и 127 действующих веществ. Для пестицидов, относящихся к категории низкого риска, при регистрации требуется меньший объем данных по водной токсикологии.

При расчете агрегированного риска HARIP (Hydrobionts Aggregate Risk Indicator for Pesticides) суммировали баллы - нормализованные значения показателей острой/хронической токсичности и биоаккумуляции. В табл. 30 в порядке убывания агрегированного риска представлены 19 инсектицидов, 4 гербицида и один фунгицид.

Таблица 30

Рейтинг агрегированного риска воздействия пестицидов на гидробионтов

Позиция в рейтинге	Пестицид	Показатели, баллы			Агрегированный риск (индекс HARIP)
		Риск острый	Риск хронический	BCF	
1	Хлорпирифос	1	2	15	18
2	Тефлутрин	4	4	13	21
3	Диазинон	3	3	21	27
4	Фозалон	8	5	26	39
5	Бифентрин	25	6	9	40
6	Бета-цифлутрин	11	12	20	43
7	Малатион	6	10	28	44
7	Гамма-цигалотрин	27	11	6	44
8	Пендиметалин	23	20	2	45
8	Дифлубензурон	21	1	23	45
9	Дельтаметрин	30	13	13	56
10	Хлороталонил	14	14	29	57
10	Эсфенвалерат	24	29	4	57
11	Дифлюфеникан	7	35	16	58
12	Лямбда-цигалотрин	18	40	3	61
13	Циперметрин	22	19	22	63
13	Люфенурон	38	24	1	63
14	Клофентизин	9	30	25	64
15	Тау-флювалинат	31	27	8	66
16	Пропаргит	35	22	11	68
17	Пиридабен	17	15	38	70
18	Флуорохлоридон	10	39	24	73
19	Пирипроксифен	53	7	14	74
20	Прометрин	2	44	30	76

В данном рейтинге с существенным отрывом от остальных пестицидов расположились три инсектицида с максимальным уровнем агрегированного риска для водных организмов: хлорпирифос, тефлутрин и диазинон. Три этих инсектицида рекомендованы в качестве основных пестицидов-загрязнителей водной среды, требующих государственного нормирования и последующего мониторинга.

*Риск проявления токсичности пестицидов для дождевых червей*

Расчет риска проявления острой токсичности показал, что пестициды, разрешенные к использованию на территории РФ, относятся к категории низкого риска негативного воздействия на дождевых червей, поскольку  $LC_{50}/C_{\text{макс.}} > 10$ . Высокий риск проявления хронической токсичности

обнаружен для трех пестицидов из двухсот: эпоксиконазол (фунгицид), дифеноконазол (фунгицид), пиридабен (инсектицид).

Для дождевых червей значения рисков проявления острой/хронической токсичности пестицидов приведены в табл. 31.

Таблица 31

Риски проявления токсичности пестицидов для дождевых червей

Рейтинг, баллы	Риск			
	Острая токсичность		Хроническая токсичность	
	Пестицид	б/р*	Пестицид	б/р*
1	Тефлутрин	20	Эпоксиконазол	2.16
2	Тиофанат-метил	38	Дифеноконазол	4.16
3	Карбендазим	43	Пиридабен	4.48
4	Просульфокارب	43	Имидаклоприд	6.63
5	Беномил	63	Флуазинам	7.15
6	Пикоксистробин	68	Пиракlostробин	7.65
7	Фозалон	77	Кломазон	7.67
8	Диметоат	83	С-Метолахлор	10.48
9	Клотианидин	127	Карбендазим	12.41
10	Диазинон	145	Тебуфенпирад	12.74
11	Фенмедифам	180	Бета-цифлутрин	18.00
12	Метомил	183	Прохлораз	18.01
13	Прометрин	210	Пропиконазол	18.23
14	Меди сульфат	215	Клофентизин	19.96
15	Пиридабен	254	Пиклорам	20.44
16	Пропизохлор	276	Меди сульфат	20.84
17	Этофумезат	322	Феназахин	21.26
18	Феназахин	354	Клотианидин	24.82
19	Имидаклоприд	367	Боскалид	29.75
20	Кломазон	391	Метамитрон	35.20

Каждому пестициду в этой таблице присвоен рейтинг, выраженный в баллах от 1 до 20.

Агрегированный показатель риска рассчитан тем же способом, что и для гидробионтов (табл. 32).

Таблица 32

Рейтинг агрегированного риска воздействия пестицидов на дождевых червей

Позиция в рейтинге	Пестицид	Показатели, баллы			
		Риск острый	Риск хронический	BCF	Агрегированный риск
1	Пиридабен	7	3	3	13
2	Тебуфенпирад	11	10	10	31
3	Карбендазим	1	9	22	32
3	Феназахин	8	17	7	32
4	Дифеноконазол	22	2	11	35
5	Флуазинам	19	5	13	37
6	Кломазон	10	7	21	38
7	Имидаклоприд	9	4	26	39
7	С-Метолахлор	13	8	18	39
8	Пиракlostробин	20	6	14	40
9	Эпоксиконазол	23	1	17	41
10	Бета-цифлутрин	27	11	4	42
10	Бифентрин	14	26	2	42
10	Клофентизин	16	14	12	42
11	Клотианидин	3	18	23	44
12	Прохлораз	17	12	16	45
13	Пендиметалин	15	22	9	46
14	Фенмедифам	4	23	20	47
15	Меди сульфат	6	16	27	49
16	Пропиконазол	24	13	15	52
16	Тау-флювалинат	26	25	1	52
17	Циперметрин	18	29	6	53
18	Диметоат	2	27	25	54
19	Метамитрон	12	20	24	56
20	Метомил	5	24	28	57

В составленном рейтинге агрегированного риска представлены 20 позиций рейтинга, куда вошли 25 пестицидов – 12 инсектицидов, 8 фунгицидов и 5 гербицидов (в 4 случаях одну и ту же строку в списке рейтинга занимают два пестицида, а в 5 случае одну строку занимают три пестицида).

Данный рейтинг предназначен для принятия решений о проведении/не проведении лабораторных исследований по оценке острой/хронической токсичности новых препаратов и для создания научно-технологической базы государственного мониторинга пестицидов-загрязнителей почв.

### 3.8. Оценка воздействия пестицидов на почвенные организмы

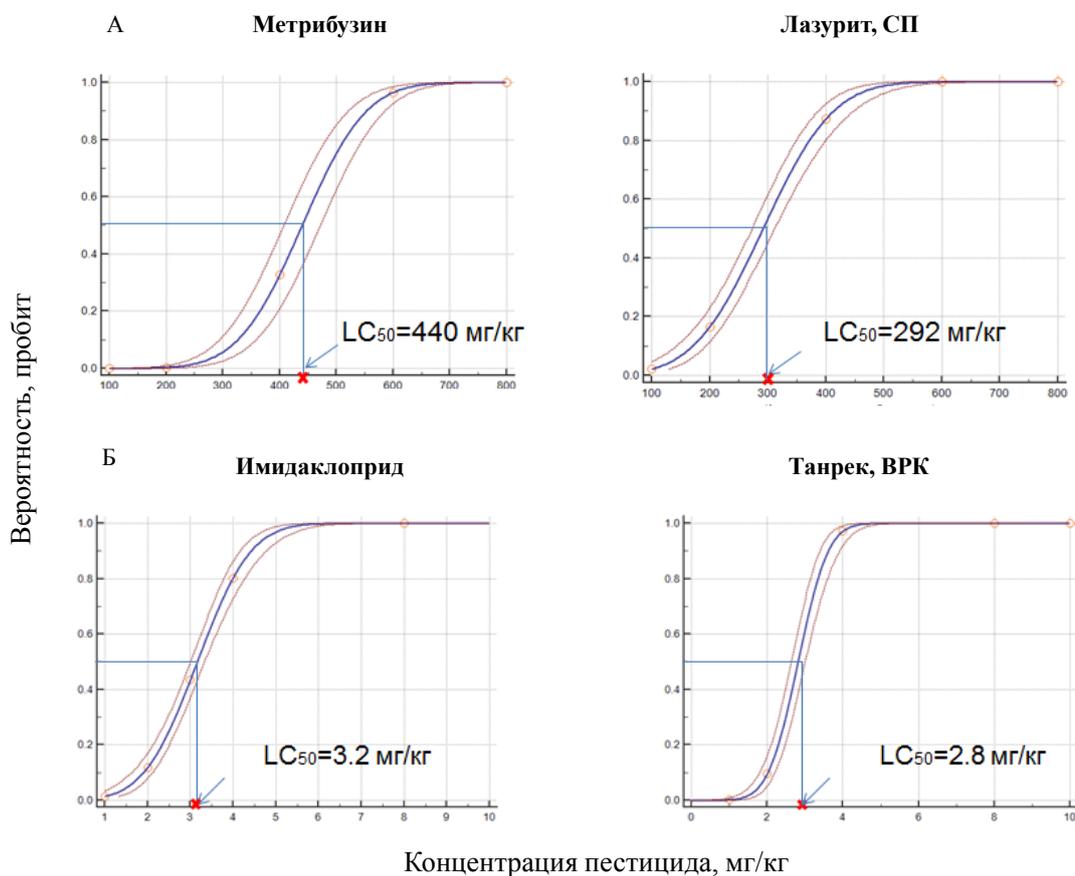
Из рейтинга пестицидов, рекомендованных для целей государственного регулирования и мониторинга в почве, выбрали инсектицид (имidakлоприд), фунгицид (беномил) и гербицид (метрибузин), наиболее широко применяемые в сельскохозяйственной практике в Российской Федерации (Государственный каталог..., 2019). Имидаклоприд и основной метаболит беномила – карбендазим в этом рейтинге занимают, соответственно, третье и седьмое место. Лабораторные эксперименты были проведены именно для этих действующих веществ и препаратов на их основе. При этом оценивалось влияние имидаклоприда, беномила и метрибузина на дождевых червей, микробное сообщество их желудочно-кишечного тракта и агродерново-подзолистой почвы.

#### 3.8.1. Оценка влияния пестицидов на дождевых червей и на прокариотное сообщество их кишечного тракта

Для исследования были отобраны половозрелые особи дождевых червей из разных эколого-трофических групп *Lumbricus terrestris* и *Eisenia foetida*. Эти объекты были отобраны по следующим принципам: 1) вид *Eisenia foetida*, как утвержденный мировым сообществом в качестве тестового организма по оценке острой/хронической токсичности пестицидов (ISO 11268-1, 1993; ISO 11268-2, 1998; OECD, 207, 1984; ГОСТ 33042-2014 и ГОСТ 33036-2014); 2) вид *Lumbricus terrestris*, поскольку он относится к норной группе дождевых червей, обитающих в окультуренной дерново-подзолистой почве. *Lumbricus terrestris* питается опавшей листвой и перемещает ее в глубокие слои почвы. Таким образом с поверхности почвы пестициды транспортируются в минеральные горизонты. Кроме того, *Lumbricus terrestris* представляет ценность и с методической точки зрения, резекция кишечника червя проходит существенно быстрее, чем в случае с *Eisenia foetida*.

Сравнение значений острой токсичности имидаклоприда, беномила и метрибузина со значениями острой токсичности препаратов на их основе

показало: в паре имидаклоприд – Танрек, ВРК и метрибузин – Лазурит, СП токсичность препарата превысила токсичность действующего вещества (рис. 17).



**Рис. 17.** Значения токсичности пестицидов для дождевых червей в вариантах метрибузин – Лазурит, СП (А) и имидаклоприд - Танрек, ВРК (Б).

Красные линии обозначают границы доверительного интервала 95%

В паре беномил - Бенорад, СП токсичность действующего вещества превысила токсичность препарата:  $LC_{50} = 5.0$  мг/кг для действующего вещества и  $LC_{50} = 6.8$  мг/кг для препарата.

В таблице 33 представлены значения острой токсичности действующих веществ и острой токсичности препаратов.

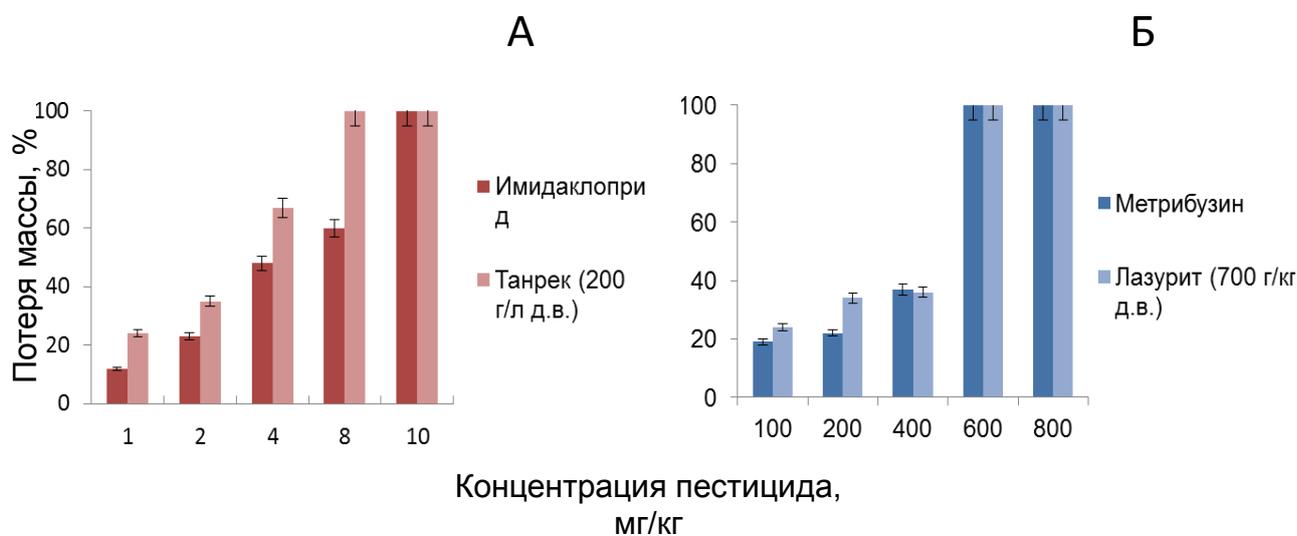
Таблица 33

Значения острой токсичности пестицидов для дождевых червей

Пестицид	Время, дни	LC <sub>50</sub> , мг/кг, P=0.95*
Метрибузин	7	440.28 [407.01-473.55]
	14	439.51 [408.03-470.98]
Лазурит, СП	7	364.47 [345.50-382.69]
	14	291.90 [273.06-311.90]
Имидаклоприд	7	5.07 [3.74-9.06]
	14	3.16 [3.01-3.33]
Танрек, ВРК	7	3.23 [3.04-3.43]
	14	2.82 [2.64-3.00]
Беномил	7	9.89 [1.19-18.58]
	14	6.79 [6.14-7.44]
Бенорад, СП	7	10.00 [9.81-10.19]
	14	4.44 [3.74-5.46]

\* в скобках указан 95% доверительный интервал

По сравнению с действующими веществами потеря суммарной массы живых червей (% от первоначального веса) была существенно больше в экспериментах с использованием препаратов Лазурит, СП и Танрек, ВРК (рис. 18).



**Рис. 18.** Потеря суммарной массы дождевых червей в парах имидаклоприд - Танрек, ВРК (А) и метрибузин – Лазурит, СП (Б). Планки погрешности обозначают доверительный интервал  $\alpha=0.05$

Установленный факт преположительно обусловлен токсичностью вспомогательных веществ, входящих в состав препаратов. В публикациях на эту тему обращалось внимание на то, что токсичность препаративных форм действующих веществ (даже хорошо изученных) порой превышает токсичность самих действующих веществ для нецелевых видов организмов (Baylis, 2000). Так Pereira и др. (2009) показал, что вспомогательные компоненты препаративной формы увеличивают токсичность глифосата для водных организмов. В настоящее время в развитых странах обязательные тесты на острую и хроническую токсичность пестицидов для нецелевых видов организмов проводятся только для действующих веществ. Кроме того, в чистом виде пестициды не применяются в связи с проблематичностью их использования: со сложностью обработки ими сельхозугодья, с их высокой летучестью и с низкой растворимостью в воде. Также стоит отметить, что действующие вещества стоят дорого и, соответственно, их использование повышает себестоимость сельхозпродукта.

Результаты наших исследований позволяют сделать вывод: тесты по определению токсичности препаративной формы для дождевых червей обязательны при регистрации нового пестицида.

Оценка токсичности смеси из трех препаратов проводилась по стандартной методике (ГОСТ 33036-2014). Концентрация пестицидов подбиралась с учетом величины  $LC_{50}$  наиболее токсичного из трех пестицидов (Танрек, ВРК - инсектицид) (Wang, 2016)<sup>2</sup>.

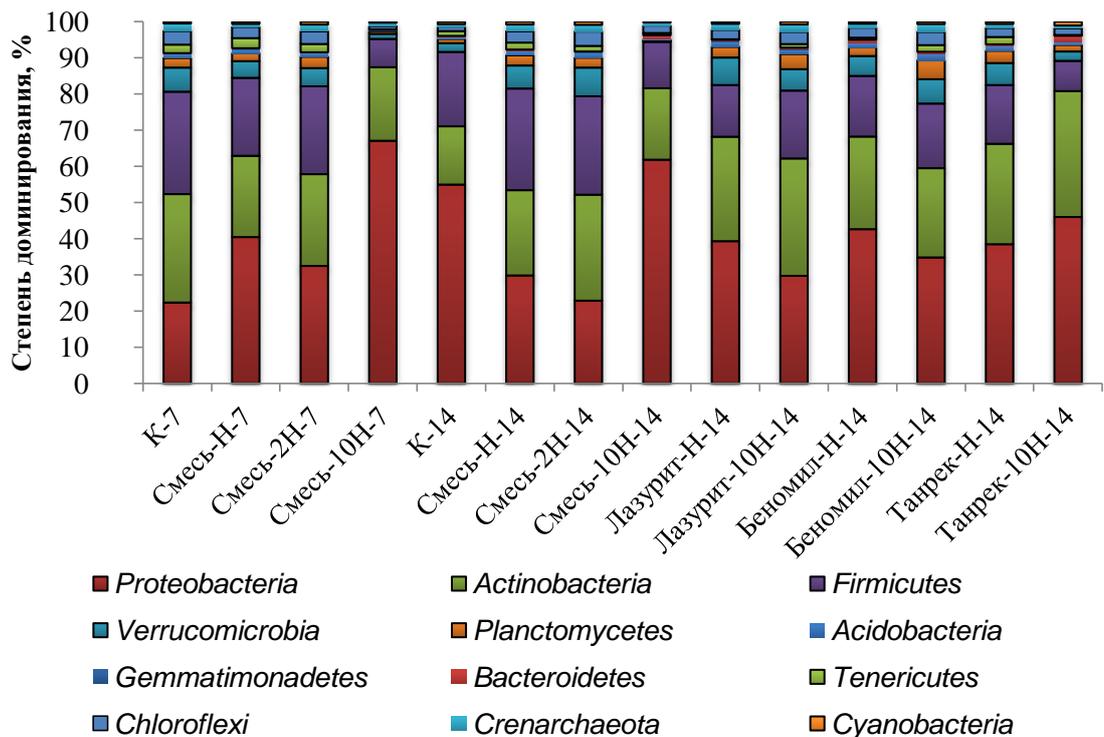
Эксперимент показал, что значение токсичности для смеси из гербицида, инсектицида и фунгицида составило  $LC_{50} = 7.2$  мг/кг.

Таким образом, классический тест на острую токсичность пестицидов для дождевых червей не выявил предполагаемого синергетического эффекта смеси трех препаратов. Напротив, смесь оказалась менее токсичной, чем инсектицид имидаклоприд, входящий в эту смесь. Однако результат метагеномного анализа

---

<sup>2</sup> Значение  $LC_{50}$  установлено в результате предыдущего эксперимента, где наблюдалось воздействие одного инсектицида.

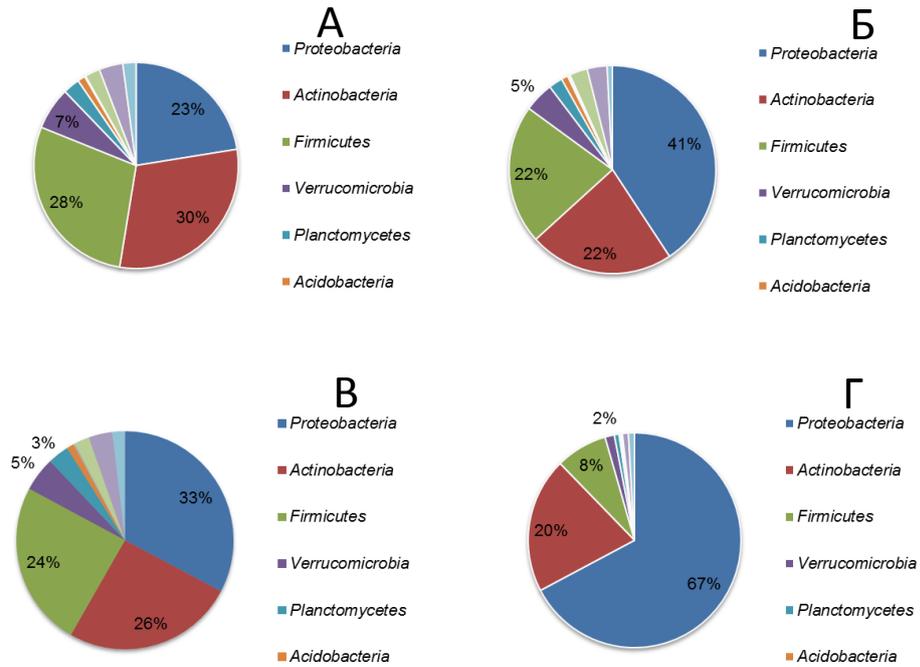
микробного сообщества кишечного тракта *Lumbricus terrestris* показал, что смесь из трех препаратов существенно токсичней, чем каждый из препаратов, примененный по отдельности. Тот же анализ выявил, что в кишечном тракте *Lumbricus terrestris* присутствует 12 филумов прокариот. Здесь доминируют следующие филумы: - *Proteobacteria* ( $40.0 \pm 8.0\%$ ), *Firmicutes* ( $23.0 \pm 11.0\%$ ) и *Actinobacteria* ( $21.0 \pm 7.0\%$ ). Субдоминантную позицию занимают филумы *Verrucomicrobia* ( $4.0 \pm 2.0\%$ ) и *Chloroflexi* ( $2.0 \pm 1.0\%$ ); прочие филумы занимают минорные позиции (рис. 19).



**Рис. 19.** Структура прокариотного сообщества кишечного тракта *Lumbricus terrestris* на уровне филумов. Условные обозначения: К – контроль, Н – норма внесения препаратов, 2Н – двойная норма внесения препаратов, 10Н – десятикратная норма внесения препаратов; через дефис указаны сутки.

Под воздействием смеси из трех пестицидов, как показано на рисунке 20, происходят изменения в структуре прокариотного сообщества кишечного тракта дождевых червей. При одновременном внесении трех препаратов в кишечниках *Lumbricus terrestris* увеличивается представленность *Proteobacteria*

(на 45% в 10-кратной норме применения препаратов). При этом снижается представленность *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Tenericutes*.

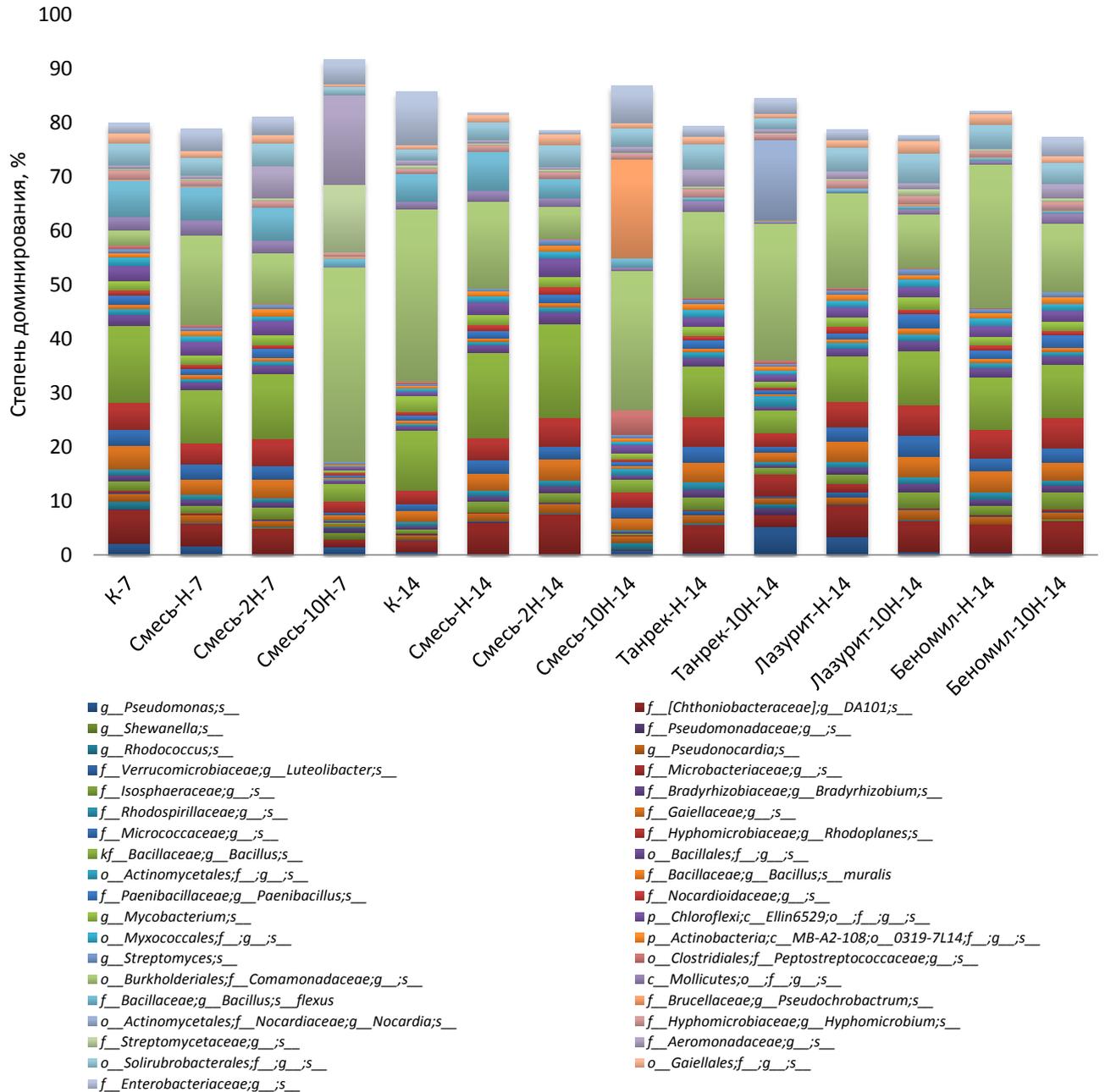


**Рис. 20.** Изменения структуры прокариотного сообщества кишечного тракта *Lumbricus terrestris* под воздействием смеси из трех препаратов на уровне филумов, где А – контрольный вариант, Б – норма применения, В – двойная норма применения, Г – десятикратная норма применения.

При внесении каждого из трех пестицидов по отдельности также увеличивается представленность *Proteobacteria* (при десятикратной норме применения препарата Танрек, ВРК (инсектицид) – до 46%) (рис. 19).

О стрессовых реакциях прокариотного сообщества на внесение пестицидов свидетельствует также увеличение представленности филума *Bacteroidetes* (с 0.2% в контрольном варианте до 2% при десятикратной норме применения препаратов). Аналогичная ситуация была описана в литературе для *Oreochromis niloticus* для тех случаев, когда высокая концентрация кадмия в поверхностных водах существенно увеличивала представленность *Bacteroidetes* в прокариотном сообществе кишечного тракта *Nile tilapia* (Zhai Q, et. al., 2017).

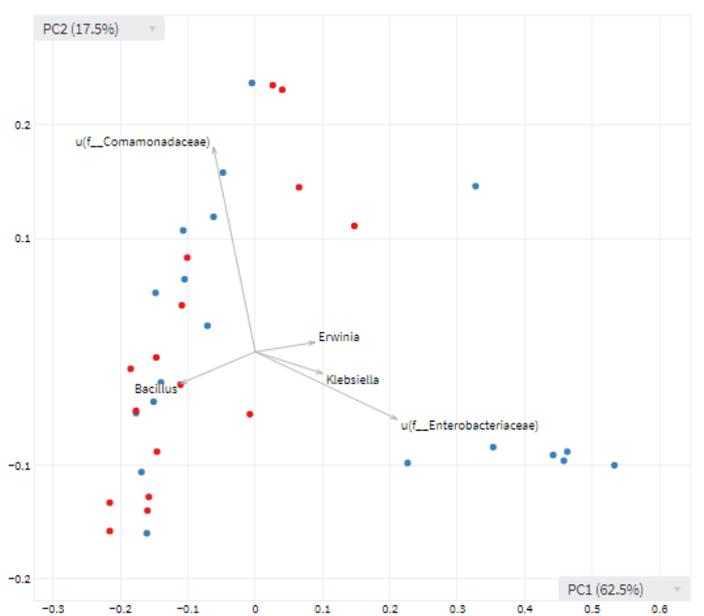
Распределение прокариотных сообществ кишечного тракта до уровня вида показано на рисунке 21. Распределение приведено для трех вариантов: 1) вариант – контроль; 2) смесь из трех пестицидов; 3) каждый пестицид по отдельности.



**Рис. 21.** Структура прокариотного сообщества кишечного тракта *Lumbricus terrestris* на уровне видов. Условные обозначения: К – контроль, Н – норма внесения препаратов, 2Н – двойная норма внесения препаратов, 10Н – десятикратная норма внесения препаратов; через дефис указаны сутки.

На 14 сутки эксперимента при десятикратной норме применения смеси пестицидов резко увеличивается представленность рода *Pseudochrobactrum*. При этом представленность бактерий семейства *Comamonadaceae* увеличивается именно в тех вариантах, где были внесены пестициды.

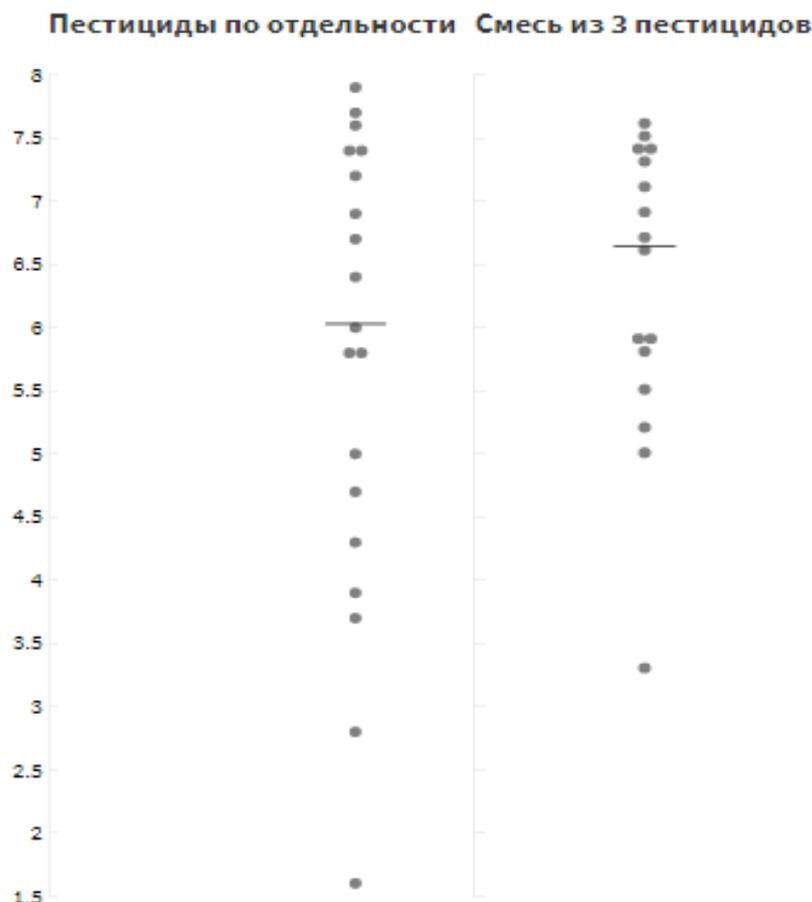
Результаты метода главных координат (Principal Coordinate Analysis) показаны на рисунке 22. Стрелки на этом рисунке указывают путь к доминантному таксону прокариотного сообщества.



**Рис. 22.** Метод главных координат в образцах кишечного тракта *Lumbricus terrestris*. Условные обозначения: красный цвет – смесь из трех пестицидов, синий цвет – пестициды по отдельности

Возрастание численности семейства *Comamonadaceae*, ассоциированного с кишечным трактом *Lumbricus terrestris* связано с загрязнением окружающей среды (Pass, 2015).

$\alpha$ -разнообразие бактериального сообщества кишечного тракта *Lumbricus terrestris* по нашей оценке отличается в вариантах с пестицидами по таксономическому составу прокариотных сообществ (рис. 23).



**Рис. 23.** График изменения  $\alpha$ -разнообразия бактерий кишечного тракта *Lumbricus terrestris* в зависимости от возрастания индекса Шеннона

По сравнению с контролем индекс Шеннона понижается при внесении смеси из трех пестицидов. Иная картина наблюдается при внесении пестицидов каждого по отдельности. Например, в присутствии Лазурита, СП (гербицид) индекс повышается по сравнению с контрольными образцами. Вышеуказанное служит подтверждением тому, что смесь препаратов (Танрек, ВРК, Лазурит, СП, Бенорад, СП) для микроорганизмов кишечного тракта дождевых червей более токсична, чем каждый из перечисленных пестицидов, внесенный по отдельности.

Влияние трех факторов (присутствие пестицидов в почве в смеси/каждого по отдельности, превышение нормы применения (норма применения, двукратная, десятикратная), время экспозиции образцов) на структуру

бактериального сообщества кишечного тракта *Lumbricus terrestris* оценивалось на базе непараметрического дисперсионного анализа (функция ADONIS пакета VEGAN языка R). Результаты анализа представлены в таблице 34.

**Таблица 34**

Влияние трех факторов на структуру прокарриотного сообщества кишечного тракта

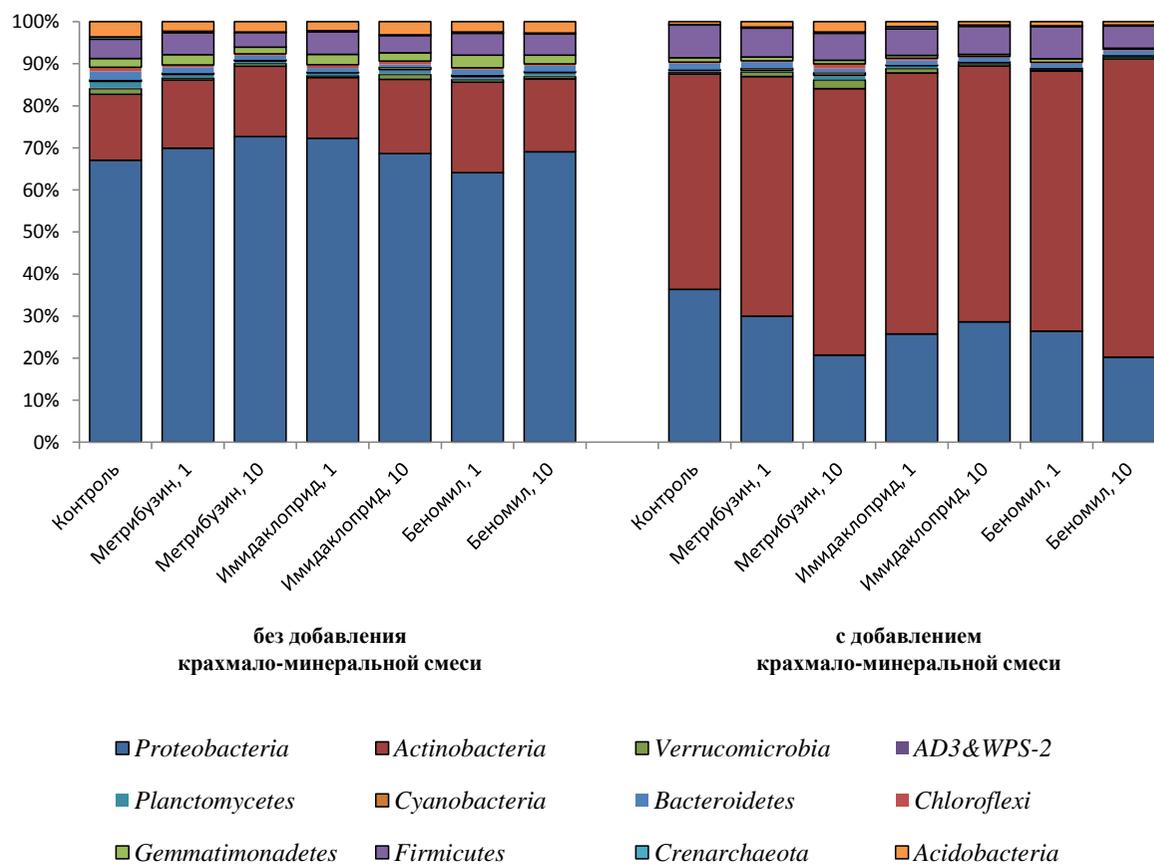
Фактор	p-value	Значимость	R <sup>2</sup>
Норма применения	0.004	+	0.57
Время, сутки	0.694	-	0.01
Смесь из 3 препаратов/пестициды по отдельности	0.017	+	0.08

Достоверные статистически различия обнаружены на уровне рода и вида (Приложение Г).

### 3.8.2. Оценка влияния пестицидов на микробное сообщество агродерново-подзолистой почвы

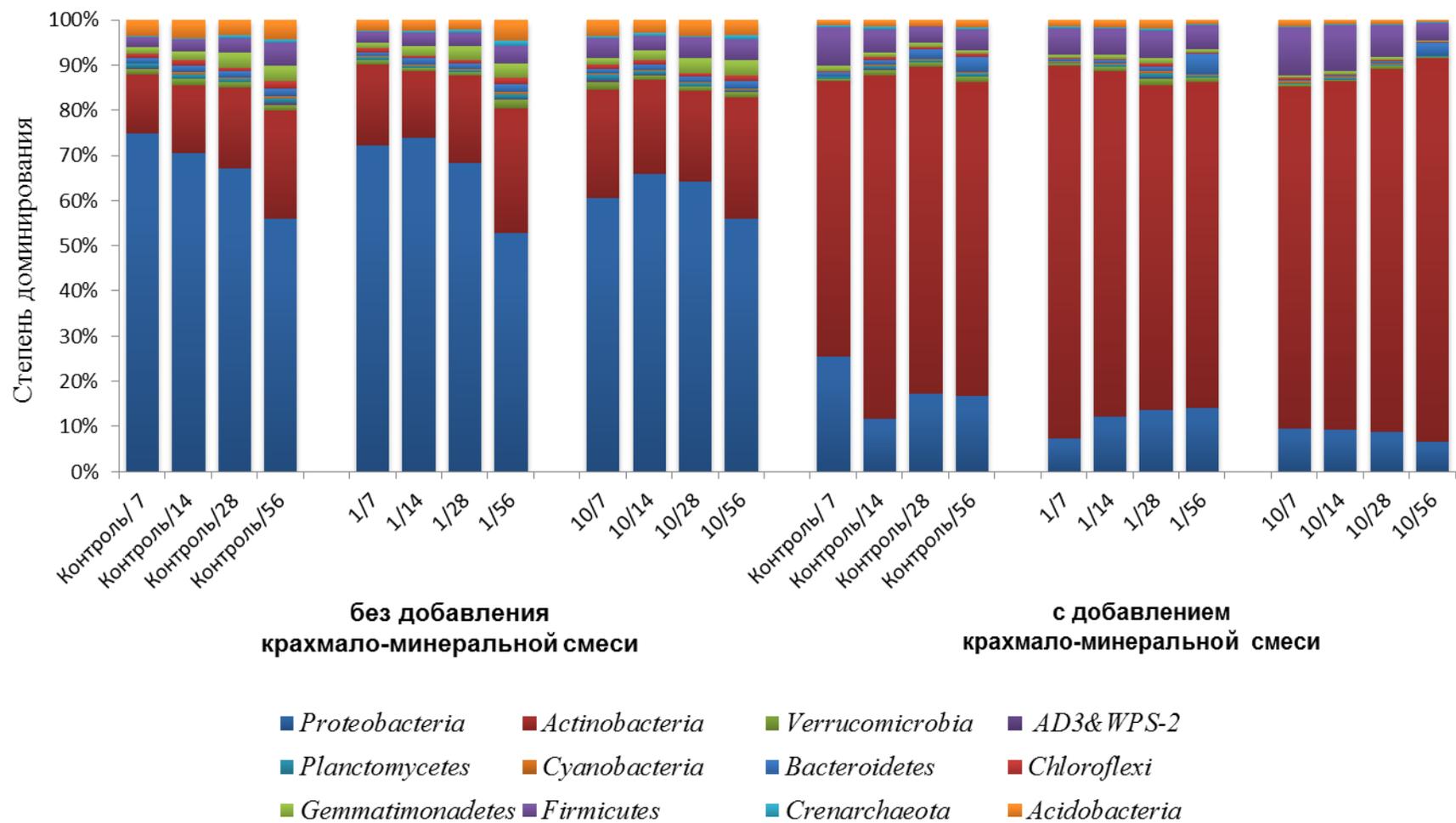
Методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) провели оценку влияния пестицидов на микробный комплекс почвы.

Структура почвенных прокарриотных сообществ. В контрольных образцах среди прокарриот доминируют представители филогенетических групп *Proteobacteria* и *Actinobacteria* (рис. 24).



**Рис. 24.** Структура прокариотных сообществ в почвах на 14 сутки после внесения пестицидов каждого по отдельности. Условные обозначения: 1 – однократная норма внесения препаратов, 10 – десятикратная норма внесения препаратов

Представители других филумов составляют не более 15% от общей численности прокариот. При внесении гербицида, инсектицида и фунгицида каждого по отдельности наблюдалось возрастание доли актинобактерий. Интенсивное развитие представителей этого филума отмечено при внесении 10-кратной нормы фунгицида. Подобная тенденция прослеживается на протяжении всего периода эксперимента, что предполагает возросшее участие актинобактерий в разложении пестицидов в почве. Изменения степени представленности других филумов (*Verrucomicrobia*, *Planctomycetes*, *Cyanobacteria*, *Bacteroidetes*, *Gemmatimonadetes*, *Firmicutes*, *Crenarchaeota*, *Acidobacteria* и кандидатов групп AD3,WPS-2) статистически не достоверны. В опыте по внесению трех пестицидов совокупно и без добавления крахмало-минеральной смеси во всех образцах наблюдается доминирование представителей филогенетической группы *Proteobacteria* (рис. 25).



**Рис. 25.** Структура прокариотных сообществ в почвах после внесения смеси из трех пестицидов. Условные обозначения: 1 – однократная норма внесения препаратов; 10 – десятикратная норма внесения препаратов; через дробь указаны сутки сукцессии

Несмотря на то, что за период инкубации представленность актинобактерий в составе микробного сообщества возрастает, это возрастание значимо не отличается от контрольного варианта.

При внесении в почву пестицидов вместе с крахмалом увеличивается представленность актинобактерий на ранних стадиях сукцессии (рис. 25). При одновременном внесении трех пестицидов по норме (см. Главу 2) происходит численности в процентах филума *Proteobacteria*, однако представленность этого филума возрастает на поздней стадии сукцессии. Внесение смеси трех пестицидов по норме показало, что численность актинобактерий в составе прокариотных сообществ на 7-е сутки инкубирования по сравнению с контрольным вариантом увеличилась на 15%. В последующем рост численности этой бактериальной группы замедлился и на 28-е и 56-е сутки сукцессии не отличался от контроля. Внесение в почву в 10-кратной норме (см. Главу 2) проявило те же перестройки в структуре прокариотного сообщества, за исключением сукцессии на поздней стадии. Актинобактерии на 56-е сутки сукцессии составили около 80% от численности бактериального сообщества агродерново-подзолистой почвы.

Оценка  $\alpha$ -разнообразия бактериального сообщества по индексу Шеннона обнаружила существенные различия в результатах каждого из опытов. Отмечено, что при внесении пестицидов в почву в 10-кратной норме, как в смеси из трех препаратов, так и каждого по отдельности (вариант без крахмала), индекс Шеннона в обоих случаях одинаков. При внесении в почву крахмала вместе с пестицидами в тех же концентрациях  $\alpha$ -разнообразие прокариот по индексу Шеннона (табл. 35).

Таблица 35

Показатели  $\alpha$ -разнообразия бактериального сообщества агродерново-подзолистой почвы

Вариант опыта*	Количество ОТЕ	Индекс Шеннона	Индекс Чжао 1
Без добавления крахмало-минеральной смеси			
Контроль	784	5.20	774
Метрибузин, 1	396	4.29	397
Метрибузин, 10	264	4.00	265
Имидаклоприд, 1	368	3.86	369
Имидаклоприд, 10	198	3.89	198
Беномил, 1	383	4.33	382
Беномил, 10	415	4.36	417
Смесь, 1	1131	4.34	1084
Смесь, 10	1240	4.86	1168
С добавлением крахмало-минеральной смеси			
Контроль	997	4.43	895
Метрибузин, 1	608	4.42	608
Метрибузин, 10	500	4.33	488
Имидаклоприд, 1	391	4.08	399
Имидаклоприд, 10	420	4.22	418
Беномил, 1	428	4.11	426
Беномил, 10	391	3.84	395
Смесь, 1	454	3.58	453
Смесь, 10	598	3.20	518

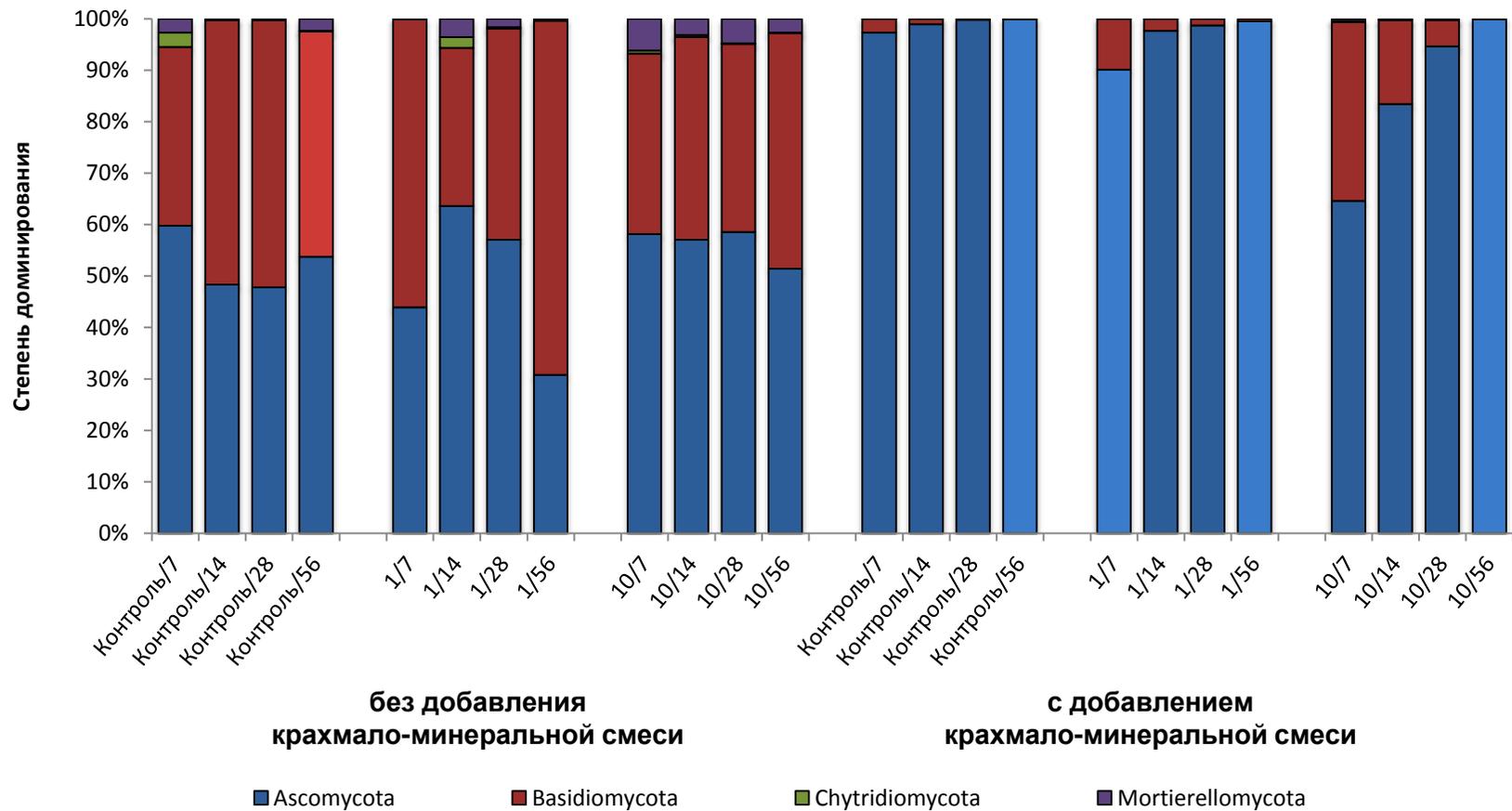
\*Примечание: 1 – однократная норма внесения препаратов, 10 – десятикратная норма внесения препаратов.

При внесении пестицидов в 10-кратной норме  $\alpha$ -разнообразии бактериального комплекса агродерново-подзолистой почвы снижается. Это снижение объясняется развитием специфической микробной группировки, способной разлагать ксенобиотики. Установлено, что на структуру бактериального сообщества существенное воздействие ( $p < 0.05$ ) оказывает лишь внесение крахмало-минеральной смеси. Увеличение представленности филума *Actinobacteria* в почвенных образцах на 56-е сутки инкубации, с добавлением крахмала, как дополнительного источника углерода, обусловлено ассимиляцией углерода этой бактериальной группой, что объясняется способностью филума *Actinobacteria* интенсивно разлагать высокополимерные соединения (Манучарова, 2014; Alvarez, 2017).

При внесении в почву смеси из трех препаратов (в вариантах с крахмалом и без крахмала) отмечено снижение представленности протеобактерий, в особенности при 10-кратной норме. Подобная реакция протеобактерий

зафиксирована также в ряде публикаций (Jacobsen, 2014; Katayama, 2001). Наблюдаемое восстановление бактерий филума *Proteobacteria* данной группы на поздней стадии сукцессии свидетельствует о компенсаторных перестройках в сообществе. Подобные перестройки обусловлены присутствием в почве бактерий, инициирующих гидролиз (Chanika, 2011).

Структура почвенных грибных сообществ. Исследование грибных сообществ по результатам молекулярно-генетического анализа во всех почвенных образцах выявило два доминирующих отдела грибов – *Ascomycota* ( $72.6 \pm 8.0\%$ ) и *Basidiomycota* ( $26.0 \pm 7.7\%$ ), остальные отделы занимают минорные позиции (рис. 26).



**Рис. 26.** Структура грибных сообществ в почвах после внесения смеси из трех пестицидов. Условные обозначения: 1 – однократная норма внесения препаратов; 10 – десятикратная норма внесения препаратов; через дробь указаны сутки сукцессии

Грибы отделов *Ascomycota* и *Basidiomycota* являются базовыми деструкторами в углеродном цикле почв, так как эти грибы выделяют ферменты, расщепляющие органические полимеры. Wang (2017) показал, что увеличение представленности *Basidiomycota* способствует ускоренному разложению растительных остатков в почве. При внесении 10-кратной нормы пестицидов (без добавления крахмало-минеральной смеси) возрастает представленность отдела *Mortierellomycota*. В образцах без добавления крахмало-минеральной смеси численность *Mortierellomycota* увеличивается более чем в пять раз (рис. 26). Добавление крахмала и минеральных солей стимулирует возрастание представленности отдела *Ascomycota*, а при внесении смеси из трех пестицидов (в десятикратной норме применения на 7 и на 14 сутки) в структуре грибного сообщества обнаруживается отдел *Mortierellomycota*. Кроме того, в образцах с 10 кратными нормами применения пестицидов (как в смеси, так и по отдельности) на 32% по сравнению с контролем возрастает представленность отдела *Basidiomycota*.

$\alpha$ -разнообразие грибов по индексу Шеннона выше в почвенных образцах без добавления крахмала. Индекс Шеннона возрастает в опытах с добавлением крахмала при 10-кратной норме применения смеси из трех пестицидов и отдельно фунгицида (табл. 36).

Таблица 36

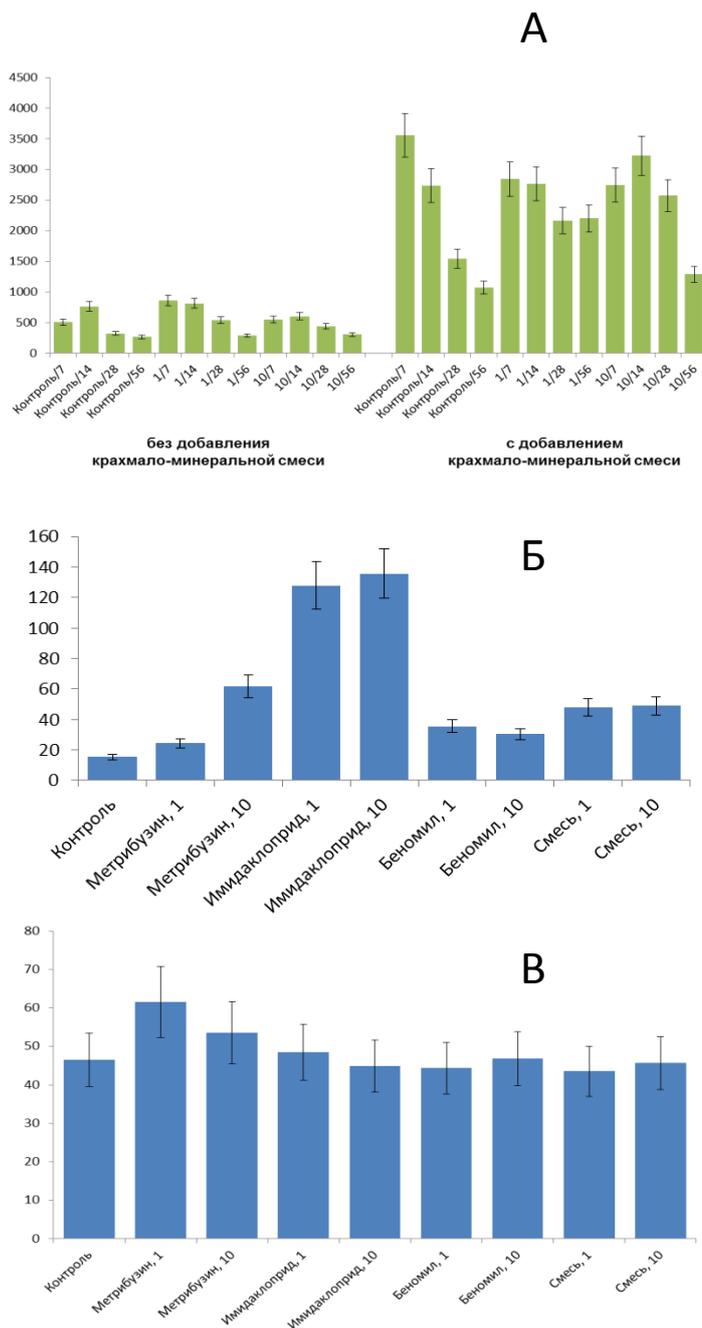
Показатели  $\alpha$ -разнообразия грибного сообщества агродерново-подзолистой почвы

Вариант опыта*	Количество ОТЕ	Индекс Шеннона	Индекс Chao 1
Без добавления крахмало-минеральной смеси			
Контроль	204	4.12	205
Беномил, 1	132	3.28	132
Беномил, 10	205	3.67	207
Смесь, 1	141	3.09	142
Смесь, 10	164	3.53	168
С добавлением крахмало-минеральной смеси			
Контроль	33	0.73	33
Беномил, 1	118	2.24	118
Беномил, 10	308	4.00	309
Смесь, 1	51	0.85	53
Смесь, 10	38	2.61	38

\*Примечание: 1 – однократная норма внесения препаратов, 10 – десятикратная норма внесения препаратов.

Установлено, что внесение пестицидов в почву (агродерново-подзолистая почва) оказывает на структуру грибного сообщества статистически значимое воздействие ( $p < 0.05$ ). Возрастание представленности отделов *Mortierellomycota* и *Basidiomycota* при внесении 10-кратной нормы пестицидов обуславливается тем, что среди представителей этих отделов известны виды с высокой гидролитической активностью (в частности, виды способные использовать компоненты ксенобиотиков как питательный субстрат) (Li, 2018).

Углерод микробной биомассы и биологическая активность почвы. В контрольном опыте (без внесения пестицидов и крахмало-минеральной смеси) содержание углерода микробной биомассы составляет 500-750 мг/кг (рис. 27).



**Рис. 27.** Содержание (мг/кг) углерода микробной биомассы (А), потенциальная продуктивность (мг/кг) азотфиксации (Б) и денитрификации (В) в образцах почвы после внесения пестицидов. Условные обозначения: 1 – однократная норма внесения препаратов; 10 – десятикратная норма внесения препаратов.

Плankи погрешности обозначают доверительный интервал при  $\alpha=0.05$

В опыте без добавления крахмала при внесении смеси из трех пестицидов (как в 1-кратной, так и в 10-кратной норме применения) возрастает содержание  $C_{\text{микр}}$  на ранних сроках инкубации (к 7-28 суткам). Статистически значимого

увеличения содержания  $C_{\text{микр}}$  при завершении эксперимента (на 56-е сутки) не установлено. В результате обработки почвы препаратами пестицидов зафиксирован прирост углерода микробной биомассы, который обусловлен разложением микроорганизмами инертных компонентов и действующих веществ пестицидов (при их биодegradации). Возрастание численности и биомассы микроорганизмов после обработки почвы пестицидами было показано в работах (Hussain, 2009; Das, 2000; Jana, 1998). Это возрастание объясняется увеличением численности бактерий (Haney, 2000; Ratcliff, 2006) и свойством микроорганизмов ассимилировать продукты разложения составляющих компонентов пестицидов (Tyess, 2006). Chen с соавт. (2001) показали, что обработка почвы фунгицидом приводит либо к ингибированию активности микромицетов либо к их гибели. При этом подобная обработка стимулирует активность бактерий. Однако рост численности микроорганизмов возможен и при низком уровне внесения пестицидов. Ускоренное возрастание численности микроорганизмов при содержании пестицидов в интервале 10-50 мг/кг<sup>-1</sup> оказано после внесения смеси фунгицидов и инсектицидов (циперметрин + манкоцеб и хлорпирифос + карбендазим) в почвы томатных плантаций Эквадора (Srinivasulu, 2017). Рост численности бактерий также зафиксирован при применении инсектицида профенофоса на суглинистой почве в норме 10-300 мг/кг (Martinez-Toledo, 1992) а также при внесении других инсектицидов (Cycon, 2006; Adebayo, 2007; Wang, 2008). Увеличение микробной биомассы почвы отмечено при внесении гербицида глифосата в рекомендованной норме (Haney, 2000; Mukherjee, 2014; Wang, 2017).

При внесении крахмало-минеральной смеси отмечен рост содержания углерода микробной биомассы в образцах агродерново-подзолистой почвы (рис. 27). В этом опыте внесение пестицидов не оказывает влияния на содержание  $C_{\text{микр}}$ , поскольку микроорганизмы переключаются на потребление крахмала как более легкодоступного источника углерода и энергии. Общей тенденцией для цикла лабораторных опытов является снижение содержания

углерода микробной биомассы за установленный период (56 дней). Это связано с интенсивным потреблением микроорганизмами доступного органического углерода. На 56 сутки (в момент завершения эксперимента) отмечены минимальные значения  $C_{\text{микр}}$  в образцах почвы.

Наибольшая активность азотфиксации была зафиксирована во всех вариантах опыта в первые сутки инкубации. При применении нормы рекомендованной и нормы 10-кратной фунгицид, гербицид, а также сумма фунгицид + гербицид + инсектицид существенно не влияют на процессы связывания атмосферного азота (рис. 27). Однако для инсектицида (как при однократной, так и при десятикратной норме применения) отмечалось стимулирование азотфиксации. В публикациях анализировалось воздействие гербицидов на чистые культуры азотфиксаторов *in vitro*, а также на азотфиксирующую активность клубеньковых бактерий сои (Дряхлов, 2012). В зависимости от концентрации гербицида, от срока применения (довсходовая или послевсходовая обработка), а также от почвенных условий возможно как увеличение азотфиксирующей активности, численности и массы клубеньков, так и снижение этих показателей. Ранее было показано (Kremer, 2009), что при применении гербицида глифосата на посевах глифосат-устойчивых сортов сои снижается интенсивность симбиотической азотфиксации. Сходные результаты были получены и другими исследователями (Bohm, 2009; Zobiole, 2010). При этом в условиях полевого эксперимента с глифосатом скорость ассимиляции атмосферного азота снижалась лишь при обработке высокими дозами гербицида (Zablotowicz, 2007). Глифосат также не оказал заметного воздействия на процесс симбиотической азотфиксации генно-модифицированными растениями сои (Powell, 2009). Наши наблюдения показывают, что свободноживущие азотфиксаторы *in situ* проявляют устойчивость к пестицидной нагрузке, причем, не только по отношению к гербицидам, но и к другим группам препаратов. В тоже время, применение пестицидов, как в

рекомендованной норме, так и в десятикратной, не оказывает существенного воздействия на активность денитрификаторов.

## Заключение

Результатом настоящего исследования является система экологической оценки рисков применения пестицидов для окружающей среды. Система основана на расчете рисков проявления острой и хронической токсичности как широко применяющихся, так и новейших пестицидов. Предложенный индикатор агрегированного риска учитывает: во-первых, степень проявления острой и хронической токсичности пестицида для нецелевого организма и, во-вторых, биоаккумуляцию пестицида в тканях этого организма. Аналогичный расчет, сделанный для водных организмов, показал, что первые двадцать позиций рейтинга наиболее «опасных» пестицидов занимают 19 инсектицидов, 4 гербицида и один фунгицид. Вверху этого рейтинга расположились три инсектицида с максимальным уровнем агрегированного риска для водных организмов – хлорпирифос, тefлутрин и диазинон. Применительно к дождевым червям расчет агрегированного риска показал, что двадцать первых позиций рейтинга занимают 12 инсектицидов, 8 фунгицидов и 5 гербицидов.

Предложенные рейтинги «опасных» пестицидов мы рекомендуем использовать для выполнения таких задач, как: принятие решений о проведении/не проведении лабораторных исследований по оценке острой/хронической токсичности новых препаратов; создание научной базы государственного мониторинга пестицидов-загрязнителей почв и поверхностных вод.

Экспериментальную апробацию схемы экологической оценки рисков применения пестицидов мы провели на дождевых червях и на почвенных микроорганизмах. Из рейтингового списка пестицидов, обладающих высоким риском негативного воздействия на дождевых червей, выбраны имидаклоприд и беномил. Кроме того, отобран был метрибузин как гербицид, широко используемый в сельском хозяйстве. Сравнение показателей токсичности трех действующих веществ с показателями токсичности препаратов обнаружило, что в паре имидаклоприд ( $LC_{50} = 3.2$  мг/кг) – Танрек, ВРК ( $LC_{50} = 2.8$  мг/кг),

метрибузин ( $LC_{50} = 440$  мг/кг) – Лазурит, СП ( $LC_{50} = 292$  мг/кг) токсичность препарата оказалась выше токсичности действующего вещества. Токсичность смеси действующих веществ (гербицид+инсектицид+ фунгицид) для дождевых червей составила  $LC_{50} = 7.2$  мг/кг. Кроме того, также была отмечена значительная потеря массы наблюдаемой группы червей под влиянием препаратов Лазурит, СП и Танрек, ВРК сравнительно с влиянием действующих веществ. Данный фактор может быть обусловлен токсичными свойствами вспомогательных веществ, входящих в состав препаратов. В рассмотренных публикациях обращалось внимание на то, что препаративные формы действующих веществ, даже хорошо изученных, оказывают на нецелевые виды организмов воздействие более значительное, чем воздействие действующих веществ (Baylis, 2000).

Молекулярно-генетический анализ показал, что в кишечном тракте *Lumbricus terrestris* обнаружено 12 филумов прокариот. Доминирующие филумы - *Proteobacteria* ( $40.0 \pm 8.0\%$ ), *Firmicutes* ( $23.0 \pm 11.0\%$ ) и *Actinobacteria* ( $21.0 \pm 7.0\%$ ). В субдоминантной позиции - филумы *Verrucomicrobia* ( $4.0 \pm 2.0\%$ ) и *Chloroflexi* ( $2.0 \pm 1.0\%$ ); все прочие филумы занимают минорные позиции. Наблюдаемые бактерии филумов *Crenarchaeota* и *Tenericutes* в кишечном тракте предполагают возможность их симбиоза с *Lumbricus terrestris*. Одновременное внесение трех препаратов усиливает доминантность *Proteobacteria* (до 67% в десятикратной норме применения препаратов) и, напротив, снижает доминантность *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Tenericutes* в кишечниках *Lumbricus terrestris*.

Показано, что внесение исследуемых препаратов (гербицид метрибузин, инсектицид имидаклоприд и фунгицид беномил) краткосрочно влияет на таксономическую структуру и на активность почвенного микробного комплекса. Обнаружено, что пестициды повышают содержание углерода микробной биомассы в первые недели после обработки ими почвенных образцов, что свидетельствует об активной микробной трансформации

пестицидов в почве. Наибольшие изменения таксономической структуры, по сравнению с прокариотами, наблюдались в грибном сообществе. Результаты анализа грибных сообществ выявили два доминирующих отдела грибов – *Ascomycota* ( $72.6 \pm 8.0\%$ ) и *Basidiomycota* ( $26.0 \pm 7.7\%$ ) во всех взятых почвенных образцах. В образцах почвы, где концентрация пестицидов превышала 10 кратную норму (как в смеси, так и по отдельности) обнаружено увеличение численности представителей отдела *Basidiomycota*.

Свободноживущие азотфиксаторы *in situ* относительно устойчивы к пестицидной нагрузке, причем, не только по отношению к гербицидам, но и к иным группам препаратов. Концентрация пестицидов в исследуемых образцах, как по однократной, так и по десятикратной норме применения, не оказывает статистически достоверного воздействия и на денитрификаторов. Активность последних предопределяется концентрацией нитратов и легкодоступного органического вещества в почве.

Таким образом, вторая часть нашего исследования не только подтвердила обоснованность использования разработанной методики для оценки экологического риска применения пестицидов. Кроме того, исследование влияния пестицидов на почвенные организмы позволило сделать следующие выводы: 1) лабораторные эксперименты по оценке острой токсичности препаративных форм пестицидов для дождевых червей – непреложный этап регистрационных испытаний новых препаратов; 2) мониторинг с привлечением молекулярно-генетических и биомаркерных методов для пестицидов с высоким значением агрегированного риска (в системе почва-поверхностные воды) необходимо проводить не реже раза в год.

## Выводы

1. Математические модели PEARL 4.4.4. и STEP 1-2 при использовании в совокупности с данными о токсичности пестицидов представляют собой универсальный инструмент для оценки экологических рисков применения пестицидов в Европейской части России.
2. Сравнение полевых исследований с данными, полученными по модели PEARL 4.4.4., показало удовлетворительное качество прогнозируемых концентраций пестицидов в почвах.
3. Математическое моделирование концентрации пестицидов в поверхностном водоеме показало, что основными загрязнителями поверхностных вод являются гербициды.
4. В рейтинге пестицидов-загрязнителей водной среды с заметным отрывом от остальных пестицидов по значению агрегированного риска расположились 3 инсектицида – хлорпирифос, тефлутрин и диазинон. В рейтинге пестицидов-загрязнителей почв также преобладают инсектициды.
5. Показана возможность увеличения токсичности для дождевых червей препаративной формы по сравнению с токсичностью действующего вещества.
6. Под воздействием пестицидов в кишечниках *Lumbricus terrestris* зафиксировано изменение структуры прокариотного комплекса: увеличивается представленность филумов *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* и снижается доля *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Tenericutes*. Грибное сообщество агродерново-подзолистой почвы более чувствительно к влиянию пестицидов, чем прокариоты. Внесение пестицидов инициировало увеличение численности представителей отдела *Basidiomycota*.
7. Исследуемые пестициды оказывают краткосрочное стимулирующее воздействие на возрастание содержания углерода микробной биомассы. Для инсектицида имидаклоприда показано стимулирующее действие на азотфиксацию, в то время как другие пестициды не оказывают влияния на этот показатель.

8. На базе полевых и лабораторных экспериментов, а также математического моделирования разработана комплексная процедура оценки экологических рисков применения пестицидов для объектов окружающей среды, состоящая из трех этапов. Этап первый: расчет рисков проявления острой/хронической токсичности пестицида для гидробионтов и для дождевых червей. Этап второй: расчет агрегированного риска применения пестицида с учетом биоаккумуляции в тканях живых организмов и составление рейтингов пестицидов - загрязнителей окружающей среды. Этап третий: мониторинг рейтинговых пестицидов в почвах и в поверхностных водах.

## Список опубликованных работ по теме диссертации

### Статьи в журналах

1. Колупаева В.Н., Горбатов В.С., **Астайкина А.А.** Прогноз концентраций пестицидов в почвах с помощью математической модели PEARL и его использование при оценке риска применения пестицидов для почвенных организмов // *Агрохимия*. — 2017. — № 2. — С. 34–39. IF RSCI – 0.723.
2. Горбатов В.С., **Астайкина А.А.**, Аптикаев Р.С., Тихонов В.В. Сравнительная оценка опасности и риска пестицидов для водных организмов // *Агрохимия*. — 2019. — № 11. — С. 17–26. DOI: 10.1134/S0002188119110061. IF RSCI – 0.723.
3. Nikolaeva O., Tikhonov V., Vecherskii M., Kostina N., Fedoseeva E., **Astaikina A.** Ecotoxicological effects of traffic-related pollutants in roadside soils of Moscow // *Ecotoxicology and environmental safety*. – 2019. – V. 172. – P. 538–546. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2019.01.068](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.068). IF WoS – 4.527.
4. **Астайкина А.А.**, Колупаева В.Н., Горбатов В.С. Экспериментальное изучение и моделирование миграции паклобутразола в почве // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. — 2016. — № 119. — С. 1099–1110. IF RSCI – 0.720.

### Иные публикации:

1. **Астайкина А.А.**, Стрелецкий Р.А. Comparative acute toxicity of active substances and commercial formulations of three pesticides to earthworm, *Eisenia foetida* // 8th Young Environmental Scientists Meeting. — Ghent University, Belgium. – 2019. — P. 74–74.
2. Kolupaeva V., Gorbатов V., **Astaikina A.** Comparison of the measured and predicted pesticide concentrations in soils of Russia // SETAC Europe 29th Annual Meeting. Abstract Book. — Helsinki, Finland. – 2019. — P. 1.
3. Nikolaeva O., Tikhonov V., Vecherskii M., **Astaikina A.** Ecotoxicity of roadside soils in Moscow: finding correlations between traffic-related contaminants

and their ecotoxicological effects // SETAC Europe 29th Annual Meeting Abstract Book. — The Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC). — Belgium, Brussels. — 2019. — P. 1.

4. **Астайкина А.А.**, Тихонов В.В., Маслов М.Н. Влияние пестицидной нагрузки на показатели азотного цикла почвы // Агроэкологические и экономические аспекты применения средств химизации в условиях биологизации и экологизации сельскохозяйственного производства. ВНИИА М. — 2018. — С. 17–19.

5. Никитин Д.А., **Астайкина А.А.** Влияние фунгицида бенонила на дождевых червей // Проблемы почвенной зоологии. Материалы XVIII Всероссийского совещания по почвенной зоологии. — Товарищество науч. изд. КМК М. — 2018. — С. 145–146.

6. Горбатов В.С., Тихонов В.В., **Астайкина А.А.** Проблемы нормирования пестицидов в почве для целей их мониторинга // Тезисы докладов Всероссийской научной конференции Мониторинг состояния и загрязнения окружающей среды. Основные результаты и пути развития. — ФГБУ ИГКЭ Росгидромета и РАН ФГБУ ИГКЭ Росгидромета и РАН Москва. — 2017. — С. 681–683.

7. **Астайкина А.А.**, Тихонов В.В., Горбатов В.С. Гигиеническое нормирование пестицидов в почве: критика и предложения // Биодиагностика и оценка качества природной среды: подходы, методы, критерии и эталоны сравнения в экотоксикологии: Материалы международного симпозиума и школы — М.: ГЕОС. — 2016. — 434 с.

8. **Астайкина А.А.** Миграция паклобутразола в почве: экспериментальное изучение и моделирование // Агроэкосистемы в естественных и регулируемых условиях: от теоретической модели к практике прецизионного управления. — Изд-во АФИ Санкт-Петербург. — 2016.

9. **Astaykina A.**, Kolupaeva V., Gorbатов V. Development of standard Russian and Kazakhstan scenarios of mathematical models of pesticide behaviour in soils //

The Proceedings of the International Congress on “Soil Science in International Year of Soils”. — Москва ООО "Буки Веди". — 2015. — P. 33–36.

10. **Астайкина А.А.**, Колупаева В.Н., Горбатов В.С., Алимкулов Д.М. Стандартные сценарии входных данных математических моделей поведения пестицидов в почвах Евразийского Экономического Союза // Современные системы и методы фитосанитарной экспертизы и управления защитой растений. — Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии р.п. Большие Вяземы. — 2015. — С. 225–231.

11. **Астайкина А.А.** Оценка экологических рисков инсектицида флубендиамид // Материалы XVII Докучаевских молодежных чтений "Новые вехи в развитии почвоведения: современные технологии как средства познания". — Санкт-Петербург. — 2014. — С. 206–207.

12. **Астайкина А.А.** Нормирование содержания пестицидов в почве // Материалы XX Международной Конференции студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов-2013" / Секция "Почвоведение". — Москва "Макс Пресс". — 2013. — С. 92–93.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бызов Б.А., Тихонов В.В., Нечитайло Т.Ю., Демин В.В., Звягинцев Д.Г. Таксономический состав и физиолого-биохимические свойства бактерий пищеварительного тракта дождевых червей // Почвоведение. 2015. №. 3. С. 308.
2. Водный кодекс Российской Федерации от 03.06.2006 N 74-ФЗ// СПС «КонсультантПлюс»
3. Воронова Л.Д. Почвенная фауна южной тайги Пермской области // Почвенная фауна Северной Европы. М.: Наука. 1987. Т. 59. С. 69.
4. Воронцов В.В. Исследование влияния модельного загрязнения почвы пестицидами на дождевых червей в лабораторных условиях //Фундаментальные исследования. – 2012. – Т. 1. – №. 9.
5. Временный порядок государственной регистрации пестицидов и агрохимикатов. Приложение к распоряжению Минсельхоза России от 12 апреля 2013 г. № 26-р // СПС «КонсультантПлюс»
6. Горбатов В.С., Кононова Т.В. Структура экологических данных о пестицидах // Нива Поволжья. 2011. №. 1. С. 17.
7. Горбатов В.С. Новые тенденции экологической оценки пестицидов при их регистрации в Российской Федерации// Экологическое нормирование и управление качеством почв и земель / Под общ. ред. С.А. Шобы, А.С. Яковлева, Н.Г. Рыбальского. М.: НИА-Природа. 2013. 310с.
8. Горбатов В.С., Кононова А.А. Использование математических моделей прогноза концентраций пестицидов в поверхностных водах с целью оценки их риска для водных организмов // Агрохимический вестник. 2010. №1. С. 27-30.
9. Горбатов В.С., Тихонов В.В., Астайкина А.А. Проблемы нормирования пестицидов в почве для целей их мониторинга // Тезисы докладов Всероссийской научной конференции Мониторинг состояния и загрязнения окружающей среды. Основные результаты и пути развития.

- ФГБУ ИГКЭ Росгидромета и РАН ФГБУ ИГКЭ Росгидромета и РАН Москва. 2017. С. 681–683.
- 10.ГОСТ 31340-2007. Межгосударственный стандарт. «Предупредительная маркировка химической продукции. Общие требования». М.: Стандартинформ. 2008. 36 с.
  - 11.ГОСТ 31340-2013. Предупредительная маркировка химической продукции. М.: Стандартинформ. 2014. 40 с.
  - 12.ГОСТ 32293-2013. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Испытание водорослей и цианобактерий на задержку роста (OECD, Test No 201: 2011, IDT). М.: Стандартинформ. 2014. 24 с.
  - 13.ГОСТ 32367-2013. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Угнетение репродуктивной способности Дафнии магна (OECD, Test No 211: 2008, IDT). М.: Стандартинформ. 2014. 24 с.
  - 14.ГОСТ 32424-2013. Классификация опасности химической продукции по воздействию на окружающую среду. Основные положения. М.: Стандартинформ. 2014. 14 с.
  - 15.ГОСТ 32428-2013. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение хронической токсичности для рыб: 14-дневный тест (OECD, Test No 204: 1984, IDT). М.: Стандартинформ. 2014. 8 с.
  - 16.ГОСТ 32473-2013. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение острой токсичности для рыб (OECD, Test No 203: 1992, IDT). М.: Стандартинформ. 2014. 11 с.
  - 17.ГОСТ 32536-2013. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение острой

- токсичности для дафний (OECD, Test No 202: 1992, IDT). М.: Стандартиформ. 2014. 12с.
- 18.ГОСТ 32538-2013. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение биоконцентрации на рыбах в проточных аквариумах (OECD, Test No 305: 1996, IDT). М.: Стандартиформ. 2014. 23 с.
- 19.ГОСТ 33036-2014. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Определение острой токсичности для дождевых червей (OECD, Test No 207:1984, IDT). Москва: Стандартиформ. 2015. 6 с.
- 20.ГОСТ 33042-2014. Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Тест на репродуктивность дождевых червей (*Eisenia foetida/Eisenia andrei*) (OECD, Test No 222:2004, IDT). Москва: Стандартиформ. 2015. 16 с.
- 21.ГОСТ Р 32419-2013. Классификация опасности химической продукции. Общие требования.
- 22.ГОСТ 32633-2014 «Определение аэробной и анаэробной трансформации в почве».
- 23.ГОСТ 33060-2014 Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Изучение адсорбции/десорбции замкнутым равновесным методом.
- 24.Дряхлов А.И. Влияние почвенного гербицида трифлюрекса и ризоторфина на азотфиксирующую активность и урожай семян сои // Масличные культуры. 2012. Вып. 1 (150). С. 1-5.
- 25.Звонкова Н.А. Некоторые особенности почвы, прилегающей к норам дождевых червей *Lumbricus terrestris L.* Вестник Моск. ун-та. 1997. Сер. 17, почвоведение. Вып. 3. С. 35-38.
- 26.Зражевский А. И. Дождевые черви как фактор плодородия лесных почв // Киев: Изд-во АН УССР. 1957.

- 27.Карпачевский Л.О., Умарова А.Б. Большие лизиметры Почвенного стационара МГУ // Агрохимический вестник. 2003. № 2. С. 5-6.
- 28.Кауричев И. С., Яшин И. М., Черников В. А. Теория и практика метода сорбционных лизиметров в экологических исследованиях. М.: Изд-во МСХА. 1996.
- 29.Классификация и диагностика почв России. Смоленск: Ойкумена. 2004. 342 с.
- 30.Кокорева А.А. Экспериментальное исследование и математическое моделирование миграции имидаклоприда в дерново-подзолистых почвах. Дис.... канд. биол. наук. Москва. 2009.
- 31.Колупаева В. Н., Горбатов В. С., Спиридонов Ю.Я., Шестаков В.Г. Изучение разложения хлорсульфурона в полевых условиях // Агрохимия. 1992. № 8. С. 105–111.
- 32.Колупаева В.Н., Горбатов В.С., Астайкина А.А. Прогноз концентраций пестицидов в почвах с помощью математической модели PEARL и его использование при оценке риска применения пестицидов для почвенных организмов // Агрохимия. 2017. № 2. С. 34–39.
- 33.Кутовая О.В. Характеристика гумусовых веществ агродерново-подзолистой почвы и копролитов дождевых червей // Бюллетень Почвенного института им. В.В. Докучаева. 2012. №. 69.
- 34.Леонова А.А., Шеин Е.В., Горбатов В.С. Миграция гербицида метрибузина в почве: лизиметрические исследования и моделирование // Почвоведение. 2003. №. 6. С. 745-753.
- 35.Манучарова Н.А. Гидролитические прокариотные комплексы наземных экосистем. Университетская книга Москва. 2014. 272 с.
- 36.Методические рекомендации по гигиеническому обоснованию ПДК химических веществ в почве. Издание второе. № 2609-82. 1982. М. 24 с.

37. Методические рекомендации по использованию математических моделей поведения пестицидов в окружающей среде ВНИИФ, Б.Вяземы. 2013. 78 с.
38. Методические рекомендации по оценке действия и потенциальной опасности пестицидов для медоносных пчел. Москва. 2001.
39. Методы оценки экологической опасности пестицидов при их регистрации (руководство по классификациям экологической опасности пестицидов) под ред. В.С. Горбатова. ВНИИФ. 2010. 17 с.
40. Мониторинг пестицидов в объектах природной среды Российской Федерации в 2016 году. 2017. – Обнинск, ФГБНУ «Тайфун», 74 с.
41. МУК 4.1.2785-10.4.1 от 24.11.2010 г. Определение остаточных количеств паклобутразола в воде, почве, зеленой массе, семенах и масле рапса методом капиллярной газожидкостной хроматографии.
42. Распоряжение Правительства РФ от 08.07.2015 г. №1316-р «Об утверждении перечня загрязняющих веществ, в отношении которых применяются меры государственного регулирования в области охраны окружающей среды».
43. Сметник А.А. Прогнозирование миграции пестицидов в почвах. Дис... канд. биол. наук. Москва. 2000.
44. Сметник А.А., Спиридонов Ю.Я., Шеин Е.В. Миграция пестицидов в почвах. 2005.
45. Согласованная на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химической продукции (СГС). Пятое пересмотренное издание. Организация Объединенных Наций, Нью-Йорк и Женева. 2013. 638 с.
46. Согласованная на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химической продукции (СГС). Шестое пересмотренное издание. Организация Объединенных Наций, Нью-Йорк и Женева. 2015. 638 с.

- 47.Согласованная на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химической продукции (СГС). 4 издание. Нью-Йорк и Женева: ООН. 2011. 684 с.
- 48.Соколов М.С., Стрекозов Б.П. Последовательность и некоторые принципы нормирования пестицидов в почве // Химия в сельском хозяйстве. 1975. Т.13, №7, С. 63-66.
- 49.Спиридонов Ю.Я. Лизиметрические эксперименты для контроля поведения пестицидов // Агрехимический вестник. 2003. №2.
- 50.Справочник пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. М.: «Издательство Агрорус». 2019. 853 с.
- 51.Терещенко П.В. Агрэкологические аспекты вермикультуры //Автореф. канд. с.-х. наук. 1998.
- 52.Тиунов А.В. Метабиоз в почвенной системе: влияние дождевых червей на структуру и функционирование почвенной биоты. 2007.
- 53.Умарова А.Б. Почвенно-экологический мониторинг процессов переноса воды и веществ в модельных дерново-подзолистых почвах в условиях многолетнего лизиметрического опыта. Дисс... канд. биол. наук. Москва. 1995.
- 54.Федеральный закон от 10.01.2002 г. №7-ФЗ «Об охране окружающей среды» // СПС «КонсультантПлюс».
- 55.Эмирова Д.Э. Оценка острой токсичности пестицида БИ-58 на люмбрицид в условиях искусственного загрязнения почв // Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Серия: Биология, химия. 2014. Т. 27. №. 1. С. 241-246.
- 56.Addison J.A. Comparison of forest soil microcosm and acute toxicity studies for determining effects of fenitrothion on earthworms // Ecotoxicology and Environmental Safety. 1995. Т. 30. №. 2. P. 127-133.

57. Adebayo T.A., Ojo O.A., Olaniran O.A. Effects of two insecticides Karate1 and Thiodan1 on population dynamics of four different soil microorganisms. *Res J Biologic Sci* 2. 2007. P. 557–560
58. Alix A. et al. Development of a harmonized risk mitigation toolbox dedicated to environmental risks of pesticides in farmland in Europe: outcome of the MAgPIE workshop // *Julius-Kühn-Archiv*. 2015. №. 449. C. 148-155.
59. Allegrini M., Zabaloy M. C., Gómez E. del V. Ecotoxicological assessment of soil microbial community tolerance to glyphosate // *Science of The Total Environment*. 2015. V. 533. P. 60–68. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.06.096.
60. Alvarez A., Saez J.M., Davila Costa J.S., Colin V.L., Fuentes M.S., Cuozzo S.A., Amoroso M.J. Actinobacteria: Current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals // *Chemosphere*. 2017. V. 166. P. 41–62. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.09.070
61. Alvarez-Martin A., Hilton S.L., Bending G.D., Rodriguez-Cruz M.S., Sanchez-Martin M.J. Changes in activity and structure of the soil microbial community after application of azoxystrobin or pirimicarb and an organic amendment to an agricultural soil // *Applied Soil Ecology*. 2016. V. 106. P. 47–57. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.05.005.
62. Anderson J.P.E., Domsch K.H. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils // *Soil Biol. Biochem*. 1978. V. 10. P. 215–221. doi: [10.1016/0038-0717\(78\)90099-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90099-8).
63. Barriuso J., Marin S., Mellado R.P. Effect of the herbicide glyphosate on glyphosate-tolerant maize rhizobacterial communities: a comparison with pre-emergence applied herbicide consisting of a combination of acetochlor and terbuthylazine // *Environmental microbiology*. 2010. V.12. № 4. P. 1021-1030. doi: [10.1111/j.1462-2920.2009.02146.x](https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02146.x).
64. Bauer C. Factors influencing the toxicity of two pesticides on three lumbricid species in laboratory tests / C. Bauer, J. Römcke // *Soil biology and biochemistry*. 1997. T. 29. №. 3-4. P. 705-708.

65. Baylis A.D. Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects // *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*. 2000. T. 56. №. 4. P. 299-308.
66. Bohm G.M.B., Alves B.J.R., Urquiaga S., Boddey R.M., Xavier G.R., Hax F., Rombaldi C.V. Glyphosate- and imazethapyr-induced effects on yield, nodule mass and biological nitrogen fixation in field-grown glyphosate-resistant soybean // *Soil Biol. Biochem.* 2009. V. 41. P. 420–422. doi: [10.1016/j.soilbio.2008.11.002](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.11.002).
67. Boivin A., Poulsen V. Environmental risk assessment of pesticides: state of the art and prospective improvement from science // *Environmental Science and Pollution Research*. 2017. T. 24. №. 8. P. 6889-6894.
68. Booth L.H., O'Halloran K.A. Comparison of biomarker responses in the earthworm *Aporrectodea caliginosa* to the organophosphorus insecticides diazinon and chlorpyrifos // *Environmental toxicology and chemistry*. 2001. T. 20. №. 11. P. 2494-2502.
69. Bromilow R.H., Evans A.A., Nicholls P.H., Todd A.D., Briggs G.G. The effect on soil fertility of repeated applications of pesticides over 20 years // *Pesticide Science*. 1996 V. 48. P. 63–72. doi:10.1002/(SICI)1096-9063(199609)48:1<63::AID-PS442>3.0.CO;2-I.
70. Brulle F., Morgan A.J., Cocquerelle C., Vandebulcke F. Transcriptomic underpinning of toxicant-mediated physiological function alterations in three terrestrial invertebrate taxa: a review // *Environmental Pollution*. 2010. T. 158. №. 9. P. 2793-2808.
71. Busse M.D., Ratcliff A.W., Shestak C.J., Powers R.F. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities // *Soil Biol. Biochem.* 2001. V.33. P. 1777-1789. doi: [10.1016/S0038-0717\(01\)00103-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00103-1).
72. Callahan C.A. Earthworms as ecotoxicological assessment tools. United States Environmental Protection Agency. EPA-600/D-48-272. 1984.

73. Casabé N., Piola L., Fuchs J., Oneto M.L., Pamparato L., Basack S., Kesten E. Ecotoxicological assessment of the effects of glyphosate and chlorpyrifos in an Argentine soya field // *Journal of Soils and Sediments*. 2007. T. 7. №. 4. P. 232-239.
74. Chanika E., Georgiadou D., Soueref E., Karas P., Karanasios E., Tsiropoulos N.G., Karpouzas D.G. Isolation of soil bacteria able to hydrolyze both organophosphate and carbamate pesticides // *Bioresource Technology*. 2011. V. 102. P. 3184–3192. doi:10.1016/j.biortech.2010.10.145.
75. Channabasava A., Lakshman H. C., Jorquera M. A. Effect of fungicides on association of arbuscular mycorrhiza fungus *Rhizophagus fasciculatus* and growth of Proso millet (*Panicum miliaceum L*) // *Journal of soil science and plant nutrition*. 2015. T. 15. №. 1. P. 35-45. doi.org/10.4067/S0718-95162015005000004
76. Chen C., Wang Y., Zhao X., Qian Y., Wang Q. Combined toxicity of butachlor, atrazine and  $\lambda$ -cyhalothrin on the earthworm *Eisenia foetida* by combination index (CI)-isobologram method // *Chemosphere*. 2014. T. 112. P. 393-401.
77. Chen, S. K., Edwards, C. A., Subler, S. Effect of fungicides benomyl, captan and chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. *Soil Biol. Biochem.* 2001. V. 33. P. 1971–1980.
78. Connell D. W., Markwell R. D. Bioaccumulation in the soil to earthworm system // *Chemosphere*. 1990. T. 20. №. 1-2. P. 91-100.
79. Cycon M., Piotrowska-Seget Z., Kaczynska A., Kozdroj J. Microbiological characteristics of a loamy sand soil exposed to tebuconazole and  $\lambda$ -cyhalothrin under laboratory conditions. *Ecotoxicol.* 2006. 15(8) P. 639–646.
80. Das A.C., Mukherjee D. Soil application of insecticides influences microorganisms and plant nutrients. *Appl. Soil Ecol.* 2000. V.14. P. 55–62.
81. Data requirements for pesticide registration in OECD member countries: survey results. *Environment monographs N 77*. OECD. Paris. 1994.

82. Den Hond F., Groenewegen P., Van Straalen N. (ed.). Pesticides: problems, improvements, alternatives. John Wiley & Sons. 2008.
83. Druille M., Omacini M., Golluscio R.A., Cabello M.N. Arbuscular mycorrhizal fungi are directly and indirectly affected by glyphosate application // *Applied Soil Ecology*. 2013. V. 72. P. 143–149. doi:10.1016/j.apsoil.2013.06.011.
84. EC Regulation (ec) no 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC. 2009.
85. Edwards C.A. Biology and ecology of earthworms. Springer Science & Business Media. 1996. T. 3.
86. Edwards C.A. Earthworm ecology in cultivated soils // *Earthworm ecology*. Springer. 1983. P. 123-137.
87. EEC Council directive 91/414 of 15/7/91 concerning the placing of plant protection products on the market // *Official Journal of the European Communities*. 34. Brussels. 1991. 32 p.
88. Efimova D., Tyakht A., Popenko A., Vasilyev A., Altukhov I., Dovidchenko N., Alexeev D. Knomics-Biota – a system for exploratory analysis of human gut microbiota data // *BioData mining*. 2018. V. 11. P. 1-7. doi: 10.1186/s13040-018-0187-3.
89. Environmental risk assessment scheme for plant protection products Chapter 8: Soil organisms and functions // *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 2003. V. 33. P. 195–209
90. Fadrosch D.W., Ma B., Gajer P., Sengamalay N., Ott S., Brotman R. M., Ravel J. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform // *Microbiome*. 2014. 2(1). 6. doi: 10.1186/2049-2618-2-6.

91. Falconer, K. Classification of pesticides according to environmental impact. Centre for Rural Economy. University of Newcastle-Upon-Tyne. Newcastle. 1998.
92. FOCUS surface water scenarios in the EU evaluation process under 91/414/EEC. Report of the FOCUS working group on surface water scenarios. EC Document Reference SANCO/4802/2001-rev.2. 2001. 245 p.
93. The FOOTPRINT Pesticide Proprieties DataBase/ DataBase Collated by the University of Hertfordshire as part of the EU-Funded FOOTPRINT project (FP6-SSP-022704).
94. Francaviglia R., Capri E., Klein M., Hosang J., Aden K., Trevisan M., Errera G. Comparing and evaluating pesticide leaching models: results for the Tor Mancina dataset (Italy) // Agricultural Water Management. 2000. № 44. P.135-151.
95. Goring C.A. I. et al. Principles of pesticide degradation in soil // Environmental dynamics of pesticides. Springer, Boston, MA, 1975. P. 135-172.
96. Gottesbüren B., Aden K., Bärlund I., Brown C., Dust M., Görlitz G., Jarvis N., Rekolainen S., Schäfer H. Comparison of pesticide leaching models: results using the Weiherbach data set // Agricultural Water Management. 2000. № 44. P.153-181.
97. Greig-Smith P.W. Recommendations of an international workshop on ecotoxicology of earthworms // Ecotoxicology of earthworms. Intercept Ltd, Andover. 1992. P. 247-262.
98. Greitens T. J., Day E. An alternative way to evaluate the environmental effects of integrated pest management: Pesticide risk indicators // Renewable Agriculture and Food Systems. 2007. T. 22. №. 3. P. 213-222.
99. Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology. Sanco/3268/2001 rev.4 (final). 2002. 62 p.
100. Guidance Document on Terrestrial Ecotoxicology Under Council Directive 91/414/EEC. Sanco/10329/2002 rev.2 (final). 2002. 39 p.

101. Guidance of EFSA. Risk Assessment for Birds and Mammals. EFSA Journal 2009. 7(12):1438. 139 p.
102. Guidance on tiered risk assessment for plant protection products for aquatic organisms in edge-of-field surface waters. EFSA Journal. 2013. 11(7):3290. P. 268.
103. Guideline, O.E.C.D. 207. Earthworm, Acute Toxicity Test. 1984.
104. Handford C. E., Elliott C. T., Campbell K. A review of the global pesticide legislation and the scale of challenge in reaching the global harmonization of food safety standards // Integrated environmental assessment and management. 2015. T. 11. №. 4. P. 525-536.
105. Haney R.L., Senseman S.A., Hons F.M. Effect of roundup ultra on microbial activity and biomass from selected soils. // Journal of Environment Quality. 2000. V. 31. P. 730–735. doi: [10.2134/jeq2002.7300](https://doi.org/10.2134/jeq2002.7300).
106. Hareesh Gouda S., Mahadeshwara Prasad D.R., Ravindra Honnunar S., Preeti Gupta. Flubendiamide – Entry of a New Insecticide into the Field of Clinical Toxicology// Journal of the Indian society of toxicology (jist). 2010. V. 006.
107. Hart, A. Key characteristics of pesticide risk indicators used as policy tools: a comparison of 11 indicators. OECD Workshop on Pesticide Risk Indicators. Copenhagen. 21. 1997.
108. Higley L. G., Wintersteen W. K. A novel approach to environmental risk assessment of pesticides as a basis for incorporating environmental costs into economic injury levels // American Entomologist. 1992. T. 38. №. 1. P. 34-39.
109. Hole D.G., Perkins A.J., Wilson J.D., Alexander I.H., Grice P.V., Evans A.D. Does organic farming benefit biodiversity? // Biological conservation. 2005. T. 122. №. 1. P. 113-130.
110. Hornsby A.G., Buttler T.M., Brown R.B. Managing pesticides for crop production and water quality protection: practical grower guides // Agriculture, Ecosystems & Environment. 1993. T. 46. №. 1-4. P. 187-196.

111. Hussain S., Siddique T., Saleem M., Arshad M., Khalid A. Impact of pesticides on soil microbial diversity, enzymes, and biochemical reactions / Advances in Agronomy. Academic Press. 2009. P. 159–200.
112. Iglesias J. The effects of repeated applications of the molluscicide metaldehyde and the biocontrol nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita* on molluscs, earthworms, nematodes, acarids and collembolans: a two - year study in north - west Spain // Pest management science. 2003. T. 59. №. 11. P. 1217-1224.
113. Imfeld G., Vuilleumier S. Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: A critical review // European Journal of Soil Biology. 2012. V. 49. P. 22-30. doi: [10.1016/j.ejsobi.2011.11.010](https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2011.11.010).
114. Ipsilantis I., Samourelis C., Karpouzias D.G. The impact of biological pesticides on arbuscular mycorrhizal fungi // Soil Biol. Biochem. 2012. V. 45. P.147-155. doi: [10.1016/j.soilbio.2011.08.007](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.08.007).
115. International Standard ISO 11268-1. Soil quality – effects of pollutants on earthworms (*Eisenia foetida*). 1. Determination of Acute Toxicity Using Artificial Soil Substrate. International Organization for Standardization, Genf. 1993.
116. International Standard ISO 11268-2. Soil quality – effects of pollutants on earthworms (*Eisenia foetida*). 2. Determination of Effects on Reproduction. International Organization for Standardization, Genf. 1998.
117. ISO 17512-1. Soil quality-Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour-Part 1: Test with earthworms (*Eisenia foetida* and *Eisenia andrei*).
118. IUSS Working Group WRB. World reference base for soil resources. World Soil Resources Reports. № 103. FAO. Rome. 2006.
119. Jacobsen C.S., Hjelmsø M.H. Agricultural soils, pesticides and microbial diversity // Current opinion in biotechnology. 2014. V. 27. P. 15-20. doi: [10.1016/j.copbio.2013.09.003](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.09.003).

120. Jager T., Fleuren R.H., Hogendoorn E.A., De Korte G. Elucidating the routes of exposure for organic chemicals in the earthworm, *Eisenia andrei* (Oligochaeta) // Environmental science & technology. 2003. T. 37. №. 15. P. 3399-3404.
121. Jager T. Evaluation of EUSES: inventory of experiences and validation activities RIVM Report 679102048. National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, Netherlands. 1998.
122. Jana T.K., Debnath N.C., Basak R.K. Effect of insecticides on decomposition of organic matter, ammonification and nitrification in a fluventic Ustochrept. // J. Indian Soc. Soil Sci. 1998. V. 46. P. 133–134.
123. Jarvis N.J. MACRO-a model of water movement and solute transport in macroporous soils // Reports and Dissertations no. 9, Department of Soil Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden. 1991. P. 58.
124. Jarvis N.J. The implications of preferential flow for the use of simulation models in the registration process // Proceedings of the 5th International Workshop, Environmental Behaviour of Pesticides and Regulatory Aspects. Salombier, Brussels. 1995. P. 464-469.
125. Jarvis N.J., Brown C.D., Granitza E. Sources of error in model predictions of pesticide leaching: a case study using the MACRO model // Agricultural Water Management. 2000. № 44. P. 247-262.
126. Jarvis N.J., The MACRO model (Version 3.1). Technical description and sample simulations // Reports and Dissert. 19. Dept. Soil Sci., Swedish Univ. Agric. Sci., Uppsala, Sweden. 1994. P. 51.
127. Jena P.K., Adhya T.K., Rao R.V. Influence of carbaryl on nitrogenase activity and combinations of butachlor and carbofuran on nitrogen-fixing micro-organisms in paddy soils // Pest Management Science. 1987. V.19. P. 179-184. doi: [10.1002/ps.2780190303](https://doi.org/10.1002/ps.2780190303).

128. Jin H., Germida J.J., Walley F.L. Suppressive effects of seed-applied fungicides on arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) differ with fungicide mode of action and AMF species // *Applied Soil Ecology*. 2013. V.72. № 10. P. 22-30. doi: [10.1016/j.apsoil.2013.05.013](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.05.013).
129. Katagi T., Ose K. Toxicity, bioaccumulation and metabolism of pesticides in the earthworm // *Journal of Pesticide Science*. 2015. P. D15-003.
130. Katayama A., Funasaka K., Fujie K. Changes in the respiratory quinone profile of a soil treated with pesticides // *Biology and fertility of soils*. 2001. V. 33. P. 454–459. doi: [10.1007/s003740100355](https://doi.org/10.1007/s003740100355).
131. Klobučar G., Štambuk A., Šrut M., Husnjak I., Merkaš M., Traven L., Cvetković Z. *Aporrectodea caliginosa*, a suitable earthworm species for field based genotoxicity assessment? // *Environmental pollution*. 2011. T. 159. №. 4. P. 841-849.
132. Knabel A., Stehle S., Schahafer R., Schulz R. Regulatory FOCUS surface water models fail to predict insecticide concentration in the field // *Environmental Science & Technology*. 2012. V.46. P. 8397-8404.
133. Kogan M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments // *Annual review of entomology*. 1998. T. 43. №. 1. P. 243-270.
134. Kremer R.J., Means N.E. Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms // *European Journal of Agronomy*. 2009. V. 31. P. 153–161. doi: [10.1016/j.eja.2009.06.004](https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.06.004).
135. Lavelle P., Decaëns T., Aubert M., Barot S., Blouin M., Bureau F., Rossi J.P. Soil invertebrates and ecosystem services // *European journal of soil biology*. 2006. T. 42. P. S3-S15.
136. Leistra M., van der Linden A.M.A., Boesten J.J.T.I, Tiktak A., van den Berg F. PEARL model for pesticide behavior and emissions in soil-plant systems; Descriptions of the processes in FOCUS PEARL v 1.1.1 // Alterra, Green World Research. Wageningen. 2001.

137. Levitan, L. An overview of pesticide impact and risk assessment systems, in OECD Workshop on Pesticide Risk Indicators. Copenhagen. 1997.
138. Lewis K.A., Green A., Tzilivakis J. and Warner D. The Pesticide Properties DataBase (PPDB) developed by the Agriculture & Environment Research Unit (AERU) University of Hertfordshire. 2006-2015.
139. Li Y. Treating wheat seeds with neonicotinoid insecticides does not harm the rhizosphere microbial community // *PloS one*. 2018. T. 13. №. 12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205200>.
140. Lo C.-C. Effect of pesticides on soil microbial community // *Journal of Environmental Science and Health. Part B*. 2010. V.45. P. 348-359. doi: [10.1080/03601231003799804](https://doi.org/10.1080/03601231003799804).
141. Lowe C.N. Culture techniques for soil dwelling earthworms: a review / C.N. Lowe, K.R. Butt // *Pedobiologia*. 2005. T. 49. №. 5. P. 401-413.
142. Martinez-Toledo M.V., Salmeron V., Gonzalez-Lopez J. Effect of an organophosphorus insecticide, profenofos, on agricultural soil microflora. *Chemosphere*. 1992. V. 24 P. 71–80.
143. McEwen F.L. et al. The use and significance of pesticides in the environment. John Wiley & Sons. 1979.
144. Moorman T.B. A review of pesticide effects on microorganisms and microbial processes related to soil fertility // *Journal of Production Agriculture*. 1989. V. 2. P. 14–23. doi:10.2134/jpa1989.0014.
145. Moser Römbke J T., Van Gestel C.A., Jones S.E., Koolhaas J.E., Rodrigues J.M. Ring-testing and field-validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TME)—an instrument for testing potentially harmful substances: effects of carbendazim on enchytraeids // *Ecotoxicology*. 2004. T. 13. №. 1-2. P. 89-103.
146. Mukherjee P. K., Chandra J., Retuerto M., Sikaroodi M., Brown R. E., Jurevic R. Oral mycobiome analysis of HIV-infected patients: identification of *Pichia* as an antagonist of opportunistic fungi // *PLoS Pathog*. 2014. 10:e1003996. doi: 10.1371/journal.ppat.1003996

147. Nechitaylo T.Y., Timmis K.N., Golyshin P.N. 'Candidatus Lumbricincola', a novel lineage of uncultured Mollicutes from earthworms of family Lumbricidae // Environmental microbiology. 2009. T. 11. №. 4. P. 1016-1026.
148. Neuhauser E.F. Growth and reproduction of the earthworm *Eisenia foetida* exposed to sublethal concentrations of organic chemicals // Soil Biology and Biochemistry. 1990. T. 22. №. 2. P. 175-179.
149. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 317, «Bioaccumulation in Terrestrial Oligochaetes». 2010.
150. Panettieri M., Lazaro L., López-Garrido R., Murillo J.M., Madejón E. Glyphosate effect on soil biochemical properties under conservation tillage // Soil and Tillage Research. 2013. V. 133. P. 16–24. doi:10.1016/j.still.2013.05.007.
151. Pass D.A., Morgan A.J., Read D.S., Field D., Weightman A.J., Kille P. The effect of anthropogenic arsenic contamination on the earthworm microbiome // Environmental microbiology. 2015. V. 17(6). P. 1884-1896.
152. Pease W.S., Liebman J., Landy D., Albright D. Pesticide use in California. Strategies for reducing environmental health impacts. Berkeley: University of California. 1996. P. 116.
153. Pelosi C., Barot S., Capowiez Y., Hedde M., Vandebulcke F. Pesticides and earthworms. A review // Agronomy for Sustainable Development. – 2014. – T. 34. №. 1. P. 199-228.
154. Pereira J., Antunes S.C., Castro B.B., Marques C.R., Goncalves A.M., Goncalves F., Pereira R. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient // Ecotoxicology. 2009. T. 18. №. 4. P. 455-463.
155. Powell J.R., Campbell R.G., Dunfield K.E., Gulden R.H., Hart M.M., Levy-Booth D.J., Antunes P.M. Effect of glyphosate on the tripartite symbiosis formed by *Glomus intraradices*, *Bradyrhizobium japonicum*, and genetically

- modified soybean // *Applied Soil Ecology*. 2009. V. 41. P. 128–136. doi:10.1016/j.apsoil.2008.10.002.
156. Ratcliff A.W., Busse M.D., Shestak C.J. Changes in microbial community structure following herbicide (glyphosate) additions to forest soils // *Applied Soil Ecology*. 2006. V.34. P. 114-124. doi: [10.1016/j.apsoil.2006.03.002](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.03.002).
157. Report of the OECD Pesticide Aquatic Risk Indicators Expert Group. Paris: OECD. 2002. P. 58.
158. Reus J., Leendertse P., Bockstaller C., Fomsgaard I, Gutsche V., Lewis K., Nilsson C., Pussemier L., Trevisan M., H. van der Welf, Alfarroba F., Blumel S., Isart J., McGrath D., Seppala T. Comparison and evaluation of eight pesticide environmental risk indicators developed in Europe and recommendation for future use // *Agriculture Ecosystems and Environment*. 2002. V.90. P. 177-187.
159. Riah W., Laval K., Laroche-Ajzenberg E., Mougin C., Latour X., Trinsoutrot-Gattin I. Effects of pesticides on soil enzymes: a review // *Environ. Chem. Lett.* 2014. V. 12. P. 257–273. doi: [10.1007/s10311-014-0458-2](https://doi.org/10.1007/s10311-014-0458-2).
160. Rodríguez-Castellanos L. Earthworm biomarkers of pesticide contamination: current status and perspectives / L. Rodriguez-Castellanos, C. Sanchez-Hernandez // *Journal of Pesticide Science*. 2007. P. 0710050002-0710050002.
161. Ros M., Goberna M., Moreno J.L., Hernandez T., Garcia C., Insam H., Pascual J.A. Molecular and physiological bacterial diversity of a semi-arid soil contaminated with different levels of formulated atrazine // *Applied Soil Ecology*. 2006. V.34. P. 93-102. doi: [10.1016/j.apsoil.2006.03.010](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.03.010).
162. Rose M.T., Cavagnaro T.R., Scanlan C.A., Rose T.J., Vancov T., Kimber S., Van Zwieten L. Impact of Herbicides on Soil Biology and Function / *Advances in Agronomy*. 2016. P. 133–220. doi:10.1016/bs.agron.2015.11.005.
163. SANCO, D. Guidance Document on terrestrial ecotoxicology under Council Directive 91/414/EEC. Sanco/10329/2002 rev, 2.

164. Schreiner R.P., Bethlenfalvay G.J. Mycorrhizae, biocides, and biocontrol 3. Effects of three different fungicides on developmental stages of three AM fungi // *Biol. Fertil. Soils*. 1997. V. 24. P. 18-26. doi: [10.1007/BF01420215](https://doi.org/10.1007/BF01420215).
165. Schäfer R.B. et al. Future pesticide risk assessment: narrowing the gap between intention and reality // *Environmental Sciences Europe*. 2019. T. 31. №. 1. P. 21.
166. Scorza R.P.J., Boesten J.J.T.I. Simulation of pesticide leaching in a cracking clay soil with the PEARL model // *Society of Chemical Industry*. 2005. P. 432-448.
167. Sigler W.V., Turco R.F. The impact of chlorothalonil application on soil bacterial and fungal populations as assessed by denaturing gradient gel electrophoresis // *Applied Soil Ecology*. 2002. V.21. P. 107-118. doi: [10.1016/S0929-1393\(02\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00088-4).
168. Skevas T., Lansink A.O., Stefanou S.E. Designing the emerging EU pesticide policy: A literature review // *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences*. 2013. T. 64. P. 95-103.
169. Spikkerud E. Pesticide Aquatic Risk Indicators: Testing the OECD indicators REXTOX, ADSCOR and SYSCOR and the Norwegian aquatic risk indicator with estimates of use data from Norway. 2002.
170. Springett J.A., Gray A.J. Effect of repeated low doses of biocides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* in laboratory culture // *Soil Biology and Biochemistry*. 1992. T. 24. №. 12. P. 1739-1744.
171. Spurgeon D.J. A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology: The 7th international symposium on earthworm ecology·Cardiff Wales 2002 // *Pedobiologia*. 2003. T. 47. №. 5-6. P. 588-606.
172. Srinivasulu, M., Ortiz, D.R. Effect of pesticides on bacterial and fungal populations in Ecuadorian tomato cultivated soils. *Environ. Process*. 2017. V. 4. P. 93–105.

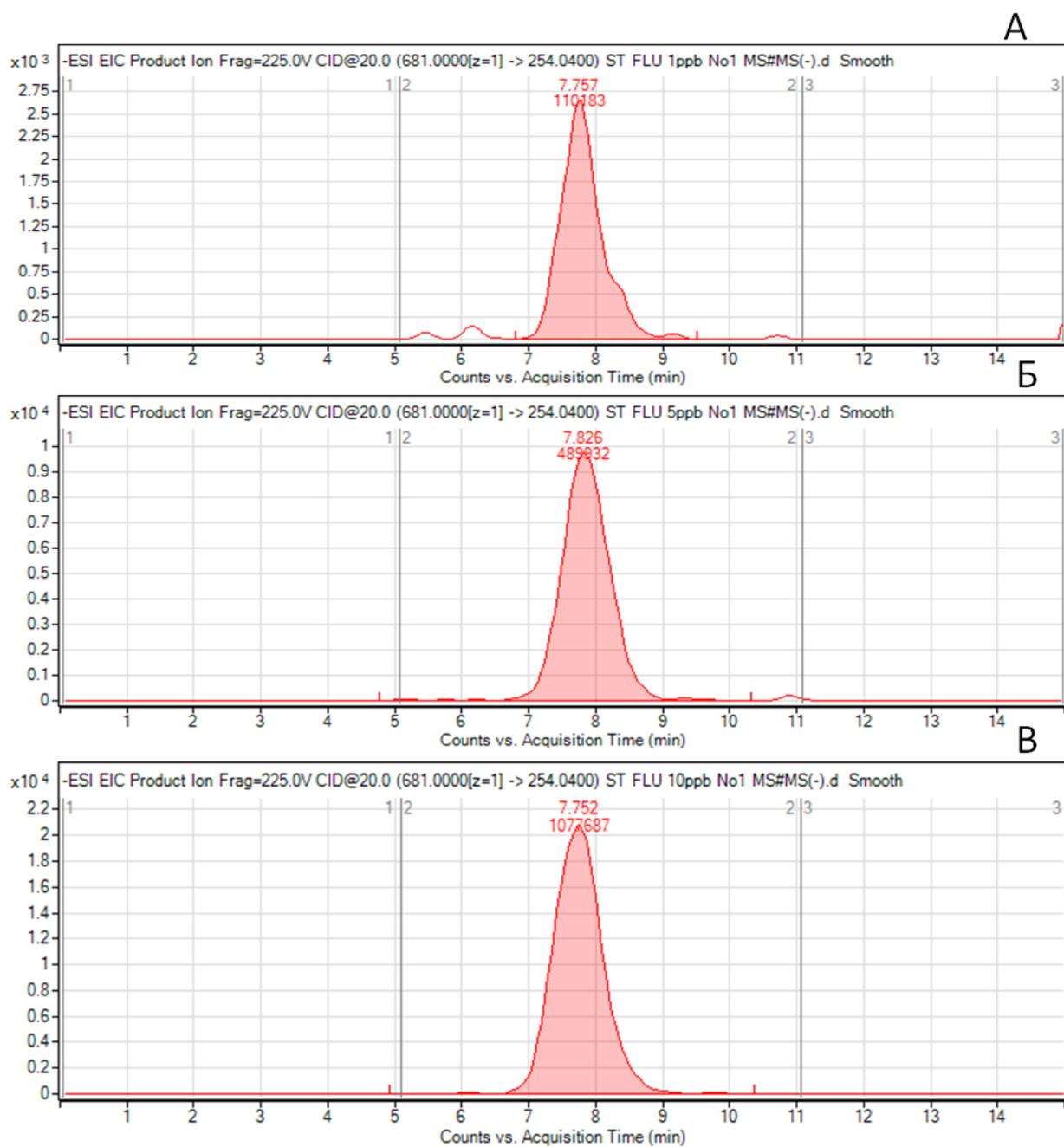
173. Streissl F., Egsmose M., Tarazona J.V. Linking pesticide marketing authorisations with environmental impact assessments through realistic landscape risk assessment paradigms // *Ecotoxicology*. 2018. T. 27. №. 7. P. 980-991.
174. Surface Water Tool for Exposure Predictions – Step 1 and Step 2 – developed by the FOCUS Surface water group. Version 3.2; <https://esdac.jrc.ec.europa.eu/projects/stepsonetwo> (дата обращения 01.06.2019).
175. Svendsen C., Spurgeon D.J., Hankard P.K., Weeks J.M. A review of lysosomal membrane stability measured by neutral red retention: is it a workable earthworm biomarker? // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2004. T. 57. №. 1. P. 20-29.
176. Swanson M.B., Davis G.A., Kincaid L.E., Schults T.W., Bartmess J.E., Jones S.L. and George E.L. CHEMS 1: Screening Method for ranking and scoring chemicals by potential human health and environmental impacts // *Environmental Toxicology & Chemistry*. 1997. V.16. №2, P. 372-383.
177. Trevisan M., Padovani L., Jarvis N., Roulier S., Bouraoui F., Klein M., Boesten J. Validation status of the present pec groundwater models. Proceeding of XII Symposium Pesticide Chemistry. Piacenza, Italy. 2003. P. 933-940.
178. Tyess D.L., Shea P.J., Parkhurst A.M. Mineralization potential of atrazine and degradation intermediates from clustered characteristics in inoculated soils. *Soil Sed. Contam.* 2006. V. 15. P. 87–102.
179. Van der Werf H.M.G. Assessing the impact of pesticides on the environment // *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 1996. T. 60. №. 2-3. P. 81-96.
180. Van Gestel C.A.M., Dirven-Van Breemen E.M., Baerselman R., Emans H.J.B., Janssen J.A.M., Postuma R., Van Vliet P.J.M. Comparison of sublethal and lethal criteria for nine different chemicals in standardized toxicity tests using the earthworm *Eisenia andrei* // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 1992. T. 23. №. 2. P. 206-220.

181. Vereecken H. et al. Modeling soil processes: Review, key challenges, and new perspectives // *Vadose zone journal*. 2016. T. 15. №. 5.
182. Wang M, Liu Y, Wang Q, Gong M, Hua XYP, Hu S, Yang Y. Impacts of methamidophos on the biochemical, catabolic and genetic characteristics of soil microbial communities. *Soil Biol Biochem*. 2008. 40. P. 778–788.
183. Wang R., Zhang H., Sun L., Qi G., Chen S., Zhao X. Microbial community composition is related to soil biological and chemical properties and bacterial wilt outbreak // *Scientific Reports*. 2017. V, 7. P. 1-10. doi: [10.1038/s41598-017-00472-6](https://doi.org/10.1038/s41598-017-00472-6).
184. Wang Y., Cang T., Zhao X., Yu R., Chen L., Wu C., Wang Q. Comparative acute toxicity of twenty-four insecticides to earthworm, *Eisenia foetida* // *Ecotoxicology and environmental safety*. 2012. T. 79. P. 122-128.
185. Willey J.M. et al. *Prescott's principles of microbiology*. McGraw-Hill Higher Education. 2009.
186. WRB I.W.G. World reference base for soil resources // *World soil resources reports*. 2006. T. 103. P. 1-128.
187. Yang G., Chen C., Wang Y., Peng Q., Zhao H., Guo D., Qian Y. Mixture toxicity of four commonly used pesticides at different effect levels to the epigeic earthworm, *Eisenia foetida*. // *Ecotoxicology and environmental safety*. 2017. T. 142. P. 29-39.
188. Yasmin S. Effect of pesticides on the reproductive output of *Eisenia foetida* // *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 2007. T. 79. №. 5. P. 529-532.
189. Yasmin S. Effects of pesticides on the growth and reproduction of earthworm: a review // *Applied and Environmental Soil Science*. 2010. T. 2010.
190. Zabaloy M.C. et al. Herbicides in the Soil Environment: Linkage between Bioavailability and Microbial Ecology. 2011. P. 161–192.

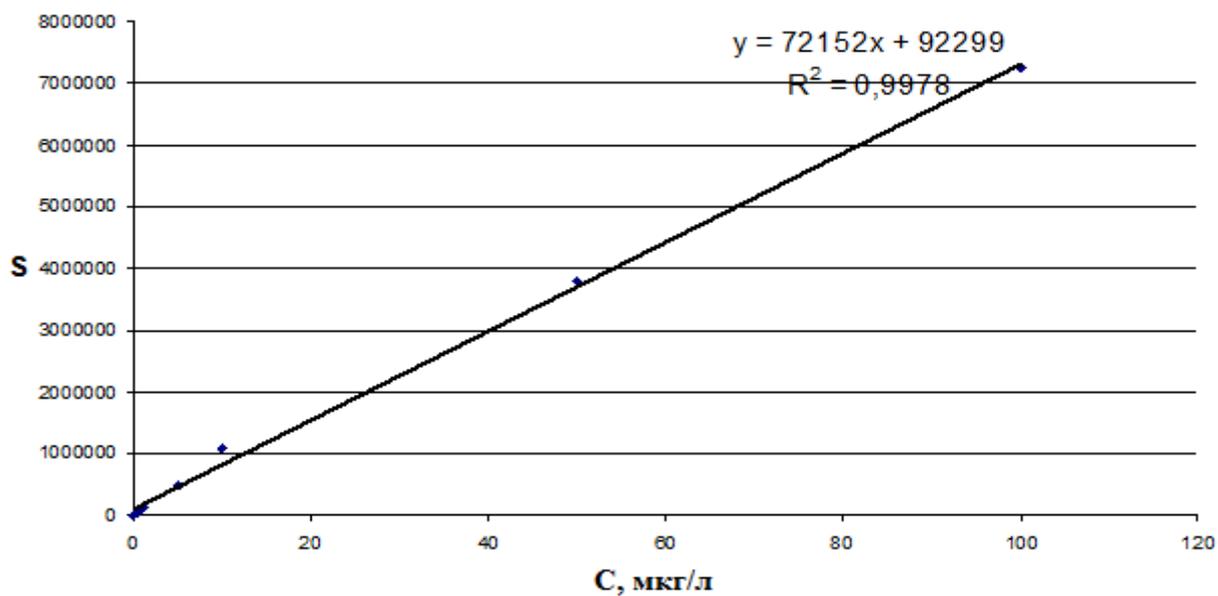
191. Zablotowicz R.M., Reddy K.N. Nitrogenase activity, nitrogen content, and yield responses to glyphosate in glyphosate-resistant soybean // Crop Protection. 2007. V. 26. P. 370–376. doi: [10.1016/j.cropro.2005.05.013](https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.05.013).
192. Zhai Q. et al. Effect of dietary probiotic supplementation on intestinal microbiota and physiological conditions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under waterborne cadmium exposure // Antonie Van Leeuwenhoek. 2017. T. 110. №. 4. P. 501-513.
193. Zhang Q. Toxic effects of acetochlor and methamidophos on earthworm *Eisenia foetida* in phaeozem, northeast China // Journal of Environmental Sciences. 2006. T. 18. №. 4. P. 741-745.
194. Zhou S., Duan C., Michelle W.H.G., Yang F., Wang X., Individual and combined toxic effects of cypermethrin and chlorpyrifos on earthworm // Journal of Environmental Sciences. 2011. T. 23. №. 4. P. 676-680.
195. Zobiolo L.H.S., Kremer R.J., Oliveira R.S., Constantin J. Glyphosate affects micro-organisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans // Journal of Applied Microbiology. 2010. V. 110. P. 118–127. doi:10.1111/j.1365-2672.2010.04864.x
196. Zobiolo L.H.S., Oliveira R.S., Kremer R.J., Constantin J., Yamada T., Castro C., Oliveira A. Effect of glyphosate on symbiotic N<sub>2</sub> fixation and nickel concentration in glyphosate-resistant soybeans // Applied Soil Ecology. 2010. V. 44. P. 176–180. doi:10.1016/j.apsoil.2009.12.003.
197. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/projects/ppdb/index.htm> (дата обращения 02.06.2019)
198. <http://www.efsa.europa.eu/> (дата обращения 07.05.2019)
199. <https://www.epa.gov/risk/ecological-risk-assessment> (дата обращения 07.05.2019)
200. <http://www.eea.europa.eu/publications/GH-07-97-595-EN-C2/chapter6h.html> (дата обращения 07.05.2019)

201. <http://www.egeis-toolbox.org/documents/4%20Drinking%20water%20legislation%20draft%20v3%20.pdf> (дата обращения 02.06.2019)
202. <http://penreg.ru/> (дата обращения 05.08.2019)

## ПРИЛОЖЕНИЕ А



**Рис. 1.** Типичные хроматограммы стандартных растворов флубендиамида: А – 1 мкг/л; Б – 5 мкг/л; В – 10 мкг/л



**Рис. 2.** Калибровочный график для определения концентраций флубендиамида в экстрактах из почв, где  $S$  – площадь пика в условных единицах,  $C$  – концентрация растворов флубендиамида, мкг/л.

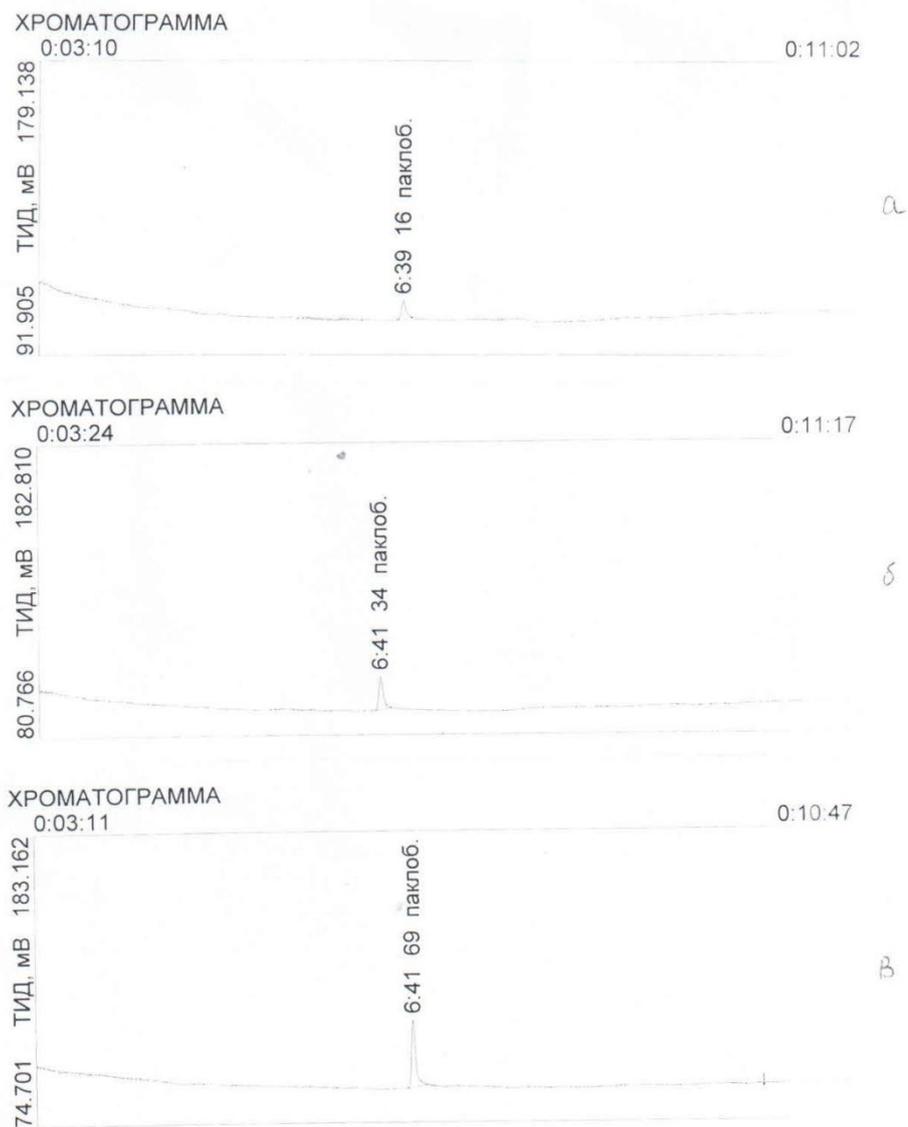
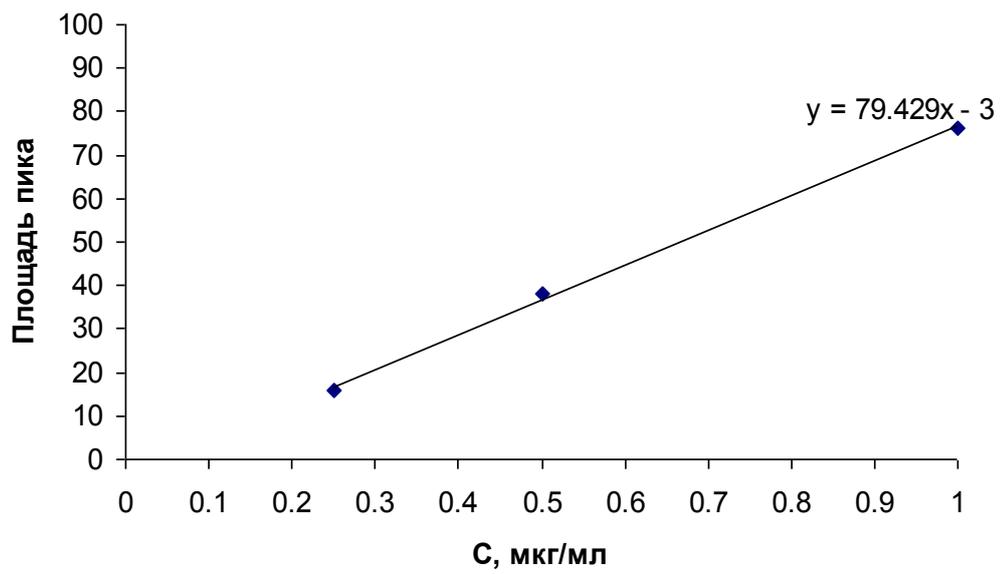


Рис. 1. Хроматограммы стандартных растворов паклобутразола в смеси гексан-ацетилацетат (8:2): а – 0,25; б – 0,5; в – 1,0 мкг/мл.

Условия хроматографирования: газовый хроматограф “Кристалл 2000/1” с термоионным детектором (ТИД). Колонка капиллярная ZB-1 (30,0м x 0,32мм x 0,25 мкм). Температура детектора – 320°C, термостата: испарителя – 270°C, колонки (программа: от 170°C (2 мин.) со скоростью 20°C/мин до 240°C (5 мин), со скоростью 5°C/мин до 270°C (3 мин)). Расход газа-носителя (азот) – 80 кПа, водород – 10 мл/мин, воздух – 190 мл/мин. Объем вводимой пробы 1 мл. Время удерживания паклобутразола 6 мин. 39сек.- 6 мин. 41сек.



**Рис.4.** Калибровочный график для определения паклобутрозола

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Агрометеорологические показатели вегетационного сезона 2013года  
(Московская обл., данные агрометеостанции ВНИИФ)

Дата	Температура воздуха, °С		Температура почвы на глубине 10 см, °С		Осадки, мм
	(min)	(max)	(9 часов)	(15 часов)	
<i>июнь</i>					
1	11.2	28.1	16.2	18.6	0.0
2	10.9	25.1	16.4	18.4	0.0
3	11.8	27.4	16.2		0.0
4	10.6	28.3			0.0
5	10.9	26.6	16.7	22.6	0.0
6	7.2	23.4			0.0
7	10.7	20.7			3.0
8	8.5	24.1			0.2
9	12.5	26.6			0.0
10	12.1	26.7		18.9	0.1
За I декаду	10.6	25.7			3.3
11	16.2	24.5	17.5	18.9	0.0
12	12.3	22.5	17.2	17.9	0.3
13	9.4	23.9	15.6	17.6	0.0
14	9.7	25.4	15.8	17.9	0.0
15	11.8	29.1	16.1	18.5	0.0
16	15.4	26.8	17.9	19.0	0.0
17	13.9	23.1	18.3	19.0	0.0
18	11.4	20.0	16.5	17.9	0.0
19	11.2	23.5	16.1	17.5	0.0
20	9.8	23.6	15.4	17.2	0.0
За II декаду	12.1	24.2	16.6	18.1	0.3
21	9.1	22.6	15.1	17.0	0.0
22	10.9	18.4	15.7	16.0	0.0
23	13.9	25.6	15.8	17.2	0.0
24	13.6	29.3	16.4	18.5	0.0
25	15.3	30.0	17.6	19.4	0.0
26	16.0	32.5	18.0	20.3	0.0
27	18.0	32.2	19.5	21.3	0.0
28	17.1	32.2	19.9	21.7	0.0
29	17.4	32.6	19.8	21.8	0.0
30	17.7	30.4	21.0	23.0	0.0
За III декаду	14.9	28.6	17.9	19.6	0.0
За месяц	12.6	26.2			3.6

Дата	Температура воздуха, °С		Температура почвы на глубине 10 см, °С		Осадки, мм
	(min)	(max)	(9 часов)	(15 часов)	
<i>июль</i>					
1	15.3	25.4	23.7	22.7	0.0
2	15.6	28.7	19.6	21.1	0.0
3	14.4	30.7	19.9	20.4	0.0
4	16.1	31	19.0	21.0	0.0
5	17.6	30.8	19.8	22.2	0.0
6	15.8	31.0	19.6	21.5	0.0
7	16.3	27.4	19.7	21.2	0.0
8	15.3	25.7	19.3	21.2	0.0
9	15.2	24.5	19.1	20.0	0.0
10	12.8	25.9	18.3	20.5	0.0
За I декаду	15.4	28.1	19.8	21.2	0.0
11	13.3	26.5	18.9	20.7	0.0
12	12.3	27.4	18.5	21.2	0.0
13	13.1	27.6	18.8	21.5	0.0
14	15.6	23.3	19.5	19.6	0.0
15	15.5	22.6	18.9	20.1	0.9
16	16.1	23.8	19.2	21.1	3.0
17	11.8	22.3	18.4	20.0	0.2
18	8.4	23.9	17.0	19.9	0.0
19	10.0	24.2	17.0	19.0	0.2
20	14.4	20.7	18.1	18.4	6.8
За II декаду	13.1	24.2	18.4	20.2	11.1
21	11.8	16.0	17.8	17.9	10.9
22	11.4	19.2	16.1	17.1	4.1
23	12.3	20.2	16.7	18.0	0.9
24	11.2	22.1	16.9	19.5	3.5
25	11.2	21.9	16.6	18.6	1.6
26	14.6	22.7	17.7	18.2	9.9
27	13.8	17.0	17.6	18.1	1.5
28	13.9	19.8	17.0	18.0	0.0
29	14.7	19.2	17.5	18.6	0.0
30	14.6	24.5	17.0	17.7	1.2
31	14.5	21.8	17.3	18.4	0.1
За III декаду	13.1	20.4	17.1	18.2	33.7
За месяц	13.8	24.1	18.4	19.8	44.8

Дата	Температура воздуха, °C		Температура почвы на глубине 10 см, °C		Осадки, мм
	(min)	(max)	(9 часов)	(15 часов)	
<i>август</i>					
1	13.8	26.1	16.6	19.2	0.0
2	12.8	22.8	18.1	20.1	0.0
3	10.2	24.2	16.8	19.8	0.0
4	16.7	22.4	18.8	19.7	0.0
5	15.8	23.0	18.5	19.8	2.9
6	14.7	26.9	18.5	20.9	0.2
7	14.6	27.6	18.6	22.0	0.0
8	13.4	28.2	19.1	22.3	0.0
9	12.1	30.9	18.8	22.5	0.0
10	16.8	29.1	20.3	23.3	0.0
За I декаду	14.1	26.1	18.4	21.0	3.1
11	14.2	31.2	19.9	23.5	18.2
12	15.0	24.0	20.5	22.0	0.0
13	12.2	26.3	18.5	21.2	0.1
14	13.8	25.0	18.7	21.5	6.5
15	13.7	21.3	19.0	19.9	0.0
16	9.0	22.6	16.7	19.1	0.0
17	8.4	24.3	16.1	18.7	0.0
18	8.2	25.5	16.0	18.7	0.1
19	8.6	26.0	16.3	18.6	0.0
20	8.5	26.4	16.0	18.6	0.0
За II декаду	11.2	25.3	17.8	20.2	24.9
21	10.4	28.0	16.5	19.0	0.0
22	14.1	28.2	18.1	20.1	0.0
23	12.2	27.3	17.7	19.7	8.2
24	12.6	16.0	18.2	17.7	5.7
25	11.7	16.4	16.1	16.2	3.2
26	8.8	20.8	15.3		0.1
27	5.7	17.0		20.5	0.0
28	6.7	21.0	28.0	24.0	0.6
29	11.5	20.3	23.1	19.1	0.4
30	9.3	18.7	19.7	16.3	1.9
31	13.0	18.1	16.1	16.9	13.4
За III декаду	10.5	21.1			33.5
За месяц	11.9	24.1			61.5

Дата	Температура воздуха, °С		Температура почвы на глубине 10 см, °С		Осадки, мм
	(min)	(max)	(9 часов)	(15 часов)	
<i>сентябрь</i>					
1	12.8	14.3	15.9	15.7	15.4
2	10.6	19.9	15.6	25.8	0.3
3	7.8	19.2	24.2	25.4	0.3
4	8.0	12.7	24.8	24.9	5.3
5	7.5	8.4	22.4	21.8	16.6
6	8.0	11.4	20.6	20.6	15.5
7	9.3	17.9	21.3	22.2	2.0
8	10.4	16.1	22.7	23.0	0.0
9	7.9	19.9	21.3	23.6	0.0
10	6.8	19.0	22.2	23.5	0.0
За I декаду	8.9	15.9	21.1	22.7	55.4
11	4.6	13.6	21.5	21.7	0.0
12	2.3	17.1	19.1	20.2	0.0
13	3.4	16.1	18.8	19.9	3.9
14	10.9	11.9	21.4	21.7	1.5
15	10.7	12.1	21.7	21.9	10.6
16	12.0	15.3	22.0	21.9	7.2
17	11.7	15.3	21.8	23.2	5.2
18	11.4	19.9	22.1	14.1	0.1
19	10.7	15.7	13.4	13.5	0.2
20	9.7	13.9	13.3	13.3	0.5
За II декаду	8.7	15.1	19.5	19.1	29.2
21	9.3	11.2	12.7	12.6	19.7
22	9.0	13.0	11.9	12.1	1.9
23	7.5	10.8	12.0	12.0	11.6
24	6.1	9.4	11.2	11.3	15.3
25	3.4	8.9	10.1	10.1	0.5
26	1.0	7.1	8.6	8.4	0.0
27	-2.6	9.0	7.2	7.7	0.0
28	2.8	9.6	7.7	8.1	0.0
29	2.0	7.1	7.8	8.1	0.5
30	0.4	2.8	7.3	7.2	0.0
За III декаду	3.9	8.9	9.7	9.8	49.5
За месяц	7.2	13.3	16.8	17.2	134.1

Агрометеорологические показатели вегетационного сезона 2013 года  
(Курская обл., данные агрометеостанции ОППХ ВНИИЗиЗПЭ,  
Медвенский р-н, Панино)

Дата	Температура воздуха, °С			Осадки, мм
	(min)	(средняя)	(max)	
<i>июнь</i>				
1	15.0	20.7	26.1	0.0
2	15.3	18.2	22.6	0.9
3	13.1	15.5	19.1	9.5
4	14.3	19.1	24.0	0.0
5	15.6	21.4	26.9	0.0
6	13.8	18.7	22.6	0.3
7	12.3	18.2	23.4	0.0
8	12.3	20.0	25.5	0.0
9	14.7	19.3	25.6	9.1
10	14.7	20.6	26.7	0.1
За I декаду	14.1	19.2	24.3	19.9
11	17.3	23.1	28.4	1.0
12	18.9	22.2	27.4	0.4
13	14.9	19.9	24.4	2.0
14	15.1	21.3	26.6	0.0
15	16.9	24.0	29.0	0.0
16	17.9	24.8	30.5	0.6
17	21.0	24.1	28.9	0.0
18	15.1	19.2	22.9	0.0
19	12.4	17.3	22.3	0.0
20	11.7	18.1	23.3	0.0
За II декаду	16.1	21.4	26.4	4.0
21	13.6	19.2	23.4	0.0
22	12.0	17.8	23.0	0.0
23	12.5	17.1	21.0	0.0
24	14.4	20.6	26.6	0.0
25	18.4	23.8	29.9	0.0
26	18.9	22.8	31.4	13.0
27	17.3	23.5	30.9	5.0
28	20.3	25.4	30.9	0.1
29	17.4	22.4	27.6	0.0
30	17.5	21.5	26.1	0.0
За III декаду	16.2	21.4	27.1	18.1
За месяц	15.5	20.7	25.9	42.0

Дата	Температура воздуха, °С			Осадки, мм
	(min)	(средняя)	(max)	
<i>июль</i>				
1	17.4	20.8	26.1	1.0
2	17.2	21.5	28.1	0.3
3	16.3	23.4	29.0	0.0
4	19.1	24.9	30.5	0.0
5	19.9	23.6	29.8	0.1
6	18.9	25.3	31.4	0.0
7	20.3	25.3	31.7	0.0
8	18.3	22.4	27.1	0.0
9	13.7	19.6	25.5	0.0
10	15.0	20.2	25.6	0.0
За I декаду	17.6	22.7	28.5	1.4
11	17.4	22.6	27.9	0.0
12	16.4	22.6	28.0	5.0
13	18.4	22.2	26.5	4.0
14	16.9	22.5	27.8	0.0
15	15.2	17.8	22.2	12.0
16	13.8	18.1	23.5	6.0
17	13.8	18.4	23.4	0.0
18	14.0	19.0	24.0	0.0
19	15.0	20.9	26.2	0.0
20	15.2	18.6	22.6	0.3
За II декаду	15.6	20.3	25.2	27.3
21	10.6	13.3	18.5	3.7
22	9.8	13.9	19.0	4.0
23	9.4	13.5	18.4	0.7
24	12.0	14.8	19.1	0.4
25	11.5	17.0	23.0	0.0
26	11.9	16.6	21.4	0.5
27	12.5	16.1	19.7	0.0
28	13.7	18.6	23.6	0.0
29	12.8	17.1	21.5	0.0
30	13.4	17.5	23.2	3.0
31	13.5	19.4	25.2	0.0
За III декаду	11.9	16.2	21.1	12.3
За месяц	14.9	19.6	24.8	41.0

Дата	Температура воздуха, °С			Осадки, мм
	(min)	(средняя)	(max)	
<i>август</i>				
1	14.2	20.4	26.0	0.0
2	15.8	19.5	24.5	0.0
3	13.3	15.4	20.0	11.0
4	12.7	18.4	24.5	18.0
5	15.4	18.9	23.4	0.1
6	15.8	19.3	25.7	2.0
7	17.6	20.8	26.8	4.3
8	15.9	21.8	27.1	0.0
9	16.4	22.4	28.2	0.0
10	17.0	24.2	30.5	0.0
За I декаду	15.4	20.1	25.7	35.4
11	19.9	25.8	31.2	0.0
12	20.4	24.5	31.4	1.0
13	17.1	22.9	29.3	7.0
14	18.9	24.2	29.2	0.0
15	15.1	18.8	23.8	7.0
16	14.5	18.7	23.3	0.0
17	13.0	18.9	24.3	0.0
18	13.2	19.0	24.5	0.0
19	14.3	19.6	25.0	0.0
20	16.0	20.2	25.9	0.0
За II декаду	16.2	21.3	26.8	15.0
21	15.0	20.5	25.2	0.0
22	15.4	21.8	27.5	0.0
23	15.2	22.5	29.0	0.0
24	13.7	19.5	25.6	0.0
25	11.9	16.4	20.4	0.0
26	13.2	16.5	21.5	0.0
27	11.5	15.3	18.5	0.3
28	11.6	16.7	21.5	1.0
29	12.5	15.3	17.9	2.0
30	13.6	14.9	16.6	5.0
31	12.9	15.0	17.5	16.0
За III декаду	13.3	17.4	21.6	24.3
За месяц	14.9	19.6	24.7	74.7

Дата	Температура воздуха, °С			Осадки, мм
	(min)	(средняя)	(max)	
<i>сентябрь</i>				
1	12.5	13.9	17.5	0.9
2	11.5	14.4	19.7	3.0
3	10.1	12.1	16.0	2.0
4	6.4	11.0	17.0	0.0
5	9.0	9.9	11.8	2.3
6	7.8	9.7	11.9	0.9
7	9.6	11.0	13.1	4.0
8	9.1	11.9	15.6	3.0
9	9.9	12.3	17.8	0.0
10	9.9	13.7	19.5	1.0
За I декаду	9.6	12.0	16.0	17.1
11	7.7	13.2	18.5	0.0
12	8.9	15.0	20.8	0.0
13	12.5	15.2	19.0	2.0
14	12.3	13.3	16.2	8.1
15	12.9	14.4	17.4	21.0
16	11.3	14.3	19.0	0.1
17	9.9	14.0	19.0	0.0
18	11.1	15.7	20.4	0.0
19	10.9	13.8	17.5	14.0
20	8.5	11.0	14.0	4.0
За II декаду	10.6	14.0	18.2	49.2
21	9.9	11.5	13.8	3.1
22	9.9	10.6	12.4	2.3
23	6.6	8.8	10.1	14.0
24	6.0	7.3	9.7	7.0
25	4.7	7.0	8.5	0.4
26	1.9	4.9	8.6	0.0
27	2.1	4.1	7.7	7.0
28	1.1	3.9	8.0	0.9
29	3.5	5.2	8.7	1.0
30	1.2	3.7	7.3	0.9
За III декаду	4.7	6.7	9.5	36.6
За месяц	8.3	10.9	14.6	102.9

МЕТЕОРОЛОГИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА 2013 года  
(по данным метеостанции ВолжНИИГиМ, г. Энгельс)

Основные показатели	Месяцы и декады																	
	Апрель			Май			Июнь			Июль			Август			Сентябрь		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
<b>Температура воздуха, С</b>																		
Средняя многолетняя	4.1	8.9	11.5	14.4	16.6	17.7	19.8	21.6	21.9	22.5	23.3	23.3	22.5	21.1	19.9	16.8	13.9	11.0
Текущего года	7.6	9.3	12.1	16.8	21.9	20.1	19.4	21.5	22.0	23.2	22.1	19.0	21.1	23.6	19.8	16.0	13.7	9.9
<b>Осадки, мм</b>																		
Среднее многолетнее	5.9	6.3	10.0	9.8	6.9	11.5	9.2	13.2	11.8	11.4	15.1	11.7	11.7	14.9	10.9	15.1	19.1	10.8
Текущего года	12.1	0	18.7	10.6	1.2	32.2	3.7	42.4	48.9	1.3	4.9	31.0	8.8	0.0	2.3	42.8	14.1	58.2
<b>Влажность воздуха, %</b>																		
Средняя многолетняя	75	66	60	56	57	57	57	59	60	61	60	59	61	63	61	64	70	78
Текущего года	68	47	58	48	39	59	54	56	66	50	56	70	65	54	52	78	78	74

**Среднеголетние метеоданные районов исследования**  
**Московская обл.**

Среднеголетняя декадная температура воздуха (°С)

Декада	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь
I	10.8	15.0	16.9	17.5	12.7	6.5
II	12.2	15.8	17.6	15.6	10.0	4.8
III	13.5	16.7	17.4	14.4	8.1	2.1

Среднеголетняя сумма осадков по декадам (мм)

Декада	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь
I	14.1	24.8	29.8	23.8	22.5	17.0
II	19.1	23.4	28.6	20.6	22.0	18.6
III	21.4	24.3	25.7	27.6	18.7	20.2

**Курская обл.**

Среднеголетняя температура воздуха (°С) по месяцам

Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь
17.7	19.6	18.5	12.7	6.5

Среднеголетняя сумма осадков по месяцам (мм)

Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь
71	78	54	67	58

**Саратовская обл.**

Среднеголетняя декадная температура воздуха (°С)

Декада	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь
I	4.1	14.4	19.8	22.5	22.5	16.8
II	8.9	16.6	21.6	23.3	21.1	13.9
III	11.5	17.7	21.9	23.3	19.9	11.0

Среднеголетняя сумма осадков по месяцам (мм)

Декада	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь
I	5.9	9.8	9.2	11.4	11.7	15.1
II	6.3	6.9	13.2	15.1	14.9	19.1
III	10.0	11.5	11.8	11.7	10.9	10.8

## ПРИЛОЖЕНИЕ В

**Таблица 1**

Остаточные количества паклобутразола в слое 0-20 см (сравнение прогнозных и реальных значений)

Дерново-подзолистая почва (Московская область)		
дни	% от внесенного количества (модель PEARL 4.4.4)	% от внесенного количества (эксперимент)
0	100.00	100
7	96.87	103
14	94.54	118.2
28	87.96	84.8
56	72.48	66.7
84	57.74	65.7
114	46.85	28.3
Чернозем типичный (Курская область)		
дни	% от внесенного количества (модель PEARL 4.4.4)	% от внесенного количества (эксперимент)
0	100.00	100
7	97.51	82.3
16	94.86	76.1
31	88.76	71.7
64	67.60	59.3
92	56.55	54.9
Темно-каштановая почва (Саратовская область)		
дни	% от внесенного количества (модель PEARL 4.4.4)	% от внесенного количества (эксперимент)
0	100.00	100
7	80.57	87.4
15	66.30	38.6
30	40.13	28
60	17.13	22
90	5.96	14.9

## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Таблица 1

Влияние пестицидов на структуру прокариотного сообщества  
кишечного тракта *Lumbricus terrestris*

<b>taxon</b>	<b>taxa level</b>	<b>covariate</b>	<b>group. compared with</b>	<b>coefficient</b>	<b>p-value</b>	<b>adjusted p-value</b>
<i>c__Bacilli</i>	class	Беномил. 10 норма	10 норма	0.510	0.003	0.041
<i>c__Bacilli</i>	class	Беномил. норма	10 норма	0.497	0.001	0.023
<i>c__Bacilli</i>	class	Танрек. норма	10 норма	0.492	0.001	0.024
<i>c__Bacilli</i>	class	Лазурит. норма	10 норма	0.460	0.002	0.037
<i>c__Bacilli</i>	class	Бенорад.2 нормы	10 норма	0.410	0.005	0.046
<i>c__Thermoleophilia</i>	class	Лазурит. 10 норма	10 норма	0.274	0.005	0.046
<i>c__Bacilli</i>	class	Двойная норма	10 норма	0.259	0.003	0.040
<i>c__Thermoleophilia</i>	class	Лазурит. норма	10 норма	0.248	0.004	0.045
<i>c__Thermoleophilia</i>	class	Танрек. норма	10 норма	0.247	0.004	0.045
<i>c__Thermoleophilia</i>	class	Беномил. норма	10 норма	0.246	0.004	0.045
<i>c__Bacilli</i>	class	Норма применения	10 норма	0.238	0.005	0.045
<i>c__[Spartobacteria]</i>	class	Лазурит. норма	10 норма	0.186	0.003	0.043
<i>c__[Spartobacteria]</i>	class	Двойная норма	10 норма	0.172	0.001	0.021
<i>c__Planctomycetia</i>	class	Беномил. 10 норма	10 норма	0.166	0.002	0.037
<i>c__[Spartobacteria]</i>	class	Норма применения	10 норма	0.148	0.003	0.041
<i>c__Planctomycetia</i>	class	Танрек. норма	10 норма	0.120	0.004	0.045
<i>c__Deltaproteobacteria</i>	class	Танрек. норма	10 норма	0.118	0.004	0.045
<i>c__Deltaproteobacteria</i>	class	Беномил. норма	10 норма	0.114	0.006	0.046
<i>c__Planctomycetia</i>	class	Двойная норма	10 норма	0.096	0.004	0.045
<i>c__Verrucomicrobiae</i>	class	Танрек. норма	10 норма	0.090	0.001	0.021
<i>c__Verrucomicrobiae</i>	class	Лазурит.2 нормы	10 норма	0.071	0.005	0.046
<i>c__Acidobacteria-5</i>	class	Танрек. 10 норма	10 норма	0.050	0.001	0.020
<i>c__Acidobacteria-5</i>	class	Бенорад.2 нормы	10 норма	0.049	0.001	0.021
<i>c__Acidobacteriia</i>	class	Беномил. 10 норма	10 норма	0.045	0.005	0.046
<i>c__Nostocophycideae</i>	class	Лазурит. норма	10 норма	0.039	0.003	0.040
<i>c__Nostocophycideae</i>	class	Танрек. норма	10 норма	0.038	0.003	0.041
<i>c__Acidobacteriia</i>	class	Танрек. норма	10 норма	0.036	0.004	0.045
<i>c__Nostocophycideae</i>	class	Двойная норма	10 норма	0.036	0.001	0.020
<i>c__Acidobacteriia</i>	class	Беномил. норма	10 норма	0.036	0.005	0.045
<i>c__Acidobacteriia</i>	class	Двойная норма	10 норма	0.032	0.002	0.033

<i>c__Nostocophycideae</i>	class	Норма применения	10 норма	0.029	0.004	0.045
<i>c__Acidobacteriia</i>	class	Норма применения	10 норма	0.027	0.006	0.046
<i>o__Bacillales</i>	order	Беномил. 10 норма	10 норма	0.515	0.003	0.041
<i>o__Bacillales</i>	order	Беномил. норма	10 норма	0.501	0.001	0.025
<i>o__Bacillales</i>	order	Танрек. норма	10 норма	0.495	0.001	0.026
<i>o__Bacillales</i>	order	Лазурит. норма	10 норма	0.464	0.002	0.034
<i>o__Bacillales</i>	order	Бенорад.2 нормы	10 норма	0.414	0.005	0.049
<i>o__Bacillales</i>	order	Двойная норма	10 норма	0.261	0.002	0.040
<i>o__Bacillales</i>	order	Норма применения	10 норма	0.240	0.004	0.049
<i>o__[Chthoniobacterales]</i>	order	Лазурит. норма	10 норма	0.187	0.003	0.041
<i>o__[Chthoniobacterales]</i>	order	Двойная норма	10 норма	0.172	0.001	0.025
<i>o__Gemmatales</i>	order	Беномил. 10 норма	10 норма	0.166	0.002	0.033
<i>o__[Chthoniobacterales]</i>	order	Норма применения	10 норма	0.149	0.003	0.041
<i>o__Gemmatales</i>	order	Танрек. норма	10 норма	0.120	0.003	0.042
<i>o__Gemmatales</i>	order	Двойная норма	10 норма	0.094	0.004	0.044
<i>o__Verrucomicrobiales</i>	order	Танрек. норма	10 норма	0.091	0.001	0.025
<i>o__Rhodospirillales</i>	order	Танрек. норма	10 норма	0.083	0.001	0.025
<i>o__Rhodospirillales</i>	order	Беномил. норма	10 норма	0.078	0.002	0.033
<i>o__Rhodospirillales</i>	order	Лазурит. норма	10 норма	0.073	0.003	0.041
<i>o__Rhodospirillales</i>	order	Двойная норма	10 норма	0.061	0.002	0.033
<i>o__Rhodospirillales</i>	order	Норма применения	10 норма	0.057	0.003	0.041
<i>o__u(c__Acidobacteriia-5)</i>	order	Танрек. 10 норма	10 норма	0.051	0.001	0.025
<i>o__u(c__Acidobacteriia-5)</i>	order	Бенорад.2 нормы	10 норма	0.049	0.001	0.025
<i>o__Nostocales</i>	order	Лазурит. норма	10 норма	0.039	0.002	0.041
<i>o__Nostocales</i>	order	Танрек. норма	10 норма	0.038	0.003	0.041
<i>o__Acidobacteriales</i>	order	Танрек. норма	10 норма	0.036	0.004	0.049
<i>o__Nostocales</i>	order	Двойная норма	10 норма	0.036	0.001	0.025
<i>o__Acidobacteriales</i>	order	Беномил. норма	10 норма	0.036	0.005	0.049
<i>o__Acidobacteriales</i>	order	Двойная норма	10 норма	0.032	0.002	0.033
<i>o__Nostocales</i>	order	Норма применения	10 норма	0.029	0.004	0.049
<i>o__Ktedonobacteriales</i>	order	Двойная норма	10 норма	0.026	0.003	0.041
<i>o__Aeromonadales</i>	order	Бенорад.2 нормы	10 норма	-0.107	0.001	0.028
<i>f__Bacillaceae</i>	family	Беномил. норма	10 норма	0.463	0.001	0.041
<i>f__Bacillaceae</i>	family	Танрек. норма	10 норма	0.455	0.001	0.043
<i>f__[Chthoniobacteraceae]</i>	family	Двойная норма	10 норма	0.173	0.001	0.043

<i>f__Gemmataceae</i>	family	Беномил. 10 норма	10 норма	0.112	0.000	0.035
<i>f__Verrucomicrobiae</i>	family	Танрек. норма	10 норма	0.091	0.001	0.041
<i>f__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	family	Беномил. 10 норма	10 норма	0.086	0.000	0.007
<i>f__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	family	Лазурит. норма	10 норма	0.069	0.000	0.007
<i>f__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	family	Танрек. норма	10 норма	0.065	0.000	0.010
<i>f__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	family	Двойная норма	10 норма	0.059	0.000	0.006
<i>f__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	family	Беномил. норма	10 норма	0.054	0.000	0.034
<i>f__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	family	Танрек. 10 норма	10 норма	0.051	0.001	0.041
<i>f__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	family	Норма применения	10 норма	0.050	0.000	0.011
<i>f__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	family	Бенорад.2 нормы	10 норма	0.049	0.001	0.043
<i>f__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	family	Контроль	10 норма	0.042	0.000	0.022
<i>f__Nostocaceae</i>	family	Двойная норма	10 норма	0.036	0.001	0.041
<i>f__Aurantimonadaceae</i>	family	Лазурит.2 нормы	10 норма	-0.044	0.001	0.041
<i>f__Pseudomonadaceae</i>	family	Двойная норма	10 норма	-0.106	0.000	0.030
<i>g__Bacillus</i>	genus	Беномил. норма	10 норма	0.469	0.001	0.042
<i>g__Bacillus</i>	genus	Танрек. норма	10 норма	0.461	0.001	0.042
<i>g__Bacillus</i>	genus	Контроль	10 норма	0.316	0.000	0.022
<i>g__DA101</i>	genus	Двойная норма	10 норма	0.180	0.001	0.042
<i>g__u(f__Gemmataceae e)</i>	genus	Беномил. 10 норма	10 норма	0.090	0.001	0.042
<i>g__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	genus	Беномил. 10 норма	10 норма	0.087	0.000	0.008
<i>g__Sporosarcina</i>	genus	Танрек. норма	10 норма	0.083	0.001	0.042
<i>g__Luteolibacter</i>	genus	Танрек. норма	10 норма	0.081	0.000	0.012
<i>g__Sporosarcina</i>	genus	Беномил. норма	10 норма	0.079	0.001	0.048
<i>g__Gemmata</i>	genus	Беномил. 10 норма	10 норма	0.072	0.000	0.029
<i>g__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	genus	Лазурит. норма	10 норма	0.069	0.000	0.008
<i>g__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	genus	Танрек. норма	10 норма	0.065	0.000	0.012
<i>g__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	genus	Двойная норма	10 норма	0.059	0.000	0.008
<i>g__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	genus	Беномил, норма	10 норма	0.053	0.000	0.038
<i>g__Sporosarcina</i>	genus	Контроль	10 норма	0.053	0.000	0.026
<i>g__Gemmata</i>	genus	Лазурит, норма	10 норма	0.052	0.001	0.042
<i>g__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	genus	Танрек, 10 норма	10 норма	0.051	0.001	0.042

<i>g__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	genus	Норма применения	10 норма	0.049	0.000	0.013
<i>g__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	genus	Бенорад, 2 нормы	10 норма	0.049	0.001	0.048
<i>g__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	genus	Контроль	10 норма	0.041	0.000	0.026
<i>g__u(f__Aurantimona daceae)</i>	genus	Лазурит, 2 нормы	10 норма	-0.043	0.001	0.042
<i>s__u(g__Luteolibacte r)</i>	species	Танрек. норма	10 норма	0.083	0.000	0.024
<i>s__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	species	Двойная норма	10 норма	0.060	0.000	0.008
<i>s__u(c__Acidobacteri a-5)</i>	species	Норма применения	10 норма	0.050	0.000	0.034