

УДК 57.044; 504.05; 631.46

UDC 57.044; 504.05; 631.46

**УСТОЙЧИВОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ
ЧЕРНОЗЕМА К ЗАГРЯЗНЕНИЮ
АНТИБИОТИКАМИ В УСЛОВИЯХ
ПОЛЕВОГО МОДЕЛЬНОГО ОПЫТА***

**MICROORGANISMS RESISTANCE OF THE
CHERNOZEM POLLUTION BY
ANTIBIOTICS IN THE CONDITIONS OF
FIELD MODEL EXPERIMENT**

Акименко Юлия Викторовна
ассистент

Akimenko Yuliya Viktorovna
Assistant

Казеев Камил Шагидуллович
д.г.н, профессор

Kazeev Kamil Shagidulloovich
Dr.Sc. (Geogr.), Prof.

Колесников Сергей Ильич
д.с.-х.н, профессор

Kolesnikov Sergey Ilich
Dr.Sc. (Agr.), Prof.

Козунь Юлия Сергеевна
ассистент

Kozun Yuliya Sergeevna
Assistant

Мясникова Маргарита Алексеевна
ассистент

Myasnikova Margarita Alekseevna
Assistant

Одабашян Мери Юрьевна
магистрант

Odabashyan Mary Yurevna
Master's Degree Student

Николаева Ксения Николаевна
магистрант

Nikolaeva Ksenia Nikolaevna
Master's Degree Student

Тимошенко Алена Николаевна
магистрант
Южный федеральный университет

Tymoshenko Alyona Nikolaevna
Master's Degree Student
Southern Federal University

Статья посвящена проблеме загрязнения почв антибиотиками и приобретения к ним устойчивости патогенных микроорганизмов. В условиях полевого модельного опыта изучена устойчивость микроорганизмов чернозема к загрязнению окситетрациклином и тилозином

In article the problem of environmental pollution by veterinary antibiotics and acquisitions of resistance of pathogenic microorganisms to them is considered. In the conditions of field experiment resistance of chernozem microorganisms to pollution oxytetracycline and tylosin is studied

Ключевые слова: ПОЧВЕННЫЕ
МИКРООРГАНИЗМЫ, ЧЕРНОЗЕМ
ОБЫКНОВЕННЫЙ, ПОЛЕВОЕ
МОДЕЛИРОВАНИЕ

Keywords: SOIL MICROORGANISMS,
CHERNOZEM ORDINARY, FIELD MODELING

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время проблеме загрязнения окружающей среды ветеринарными антибиотиками и приобретения к ним устойчивости патогенных микроорганизмов уделяется особое внимание. Окситетрациклин и тилозин широко используются во всем мире, как в терапевтических целях, так и в качестве стимуляторов роста. По данным исследовательской компании

* Исследование выполнено в рамках проектной части государственного задания в сфере научной деятельности Министерства образования и науки РФ № 6.345.2014/К и государственной поддержке ведущей научной школы Российской Федерации (НШ-2449.2014.4).

Research Techart, в животноводстве России ежегодно используется около 3,5 тыс. т антибиотиков. Из них 23% – для лечения и профилактики, 19% – в качестве стимуляторов роста, 36% – как противопаразитарные препараты, 22% – как профилактические средства [1]. Т.к. многие антибиотики водорастворимы, вплоть до 90% одной дозы может выделяться с мочой и 75% с экскрементами животных [2,3].

В основном антибиотики попадают в почву благодаря применению навоза [4] и сточных вод [5] на сельскохозяйственных землях в качестве удобрения. В настоящее время антибиотики все чаще обнаруживаются в грунтовой и питьевой воде, сточных водах и сельскохозяйственных почвах [6,7], в концентрациях до 300 нг/г⁻¹ для тетрациклинов и 11 нг/г⁻¹ для сульфаниламидов [8,9]. Высокие концентрации тетрациклинов были обнаружены в почвах Турции и Испании, до 0,5 мг/кг⁻¹ и 0,2 мг/кг⁻¹, соответственно [10,11]. Концентрации тетрациклина (20 мг/л⁻¹) и хлортетрациклина (1 мг/л⁻¹) были обнаружены в свиных отстойниках [12]. Кроме того, различные антибиотики образуются естественным путем в почвах, однако концентрации и типы антибиотиков, попадающих в почвы и воды, сильно отличаются от естественного фона [13].

Сейчас работников сельскохозяйственной сферы обвиняют в том, что антибиотики из сельхозугодий попадают в окружающие водоемы. Муниципальные системы очистки воды не в состоянии отфильтровывать антибиотики, и потому сейчас очень важно изучить, как такое загрязнение влияет на состояние экосистем.

Данные по влиянию антибиотиков на микробоценоз почв в российской литературе нами не встречены. Лишь в некоторых исследованиях антибиотики использовались для определения соотношения грибов и бактерий в биомассе разных типов почв, а так же влияние фармацевтических препаратов на биоту водоемов [14-16]. Многие результаты, полученные зарубежными авторами, связаны с лабораторным моделированием загрязнения

почв антибиотиками. Это связано с тем, что лабораторные модельные опыты имеют ряд преимуществ по сравнению с полевыми. Во-первых, это возможность поддерживать постоянную влажность и температуру почвы, в то время как в полевых условиях результаты опыта сильно зависят от погодных условий. Во-вторых, возможность обеспечить перемешивание почвы до полной однородности во всех сосудах, что позволяет избежать расхождений в свойствах почвы. И, наконец, возможность исследования различных загрязняющих веществ отдельно и в заранее заданных концентрациях. Тем самым, выяснение многих вопросов о влиянии загрязняющих веществ на протекающие в почве процессы возможно только посредством лабораторных модельных опытов.

Целью настоящего исследования являлась оценка устойчивости микроорганизмов чернозема обыкновенного к загрязнению антибиотиками (окситетрациклином, тилозином) в полевых условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Тилозин (Tylosin) – антибиотик макролидного ряда, продуцируемый *Streptomyces fradiae*, широко применяемый в животноводстве и птицеводстве в качестве лечебно-профилактического средства и стимулятора роста. В России зарегистрирован ряд пероральных препаратов тилозина: Тилан («Эланко», США); Тиланик® водорастворимый порошок («ВИК-здоровье животных», Россия); Фармазин («Балканфарма», Болгария). По имеющимся на сегодняшний день данным, препараты на основе тилозина занимают лидирующее место для профилактики микоплазменной инфекции и хронических респираторных болезней птиц. Активен в отношении большинства Gr^+ и некоторых Gr^- бактерий.

Окситетрациклин (Oxytetracycline) – является производным группы тетрациклина, продуцируется грибом *Streptomyces rimosus*. Выпускают препарат в виде стерильного кристаллического порошка желтого цвета – окситетрациклина гидрохлорид – без запаха, хорошо растворим в воде. Облада-

ет широким спектром антибактериального действия. Активен в отношении большинства G_r^+ и G_r^- бактерий.

Полевые модельные опыты были проведены в Ботаническом саду Южного федерального университета (г. Ростов–на–Дону). В качестве объекта исследования был использован чернозем обыкновенный карбонатный южно–европейской фации. Мощность гумусового горизонта чернозема составляет около 80 см, гранулометрический состав тяжелосуглинистый, реакция среды 7,7, содержание гумуса 4,1 %, общий азот (по Кьельдалю) — 0,25 %; общий фосфор (по Гинзбург с соавт.) — 0,18 %; подвижный фосфор (по Мачигину) — 28,8 %; общий калий (по Берцелиусу) — 2,06 %. Данный тип почв был выбран в связи с тем, что черноземы составляют большую часть почвенного покрова юга России и являются главным земельным ресурсом сельскохозяйственного производства [17].

В полевых опытах деланки закладывали согласно общепринятой методике проведения полевого опыта [18,19]. Использовали деланки площадью 1 м². Повторность трехкратная. Загрязнение почвы было проведено 15 мая 2014 года, образцы почвы для определения биологических показателей отбирались на 5, 30 и 60 сут. опыта. Среднесуточная температура воздуха составила 18–20°C в начале эксперимента, 22–25°C к 30 суткам и 27–30°C к 60 суткам. Влажность почвы поддерживали путем полива водой на уровне около 60% от полевой влагоемкости.

Антибиотики вносили в почву в виде растворов в концентрации 500 мг/кг почвы. Данные концентрации были выбраны исходя из литературных данных по остаточным количествам антибиотиков в окружающей среде [20], а так же благодаря результатам ранее проведенных рекогносцировочных лабораторных исследований [21]. Контролем служили участки, не подвергавшиеся обработке антибиотиками.

Лабораторно–аналитические исследования выполнены с использованием общепринятых в экологии и биологии почв методов [22,23]. Комплексное

исследование микробоценоза чернозема включало определение численности микроорганизмов методом глубинного посева соответствующих разведений на плотные питательные среды: аммонифицирующих бактерий – на МПА, амилотических бактерий – на КАА, микромицетов – на подкисленной среде Чапека, бактерий *p. Azotobacter* – на среде Эшби (метод комочков обрастания).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты полевых модельных экспериментов представлены на рисунках 1,2. Реакция среды (рН) является важным химическим показателем почв, с одной стороны из-за его влияния на содержание гумусовых компонентов, а с другой стороны из-за его влияния на активность почвенной микробиоты [24]. При исследовании рН чернозема наблюдается тенденция снижения рН в кислую сторону (рис.1), особенно на 30 сут. экспозиции. Скорее всего, данный тренд, наблюдается, т.к., остаются устойчивые группы микроорганизмов, продуктами жизнедеятельности которых, являются соединения содержащие H^+ . На дальнейших сроках прослеживается смещение реакции среды к первоначальным значениям. Ранее нами, при исследовании влияния антибиотиков на биологические свойства почв в условиях лабораторного моделирования (бензилпенициллина, тетрациклина) показано изменение рН с течением срока экспозиции в щелочную сторону [25,26], т.е. изменение рН зависит от химической природы антибиотика. Таким образом, антибиотики нарушают естественную среду почвенных микроорганизмов, что является причиной изменения их численности и структуры микробоценоза в целом.

Внесение антибиотиков в почву приводило к изменению численности основных групп почвенных микроорганизмов, наблюдалась тенденция снижения их численности на всех сроках экспозиции. Исследованные группы микроорганизмов отличались по их устойчивости к вносимым антибиотикам (рис.2).

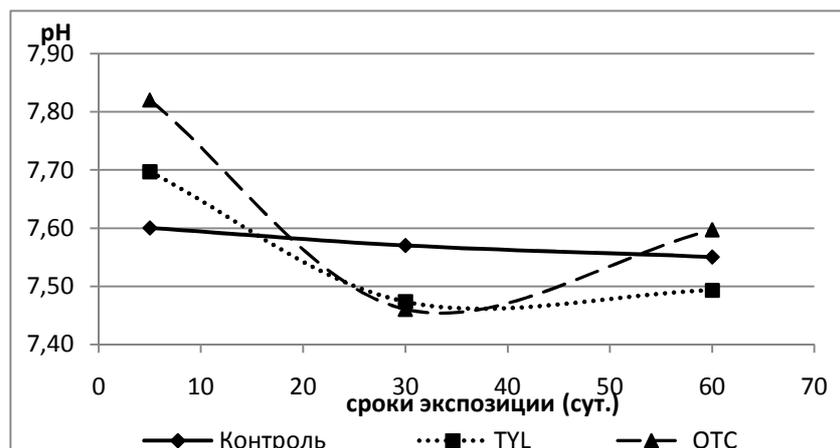


Рис.1. Изменение реакции среды (pH) чернозема при загрязнении антибиотиками TYL – tylosin (тилозин), ОТС – oxytetracycline (окситетрациклин)

Наибольшее подавляющее воздействие на численность аммонифицирующих бактерий (на 20–60% от контроля, $p < 0,05$, $n=6$) оказал окситетрациклин на всех исследуемых сроках экспозиции. Статистически достоверных различий в численности аммонифицирующих бактерий на 5 и 30 сут. опыта не выявлено. Восстановление численности данной группы бактерий не наблюдается и на 60 сут. опыта.

Аналогичные данные по динамике численности аммонификаторов были получены в модельных экспериментах с различными видами излучения [27]. При загрязнении тяжелыми металлами [28], нефтью и нефтепродуктами [29] относительно небольшими дозами (до 1 ПДК) и в первые сроки от момента загрязнения (до 1 месяца) численность микроорганизмов в почве в ряде случаев увеличивается, затем снижается и даже через 360 дней не восстанавливается полностью. Кроме того, в сравнении с эффектом стерилизации высокими температурами [30] и действием пестицидов [31] действие антибиотиков на почвенные микроорганизмы носит более пролонгированный характер, так как, например, при стерилизации почв высокими температурами численность микроорганизмов восстанавливалась до контрольных значений уже на 60–е сут. эксперимента.

Пролонгированный характер воздействия антибиотиков на почвенные микроорганизмы свидетельствует об их накоплении в почве. Stone et al.

[32] детектировали активные метаболиты тилозина на 150 сут. после внесения антибиотика в почву. Loke et al. [33] показали, что при pH ниже 7,4, образуются сильные ионные связи между протонированным тилозином и анионными компонентами почвы, что свидетельствует о высокой сорбции тилозина в почве. Установлена положительная корреляция сорбции тилозина и окситетрациклина с содержанием гумуса, pH и емкостью катионного обмена почв [34]. Высокая способность к сорбции тилозина наблюдается в почвах, богатых гумусом, нежели песчаных почвах [35,36].

Амилолитические бактерии оказались более устойчивы к исследуемым антибиотикам, нежели бактерии – аммонификаторы. На 5 сут. исследования наблюдали максимальное снижение численности бактерий (60 % от контроля, $p < 0,001$, $n=6$). Аналогично с аммонификаторами, наибольшее ингибирующее воздействие оказал окситетрациклин. На дальнейших сроках экспозиции не выявлено достоверных изменений численности амилолитических бактерий, наблюдается тенденция восстановления численности до контрольных значений. В других исследованиях показано, что такие антибиотики как сульфонамид, тетрациклин, триметоприм так же оказывают подавляющее воздействие на численность и активность амилолитиков [37]. По результатам полевого моделирования загрязнения чернозема антибиотиками, не выявлено достоверного воздействия антибиотиков на почвенных микромицетов. Используемые антибиотики подавляют рост и развитие бактерий. Это можно объяснить устранением конкуренции со стороны бактерий и активным заселением микромицетами экологической ниши. На 30 и 60 сут. опыта не выявлено изменений в численности микромицетов.

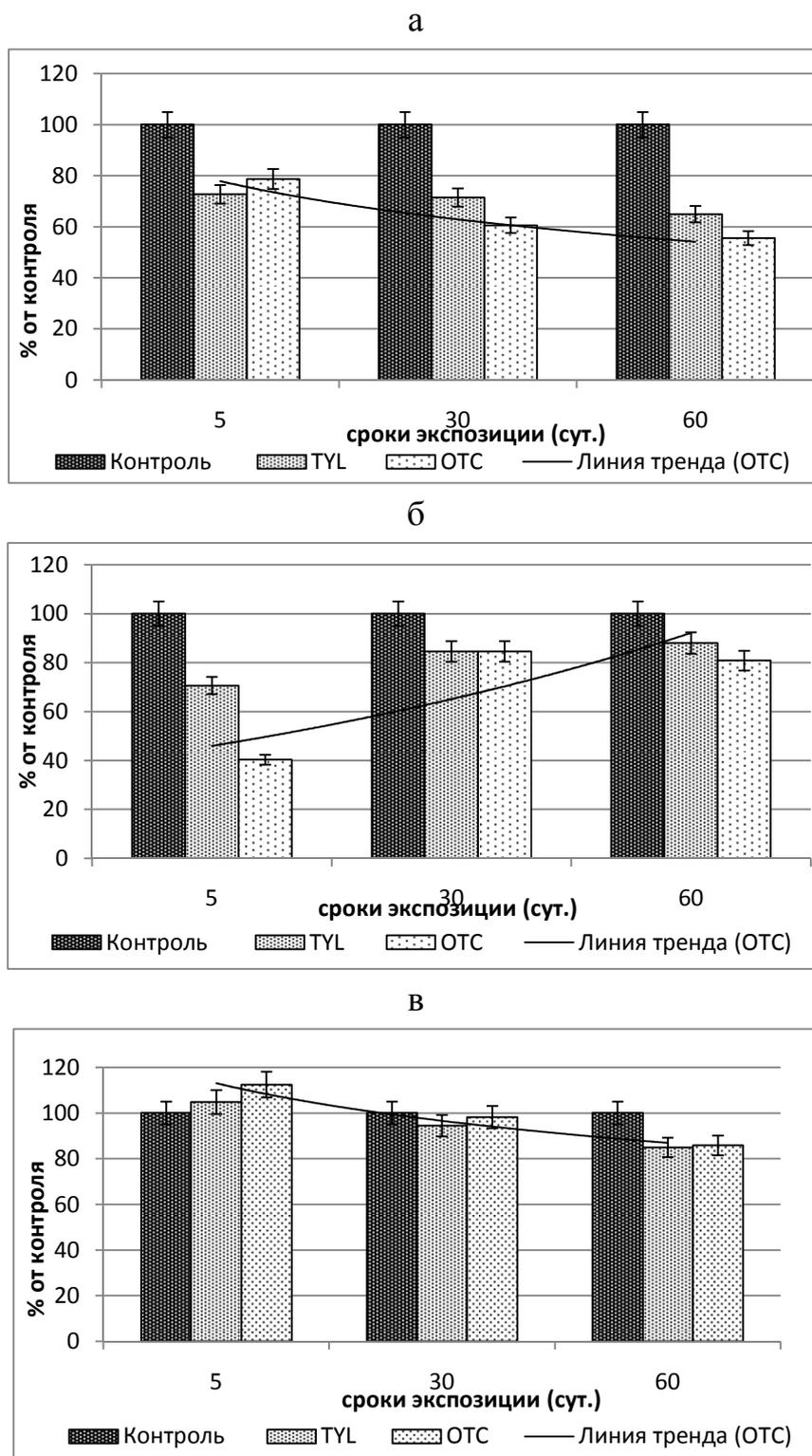


Рис.2. Изменение численности микроорганизмов чернозема при загрязнении антибиотиками (а – аммонифицирующих бактерий, б – амилалитических бактерий, в – микромицетов). TYL – tylosin (тилозин), ОТС – oxytetracycline (окситетрациклин)

Бактерии р. *Azotobacter* оказались менее чувствительными к вносимым антибиотикам. Изменение в обилии бактерий наблюдалось только на 3сут.

экспозиции (снижение на 30–40% от контроля при воздействии тилозина, и на 50–60%, при воздействии окситетрациклина, соответственно), на остальных сроках не наблюдали никаких изменений. При этом азотфиксирующие бактерии были чувствительнее к загрязнению тяжелыми металлами, нефтью, ионизирующему излучению, чем другие группы бактерий [38,39].

Таким образом, по степени устойчивости к антибиотикам, исследованные микроорганизмы образовали ряд: микромицеты > бактерии р. *Azotobacter* > бактерии–амилолитики > бактерии–аммонификаторы. Восстановление микробиологических показателей носит не прямолинейный характер, т.е. нельзя сказать, что с увеличением сроков экспозиции происходит все большее их восстановление. По скорости восстановления микроорганизмы чернозема обыкновенного образовали следующий ряд: бактерии р. *Azotobacter* > микромицеты > бактерии–амилолитики > бактерии–аммонификаторы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев Н.Р., Шелепов И.А. Антибиотики и корма // Современный фермер. 2013. № 4. С.48–51.
2. Halling–Sørensen B., Nors Nielsen S., Lanzky P.F., Ingerslev F., Holten Lutzhoft H.C., Jørgensen S.E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—a review // Chemosphere. 1998. Vol. 36. p. 357–393.
3. Halling–Sørensen B. Inhibition of aerobic growth and nitrification of bacteria in sewage sludge by antibacterial agents. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2001. Vol. 40. p. 451–460.
4. Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment a review // Ecological Indicators. 2008. Vol. 8. p. 1–13.
5. Thiele–Bruhn S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—a review. Plant Nutr. Soil Sci. 2003. Vol. 66. p. 145–167.
6. Yang J–F, Ying G–G, Zhao J–L, Tao R, Su H–C, Liu Y–S. Spatial and seasonal distribution of selected antibiotics in surface waters of the Pearl Rivers, China. Environ. Sci. Health. 2011. Vol. 46. 272.
7. Zhou L–J, Ying G–G, Zhao J–L, Yang J–F, Wang L, Yang B, et al. Trends in the occurrence of human and veterinary antibiotics in the sediments of the Yellow River, Hoi River and Liao River in northern China. Environ. Pollut. 2011. Vol. 159. p. 1877.
8. Höper H., Kues J., Nau H., Hamscher G. Eintrag und Berbleib von Tierarzneimittelwirkstoffen in Boden. Bodenschutz. 2002. Vol. 4. p. 141–148.

9. Hamscher G, Pawelzick HT, Hoper H, Nau H. Different behaviour of tetracyclines and sulfonamides in sandy soils after repeated fertilization with liquid manure. *Environ. Toxicol. Chem.* 2005. Vol. 24. p. 861.

10. Andreu V., Vazquez-Roig P., Blasco C., Pico Y. Determination of tetracycline residues in soil by pressurized liquid extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2009. Vol. 394, p. 1329–1339.

11. Karci A., Balcioglu I.A. Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey. *Sci. Total Environ.* 2009. Vol. 407. p. 4652–4664.

12. Campagnolo E.R., Johnson K.R., Karpati A., Rubin C.S., Kolpin D.W., Meyer M.T., Esteban J.E., Currier R.W., Smith K., Thu K.M., McGeehin M. Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations. *Sci. Total Environ.* 2002. Vol. 299. p. 89–95.

13. Zhang W., Sturm B.S.M, Knapp C.W, Graham D.W. Accumulation of tetracycline resistance genes in aquatic biofilms due to periodic waste loadings from swine lagoons. *Environ. Sci. Technol.* 2009. Vol. 43. p. 7643–7650.

14. Сусьян Е.А., Ананьева Н.Д. Благодатская Е.В. Разделение грибного и бактериального субстрат-индуцированного дыхания с использованием антибиотиков в почвах разных экосистем // *Микробиология.* 2005. Т. 74. № 3. С. 394–400.

15. Ананьева Н.Д., Стольникова Е.В., Сусьян Е.А., Ходжаева А.К. Грибная и бактериальная микробная биомасса (селективное ингибирование) и продуцирование CO₂ и N₂O дерново-подзолистыми почвами постагрогенных биогеоценозов // *Почвоведение.* 2010. № 11. С. 1387–1393.

16. Самойленко Н.Н., Ермакович И.А. Влияние фармацевтических препаратов и их производных на окружающую среду // *Вода и экология: проблемы и решения.* 2014. №2 (58). С. 78–87.

17. Вальков В.Ф., Казеев К.Ш., Колесников С.И. *Почвоведение: Учебник для вузов.* - Москва: ИКЦ «МарТ», Ростов н/Д: Издательский центр «МарТ», 2004. 496 с.

18. *Методы полевых и вегетационных опытов с удобрениями и гербицидами.* М., 1967. 183 с.

19. Доспехов Б.А. *Методика полевого опыта.* М.: Колос, 1979. 416 с.

20. Thiele-Bruhn S., Seibicke T., Schulten H.-R., Leinweber P. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle-size fractions. *J. Environ. Qual.* 2004. Vol. 33. p. 1331–1342.

21. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Экологические последствия загрязнения чернозема антибиотиками. Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета. 2013. 120 с.

22. *Методы почвенной микробиологии и биохимии* // Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.; Изд-во МГУ. 1991. 304 с.

23. Казеев К.Ш., Колесников С.И. Биодиагностика почв: методология и методы исследований. – Ростов н/Д. – Изд-во Южного федерального университета, 2012. 260 с.

24. Andersson S., Nilsson S. Influence of pH and temperature on microbial activity, substrate availability of soil-solution bacteria and leaching of dissolved organic carbon in a humus // *Soil Biology & Biochemistry.* 2001. Vol. 33. p.1181–1191.

25. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Влияние антибиотиков (бензилпенициллина, фармазина, нистатина) на численность микроорганизмов в черноземе обыкновенном // *Сибирский экологический журнал.* 2014. № 2. С. 253–258. / Akimenko Yu.V., Kazeev K.Sh., and Kolesnikov S.I. Influence of Antibiotics (Benzylpenicillin, Pharmazin, and Nystatin) on the Number of Microorganisms in Ordinary Chernozem // *Contemporary Problems of Ecology.* 2014. Vol. 7. No. 2. p. 204–209.

26. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Влияние антибиотиков (бензилпенициллина, фармазина, нистатина) на биологические свойства чернозема обыкновенного // Почвоведение. 2014. № 9. С. 1095–1101. / Akimenko Yu.V., Kazeev K.Sh., and Kolesnikov S.I. The Impact of Antibiotics (Benzylpenicillin, and Nystatin) on the Biological Properties of Ordinary Chernozems // Eurasian Soil Science, 2014, Vol. 47. No. 9. p. 910–916.

27. Денисова Т.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Интегральная оценка электромагнитных воздействий различной природы на биологические свойства почв юга России // Почвоведение. 2011. № 11. С. 1386–1390.

28. Колесников С.И., Ярославцев М.В., Спивакова Н.А., Казеев К.Ш. Сравнительная оценка устойчивости биологических свойств черноземов юга России к загрязнению Cr, Cu, Ni, Pb в модельном эксперименте // Почвоведение. 2013. № 2. С. 195.

29. Колесников С.И., Азнаурьян Д.К., Казеев К.Ш., Вальков В.Ф. Устойчивость биологических свойств почв Юга России к нефтяному загрязнению // Экология. 2010. № 5. С. 357–364.

30. Акименко Ю.В., Казеев К.Ш., Колесников С.И. Влияние разных способов стерилизации на биологические свойства чернозема обыкновенного // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 6. С. 721.

31. Казеев К.Ш., Лосева Е.С., Боровикова Л.Г., Колесников С.И. Влияние загрязнения современными пестицидами на биологическую активность чернозема обыкновенного // Агрехимия. 2010. № 11. С. 39–44.

32. Stone James J., Clay Sharon A., Spellman Garth M. Tylosin and chlortetracycline effects during swine manure digestion: Influence of sodium azide. *Bioresource Technology* 2010. Vol. 101. p. 9515–9520.

33. Loke M.-L., Tjørnelund J., Halling-Sørensen B. Determination of the distribution coefficient (logKd) of oxytetracycline, tylosin A, olaquinox and metronidazole in manure. *Chemosphere*. 2002. Vol. 48. p. 351–361.

34. Oliveira M.F., Sarmah A.K., Lee L.S., Rao P.S.C. Fate of tylosin in aqueous manure–soil systems. Presented at the Soil Science Society of America National Meeting, Indianapolis, Indiana, 2002. November 10–14.

35. Rabølle M., Spliid N.H. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. *Chemosphere*. 2000. Vol. 40. p. 715–722.

36. Ingerslev F., Halling-Sørensen B. Biodegradability of metronidazole, olaquinox, and tylosin and formation of tylosin degradation products in aerobic soil–manure slurries. *Ecotox. Environ. Safety* 2001. Vol. 48. p. 311–320.

37. Thiele-Bruhn S., Seibicke T., Schulten H.-R., Leinweber P. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle-size fractions // *J. Environ. Qual.* 2004. Vol. 33. p.1331–1342.

38. Мазанко М.С., Акименко Ю.В., Денисова Т.В., Колесников С.И. Устойчивость аммонифицирующих бактерий различных типов почв юга России к сочетанному загрязнению свинцом и переменным магнитным полем // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т.15. № 3. С. 1359.

39. Колесников С.И., Казеев К.Ш., Татосян М.Л., Вальков В.Ф. Влияние загрязнения нефтью и нефтепродуктами на биологическое состояние чернозема обыкновенного // Почвоведение. 2006. №5. С. 616–620.

References

1. Alekseev N.R., Shelepov I.A. Antibiotiki i korma // *Sovremennyj fermer*. 2013. № 4. S.48–51.

2. Halling-Sørensen B., Nors Nielsen S., Lanzky P.F., Ingerslev F., Holten Lutzhoft H.C., Jørgensen S.E. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—a review // *Chemosphere*. 1998. Vol. 36. p. 357–393.

3. Halling-Sørensen B. Inhibition of aerobic growth and nitrification of bacteria in sewage sludge by antibacterial agents. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 2001. Vol. 40. p. 451–460.

4. Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment a review // *Ecological Indicators*. 2008. Vol. 8. p. 1–13.

5. Thiele-Bruhn S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—a review. *Plant Nutr. Soil Sci.* 2003. Vol. 66. p. 145–167.

6. Yang J-F, Ying G-G, Zhao J-L, Tao R, Su H-C, Liu Y-S. Spatial and seasonal distribution of selected antibiotics in surface waters of the Pearl Rivers, China. *Environ. Sci. Health*. 2011. Vol. 46. 272.

7. Zhou L-J, Ying G-G, Zhao J-L, Yang J-F, Wang L, Yang B, et al. Trends in the occurrence of human and veterinary antibiotics in the sediments of the Yellow River, Hoi River and Liao River in northern China. *Environ. Pollut.* 2011. Vol. 159. p. 1877.

8. Höper H., Kues J., Nau H., Hamscher G. Eintrag und Berbleib von Tierarzneimittelwirkstoffen in Boden. *Bodenschutz*. 2002. Vol. 4. p. 141–148.

9. Hamscher G, Pawelzick HT, Hoper H, Nau H. Different behaviour of tetracyclines and sulfonamides in sandy soils after repeated fertilization with liquid manure. *Environ. Toxicol. Chem.* 2005. Vol. 24. p. 861.

10. Andreu V., Vazquez-Roig P., Blasco C., Pico Y. Determination of tetracycline residues in soil by pressurized liquid extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 2009. Vol. 394, p. 1329–1339.

11. Karci A., Balcioglu I.A. Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey. *Sci. Total Environ.* 2009. Vol. 407. p. 4652–4664.

12. Campagnolo E.R., Johnson K.R., Karpati A., Rubin C.S., Kolpin D.W., Meyer M.T., Esteban J.E., Currier R.W., Smith K., Thu K.M., McGeehin M. Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations. *Sci. Total Environ.* 2002. Vol. 299. p. 89–95.

13. Zhang W., Sturm B.S.M, Knapp C.W, Graham D.W. Accumulation of tetracycline resistance genes in aquatic biofilms due to periodic waste loadings from swine lagoons. *Environ. Sci. Technol.* 2009. Vol. 43. p. 7643–7650.

14. Sus'jan E.A., Anan'eva N.D. Blagodatskaja E.V. Razdelenie gribnogo i bakteriального substrat-inducirovannogo dyhaniya s ispol'zovaniem antibiotikov v pochvah raznyh jekosistem // *Mikrobiologija*. 2005. T. 74. № 3. S. 394–400.

15. Anan'eva N.D., Stol'nikova E.V., Sus'jan E.A., Hodzhaeva A.K. Gribnaja i bakteriálnaja mikrobnaja biomassa (selektivnoe ingibirovanie) i producirovanie CO₂ i N₂O derno-podzolistymi pochvami postagrogennyh biogeocenzov // *Pochvovedenie*. 2010. № 11. S. 1387–1393.

16. Samojlenko N.N., Ermakovich I.A. Vlijanie farmacevticheskikh preparatov i ih proizvodnyh na okruzhajushhuyu sredu // *Voda i jekologija: problemy i reshenija*. 2014. №2 (58). S. 78–87.

17. Val'kov V.F., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I. *Pochvovedenie: Uchebnik dlja vuzov*. - Moskva: IKC «MarT», Rostov n/D: Izdatel'skij centr «MarT», 2004. 496 s.

18. *Metody polevyh i vegetacionnyh opytov s udobrenijami i gerbicidami*. M., 1967. 183 s.

19. Dosphehov B.A. *Metodika polevogo opyta*. M.: Kolos, 1979. 416 s.

20. Thiele–Bruhn S., Seibicke T., Schulten H.–R., Leinweber P. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle–size fractions. *J. Environ. Qual.* 2004. Vol. 33. p. 1331–1342.

21. Akimenko Ju.V., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I. Jekologicheskie posledstvija zagrjaznenija chernozema antibiotikami. Rostov–na–Donu: Izdatel'stvo Juzhnogo federal'nogo universiteta. 2013. 120 s.

22. *Metody pochvennoj mikrobiologii i biohimii* // Pod red. D.G. Zvjaginceva. M.; Izd–vo MGU. 1991. 304 s.

23. Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I. Biodiagnostika pochv: metodologija i metody issledovanij. – Rostov n/D. – Izd–vo Juzhnogo federal'nogo universiteta, 2012. 260 s.

24. Andersson S., Nilsson S. Influence of pH and temperature on microbial activity, substrate availability of soil–solution bacteria and leaching of dissolved organic carbon in a humus // *Soil Biology & Biochemistry.* 2001. Vol. 33. p.1181–1191.

25. Akimenko Ju.V., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I. Vlijanie antibiotikov (benzilpenicillina, farmazina, nistatina) na chislennost' mikroorganizmov v chernozeme obyknovennom // *Sibirskij jekologicheskij zhurnal.* 2014. № 2. S. 253–258. / Akimenko Yu.V., Kazeev K.Sh., and Kolesnikov S.I. Influence of Antibiotics (Benzylpenicillin, Pharmazin, and Nystatin) on the Number of Microorganisms in Ordinary Chernozem // *Contemporary Problems of Ecology.* 2014. Vol. 7. No. 2. p. 204–209.

26. Akimenko Ju.V., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I. Vlijanie antibiotikov (benzilpenicillina, farmazina, nistatina) na biologicheskie svojstva chernozema obyknovennogo // *Pochvovedenie.* 2014. № 9. S. 1095–1101. / Akimenko Yu.V., Kazeev K.Sh., and Kolesnikov S.I. The Impact of Antibiotics (Benzylpenicillin, and Nystatin) on the Biological Properties of Ordinary Chernozems // *Eurasian Soil Science,* 2014, Vol. 47. No. 9. p. 910–916.

27. Denisova T.V., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I., Val'kov V.F. Integral'naja ocenka jelektromagnitnyh vozdeystvij razlichnoj prirody na biologicheskie svojstva pochv juga Rossii // *Pochvovedenie.* 2011. № 11. S. 1386–1390.

28. Kolesnikov S.I., Jaroslavcev M.V., Spivakova N.A., Kazeev K.Sh. Sravnitel'naja ocenka ustojchivosti biologicheskikh svojstv chernozemov juga Rossii k zagrjazneniju Cr, Cu, Ni, Pb v model'nom jeksperimente // *Pochvovedenie.* 2013. № 2. S. 195.

29. Kolesnikov S.I., Aznaur'jan D.K., Kazeev K.Sh., Val'kov V.F. Ustojchivost' biologicheskikh svojstv pochv Juga Rossii k neftjanomu zagrjazneniju // *Jekologija.* 2010. № 5. S. 357–364.

30. Akimenko Ju.V., Kazeev K.Sh., Kolesnikov S.I. Vlijanie raznyh sposobov sterilizacii na biologicheskie svojstva chernozema obyknovennogo // *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija.* 2013. № 6. S. 721.

31. Kazeev K.Sh., Loseva E.S., Borovikova L.G., Kolesnikov S.I. Vlijanie zagrjaznenija sovremennymi pesticidami na biologicheskiju aktivnost' chernozema obyknovennogo // *Agrohimiya.* 2010. № 11. S. 39–44.

32. Stone James J., Clay Sharon A., Spellman Garth M. Tylosin and chlortetracycline effects during swine manure digestion: Influence of sodium azide. *Bioresource Technology* 2010. Vol. 101. p. 9515–9520.

33. Loke M.–L., Tjørnelund J., Halling–Sørensen B. Determination of the distribution coefficient (logKd) of oxytetracycline, tylosin A, olaquinox and metronidazole in manure. *Chemosphere.* 2002. Vol. 48. p. 351–361.

34. Oliveira M.F., Sarmah A.K., Lee L.S., Rao P.S.C. Fate of tylosin in aqueous manure–soil systems. Presented at the Soil Science Society of America National Meeting, Indianapolis, Indiana, 2002. November 10–14.

35. Rabølle M., Spliid N.H. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. *Chemosphere.* 2000. Vol. 40. p. 715–722.

36. Ingerslev F., Halling-Sørensen B. Biodegradability of metronidazole, olaquinox, and tylosin and formation of tylosin degradation products in aerobic soil-manure slurries. *Ecotox. Environ. Safety* 2001. Vol. 48. p. 311–320.

37. Thiele-Bruhn S., Seibicke T., Schulten H.-R., Leinweber P. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle-size fractions // *J. Environ. Qual.* 2004. Vol. 33. p.1331–1342.

38. Mazanko M.S., Akimenko Ju.V., Denisova T.V., Kolesnikov S.I. Ustojchivost' ammonificirujushhih bakterij razlichnyh tipov pochv juga Rossii k sochetannomu zagryazneniju svincom i peremennym magnitnym polem // *Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk.* 2013. T.15. № 3. S. 1359.

39. Kolesnikov S.I., Kazeev K.Sh., Tatosjan M.L., Val'kov V.F. Vlijanie zagryaznenija neft'ju i nefteproduktami na biologicheskoe sostojanie chernozema obyknovennoego // *Pochvovedenie.* 2006. №5. S. 616-620.