



МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М. В. ЛОМОНОСОВА

---

ФАКУЛЬТЕТ ПОЧВОВЕДЕНИЯ

*На правах рукописи*

УДК 632. 954: 631.417

**Анисимова Марина Анатольевна**

**ДЕТОКСИЦИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ПОЧВ И ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НИХ  
ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ ПО ОТНОШЕНИЮ К ГЕРБИЦИДАМ**

**(Специальность 03.00.27-почвоведение)**

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Научные руководители:

кандидат биологических наук,  
доцент Г.Ф. Лебедева

кандидат химических наук,  
старший научный сотрудник  
И.В. Перминова

**МОСКВА – 1997**

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>4</b>
<b>Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	
1.1. Влияние типовой принадлежности и вида хозяйственного использования почв на их устойчивость по отношению к гербицидному загрязнению .....	6
1.1.1. Поведение гербицидов в почве .....	6
1.1.2. Влияние типовой принадлежности почв на их устойчивость по отношению к гербицидному загрязнению .....	11
1.1.3. Влияние вида использования почв на их устойчивость по отношению к гербицидному загрязнению .....	19
1.2. Роль гуминовых кислот в процессах детоксикации и трансформации гербицидов различных классов .....	25
1.2.1. Свойства гуминовых кислот почв различной типовой принадлежности и вида использования .....	25
1.2.2. Механизмы взаимодействия “ГК-гербицид” .....	32
1.2.3. Влияние ГК на токсичность гербицидов.....	36
<b>Глава 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>41</b>
2.1. Почвы .....	41
2.1.1. Отбор образцов почв .....	41
2.1.2. Характеристика почвенных образцов.....	43
2.2. Препараты гуминовых кислот .....	44
2.2.1. Выделение препаратов ГК .....	44
2.2.2. Характеристика препаратов ГК .....	45
2.3. Определение детоксицирующей способности почв и препаратов ГК по отношению к гербицидам .....	50
2.3.1. Гербициды и их свойства.....	50
Трифлуралин .....	50
Атразин .....	52
2.3.2. Определение детоксицирующей способности почв .....	54
Токсикологический эксперимент на почвах с трифлуралином .....	54

Лабораторно-вегетационный опыт на почвах с атразином .....	54
Определение в почвах остаточных количеств атразина и его метаболитов методом ВЭЖХ.....	55
2.3.3. Определение детоксицирующей способности препаратов гуминовых кислот.....	56
Токсикологический эксперимент на препаратах ГК с трифлуралином .....	56
Токсикологический эксперимент на препаратах ГК с атразином .....	58
2.3.4. Количественная оценка детоксицирующей способности почв и препаратов ГК.....	61
<b>Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....</b>	<b>63</b>
3.1. Характеристика почв и выделенных препаратов ГК.....	63
3.1.1. Свойства почв .....	64
3.1.2. Свойства препаратов ГК .....	67
3.2. Детоксицирующая способность почв и препаратов ГК по отношению к различным гербицидам .....	71
3.2.1. Детоксицирующая способность почв и препаратов ГК по отношению к трифлуралину .....	71
Почвы .....	72
Препараты ГК .....	74
3.2.2. Детоксицирующая способность почв и препаратов ГК по отношению к атразину .....	80
Почвы .....	81
Препараты ГК .....	87
3.3. Сопоставление детоксицирующей способности почв и препаратов ГК по отношению к трифлуралину и атразину .....	90
<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>94</b>
<b>ВЫВОДЫ .....</b>	<b>96</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>98</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ.....</b>	<b>113</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Применение средств химической защиты растений, ставшее неотъемлемым элементом практики современного земледелия, привело к возникновению проблемы загрязнения почвенного покрова остаточными количествами гербицидов и их метаболитов. В связи с этим в последние годы ведутся интенсивные изыскания по поиску детоксицирующих агентов, внесение которых в почву способствовало бы связыванию и инактивации гербицидов. Однако до сих пор весьма ограничен круг исследований по выявлению факторов, определяющих устойчивость почв по отношению к гербицидам. Так, несмотря на многочисленные указания в литературе на важную роль органического вещества почв и, в частности, гуминовых кислот (ГК) в процессах детоксикации гербицидов различных классов (Hayes, 1970; Самгин, 1975; Maqueda et al., 1990; Liu et al., 1996), практически отсутствуют комплексные исследования, направленные на изучение и сопоставление детоксицирующих свойств различных почв и формирующихся в них ГК. Кроме того, подходы к количественной оценке детоксицирующей способности как почв, так и ГК в отношении различных классов гербицидов разработаны недостаточно.

В связи с изложенным, систематическое исследование детоксицирующих свойств почв и выделенных из них ГК при смене типовой принадлежности почв в соответствии с законом широтной зональности и при различном виде их хозяйственного использования является важной и актуальной задачей, решение которой позволит найти новые подходы к регулированию токсичности гербицидов в условиях почвенной среды, а также использовать гуминовые препараты в качестве детоксикантов.

Целью настоящей работы было изучение детоксицирующей способности почв различной типовой принадлежности и вида хозяйственного использования и выделенных из них гуминовых кислот по отношению к гербицидам различных классов, а также установление роли ГК в детоксикации этих гербицидов в почвенной среде.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- изучить детоксицирующую способность почв в зависимости от типовой принадлежности и вида хозяйственного использования по отношению к гербицидам- представителям двух классов (сим-триазинов и динитроанилинов);
- выявить свойства почв, определяющие их детоксицирующую способность;
- изучить детоксицирующую способность препаратов ГК, выделенных из исследуемых почв, по отношению к тем же гербицидам;
- выявить свойства ГК, определяющие их детоксицирующую способность;
- на основании сопоставления детоксицирующей способности почв и выделенных из них ГК оценить роль ГК в формировании детоксицирующего потенциала почв по отношению к различным гербицидам.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Влияние типовой принадлежности и вида хозяйственного использования почв на их устойчивость по отношению к гербицидному загрязнению

#### 1.1.1. Поведение гербицидов в почве

При попадании в почву гербициды подвергаются процессам химического и микробиологического разложения, перемещаются по профилю с внутрипочвенным стоком, частично усваиваются растительными и животными организмами, а также связываются с различными компонентами почвы - с органическим веществом, минеральной частью, негумифицированными растительными остатками. По различным данным, на непосредственное подавление сорной растительности расходуется от 1-2 до 10-40% от вносимого количества гербицида, остальная часть вымывается в грунтовые воды или связывается с почвенным материалом, создавая значительные экологические проблемы ("Гербициды...", 1990).

При рассмотрении поведения гербицидов в почве необходимо учитывать биоклиматические особенности региона, поскольку способность гербицидов перемещаться по профилю, их улетучивание, скорость фотохимического, химического и микробиологического разложения определяется гидротермическими условиями и биологической активностью почв (Harris, 1966; Спиридонов, Каменский, 1970; Bailey & White, 1970; Головкин, Воловник, 1976; Rahman, 1977; Smith, 1982; Лунев, 1992; Zech et al., 1992; Nakagawa et al., 1996). В регионах с теплым и влажным климатом период полной инактивации стойких к разложению гербицидов может быть сужен до одного вегетационного периода. Так, проведенные в Индии исследования

показали, что пестициды, период полураспада которых в странах с умеренным климатом составлял несколько лет, в этой стране разлагались менее чем за 6 месяцев (Лунев, 1992).

Говоря о поведении гербицидов в почве, следует выделить два основных процесса - это их закрепление (связывание) почвенными компонентами и миграция по профилю. Миграция токсиканта по почвенному профилю зависит от его растворимости, вносимой дозы, количества осадков, а также от способности почвы удерживать токсикант (“Миграция и детоксикация ...”, 1970). Последняя в основном определяется обогащенностью почвы органическим веществом и ее механическим составом (Самгин, 1975; Schiavon, 1988; Helling et al, 1988; Gilchrist et al., 1993; Sigua et al, 1995). Большое значение имеет и химическая природа гербицида. Например, при изучении миграции 28 гербицидов методом почвенных колонок (Соколов и Стрекозов, 1970) наиболее подвижными оказались производные ароматических карбоновых кислот, наименее подвижными - производные толуидина. Сильно адсорбируемые почвой дипиридиловые гербициды практически не передвигались по почвенному профилю; даже в чистом песке паракват при норме внесения 18 кг/га передвигался лишь до глубины 1 - 2,5 см, а дикват - до 8 см. В то же время слабо адсорбируемые почвой и хорошо растворимые в воде производные фенилуксусной и бензойной кислоты (фенак, 2,3,6-ТБК) обнаруживали на глубине 0,6 - 3,0 м (Соколов и Стрекозов, 1970).

Гербициды - производные нитроанилинов, в частности, трифлуралин обладают очень низкой миграционной способностью (Майер-Боден, 1972; Tutarli et al., 1995; Tworowski et al., 1996). Из-за малой растворимости в воде и адсорбции составными частями почвы гербициды этого класса только в небольших количествах вымываются в более глубокие слои.

Гербициды класса сим-триазинов характеризуются ограниченной миграцией по почвенному профилю. Основная масса сим-триазинов обычно содержится в верхнем слое 0-5 см. Опытами Лебедевой и Шустровой (1975), изучавших влияние свойств почв на перемещение симазина, было показано, что в торфе и глине гербицид не перемещался ниже 5 см, несмотря на создание условий интенсивного промывания. В дерново-подзолистой суглинистой хорошо окультуренной почве максимальная концентрация гербицида содержалась в слое 0 - 15 см, а в песке самым токсичным оказался слой 15 - 20 см. Таким образом, утяжеление механического состава и увеличение содержания органического вещества способствовало адсорбционному закреплению токсиканта и ограничению его перемещения. Данный вывод можно отнести ко всем гербицидам группы сим-триазинов.

При изучении адсорбционной способности почв по отношению к гербицидам очень трудно оценить отдельный вклад органической и минеральной фракций, образующих единый глинисто-гумусовый комплекс. По мнению ряда исследователей (Hance, 1969; Menzer & Nelson, 1986), содержание в почве более нескольких процентов органического вещества способно полностью блокировать поверхности глинистых минералов и сделать их недоступными для молекул гербицидов. Одним из наиболее распространенных способов определения сорбционной способности минеральной составляющей являются лабораторные эксперименты с очищенными минералами. С применением данного метода было установлено, что глинистые минералы могут адсорбировать гербициды различных классов как внешней поверхностью, так и заключать их в междуслойные пространства. При этом сорбционная емкость глинистых минералов определяется площадью поверхности, емкостью катионного обмена и видом насыщающего катиона (Weber, 1970; Carringer et al., 1975; Terse &

Calvet, 1978; Gilchrist et al., 1993). Однако органическое вещество почв, содержащее большое количество компонентов, способных к различному химическому и физическому взаимодействию с гербицидами, в большинстве случаев играет преобладающую роль в связывании токсикантов. Так, обладая одинаковой удельной поверхностью в 500-800 м<sup>2</sup>/г, верховой торф сорбировал 91,8 мкг атразина на 1 кг торфа, а монтмориллонит - только 4,3 мкг (Соколов и Стрекозов, 1970).

Остатки гербицида, связанные почвой, могут представлять собой как исходное соединение, так и продукты его разложения. Их содержание в почве может варьировать от нескольких процентов до 90% от примененного вещества в зависимости от химического класса гербицида. Так, для триазиновых гербицидов было найдено, что связанные почвой остатки составляют 47 - 57% от внесенной дозы; для производных нитроанилинов - от 7 до 85% (табл. 1).

Таблица 1. Содержание “связанных” остатков гербицидов в почвах (Кэлдербенк, 1993).

Гербициды	Связанные остатки, % от примененного количества
Анилиды и мочевины	34-90
Производные дипиридилия	10-90
Нитроанилины	7-85
Феноксипроизводные	28
Фосфонаты(глифосат)	12-95
Триазины	47-57

Особая трудность заключается в дифференциации связанных остатков на исходное соединение и продукт (продукты) его разложения, что связано с применением жестких воздействий при экстрагировании соединения из почвы. При этом может происходить изменение химической природы остатка. Во многих случаях содержащее связанные

остатки органическое вещество можно фракционировать на гуминовые кислоты, фульвокислоты и гумин, причем все фракции будут содержать в своем составе продукты разложения гербицидов (Hayes, 1970; Meikle et al., 1976; Nearpass, 1976; Nelson et al., 1983).

Связывание гербицидов органо-минеральными компонентами почвы имеет различные последствия. Во-первых, может возникнуть необходимость в использовании больших доз препарата для достижения желаемого эффекта, поскольку инкорпорирование гербицида в глинисто-гумусовую фракцию в большинстве случаев приводит к потере его биологической активности (Kaufman et al., 1976; Riley et al., 1976; Сюняев, 1984; Тейт, 1991; Barriuso & Koskinen, 1996). Во-вторых, взаимодействие гербицидов с органическим веществом почвы может различным образом влиять на скорость их разложения. С одной стороны, долговечность гербицида может повышаться в результате ограничения биодegradации вследствие эффекта защиты вещества от микробного воздействия за счет физического блокирования доступа клеток микроорганизмов и ферментов к субстрату (Smith et al., 1988; Тейт, 1991). При этом скорость деградации соединения, по-видимому, будет определяться скоростью трансформации самого органического вещества. С другой стороны, внесение в почву свежих растительных остатков, а также препаратов гуминовых веществ способствует увеличению активности некоторых почвенных ферментов, отвечающих за деградацию гербицида, что может ускорить и процесс разложения токсиканта, связанного с органическим веществом (Кузьмич, 1990; Berger et al., 1996).

Таким образом, при попадании в почву гербициды испытывают влияние различных почвенных факторов, что изменяет степень их токсичности. При этом следует отметить, что для обозначения способности почвы снижать токсический эффект гербицидов в

литературе употребляются различные термины: инактивирующая способность, устойчивость почв по отношению к гербицидному загрязнению, способность почв к снижению токсического эффекта гербицида (“Гербициды ...”, 1990). В настоящей работе использовался термин “детоксицирующая способность” (или детоксицирующий потенциал), под которым в отношении почв понималась их способность снижать токсичность гербицида при действии всех почвенных факторов, препятствуя таким образом угнетению растений. Данный термин рассматривался как эквивалент понятию “устойчивость почв по отношению к гербицидному загрязнению”. В отношении препаратов ГК понималась их способность инактивировать гербицид путем его “связывания” и (или) перевода в нетоксичную форму.

### **1.1.2. Влияние типовой принадлежности почв на их устойчивость по отношению к гербицидному загрязнению**

Детоксикация гербицидов в почве достигается при комплексном протекании трех процессов, а именно, адсорбции, разложения и перемещения токсикантов в почвенном профиле. При этом адсорбция является, по-видимому, ведущим фактором, поскольку, во-первых, значительный процент практически всех применяемых в настоящее время препаратов связывается почвенными компонентами (“Гербициды...”, 1990), и во-вторых, адсорбированный токсикант может характеризоваться совершенно отличной от исходного соединения биологической активностью, способностью к разложению и перемещению (“Разложение гербицидов”, 1971; Saxena & Bartha, 1983).

Адсорбционная способность почв определяется комплексом почвенно-биоклиматических условий, т.е. типовой принадлежностью почв, а также в значительной степени зависит от вида их использования (Войтехова, 1969; Спиридонов, Каменский, 1970; Raman et al., 1988; Barriuso & Calvet, 1992). Тип почвы определяет общее содержание,

состав и свойства органического вещества, ведущую роль которого в процессах связывания и детоксикации гербицидов отмечают многие исследователи (Hayes, 1970; Березовский, Немова, 1973; Smith, 1982; Beck & Jones, 1996). Например, для получения достаточного эффекта от гербицидов - производных триазина и фенилдиметилмочевины в опытах Войтеховой (1969) на черноземах потребовалось внести в 20-30 большие дозы препаратов, чем на сероземах, при содержании гумуса 6 и 1%, соответственно. По данным того же автора, количества гербицидов, вызывавшие 50%-ное снижение веса тест-растений на различных почвах, существенно варьировали в зависимости от их агрохимических характеристик (табл. 2). Минимальное значение  $ED_{50}$  наблюдалось на инертном наполнителе - песке, не содержащем органического вещества.

Таблица 2. Дозы гербицидов (мг/сосуд), вызывавшие снижение веса растений на 50% ( $ED_{50}$ ) на различных почвах (Войтехова, 1969).

Почвы	$pH_{\text{водн}}$	Гумус по Тюрину, %	$ED_{50}$		
			Симазин	Атразин	Атратон
Чернозем мощный	5,8	5,84	0,85	0,50	0,66
Чернозем выщелоченный	4,7	6,04	0,94	0,64	1,85
Дерново-подзолистый суглинок	4,08	1,60	0,090	0,066	0,58
Серозем	7,2	1,10	0,044	0,040	0,042
Песок	-	-	0,018	0,010	0,045

Сравнение действия сим-триазинов в торфяной и дерново-подзолистой почвах при дозах внесения, вызывающих 50%-ное торможение роста растения-индикатора, показало, что в торфяной почве это ингибирующее действие ниже, чем в дерново-подзолистой по атразину в 7,8, по симазину - в 9,0, по пропазину - в 9,3 и по прометрину - в 13,5 раз (Березовский, Немова, 1973).

Корреляционный анализ, проведенный Barriuso & Calvet (1992) по данным экспериментов с 58 образцами почв восьми типов также продемонстрировал наличие линейной зависимости количества адсорбированного атразина от содержания органического углерода ( $r=0.90$ ).

Изучение фитотоксичности тербацила и трифлуралина на десяти типах почв Новой Зеландии при содержании органического вещества от 5 до 62% (Rahman, 1977) показало, что на почвах с низкой обеспеченностью органическим веществом наблюдалось значительное пролонгирование остаточной активности препаратов; внесение трифлуралина в максимальной дозе 4 кг/га приводило к полной гибели растений-индикаторов на всех почвах, за исключением торфяной. На почве с высоким содержанием ила, глины и органического вещества количество связанной радиоактивной метки трифлуралина было значительно выше, чем на почве со слабым поглощающим комплексом (Whiller et al., 1979).

Различная типовая принадлежность почв и связанные с нею почвенные свойства, в частности, содержание гумуса, определяют предельные содержания гербицидов, при которых возможно возделывание различных культур без ущерба для их урожая. Перечень таких значений для атразина и симазина в условиях Казахстана приведен в таблице 3. На основании этих данных можно ориентировочно оценить уровень безопасных для указанных культур концентраций гербицидов и для других типов почв.

Следует отметить, что количество поглощенного токсиканта может зависеть не только от общего содержания органического вещества, но и от доли ГК, ФК и гумина в составе гумуса (Hayes, 1970; Nelson et al., 1983). Соотношение этих основных групп определяется типовой принадлежностью почв (Орлов, 1992) и во многом формирует их

детоксицирующий потенциал по отношению к гербицидам. Так, рядом исследований было показано, что количество токсиканта, связанного с ГК, ФК или гумином, может составлять от 7 до 50% и более (табл. 4).

Таблица 3. Содержание атразина и симазина в различных типах почв в предпосевной период, не оказывающее фитотоксического действия на сельскохозяйственные культуры (ячмень, пшеница, рожь, злаковые травы) (Лунев, 1992).

Почва	Гумус по Тюрину, %	Гербицид	Содержание гербицида, мг/кг
Серозем, светло-каштановая	1,0-2,0	Атразин	0,03
		Симазин	0,05
Каштановая, темно-каштановая	3,0-4,0	Атразин	0,07
		Симазин	0,08
Чернозем южный	4,5-5,5	Атразин	0,08
		Симазин	0,10
Чернозем обыкновенный	6,0-7,0	Атразин	0,12
		Симазин	0,13

Таблица 4. Содержание “связанных” остатков гербицидов в группах гумуса, % от внесенного.

Гербицид	Содержание связанных остатков в:		Автор
	ГК	ФК	
Трифлуралин	14	13	Nelson et al., 1983
3,4-дихлоранилин	67	13	Hsu & Bartha, 1974
Диклофоп-метил	18	12	Smith, 1982

Гуминовые кислоты почв представляют собой наиболее реакционноспособную часть органического вещества почв при взаимодействии с веществами органической природы. (Hayes, 1970; Орлов, 1990; Maqueda et al., 1990; Piccolo et al., 1992). Поэтому можно ожидать, что нарастание гуматности органического вещества в зонально-генетическом ряду от дерново-подзолистых почв к черноземам

способствует повышению детоксицирующего потенциала почв. Значительная обеспеченность гумусом (4-12% и более) черноземов и особенно черноземно-луговых почв наряду с очень высокой степенью гумификации (т.е. с содержанием углерода гуминовых кислот в общем углероде - более 40%) (Гришина, 1986) обуславливает, как уже было показано выше, исключительно высокую инактивирующую способность этих почв по отношению к гербицидам. В литературе имеются указания на то, что изменение некоторых структурных характеристик ГК в зависимости от условий формирования почв, т.е. от их типа, влияет на их реакционную способность по отношению к различным токсикантам (Liu et al., 1996).

Роль типовой принадлежности почв в процессах детоксикации гербицидов определяется не только изменением содержания и состава органического вещества, но и различием таких показателей, как рН почвенного раствора, емкость катионного обмена, степень насыщенности почв основаниями и, в частности, кальцием, влажность, условия аэрации, а также температурный режим почвы (Sheets et al., 1962; Жирмунская, Стонов, 1968; Hayes, 1970; Лунев, 1992). Следует отметить, что вышеперечисленные почвенные характеристики тесно взаимосвязаны с адсорбционной способностью почв.

Для многих гербицидов доказана зависимость их адсорбции от рН и гидролитической кислотности почвы (Соколов, Стрекозов, 1970). Например, для линурона и дифенамида установлено увеличение адсорбции с повышением рН; для 2,4-Д, 2М-4Х и 2,4,5-Т - с понижением рН. В опытах с симазинем на 18 типах почв не удалось установить строгой зависимости между значением рН и емкостью адсорбции, однако была найдена значительная корреляция ( $r=0,86$ ) между гидролитической кислотностью и адсорбцией гербицида, что позволило

авторам сделать предположение о важности механизма ионного обмена во взаимодействии триазиновых гербицидов с адсорбентами.

Изучение адсорбционной способности девяти типов почв, существенно различающихся по минералогическому составу, содержанию органического вещества и рН, по отношению к атразину, тербутрину и 2,4-Д было проведено Barriuso & Calvet (1992) с целью выявления роли формы существования гербицида для адсорбционных процессов в почве. Выбранные гербициды представляли собой нейтральную (атразин), катионную (тербутрин) и анионную (2,4-Д) формы. Результаты исследований показали, что для токсиканта, находящегося в почве в неионизованном состоянии, степень его адсорбции органической компонентой увеличивается с увеличением содержания органического вещества и не зависит от рН, в то время как количество связанных органическим веществом катионного и, в особенности, анионного гербицидов в значительной степени определяется значением рН и минералогическим составом почвы. Urchurch & Mason (1962) обнаружили высокую отрицательную корреляцию между токсичностью 12 гербицидов, включая сим-триазины, и такими почвенными характеристиками, как содержание органического вещества, емкость катионного обмена, сумма обменных оснований, содержание обменного кальция, влажность и свободный дренаж. В опытах Sheets с соавт. (1962) токсичность симазина возрастала с увеличением емкости катионного обмена и понижением рН почвенного раствора.

Влияние типовой принадлежности почв на их связующую способность по отношению к трифлуралину было исследовано Wheeler с соавт. (1979) на примере двух почв штата Флорида - Webster soil и Cecil soil. Через 60 дней после внесения гербицида в Webster soil (содержание ила 45,5%,  $C_{орг}$  3,9% и степень насыщенности основаниями 91%) в

связанном (неэкстрагируемом) состоянии находилось 72% примененного количества; в Cecil soil (19,5%, 0,90% и 31%) - не более 10%.

Помимо связывания с почвенными компонентами, детоксикация гербицидов в почве может достигаться за счет их разложения или потери вследствие улетучивания, при этом существенную роль играют температура и влажность почвы. Данные факторы влияют не только на химическое разложение токсикантов, но также на процессы микробиологической трансформации гербицидов. Например, в условиях влажных субтропиков производные сим-триазина и фенилмочевины даже в дозах 20-30 кг/га теряют фитотоксические свойства в почве за 3-5 месяцев, т.е. скорость их инактивации в данной зоне в десятки раз выше, чем в зоне распространения дерново-подзолистых, серых лесных, черноземных, каштановых и сероземных почв (Спиридонов, Каменский, 1970). Повышение температуры и влажности почвы (до определенных пределов при рассмотрении биологических факторов) усиливает микробиологическое разложение гербицидов, ускоряет их химическую деградацию, а также способствует их улетучиванию (Соколов, Стрекозов, 1975; Wheeler et al., 1979). Наибольшая детоксикация гербицидов обычно наблюдается при влажности, близкой к полной полевой влагоемкости (Лунев, 1992). Так, для трифлуралина значение  $T_{50}$  в сухой почве составило 100 суток, во влажной - 7 суток.

Увеличение содержания влаги понижает адсорбционную способность почвы, поскольку насыщение почвенных коллоидов молекулами воды препятствует сорбции токсиканта. Наряду с этим обводнение почв приводит к созданию анаэробных (восстановительных) условий, при которых скорость инактивации многих гербицидов, а также сама схема их разложения могут принципиально отличаться от таковых при доступе кислорода (Спиридонов, Каменский, 1970; "Разложение гербицидов", 1971; Golab et al., 1979). В связи с этим детоксикация

гербицидов на типах почв, формирующихся в условиях гидроморфизма, может иметь свои особенности. Так, Спиридоновым и Каменским (1970) было показано, что скорость инактивации гербицида в глеевом горизонте лугово-болотной почвы значительно выше, чем в гумусовом горизонте, что позволило авторам сделать предположение о преобладающей роли восстановительных процессов в инактивации атразина. Golab с соавт. (1979), изучавшие различные аспекты поведения трифлуралина в анаэробных и аэробных условиях, пришли к выводу, что при восстановительных условиях количество продуктов разложения токсиканта значительно выше, чем в аэробных условиях; при этом их фитотоксичность существенно ниже, чем фитотоксичность исходного соединения.

Сравнивать детоксицирующую способность почв, относящихся к различным типам, правомерно при одинаковых условиях, устанавливаемых при проведении модельных опытов. В этом случае можно также более или менее точно определить ведущий фактор в процессах инактивации токсиканта. В опытах Березовского и Немовой (1973), изучавших адсорбционную способность двух различных почв по отношению к атразину, был рассчитан коэффициент распределения атразина между адсорбированной и растворенной формами. При температуре 20<sup>0</sup>С и рН 5,6 коэффициент распределения был равен для торфяной почвы 24,1-26,1, а для дерново-подзолистой - 1,1-1,4, что свидетельствует о значительно более высокой поглотительной способности органогенной почвы.

Таким образом, характеризуя устойчивость различных почв по отношению к гербицидному загрязнению, необходимо учитывать свойства почв, обусловленные их типовой принадлежностью, и в особенности, показатели гумусного состояния, имеющие наибольшее значение в поведении большинства гербицидов в почвенной среде.

### **1.1.3. Влияние вида использования почв на их устойчивость по отношению к гербицидному загрязнению**

Изучение поведения гербицидов в почвах, не нарушенных сельскохозяйственной деятельностью, дает возможность выделить те особенности детоксикации, которые обусловлены действием только природных факторов, а именно, типовой принадлежностью почв. Это важно для понимания основного механизма детоксикации гербицида в зоне распространения конкретного типа почв. Однако свойства почв, подвергшихся сельскохозяйственной обработке, а также характеризующихся различной степенью окультуренности, существенным образом меняются. Использование разнообразных агротехнических приемов приводит к нарушению естественной структуры и сложения почвенных горизонтов, изменению условий аэрации, влажности и температурного режима, что в комплексе с применением органических и минеральных удобрений, а также средств химической защиты растений неоднозначно сказывается на микробиологической активности почв и показателях их гумусного состояния (Титова, Когут, 1991; Гамалей с соавт., 1994; Когут, 1996; Орлов с соавт., 1996). Поэтому детоксицирующая способность целинных почв может существенно отличаться от детоксицирующей способности их вариантов, используемых в сельском хозяйстве.

Следует отметить, что нам не удалось найти литературных сведений о сопоставлении детоксикации гербицидов почвой в естественном состоянии, на которой данный конкретный гербицид применялся бы впервые, и ее пахотным вариантом.

Изучение длительности токсического действия клопиралида на целинном и культивируемом вариантах почв было предпринято Schutz с соавт. (1996). Результаты показали, что период полураспада данного

гербицида был значительно длиннее в целинном варианте с более высоким содержанием гуминовых кислот; в культивируемом варианте разложение шло быстрее.

Влияние различной обработки почвы на продолжительность токсического действия триазинов было изучено Г.Ф. Лебедевой (1970). Для этой цели на одной части делянки, предварительно обработанной гербицидом, была произведена культивация на глубину 10-12 см, а на другой - вспашка плугом с оборотом пласта на глубину 20 см. В результате через год после внесения гербицидов количество сорняков и их масса были значительно большими, а видовой состав сорняков богаче на варианте "пашня" по сравнению с вариантом "культивация". Согласно мнению автора, различия в достигнутой степени детоксикации триазинов были обусловлены тем, что при вспашке гербициды перемешивались с большим объемом почвы, что послужило снижению их концентрации и уменьшению токсического эффекта. Этим же автором было показано влияние различной степени окультуренности почвы на длительность токсического действия триазинов (табл. 5). Так, симазин в дозе 3 кг/га на хорошо окультуренной дерново-подзолистой почве через 12 месяцев после внесения оказывал лишь небольшое токсическое действие, тогда как на слабо окультуренной дерново-подзолистой почве растения тест-культуры полностью погибали, и только через 24 месяца токсическое действие гербицида на этой почве практически прекратилось. Автором также было показано, что на дерново-подзолистой суглинистой почве при внесении 3 кг/га симазина токсическое действие прекращалось через год, а на огородном варианте - спустя 6 месяцев. Аналогичные данные были получены в опыте с атразином.

В опытах Stearman с соавт. (1989) изучалась токсичность метрибузина и оксифлуорфена на почвах, находящихся под пашней и

многолетними травами. Результаты исследований показали, что токсичность примененных гербицидов была в 1,5 раза ниже на пахотных вариантах почв, хотя содержание углерода в них было несколько меньше. Авторы объяснили данный факт повышенной реакционной способностью гумусовых веществ пашни, представленных в большей степени ГК и ФК, и в меньшей степени -гумином, по сравнению с почвой под многолетними травами.

Таблица 5. Длительность токсического действия триазинов на дерново-подзолистой почве разной степени окультуренности (Лебедева, 1970).

Почва	рН	Гумус, %	Доза гербицида, кг/га	Вес растений - индикаторов (яровой пшеницы) в различные сроки после внесения гербицида, % к контролю	
				через 12 мес.	через 24 мес.
Дерново- подзолистая хорошо окультурен- ная	5,8	3,65	Симазин		
			3	82	112
			3	87	100
			5	55	96
			Прометрин		
5	113	112			
Дерново- подзолистая слабо окультурен- ная	4,2	1,85	Симазин		
			3	0	100
			5	0	99
			3	46	92
			Прометрин		
5	0	101			

Для понимания процессов ускоренной трансформации гербицида в условиях окультуривания почвы следует учитывать изменения, происходящие в почве при вовлечении ее в сельскохозяйственное использование. Результаты комплексного исследования гумусного состояния целинной и окультуренной дерново-подзолистых почв приведены в работе Овчинниковой с соавт. (1978). В качестве естественного биоценоза авторами был выбран типичный участок леса; почва дерново-среднеподзолистая, легкосуглинистая с содержанием гумуса в слое 5-10 см 2,5%, рН 5,3. Окультуренная почва представляла

собой вырубленный участок елово-березового леса, находившийся под посевом подсолнечника. До закладки опыта поле произвестковали и засеяли многолетними травами. Характерные различия между двумя почвами были установлены по интенсивности дыхания, являющейся одним из наиболее объективных показателей биологической активности почв. Результаты наблюдений показали, что в отдельные периоды с 1 м<sup>2</sup> окультуренной почвы за час выделялось в 1,5-4 раза больше диоксида углерода, чем из целинной почвы. Интенсивная система обработки пахотной почвы (вспашка, рыхление, ежегодное внесение удобрений, известкование) способствовала улучшению всех почвенных режимов, включая снижение кислотности, что положительно повлияло на почвенную биоту и биохимическую активность почвы в целом. Изменение гумусного состояния выразилось в возрастании фракции гуминовых кислот, связанных с кальцием (при регулярном известковании), увеличении отношения  $C_{ГК}/C_{ФК}$  (в основном за счет снижения содержания фульвокислот), увеличении количества нерастворимого остатка (гумина).

Следует отметить, что при повышении окультуренности почв степень выраженности указанных изменений возрастает, происходит усиление процессов гумусонакопления, что связано с ежегодным внесением больших доз органических удобрений, увеличением количества пожнивных и корневых остатков, улучшением условий гумификации. В общем, при переходе от лесных почв к пахотным наблюдается увеличение рН, емкости катионного обмена, степени насыщенности основаниями, содержания обменного кальция, снижение всех видов почвенной кислотности. Таким образом, создаются условия для повышения биологической активности почв, что может способствовать ускорению деградации гербицида, находящегося как в

свободном, так и в связанном с различными компонентами гумуса состоянии.

Изменение различных показателей состояния почв при вовлечении их в сельскохозяйственное использование не следует рассматривать в отрыве от их типовой принадлежности (Александрова, 1980). Во-первых, смена климатических условий требует применения соответствующих агротехнических приемов, а во-вторых, при использовании одного и того же способа обработки на почвах, относящихся к разным климатическим зонам, могут происходить разнонаправленные изменения почвенных свойств. Так, детальное исследование режима органического вещества в автоморфных дерново-подзолистых, серых лесных и черноземных почвах, используемых под пашню, было проведено Б.А. Никитиным (1982). Сравнивались целинные и в разной степени окультуренные почвы, находящиеся в аналогичных ландшафтных условиях. В результате были сделаны следующие выводы: 1) в дерново-подзолистых почвах даже при слабой степени окультуренности возрастает содержание гумуса в расчете на 20-сантиметровый слой; 2) в серых лесных слабо- и среднеокультуренных почвах содержание гумуса уменьшается; то же самое наблюдается и в черноземах. Автор полагает, что в дерново-подзолистых пахотных почвах даже без внесения органических удобрений улучшение условий увлажнения и аэрации приводит к усилению процессов гумификации и гумусонакопления, а в серых лесных и черноземах - к их ослаблению. Рядом исследователей отмечается, что обогащенность органическим веществом, оптимальные температура, влажность и аэрация, создаваемые в почвах с высокой степенью окультуренности, благоприятствуют детоксикации гербицидов в условиях повышенной микробиологической активности (Лебедева, 1970; Самгин, 1975; “Использование почв...”, 1991; “Прогнозирование...”, 1992).

Взаимодействие гербицидов с компонентами почвы носит двоякий характер: с одной стороны, происходит его инактивация под действием различных почвенных факторов, а с другой стороны - возможно изменение свойств почв под действием токсикантов (Miele, 1986; "Гербициды...", 1990; Гамалей с соавт., 1994). Так, интенсивная химическая обработка в целом малогумусированных, с низкой биологической активностью дерново-подзолистых почв может привести к общему ухудшению их гумусного состояния. При нарушении экологических условий гумусообразования - сокращении количества поступающих в почву органических остатков, изменении состава фито- и микробоценозов снижается общее содержание гумуса, уменьшается отношение  $C_{ГК}/C_{ФК}$  (Орлов, Бирюкова, 1987). Исключение из энергетического баланса почвы биологической массы сорных растений приводит к активизации устойчивых форм микроорганизмов, которые при дефиците легкодоступного материала могут разлагать гумусовые вещества. В результате создаются условия для перевода в подвижную форму части запасов общего гумуса (Гамалей с соавт., 1994). Регулярное внесение органических удобрений способствует нормализации общего состояния почв и, в частности, баланса органического вещества, нарушенных в результате применения химических средств защиты растений ("Использование почв...", 1991).

Таким образом, вовлечение почв в сельскохозяйственное использование может оказывать существенное влияние на их детоксицирующие свойства по отношению к гербицидам, поскольку изменяются свойства почв по сравнению с их целинными аналогами.

## **1.2. Роль гуминовых кислот в процессах детоксикации и трансформации гербицидов различных классов**

### **1.2.1. Свойства гуминовых кислот почв различной типовой принадлежности и вида использования**

Гуминовые кислоты - важнейший компонент почвенного гумуса - представляют собой группу высокомолекулярных азотсодержащих органических кислот, молекула которых содержит ароматические группировки (Кононова, 1963; Александрова, 1980). Наличие сложного ароматического ядра, в состав которого входят бензолполикарбоновые кислоты, фенолы, хиноны и другие циклические соединения, и периферической части, представленной в основном фрагментами углеводов и аминокислот, обуславливает химическую гетерогенность и высокую реакционную способность ГК по отношению к веществам различных химических классов (Wershaw et al., 1977; Schnitzer, 1986; Орлов, 1992).

Элементный состав ГК, содержание и природа функциональных групп, соотношение фрагментов, составляющих структуру молекулы, различны в разных типах почв (Орлов, 1990; Crespo et al., 1990) (табл. 6), хотя пространственная и временная изменчивость почв является причиной существенных колебаний состава и свойств ГК даже в пределах одной почвенной группы.

Меньшие коэффициенты варьирования характерны для ГК черноземов, где условия гумификации более однородны, чем, например, в дерново-подзолистых почвах. Так, ГК дерново-подзолистых почв можно отнести к группе относительно молодых гуминовых кислот, находящихся в промежуточной стадии гумификации.

Таблица 6. Характеристики гуминовых кислот основных типов почв (Орлов, 1990).

Тип почвы	Содержание углерода, ат. %	Степень бензоидности, %, гор. А	Содержание гидролизуемых аминокислот, % к массе ГК	COOH + OH <sub>фенольные</sub> , МГ-ЭКВ/100 г
Дерново-подзолистые	37,5	13,0	7-10	638
Серые лесные	38,1	16,0	-	753
Черноземы	42,5	32,4	5-6 (ч. типичный)	500 (ч. типичный)

Они наименее обуглерожены (содержание углерода составляет в среднем  $53,5 \pm 7,6$ , масс.%) (Орлов, 1992), в них хорошо развита периферическая легкогидролизуемая часть молекулы; содержание ароматических фрагментов понижено. ГК дерново-подзолистых почв характеризуются наиболее высокими молекулярными массами. При движении к югу смена типов почвообразования приводит к существенным изменениям структуры ГК в серых лесных почвах и особенно черноземах: возрастает обуглероженность и степень ароматичности ГК, повышается их “зрелость”. Гуминовые кислоты черноземов представляют собой наиболее сформированные и химически стабильные продукты гумификации. В них высоко содержание углерода (в среднем  $57,9 \pm 5,1\%$ ), вклад негидролизуемой (ароматической) части в структуру молекулы составляет около 44% (в дерново-подзолистых - около 20%), молекулярно-массовое распределение компактное, а средние значения ММ значительно меньше, чем в дерново-подзолистых почвах (Орлов, 1992).

Свойства гуминовых кислот и скорость их трансформации находятся в тесной зависимости не только от генетической принадлежности почвы, но и от вида экосистемы, в результате

функционирования которой они (ГК) формируются: например, лес или луг, а также от типа растительного сообщества (Тейт, 1991).

Неоднородность и сложность химического состава гумусообразователей, стадийность самого процесса гумификации и варьирование условий, в которых протекает этот процесс, а также реакции взаимодействия образующихся гуминовых кислот с компонентами минеральной части почвы являются, по мнению Александровой (1980), основными причинами полидисперсности и гетерогенности химического состава гуминовых кислот. Так, под покровом хвойных лесов формируются почвы подзолистого типа, исходное органическое вещество которых составляют воска, смолы, дубильные вещества, лигнин; в результате продукты гумификации обогащены бензолполикарбонowymi кислотами, хинонами, фенолами (Гришина, 1986). Продолжительность периода биологической активности, достаточная для глубокой трансформации органических веществ, должна бы приводить к образованию высокоароматичных гуминовых кислот, чего на самом деле не происходит. Высокая активность разложения мощной наземной биомассы приводит к освобождению продуктов кислой природы в силу низкой зольности хвойных остатков. В результате в почве создается кислая реакция, неблагоприятная для конденсации продуктов полураспада. К тому же промывной режим способствует процессу активного выноса продуктов распада органического вещества. Совокупность этих условий приводит к формированию относительно “молодых” ГК с хорошо развитой периферической частью и слабовыраженным ароматическим ядром.

В зоне распространения серых лесных почв в широколиственных лесах, по сравнению с хвойными, интенсивность трансформации растительных остатков существенно возрастает. Это связано со смягчением климатических условий, изменением химического состава

опада, в котором уменьшается содержание липидов, дубильных веществ, увеличивается количество белковых соединений, минеральных компонентов (Гришина с соавт., 1990). Гуминовые кислоты здесь обогащены карбоксильными и фенолгидроксильными группами, что связано с высоким содержанием таннинов в листьях дуба. Степень их ароматичности несколько выше.

Смену лесной формации на луговую в естественных условиях лучше всего рассматривать на примере перехода зоны широколиственных лесов в зону луговых степей, где распространены черноземные почвы. Биомасса корневых систем в луговых сообществах в 3-4 раза превышает надземную массу. В составе травянистой растительности повышено содержание соединений азота и углеводов, а также минеральных компонентов. Продолжительность активного времени гумусообразования на фоне оптимального увлажнения и близкой к нейтральной реакции среды создает условия для полимеризации образующихся продуктов распада органического вещества (Багаутдинов, 1994). Высокая биологическая активность почв луговых сообществ способствует использованию в качестве энергетических и пищевых ресурсов легко гидролизуемых органических компонентов как в растительных остатках, так и в гумусовых кислотах. Поэтому формирующиеся в черноземных почвах гуминовые кислоты имеют отчетливо выраженное ароматическое ядро и слабо развитую периферию. Стабилизации ГК способствуют карбонаты кальция и магния, а также контакт с обогащенной вторичными минералами минеральной частью почвы. В работе Гришиной (1986) отмечается также, что миграция водорастворимых компонентов по почвенному профилю происходит кратковременно лишь в периоды таяния снега или дождей и не имеет такого принципиального значения, как в лесных почвах подзолистого типа.

В целом, для почв, находящихся под разной растительностью, выявлены следующие закономерности изменения элементного состава ГК: для подзолистых почв содержание углерода возрастает в ряду “лес - поле - луг”, а для черноземных - от степи к лесу.

Структура и свойства ГК претерпевают значительные изменения при вовлечении почв в сельскохозяйственное использование. На начальных стадиях обработки почв лесных экосистем и в последующие несколько лет происходит общее существенное снижение содержания органического вещества, что характерно для всех минеральных почв, обрабатываемых в сельском хозяйстве (Тейт, 1991). При распашке луговых почв на фоне первоначально прогрессирующих потерь гумуса наблюдается обогащение органическим веществом почвенных частиц меньшего размера. С течением времени содержание более гумифицированных продуктов возрастает, что указывает на снижение способности почвы обеспечивать растения питательными веществами. Дальнейшему восстановлению и стабилизации уровня органического вещества способствует регулярное внесение органических удобрений и в целом проведение мероприятий, направленных на повышение степени окультуренности почв.

С улучшением культурного состояния почвы возрастает содержание ГК в составе гумуса, причем эта тенденция проявляется практически независимо от типовой принадлежности почвы. Так, по сообщению Орлова и Бирюковой (1987), содержание углерода гуминовых кислот в пахотных вариантах дерново-сильноподзолистых почв Нечерноземной зоны России на 3%, серых лесных - на 8 и оподзоленных и выщелоченных черноземов - на 17% выше, чем в их целинных аналогах. Существенным образом меняется и состав ГК. Согласно исследованиям Митусовой (1986), Багаутдинова и Хазиева (1992), выявлена общая тенденция увеличения содержания углерода в

ГК почв, в которые регулярно вносили органические удобрения. В табл. 7 приведены состав и свойства бурых (БГК) и черных (ЧГК) гуминовых кислот, формирующихся в условиях целины и пашни в серой лесной почве и черноземе типичном. Как видно из представленных данных, сельскохозяйственное использование этих почв способствовало росту обуглероженности ГК, уменьшению гидролизуемой части молекулы, некоторому увеличению общей кислотности и существенному возрастанию степени бензоидности ГК.

Таблица 2. Состав и свойства гуминовых кислот целинного и пахотного вариантов серой лесной почвы и чернозема типичного (Багаутдинов и Хазиев, 1992).

ГК	Элементный состав, ат. %				% к массе		COOH+OH, гэкв/100 г	Степень бензоидности %
	С	Н	О	Н	Углероды	Амино-кислоты		
БГК	36,54	40,35	<i>Серая</i> 20,89	<i>лесная.</i> 2,20	<i>лес</i> 9,3	9,4	0,80	13
ЧГК	38,28	39,05	20,94	1,71	7,5	5,3	0,74	16
БГК	37,48	40,18	<i>Серая</i> 20,30	<i>лесная.</i> 2,03	<i>пашня</i> 7,0	6,5	0,88	15
ЧГК	39,54	37,89	20,90	2,65	5,5	3,8	0,79	20
БГК	40,30	37,03	<i>Чернозем</i> 20,90	<i>типичный.</i> 1,76	<i>целина</i> 7,0	9,0	0,72	23
ЧГК	43,11	35,42	19,76	1,70	4,4	3,1	0,60	36
БГК	41,32	36,15	<i>Чернозем</i> 20,75	<i>типичный.</i> 1,78	<i>пашня</i> 5,8	8,0	0,78	28
ЧГК	44,80	34,41	19,15	1,62	3,6	2,7	0,69	39

Длительное применение высоких доз органических удобрений на песчаных Al-Fe-гумусовых подзолах ведет к укрупнению ароматической части молекулы ГК, обогащению их азотом (Аммосова и Балаганская, 1991). При длительном паровании дерново-подзолистых почв в ГК наблюдается отщепление боковых структур и относительное накопление ароматических фрагментов; систематическое унавоживание этих почв (при периодическом известковании) способствует их обогащению менее сложными, менее “зрелыми” гуминовыми соединениями, в молекулах

которых преобладают малоконденсированные структуры с выраженными алифатическими цепями, вызывает гидратацию молекул ГК (Гришина, 1989). В то же время при длительном внесении навоза в мощные слабовыщелоченные черноземы наблюдается некоторое обогащение ГК углеродом при одновременном уменьшении содержания в них кислорода.

Гришиной с соавт. (1989) был применен метод графико-статистического анализа по Кревелену для характеристики изменений в составе ГК при окультуривании дерново-подзолистых почв различных элементов ландшафта. Результаты показали, что ГК окультуренных почв транзитных элементов рельефа характеризуются обогащенностью алифатическими цепочками, для них свойствен процесс гидрогенизации и декарбоксилирования; в то же время в верхнем горизонте почв элювиальных ландшафтов условия для гумификации растительных остатков и возрастания степени бензоидности и усложнения структуры ГК более благоприятны.

На процессах формирования ГК определенным образом сказывается проведение оросительных мероприятий, характерных для зоны распространения черноземов. Режим периодического увлажнения - высушивания способствует увеличению относительного содержания ГК, что связано, по-видимому, со вспышкой минерализации органических остатков вслед за высушиванием - увлажнением (Самойлова с соавт., 1990).

Изучение элементного состава ГК орошаемых и неорошаемых черноземных почв Поволжья показало, что под влиянием длительного орошения практически во всех ГК возросло содержание углерода, понизилось содержание водорода и кислорода, содержание азота практически не изменилось (Орлов, 1990). Значительно повысилась степень бензоидности ГК: повышение микробиологической активности

почв способствовало усиленному отщеплению боковых алифатических цепочек в молекулах ГК.

Свойства гуминовых кислот могут существенно варьировать на участках площадью в несколько квадратных метров. Например, обуглероженность ГК, выделенных из почв при возделывании цитрусовых культур и виноградников, возростала в ряду “контрольный участок - гряда - междурядье”; количество кислых функциональных групп было минимально в ГК гряд и максимально на ненарушенных участках (Miano et al., 1996). В почвах, на которых в течение продолжительного времени возделывались кукуруза и соя, содержание углерода гуминовых кислот было ниже на 6-10%, соответственно, по сравнению с их аналогами, где эти культуры не выращивались на протяжении 7 лет. При этом уменьшение отношения Н/С в ГК непрерывно культивируемых почв свидетельствовало об увеличении степени их ароматичности (Stearman et al., 1989).

Таким образом, свойства ГК находятся в тесной зависимости от типовой принадлежности и вида сельскохозяйственного использования почв. В зонально-генетическом ряду “дерново-подзолистые - серые лесные - черноземы” нарастает обуглероженность ГК и степень их ароматичности. Аналогичная тенденция наблюдается с увеличением степени окультуренности используемых в сельском хозяйстве почв.

### **1.2.2. Механизмы взаимодействия “ГК-гербицид”**

Взаимодействия в системе “ГК-гербицид” могут осуществляться посредством различных механизмов с преобладанием одного или нескольких в зависимости от химического класса гербицида, а также от особенностей строения самих ГК. Химическая гетерогенность молекул ГК, выраженная в наличии ароматического “каркаса” и алифатической периферии, обогащенность различными функциональными группами,

способность к образованию свободных радикалов, а также присутствие гидрофильных и гидрофобных фрагментов в структуре молекулы определяет ведущую роль этих веществ в связывании токсикантов (Khan, 1978; Senesi & Testini, 1982).

Взаимодействия в системе “ГК-гербицид” включают комплекс процессов, в результате которых токсикант связывается гуминовыми веществами посредством образования физической или химической связи различной прочности - от очень слабого Ван-дер-Ваальсова взаимодействия вплоть до ковалентного, сопровождающегося включением молекулы гербицида в структуру ГК, т. е. до потери его химической индивидуальности (Khan, 1978, Dec & Bollag, 1997). Более подробное описание основных механизмов взаимодействия гербицид-ГК приведено ниже.

**Ионный обмен.** Адсорбция по механизму ионного обмена характерна для относительно небольшого числа гербицидов, которые в растворе существуют как катионы или становятся ими в процессе протонирования. В образовании ионной связи принимают участие легкоионизирующиеся карбоксильные и фенольные гидроксильные группы ГК. Методами ИК-спектроскопии и потенциометрического титрования была показана ведущая роль данного механизма в адсорбции диквата и параквата (Burns et al., 1973). Существующие в растворе в виде двухвалентных катионов бипиридилиевые гербициды реагируют с отрицательно заряженными группами ГК: либо с двумя  $\text{COO}^-$ , либо с одной  $\text{COO}^-$  и фенолят-ионом.

**Водородное связывание.** Наличие карбоксильных и гидроксильных функциональных групп в ГК обуславливает значительную роль водородного связывания в их взаимодействии с гербицидами, в составе которых присутствуют доноры или акцепторы

протонов (Khan, 1978). Данный тип связывания наиболее характерен для сим-триазинов и производных мочевины.

**Комплексы с переносом заряда (донорно-акцепторный механизм).** Присутствие в молекулах ГК электрон-дефицитных (хинонов) и электрон-избыточных структур (например, дифенолов) предполагает возможность образования комплексов с переносом заряда, когда гербицид является донором или акцептором электронов. Протекание такого рода взаимодействия было подтверждено использованием метода ЭПР-спектроскопии, показавшей увеличение концентрации свободных радикалов в системе “сим-триазин - ГК” по отношению к чистым ГК (Senesi, 1992). По-видимому, электрон-дефицитные, хиноноподобные структуры ГК способны принимать электрон от гетероциклического азотного атома и/или амино-группы молекулы триазина с образованием свободных радикалов как промежуточных продуктов реакции.

**Ковалентное связывание.** Образование ковалентных связей приводит к стабильному, практически необратимому включению гербицида или продукта его трансформации в структуру молекулы ГК, в результате токсикант теряет химическую индивидуальность. Протекание процесса может катализироваться химическими, фотохимическими факторами или деятельностью почвенных ферментов. Продукты биodeградации представителей многих классов гербицидов - ациланилидов, фенилкарбаматов, фениламинов, производных мочевины и нитроанилинов могут быть адсорбированы ГК посредством ковалентного связывания при участии карбонильных, карбоксильных и хинонных групп ГК с образованием гидролизуемых (типа анилинохинонов) и негидролизуемых (например, гетероциклов или сложных эфиров) продуктов. Ковалентное связывание является самым прочным и практически исключает возможность высвобождения

токсиканта и его дальнейшее существование в свободном виде (Dec & Bollag, 1997).

**Ван-дер-Ваальсово взаимодействие.** Образование данного типа связи является результатом слабого, короткодействующего диполь-дипольного или индуцированно-дипольного притяжения. Наибольшее значение данный вид связи имеет для неионных и неполярных гербицидов. С увеличением размера реагирующих молекул вклад Ван-дер-Ваальсовых сил во взаимодействие “ГК-гербицид” возрастает (Senesi, 1992).

Преобладание того или иного механизма взаимодействия обуславливается химической структурой гербицида. Так, для представителей класса сим-триазинов рядом работ была показана важность двух типов взаимодействия - это образование комплекса с переносом заряда и водородное связывание (Khan, 1978; Ladislau et al., 1994; Senesi et al., 1995; Sposito et al., 1996). При этом отдельными исследователями указывается на особенности протекания того или иного процесса в зависимости от условий эксперимента и свойств реагирующих веществ. Применение методов ИК- и ЭПР-спектроскопии, элементного и калориметрического анализов продуктов взаимодействия триазинов с ГК продемонстрировало наличие нескольких различных механизмов связывания в зависимости от содержания кислых функциональных групп в молекуле ГК и степени основности гербицида (Senesi & Testini, 1982; Sposito et al., 1996). Авторами отмечается, что способность ГК к образованию стабильного комплекса с переносом заряда понижается с возрастанием их способности образовывать ионные и водородные связи с молекулой триазина, что связано с уменьшением в этом случае количества свободных радикалов в системе.

Подробных исследований, посвященных изучению взаимодействий ГК с динитроанилинами, нами не найдено. Однако

существует ряд интересных работ, в которых рассматриваются различные аспекты поведения гербицидов данного класса в почве.

Так, комплексное исследование поведения трифлуралина в почве, проведенное Golab с соавт. (1979), позволило выделить 49 продуктов трансформации гербицида в анаэробных и аэробных условиях, при этом определение остатков, связанных с различными фракциями органического вещества, показало невозможность извлечения продукта, в котором кислород обеих  $\text{NO}_2$ -групп и оба пропиловых радикала азотного атома были заменены на водород. На этом основании авторами было сделано предположение о ведущей роли  $\text{NH}_2$ -групп в образовании прочной связи с компонентами органического вещества.

Серия физико-химических исследований связанных остатков гербицидов - производных нитроанилинов была проведена Helling & Krivonak (1978). На основании результатов термического разложения связанных остатков авторы пришли к выводу, что взаимодействие осуществляется в основном через карбоксильные и/или фенольные гидроксильные группы гумусовых веществ и amino-группы частично-восстановленного гербицида.

В целом можно сказать, что многообразие химической природы как гуминовых веществ, так и самих токсикантов обеспечивает возможность осуществления нескольких типов взаимодействия в системе "ГК - гербицид". Однако специфичность условий реагирования и структурные особенности ГК, зависящие, в частности, от типовой принадлежности почвы, а также вида ее использования, могут обуславливать преобладание того или иного типа взаимодействий.

### **1.2.3. Влияние ГК на токсичность гербицидов**

Взаимодействие гербицидов с веществами гуминовой природы приводит к более или менее прочному закреплению токсикантов в почвенном слое и, кроме того, препятствует проявлению токсических

свойств, поскольку связанные гербициды в большинстве случаев менее доступны и мобильны (Hsu & Bartha, 1974; Riley et al., 1976; Kearney, 1976; Berry & Boyd, 1985; Мотовилова с соавт., 1994; Dec & Bollag, 1997). Однако, как показано различными исследованиями, устойчивость образованного комплекса “ГК-гербицид”, его биодоступность для корневых систем растений, а также для почвенных микроорганизмов в значительной мере зависит от химического класса гербицида и свойств реагирующих с ним ГК (Sequi, 1986; Тейт, 1991; Genevini et al., 1994).

Гербициды или их метаболиты, не обладающие фитотоксическим действием в связанном состоянии и не поддающиеся экстракции, по-видимому, могут впоследствии высвободиться и оказывать токсический эффект. К такому выводу пришли Helling и Krivonak (1978), наблюдая дефекты в развитии растений на почве по прошествии 5-7 месяцев после внесения профлуралина, трифлуралина, хлорнидина и динитрамина.

Сюняев (1984), изучая трансформацию и миграцию симазина в почвах подзолистого и черноземного типов в полевых и лабораторных условиях, пришел к выводу о двойной роли гумуса в процессах дегградации симазина: в первые 20-30 суток после внесения гербицида гумус ускоряет его разложение, а затем способствует замедлению разложения вследствие прочного закрепления гербицида вплоть до включения симазина в структуру молекулы гумусовых веществ.

В работе Genevini с соавт. (1994) изучалась токсичность атразина, прометона, диурона, линурона и их комплексов с ГК, выделенной из угля, на водной среде по отношению к проросткам огурца. Результаты эксперимента показали, что комплексы атразина с ГК не обладали токсическим действием: тест-растения, выращенные в присутствии этих комплексов, не отличались от контрольных вариантов. По-видимому, это было обусловлено биологической недоступностью гербицида.

Токсичность прометона в присутствии ГК существенно снизилась. В то же время продукты взаимодействия производных мочевины с ГК оказывали ингибирующий эффект на прирост биомассы тест-растений.

Образование комплексов “ГК-гербицид” может способствовать снижению токсического эффекта, который оказывают представители триазинов, диазинов, производных мочевины, карбаминовых кислот и некоторых других химических классов на фотосинтетическую активность растений (Draber et al., 1991; Manthey et al., 1993). Молекула ГК в этом случае, по-видимому, “связывает” активный центр гербицида, препятствуя таким образом его вмешательству в процесс передачи электрона по электрон-транспортной цепи.

Взаимодействие гербицидов с ГК влияет не только на их доступность для растений, но и на процессы последующей трансформации. С одной стороны, может наблюдаться замедление деградации гербицида вследствие его ассоциации с ГК и блокирования органическими коллоидами (Smith et al., 1988; Кэлдербенк, 1993); с другой стороны, органическое вещество способно оказывать стимулирующее действие на активность некоторых ферментов, катализирующих разложение гербицида (Кузьмич, 1990). Ускорить процесс разложения можно путем внесения в почву свежих растительных остатков (Smith et al., 1988; Lee et al., 1995; Berger et al., 1996), активизируя таким образом микробиологическую деградацию комплексов.

Гуминовые кислоты могут способствовать снижению токсичности не только исходных препаратов гербицидов, но и продуктов их трансформации. Так, Amador с соавт. (1991) изучали деградацию комплексов ГК с анилином, являющимся структурным компонентом многих органических соединений. Результатами эксперимента было показано, что комплексы “анилин-ГК” не оказывали токсического

эффекта на численность бактерий; скорость деградации комплексов была значительно ниже, чем скорость деградации несвязанных ГК, и возрастала при световом облучении и увеличении численности микробных популяций. Повышенную устойчивость анилин-гуминовых комплексов к микробному разложению авторы объяснили формированием азотных гетероциклов в результате ковалентного связывания анилина с хинонными структурами в молекуле ГК.

Устойчивость комплексов “ГК-гербицид” существенно зависит от структурных особенностей ГК. Например, ГК, выделенные из почв, образовывали более стабильные комплексы с напропамидом, чем водные и торфяные ГК (Liu et al., 1996). Анализ элементного состава гуминовых кислот показал, что почвенные ГК характеризовались повышенным содержанием азота и фосфора и пониженным - кислорода; содержание аминокислот в них в 2-5 раз превышало этот показатель для торфяных и водных ГК. По мнению авторов, такие различия в структуре ГК обусловили значительный вклад гидрофобного связывания в образование и устойчивость комплексов выделенных из почв препаратов.

Гуминовые кислоты почв могут влиять на токсичность гербицидов не только образуя недоступные для растений комплексы, но и вызывая химическую трансформацию токсикантов. Так, исследованиями Gamble & Khan (1988) было показано, что гуминовые кислоты способствуют гидролизу триазинов, ведущему к образованию нефитотоксичных оксипроизводных.

Таким образом, гуминовые кислоты, являясь высокоактивными веществами специфической химической природы, способствуют снижению токсического эффекта гербицидов различных классов посредством их связывания и трансформации.

В целом, говоря о детоксикации гербицидов в условиях почвы, следует учитывать весь комплекс почвенных свойств, определяемых типом почвы и видом ее использования, уделяя особое внимание органическому веществу как наиболее важному в процессах инактивации токсикантов компоненту почвенной системы. Большое значение имеет не только общее содержание, но и качественный состав органического вещества - в частности, содержание в нем гуминовых кислот. В свою очередь, реакционная способность ГК зависит от их химической структуры, определяемой типовой принадлежностью почв и видом их использования.

## Глава 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1. Почвы

#### 2.1.1. Отбор образцов почв

В соответствии с поставленными в настоящей работе целями, отбор почвенных образцов производился в зонах распространения трех типов почв, последовательно сменяющих друг друга с севера на юг: дерново-подзолистых, серых лесных и черноземов. Каждый тип включал целинный и пахотный варианты. Следует отметить, что взятые образцы наиболее полно отражали типовые признаки выбранных почв, поскольку пробоотбор производился по маршруту летней зональной практики, ставящей своей целью ознакомление студентов с классическими представителями почв указанных типов.

**Методика пробоотбора.** Для проведения исследований было отобрано девять почвенных образцов, каждый из которых был составлен из семи индивидуальных проб. Индивидуальные пробы (каждая проба составляла около 2 кг) отбирали с почвенного участка площадью примерно 5 м<sup>2</sup> из верхнего гумусированного горизонта на глубине 3-20 см. Почву высушивали до воздушно-сухого состояния и пропускали через сито в 1 мм. Из подготовленной таким образом почвы составлялся смешанный образец, который использовали для биотестирования, химических анализов и выделения препаратов ГК.

#### **Пункты пробоотбора и описание почвенных профилей.**

Почвенные профили, краткое описание которых приведено ниже, были вскрыты непосредственно на участках пробоотбора.

**Московская область.** Территория учебно-научного почвенно-экологического центра МГУ “Чашниково”.

1. *Целинная дерново-подзолистая* слабодерновая глубокоподзолистая среднесуглинистая на покровном суглинке;

смешанный лес с преобладанием ели: О(0-1см)–А<sub>д</sub>(1-6см)–АЕ(6-28см)–Е(28-41см)–ЕВ(41-64см)–В(64-70см)–С(70-115см).

**2. Окультуренная дерново-подзолистая** среднепахотная среднесуглинистая слабосмытая на покровном суглинке; ржаное поле, всходы: А<sub>пах</sub>(0-15см)–А1(15-25см)–ЕВ(25-50см)–ВС(50-75см)–С(75-100см).

**3. Культурная дерново-подзолистая** глубокопахотная среднесуглинистая на приусадебном участке: А<sub>пах</sub>(0-32см)–А(32-40см)–В(40-51см)–ВС(51-...).

**Тульская область.** Территория государственного заказника “Тульские засеки”.

**4. Целинная серая лесная** глубоковскипающая среднемошная среднесуглинистая на покровном суглинке; смешанно-широколиственный лес с преобладанием дуба и липы: О(0-2см)–А(2-18см)–АЕ(18-30см)–ЕВ(30-45см)–В<sub>1</sub>(45-60см)–В<sub>2</sub>(60-90см)–ВС(90-142см)–С(142-...).

**5. Освоенная серая лесная** среднесуглинистая слабосмытая на покровном суглинке; поле под кормовыми травами: А<sub>д</sub>(0-4см)–А<sub>пах</sub>(4-25см)–АЕ(25-35см)–ЕВ(35-47см)–В<sub>1</sub>(47-89см)–ВС(89-...).

**6. Целинная темно-серая** лесная грунтово-глееватая среднесуглинистая на покровном суглинке; широколиственный лес (липняк с дубом и ясенем): О(0-3см)–А(3-61см)–АВ(61-79см)–В1(79-98см)–В2(98-115см)–В3(115-145см)–ВС<sub>g</sub>(145-...).

**Воронежская область.**

Территория НИИСХ им. В.В. Докучаева.

**7. Чернозем типичный** глубоковскипающий среднемошный целинный на лессовидном суглинке; злаковоразнотравный луг: А<sub>д</sub>(0-5см)–А(5-56см)–АВ(56-75см)–В<sub>са</sub>(75-80см)–ВС<sub>са</sub>(80-...).

Воронежская область, Бобровский район.

**8. Чернозем обыкновенный** глубоковскипающий среднемощный зоогенно-перерытый распаханый на лессовидном суглинке; свежая пахота:  $A_{\text{пах}}(0-31\text{см})-A_{\text{пах}}A(31-38\text{см})-AB(38-56\text{см})-B_{\text{ca}}(56-128\text{см})-BC_{\text{ca}}(128-\dots)$ .

**9. Черноземно-луговая** выщелоченная среднемощная целинная на лессовидном суглинке; злаковоразнотравный луг:  $A_{\text{д}}(0-6\text{см})-A(6-38\text{см})-AB_{\text{г}}(38-56\text{см})-B1_{\text{г}}(56-90\text{см})-B2_{\text{г,ca}}(90-\dots)$ .

*Список сокращений, принятых в настоящей работе для обозначения почв и выделенных из них препаратов ГК.*

Название почвы	Сокращение
1. Целинная дерново-подзолистая ...	$P_{\text{лес}}^{\text{д}}$
2. Окультуренная дерново-подзолистая...	$P_{\text{пах}}^{\text{д}}$
3. Культурная дерново-подзолистая ...	$P_{\text{ог}}^{\text{д}}$
4. Целинная серая лесная ...	$СЛ_{\text{лес}}$
5. Освоенная серая лесная ...	$СЛ_{\text{пах}}$
6. Целинная темно-серая лесная ...	$ТС_{\text{лес}}$
7. Чернозем типичный ...	$Ч_{\text{тип}}$
8. Чернозем обыкновенный ...	$Ч_{\text{об}}$
9. Черноземно-луговая ...	$Ч_{\text{луг}}$

### 2.1.2. Характеристика почвенных образцов

Для всех 9 почвенных образцов были определены  $pH_{\text{водн}}$ ,  $pH_{\text{сол}}$ , гидролитическая кислотность по Каппену, сумма обменных оснований и степень насыщенности почв основаниями по Каппену-Гильковицу, содержание подвижного алюминия по Соколову, содержание свободного кальция методом пламенной фотометрии (Аринушкина, 1970). Общее содержание органического углерода было определено по методу

Тюрина, состав гумуса - с применением пирофосфатной вытяжки по Кононовой и Бельчиковой (Орлов, Гришина, 1981).

## **2.2. Препараты гуминовых кислот**

Препараты ГК были выделены из следующих семи почвенных образцов:  $P_{лес}^D$ ,  $P_{пах}^D$ ,  $P_{ог}^D$ ,  $СЛ_{лес}$ ,  $СЛ_{пах}$ ,  $Ч_{тип}$ ,  $Ч_{луг}$ . Почвенные источники были выбраны таким образом, чтобы наиболее полно представить влияние типа почв и вида их использования на структурные параметры формирующихся в них ГК.

### **2.2.1. Выделение препаратов ГК**

Выделение препаратов ГК из отобранных почвенных образцов проводили согласно Д.С. Орлову и Л.А. Гришиной (1981). Процесс выделения включал следующие стадии:

***Подготовка почвы.*** Из почвенного образца отбирали корни, затем почву разминали и пропускали через сито с диаметром отверстий 1мм. Для извлечения препаратов использовали 500 г почвы.

***Извлечение гуминовых кислот.*** Для декальцирования навеску почвы переносили в стакан и заливали 0.1 М раствором  $H_2SO_4$  в соотношении почва:раствор 1:5. После отстаивания суспензии раствор сливали и операцию повторяли до отрицательной пробы на кальций. Карбонатные почвы (черноземы) предварительно обрабатывали 10%-ной  $HCl$  до полного разрушения карбонатов, а затем проводили декальцирование.

После декальцирования почву промывали 1-2 раза дистиллированной водой, затем к ней приливали 4 л 0.1 М  $NaOH$ . После перемешивания и отстаивания суспензии темноокрашенный раствор, содержащий гуматы и фульваты натрия, сливали в приемную бутылку. Обработку почвы щелочью проводили до заметного осветления щелочного экстракта (3-4 раза). В полученный раствор добавляли  $NaCl$  (устанавливая концентрацию 0,8 М) для коагуляции минеральных примесей. После отстаивания раствор подвергали центрифугированию

для отделения минеральных коллоидов. Отцентрифугированную жидкость собирали в приемную бутылку. Для осаждения гуминовых кислот к жидкости при осторожном перемешивании добавляли 10%-ную  $\text{H}_2\text{SO}_4$  из расчета 20-25 мл на литр экстракта до появления первых признаков коагуляции (значение pH устанавливали в пределах 1-2). После отстаивания осадка гуминовых кислот надосадочную жидкость осторожно сливали в бутылку, а аморфный рыхлый осадок подвергали центрифугированию (с промыванием дистиллированной водой в центрифужных стаканах) для полного отделения от надосадочной жидкости. В сырой препарат гуминовых кислот добавляли дистиллированную воду до получения жидкой суспензии, переносили в пакет из диализной пленки и помещали в сосуд с дистиллированной водой для очищения от примесей легкорастворимых солей. Диализ проводили до отрицательной реакции на  $\text{Cl}^-$  и  $\text{SO}_4^{2-}$  во внешнем растворе. Очищенную суспензию гуминовых кислот высушивали при  $60^\circ\text{C}$ , сухой препарат гомогенизировали растиранием и использовали в дальнейшей работе.

### **2.2.2. Характеристика препаратов ГК**

#### ***Методика определения влажности твердых препаратов ГК.***

Определение проводили по методу, описанному в работе Abbt-Braun et al., (1990). В оловянной лодочке взвешивали около 1,5-2 мг воздушно-сухого образца ГК с точностью до  $1 \cdot 10^{-3}$  мг и помещали вместе с лодочкой в прибор для вакуумирования. Вакуумирование проводили при температуре  $45^\circ\text{C}$  и давлении  $10^{-4}$  мм. рт. ст. в течение 24 ч. По истечении этого времени лодочку с навеской помещали на тарелку микровесов и регистрировали набор массы образца каждые 15 секунд (первое измерение через 1 мин после прекращения вакуумирования). Строили зависимость массы образца от времени и, экстраполируя ее

начальный линейный участок на момент времени  $t=0$ , находили массу сухого вещества (рис. 1).

По разности между массой воздушно-сухого образца и абсолютно сухого находили его влажность. Большая величина навески не использовалась в связи с тем, что для навесок  $> 2$  мг набор массы за счет поглощения атмосферной влаги оказывается настолько велик, что весы не успевают уравновеситься.

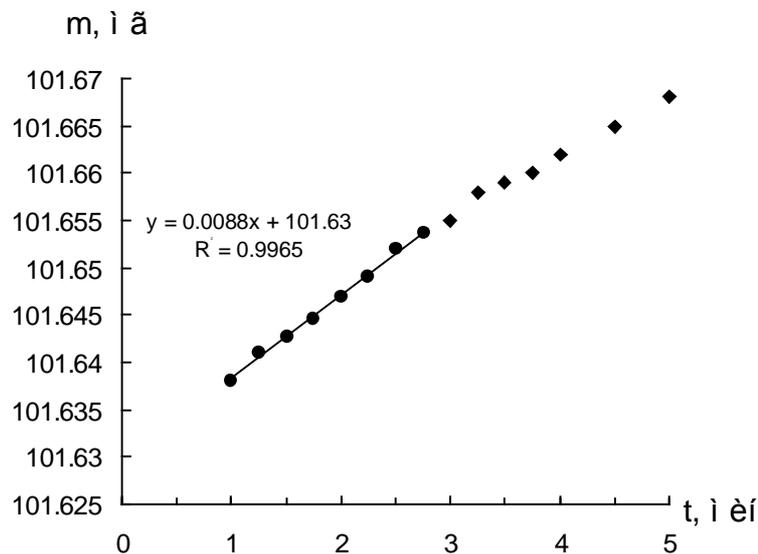


Рис. 1. Набор массы высушенной навески ГК при экспонировании атмосферной влаге.

Исходя из полученных величин влажности, были рассчитаны поправки к содержанию элементов по следующим формулам:

$$\Delta a = \frac{x \cdot a}{100 - x}, \quad \Delta h = \frac{(9h - 100)x}{9(100 - x)}, \quad \Delta q = \frac{(9q - 800)x}{9(100 - x)},$$

где  $a$  – содержание элемента (С, N), масс. %;

$x$  – влажность образца, масс. %;

$h$  – содержание Н, масс. %;

$q$  – содержание О, масс. %;

$\Delta$  – соответствующие поправки на влажность.

Величины поправок составили для С – от +3 до +6%; для Н от –0.4 до –0.7%; для О от –3 до –6%.

**Зольность** выделенных препаратов ГК была определена в лаборатории микроанализа кафедры органической химии Химического факультета МГУ ручным сожжением в кварцевых трубках в атмосфере кислорода при температуре 750<sup>0</sup>С в течение 40 мин, а также с дожиганием с дополнительной порцией кислорода при той же температуре в течение еще 40 мин.

**Элементный анализ препаратов ГК.** С,Н,N-анализ был выполнен на элементном анализаторе модели CHN–O–Rapid-Geraet фирмы Heraeus (ФРГ), для сравнения использовали данные, полученные в лаборатории микроанализа Химического факультета МГУ на приборе модели-1106 фирмы Carlo Erba Strumentazione (Италия). Краткая характеристика условий определения для обоих приборов приведена в следующей таблице:

Анализатор	Carlo Erba	Heraeus
Температура сожжения	1010 <sup>0</sup> С	940 <sup>0</sup> С
Катализатор окисления	Cr <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	CuO
Температура восстановления окислов азота на Cu-контакте	650 <sup>0</sup> С	600 <sup>0</sup> С
Разделение продуктов пиролиза	ГХ* на колонке Porapak Q	Адсорбция-десорбция на силикагеле
Детектирование	Катарометр	Катарометр

\*ГХ – газовая хроматография

Оба элементных анализатора были откалиброваны по ацетанилиду. Использовали навески 1.5-2.0 мг.

Содержание кислорода определяли с помощью анализатора CHN–O–Rapid (Heraeus). Условия прямого определения кислорода на элементном анализаторе Heraeus: восстановительный пиролиз в среде формиер-газа (5% H<sub>2</sub> в N<sub>2</sub>) при 1120<sup>0</sup>С; конверсия продуктов пиролиза в СО на некаталитическом углеродном контакте (газовая сажа);

селективное детектирование CO с помощью недисперсионного ИК-спектрометра.

**$^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопия.** Строение углеродного скелета молекул ГК изучали методом  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии с использованием ЯМР-спектрометра VXR-400 (Varian). Образцы готовили растворением навески (100 мг) в NaOD/D<sub>2</sub>O. Спектр регистрировали при рабочей частоте 100 МГц, время задержки -- 3 с. Количественную обработку спектра проводили интегрированием по следующим диапазонам химических сдвигов (в м.д. по отношению к тетраметилсилану): 0 - 50 (углерод алкильных групп, C<sub>Alk</sub>), 50 - 108 (углерод карбогидратов, первичных спиртов, ацеталей, C<sub>Alk-O</sub>), 108 - 165 (ароматический углерод, C<sub>Ar</sub>), 165 - 185 (углерод карбоксильных групп, C<sub>COOH</sub>). Типичный  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр препарата ГК почв приведен на рис. 2.

Выбранные интервалы для интегрирования  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров гуминовых кислот, а также  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектры всех препаратов ГК даны в Приложении 1.

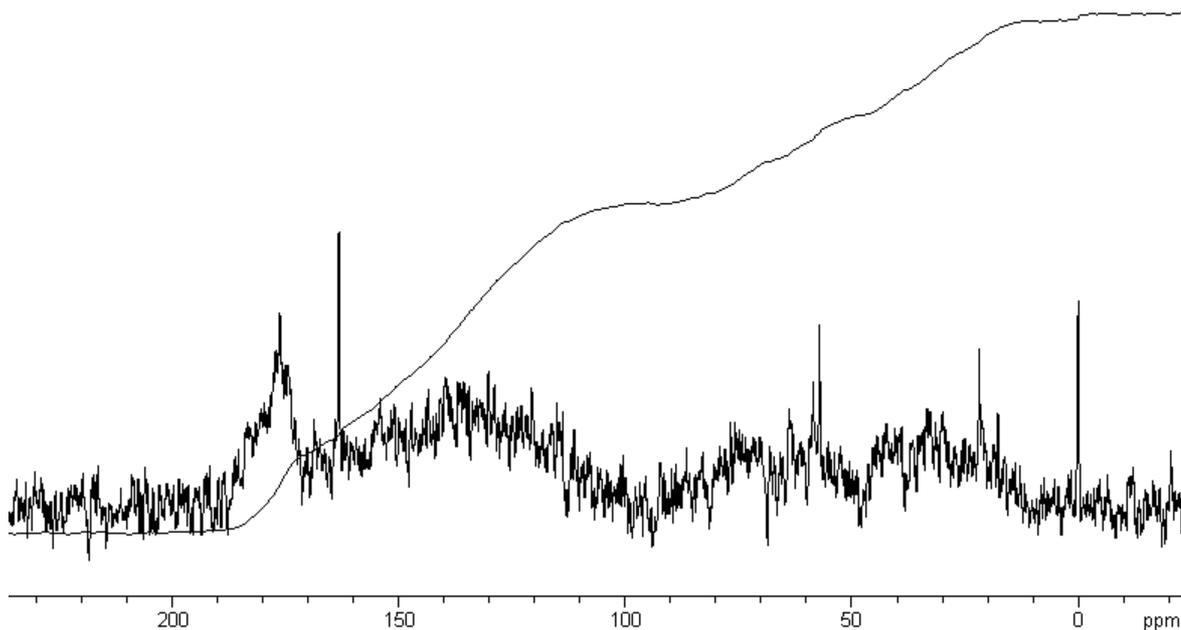


Рис. 2. Типичный  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектр препарата ГК (дерново-подзолистая целинная почва).

Суммированием интегральных интенсивностей  $C_{\text{Алк}}$  и  $C_{\text{Алк-О}}$  определяли вклад алифатического углерода в скелет ГК. Рассчитывая отношение  $C_{\text{Ат}}/(C_{\text{Алк}}+C_{\text{Алк-О}})$ , определяли относительный вклад ароматических фрагментов по сравнению с алифатическими в структуру исследуемых ГК.

**Гель-хроматография.** Молекулярные массы ГК определяли с помощью гель-хроматографии. Разделение ГК осуществляли на колонке, заполненной сорбентом *TOYOPEARL-50HW(S)* (Япония). Размеры колонки: диаметр -- 20 мм, высота -- 25 см. Пробу ГК растворяли и элюировали 0.028 М фосфатным буфером (рН 6,8). Концентрация ГК во фракционируемых пробах не превышала 5 мг/л. Объем фракционируемой пробы - 2 мл. Скорость элюирования -- 1 мл/мин. Детектирование проводили по содержанию растворенного органического углерода в элюате (проточный DOC-детектор "Graentzel", Германия). Типичная гель-хроматограмма препарата ГК приведена на рис. 3 (гель-хроматограммы всех препаратов ГК даны в Приложении 2). Определение молекулярных масс проводили по калибровочному графику. В качестве калибровочных веществ использовали полидекстраны (молекулярная масса, г/моль: 830, 4400, 9900, 21400, 43500, 2000000), олигосахариды (342, 504), глюкозу (180), глицерин (92) и метанол (37). Калибровочный график приведен на рис. 4.

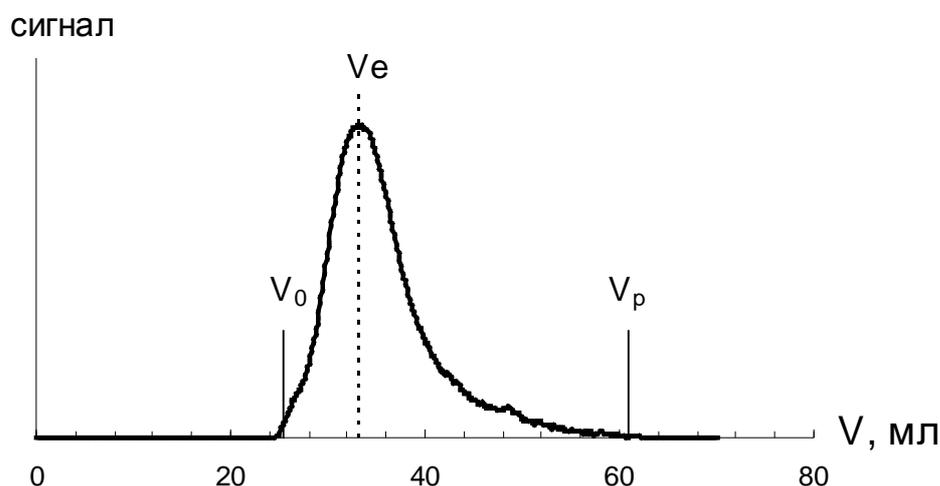


Рис. 3. Типичная гель-хроматограмма препарата ГК  
( $V_0$  -- свободный объем колонки,  $V_p$  -- общий объем,  $V_e$  -- объем элюирования фракционируемой пробы).

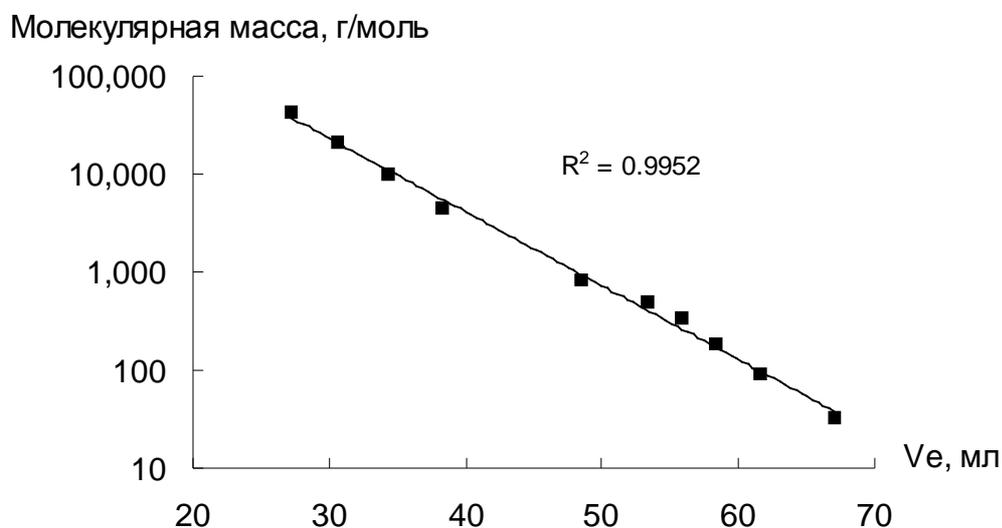


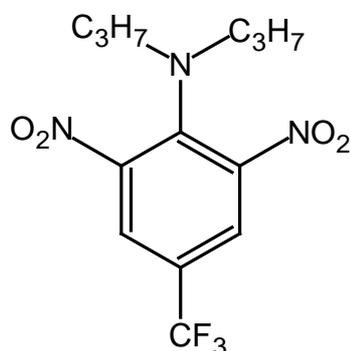
Рис. 4. Калибровочный график геля-хроматографической колонки “Toyopearl-50-HWS” (калибровочные вещества - полидекстраны).

**Обратное титрование.** Общую кислотность ГК характеризовали баритовым методом в модификации Перминовой с соавт. (1995). Для этой цели в пластмассовый сосуд вносили 15 мг гомогенизированного растиранием препарата ГК и приливали 20 мл 0.06 М раствора  $Ba(OH)_2$ . Полученную суспензию взбалтывали в течение двух дней. После отстаивания отбирали аликвотные части раствора и титровали 0.1 М  $HCl$  в присутствии индикатора фенолфталеина. Общую кислотность (мэкв/г ГК) рассчитывали по количеству пошедшей на титрование кислоты.

### 2.3. Определение детоксицирующей способности почв и препаратов ГК по отношению к гербицидам

#### 2.3.1. Гербициды и их свойства

**Трифлуралин** (2,6 - динитро - N,N - дипропил - 4 - трифторметил - анилин) относится к группе замещенных 2,6-динитроанилинов (“Список...”, 1994).



$C_{13}H_{16}F_3N_3O_4$  Мол. вес 335,3

Предложен в 1960 году фирмой “Эли Лилли” (США) в качестве селективно действующего почвенного гербицида. Представляет собой кристаллы желтовато-оранжевого цвета. Обладает незначительной растворимостью в воде (1-24 мг/кг при 27<sup>0</sup>С) и высокой - во многих органических растворителях (40 г в 100 мл ацетона при 27<sup>0</sup>С). Токсический эффект заключается в ингибировании роста корней, а именно, в нарушении процессов деления клеток. Химическая активность определяется строением ароматического ядра, имеющего дефицит электронов, вследствие чего молекулы гербицида образуют стабильные сигма-комплексы с нуклеофильными компонентами растительных тканей (Захаренко, 1990). Летуч, в тонком слое и в растворе на солнечном свете быстро разлагается с образованием продуктов, не обладающих гербицидным действием.

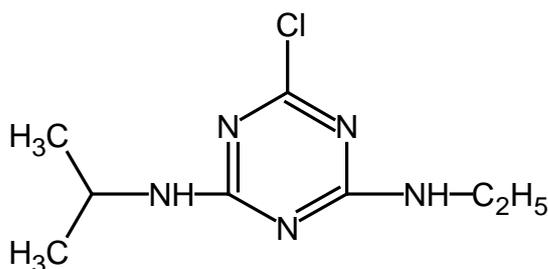
Торговый препарат трэфлан представляет собой эмульсию, содержащую 500 г трифлуралина в 1 л раствора. Служит для уничтожения прорастающих сорных растений в посевах хлопчатника, сои, фасоли, гороха, моркови, капусты, томатов, сахарной свеклы, люцерны, а также в посадках фруктовых деревьев и других культурных растений. Трифлуралин применяется в количествах 0,5-2 кг д.в./га до, во время или после посева. Он заделывается в почву на глубину примерно 5-10 см с помощью соответствующих механизмов (фрез, культиваторов, дисковых и корпусных плугов и т. п.) Эффективное токсическое

действие при правильной заделке сохраняется в течение одного вегетационного периода. Разложение осуществляется как химическим, так и микробиологическим путем. В аэробных условиях гербицид метаболизируется сначала с дезалкилированием дипропиламинной группы до монопропиламино- и аминогрупп, затем с восстановлением одной или обеих нитрогрупп. В анаэробных условиях, которые возникают в залитых водой почвах, эти реакции протекают в другом порядке: сначала проходит восстановление нитрогрупп, затем - дезалкилирование (Майер-Боде, 1972).

В работе использовали х.ч. трифлуралин (99,7%), фирмы *Dr. Ehrenstorfer GmbH*.

Рабочий раствор гербицида (с концентрацией 25 мг/л) готовили растворением навески в малом объеме этилового спирта с последующим доведением до метки дистиллированной водой.

**Атразин** (2-хлор-4-этиламино-6-изопропиламино-1,3,5-триазин) является представителем группы *сим*-триазинов, гербицидная активность которых была установлена в 1952 году в лаборатории фирмы "Тейги" (Швейцария) ("Список...", 1994).



Мол. вес 215,7

Применяется с 1958 года в качестве селективного гербицида для сельскохозяйственных культур, а также в качестве гербицида сплошного действия для невозделываемых площадей.

Атразин - бесцветный кристаллический порошок, слабо растворяющийся в воде и органических растворителях. Токсический эффект заключается в ингибировании процессов фотосинтеза. Гербицид

препятствует процессу передачи электрона по электрон-транспортной цепи, блокируя белковую субъединицу Фотосистемы II (Draber et al., 1991). Атразин используется при посевах кукурузы, спаржи, проса, сахарного тростника, citrusовых, в виноградарстве, а также для борьбы с водной растительностью. Применяется в виде смачивающегося порошка путем опрыскивания почвы до посева, одновременно с посевом или после посева до появления всходов культуры. Обычная норма расхода составляет от 1 до 5 кг/га по д.в. В почве сохраняет фитотоксическое действие от нескольких месяцев до двух лет в зависимости от климатических условий и внесенного количества. Разлагается в основном за счет химического гидролиза и в меньшей степени микробиологическим путем: первичным продуктом гидролиза является нефитотоксичный 2-гидроксиатразин, затем происходит дезалкилирование аминогрупп. Последней стадией гидролиза является расщепление триазинового цикла. Уменьшение фитотоксичности гербицида пропорционально уменьшению его фактической концентрации и указывает на отсутствие гербицидных свойств у продуктов разложения атразина (Майер-Боде, 1972; Керни и Кауфман, 1971).

В работе с почвами использовали препарат атразина с содержанием д.в. 50%.

В работе с препаратами ГК использовали х.ч. атразин (98.0%), фирмы *Dr. Ehrenstorfer GmbH*.

Для проведения экспериментов использовали водный раствор гербицида.

### 2.3.2. Определение детоксицирующей способности почв

#### *Токсикологический эксперимент на почвах с трифлуралином.*

Биотестирование проводилось в соответствии с “Методические указания...” (1988). В чашки Петри помещали по 50 г почвы и вносили водный раствор трифлуралина в дозах 1, 2, 4, 8, 12 мг/кг почвы с тщательным перемешиванием со всем объемом субстрата. По центру чашки Петри проводилась бороздка, в которую укладывали 10 пророщенных семян пшеницы *Triticum aestivum* (сорт “Московская-35”) таким образом, чтобы корни всех проростков были ориентированы в одну грань бороздки, а ростки - в другую. Затем чашки помещали в термостат на 48 часов при температуре 25<sup>0</sup>С. Чашки ставили на ребро так, чтобы бороздка находилась в горизонтальном положении. В качестве тест-отклика использовали длину среднего корня проростка в см. Для каждого опыта рассчитывали усредненную величину тест-отклика по 10 проросткам. Повторность опыта трехкратная. Коэффициент вариации составил в среднем 4.6%.

#### **Схема эксперимента для каждой из 9 почв**

(П - почва, Т - трифлуралин)

Вариант 1. Контроль (П)

Вариант 4. П + Т (4 мг/кг)

Вариант 2. П + Т (1 мг/кг)

Вариант 5. П + Т (8 мг/кг)

Вариант 3. П + Т (2 мг/кг)

Вариант 6. П + Т (12 мг/кг)

#### *Лабораторно-вегетационный опыт на почвах с атразином.*

Опыт проводили в вегетационных сосудах. В сосуд помещали 500 г почвы, в которую при тщательном перемешивании вносили водный раствор гербицида в дозах из расчета 1, 2 и 4 кг/га. В сосуды высаживали пророщенные семена пшеницы *Triticum aestivum* (сорт “Московская-35”) (12 семян на сосуд). Опыт проводили в условиях дневного освещения. Продолжительность выращивания растений составляла 30 дней. В качестве тест-отклика использовали наземную

воздушно-сухую биомассу всех растений в г. Повторность опыта трехкратная. Коэффициент вариации составил в среднем 5.2%.

**Схема опыта** (П - почва, А - атразин).

Вариант 1. Контроль (П)      Вариант 3. П + А (2 кг/га)

Вариант 2. П + А (1 кг/га)      Вариант 4. П + А (4 кг/га)

**Определение в почвах остаточных количеств атразина и его метаболитов методом ВЭЖХ.** Извлечение остаточных количеств атразина из почв производилось согласно “Методические указания...” (1983). Для этой цели 20 г воздушно-сухой почвы помещали в колбу, увлажняли 6-8 мл дистиллированной воды и прибавляли 20 мл смеси гексан-этилацетат (1:1), плотно закрывали пробкой и встряхивали сначала вручную, переворачивая колбу, а затем на встряхивателе в течение 10 минут. Суспензии давали отстояться, экстракт осторожно сливали в чистую колбу (без частиц и слоя эмульсии), затем приливали еще 20 мл смеси и операцию повторяли. Экстракты объединяли и упаривали досуха на роторном испарителе (температура бани - до 37<sup>0</sup>С).

Определение атразина в экстракте осуществляли методом ВЭЖХ с использованием хроматографа HP 1100 (Hewlett Packard, Waldbronn, Германия), снабженного ультрафиолетовым детектором на основе диодной матрицы. Разделение атразина и его метаболитов проводили на колонке Lichrocarb в режиме градиентного элюирования водой и ацетонитрилом. Регистрацию оптической плотности проводили при 220 и 254 нм. Обработка данных производилась с помощью HP Chem Station, версия A.04.01. Типичная хроматограмма экстракта из почв приведена на рис. 5 (ВЭЖХ-хроматограммы всех почвенных образцов при различных дозах внесения гербицида даны в Приложении 3; времена удерживания составили: для дезизопропил-атразина  $t_R = 12.67$  мин, дезэтилатразина 16.38, 2-гидроксиатразина 23.99, атразина 26.31).

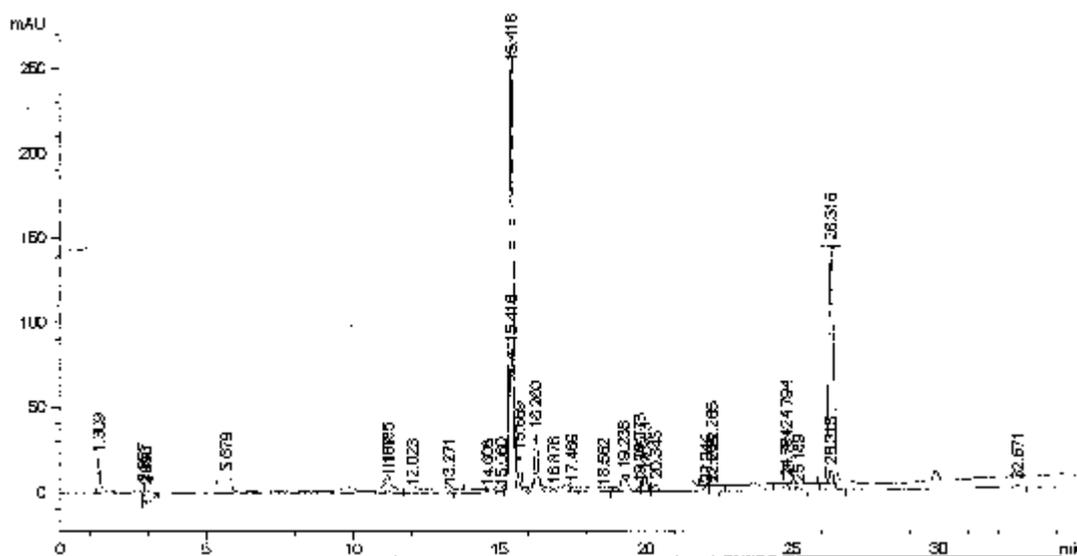


Рис. 5. Типичная хроматограмма экстракта из почвы, содержащей остаточные количества атразина.

### 2.3.3. Определение детоксицирующей способности препаратов гуминовых кислот

*Токсикологический эксперимент на препаратах ГК с трифлураллином.* Для проведения биотестирования выделенные гуминовые кислоты использовали в виде нейтральных растворов, которые готовили из воздушно-сухих препаратов. Для этой цели необходимую для получения рабочего раствора навеску ГК (100 мг/л) растворяли в малом количестве 0.1 М КОН, нейтрализовывали серной кислотой до рН 7 и доводили до нужного объема дистиллированной водой.

Для выбора рабочей концентрации трифлураллина была исследована токсичность гербицида в диапазоне концентраций от 0,0125 до 8 мг/кг субстрата. Для этой цели в чашки Петри помещали нейтральный субстрат - перлит (35 г на чашку), вносили растворы гербицида для достижения указанных концентраций, перлит увлажняли нейтральным раствором  $\text{KOH} + \text{H}_2\text{SO}_4$ , высаживали проростки пшеницы и далее поступали аналогично эксперименту на почвах. По результатам

эксperimenta была выбрана концентрация гербицида 0,5 мг/кг субстрата, вызывавшая  $\approx 50\%$ -ное снижение отклика биотеста (рис. 6).

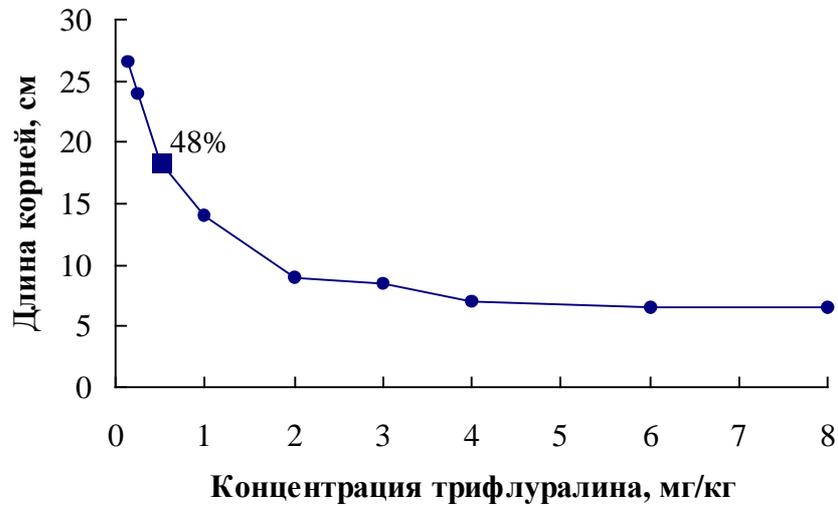


Рис. 6. Шкала токсичности трифлуралина на перлите для проростков пшеницы (тест-отклик на контроле  $R_0 = 38$  см).

Далее проводили эксперимент с внесением препаратов ГК. Растворы гуминовых кислот и гербицида вносили одновременно перемешиванием со всем объемом субстрата. ГК вносили в дозах 10, 25, 50, 100, 200 мг/кг субстрата. При закладке контрольных чашек перлит увлажняли нейтральным раствором  $\text{KOH} + \text{H}_2\text{SO}_4$ . В чашки высаживали по 10 проростков пшеницы и далее поступали аналогично эксперименту на почвах. Повторность четырехкратная. Коэффициент вариации составил в среднем 6.4%.

### Схема эксперимента для каждого из 7 препаратов ГК

1. Контроль (перлит без ГК и трифлуралина)
2. Трифлуралин (Т) 0.5 мг/кг перлита
3. ГК 10 мг/кг перлита
4. ГК 25 »
5. ГК 50 »
6. ГК 100 »
7. ГК 200 »
8. ГК 10 мг/кг + Т
9. ГК 25 » + Т
10. ГК 50 » + Т
11. ГК 100 » + Т
12. ГК 200 » + Т

***Токсикологический эксперимент на препаратах ГК с атразином.***

Для определения детоксицирующей способности препаратов ГК по отношению к атразину применяли метод альгологического биотестирования (Полынов, 1992). В качестве тест-объекта использовали культуру зеленой одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris*.

Культивирование тест-объекта. Культивирование интенсивной культуры хлореллы (термофильный штамм) осуществляли на 20%-ной среде Тамия в термостатируемых культиваторах емкостью 200 мл, при температуре 35<sup>0</sup>С, с продувкой увлажненным воздухом, при освещенности 30 Вт/кв.м (люминесцентные лампы типа ЛДЦ-40) и рН 6,6-6,8. Перед тестированием водоросли выращивали в течение суток. Начальная плотность посадки - 500 тыс. кл./мл. К концу суток плотность клеток была не менее 10 млн. кл./мл.

Регистрация тестовых параметров. Для оценки состояния водорослей использовали параметры быстрой флуоресценции. Выход быстрой флуоресценции измеряли при помощи 2-х лучевого импульсного флуориметра. Источником импульсного света служила лампа-вспышка ИФК-120, работающая в режиме генерации световых импульсов длительностью 40 мкс с частотой 0,5 Гц и вызывающая срабатывание не более 3% реакционных центров. Коротковолновую (300 - 500 нм) область возбуждающего света вычленяли при помощи комбинации светофильтров СЗС-21 и СС-4. Флуоресценцию регистрировали в красной области спектра, помещая между образцом и фотоприемником (ФЭУ-79) светофильтр КС-11. Питание ФЭУ осуществляли при помощи высоковольтного стабилизирующего выпрямителя ВС-22. Интенсивность флуоресценции регистрировалась на цифровом вольтметре и самописце.

Измерения проводили в момент начала эксперимента, через час и через 3 часа. Интенсивность постоянной флуоресценции ( $F_0$ ), которая отражает излучательные потери энергии возбуждения при миграции ее к открытым реакционным центрам, измеряли при освещении адаптированных к темноте образцов слабыми импульсами света. Интенсивность максимальной флуоресценции ( $F_m$ ) при восстановленном первичном хинонном акцепторе измеряли аналогичным образом, но при дополнительном облучении образцов действующим светом в присутствии атразина. Относительный выход переменной флуоресценции, характеризующий квантовую эффективность первичной фотосинтетической реакции, рассчитывали как  $F_v/F_m$ , где  $F_v = F_m - F_0$ . У лабораторной культуры хлореллы в оптимальных условиях  $F_v/F_m$  обычно составляет 0,75-0,78.

Методика токсикологического эксперимента. Интенсивную культуру хлореллы после суточного выращивания освобождали от культуральной среды и концентрировали центрифугированием в течение 3-х минут при скорости 5000 об./мин. Полученную суспензию водорослей вносили в культиваторы с растворами ГК и гербицида.

Для выбора рабочей концентрации атразина была исследована токсичность гербицида в диапазоне концентраций от  $1,12 \cdot 10^{-7}$  до  $1,12 \cdot 10^{-6}$  М. Для этой цели в культиваторы со средой для биотестирования (10%-ная среда Тамия, не содержащая фосфатов, ЭДТА и микроэлементов) вносили растворы гербицида для достижения указанных концентраций, помещали водоросли и регистрировали изменение их фотосинтетической активности. По результатам эксперимента была выбрана концентрация гербицида  $2,2 \cdot 10^{-7}$  М, вызывавшая  $\approx 50\%$ -ное снижение отклика биотеста (рис. 5).

Далее проводили эксперимент с внесением препаратов ГК. В пять мерных колб объемом 50 мл приливали нейтральные растворы ГК для

установления концентраций 1, 2, 3, 5, 10 мг/л, к ним добавляли водный раствор атразина и доводили общий объем до метки средой для биотестирования. Растворы в других пяти колбах готовили таким же образом, но без добавления гербицида. В качестве контроля использовали чистую среду для биотестирования; для установления действия самого гербицида готовили раствор атразина вышеуказанной концентрации в среде для биотестирования. Приготовленные таким образом растворы заливали в культиваторы объемом 100 мл, помещенные в аквариум с терморегуляцией. Условия проведения опытов (освещенность, температура, pH, продувка увлажненным воздухом) были теми же, что и при выращивании хлореллы. В культиваторы помещали по 1 мл культуры водоросли и культивировали в течение 3 часов, контролируя изменение их фотосинтетической активности через определенные промежутки времени. Для этого из культиваторов отбирали аликвотные части растворов, помещали в кюветы и регистрировали параметры быстрой флуоресценции. Повторность трехкратная. Коэффициент вариации составил в среднем 1,3%.

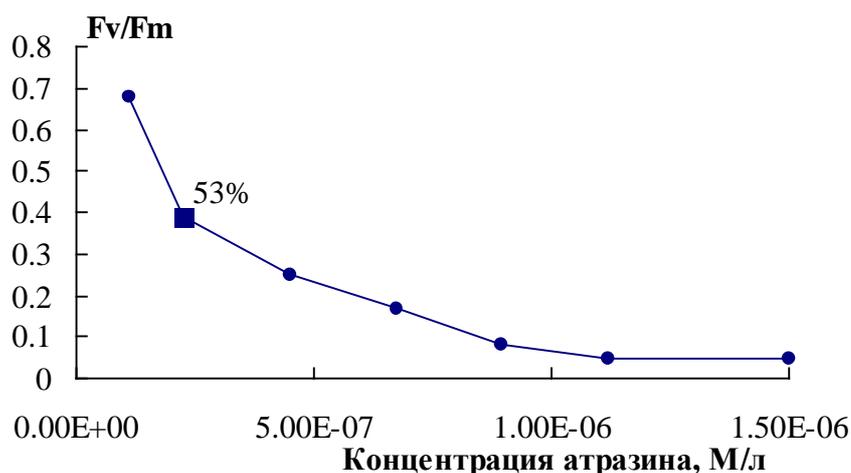


Рис. 7. Шкала токсичности атразина для культуры хлореллы (тест-отклик на контроле  $R_0 = 0,73$ ).

### Схема эксперимента

1. Контроль (среда для биотестирования)
2. Атразин (А)  $2,2 \cdot 10^{-7}$  М
3. ГК 1 мг/л
4. ГК 2 »
5. ГК 3 »
6. ГК 5 »
7. ГК 10 »
8. ГК 1 мг/л + А
9. ГК 2 » + А
10. ГК 3 » + А
11. ГК 5 » + А
12. ГК 10 » + А

#### 2.3.4. Количественная оценка детоксицирующей способности почв и препаратов ГК

Детоксицирующую способность (D) почв по отношению к используемым гербицидам рассчитывали по формуле:

$$D = \frac{R_t}{R_o} * 100\%,$$

где  $R_t$  - тест-отклик в присутствии гербицида,  $R_o$  - тест-отклик в контроле. В качестве тест-отклика использовали воздушно-сухую наземную биомассу или длину корней проростков (для соответствующих экспериментов).

Детоксицирующую способность (D) препаратов ГК по отношению к гербицидам рассчитывали по следующей формуле (Perminova et al., 1996):

$$D = \left( 1 - \frac{R_d - R_{d+t}}{R_d} / \frac{R_o - R_t}{R_o} \right) \times 100\%,$$

где  $R_o$  - тест-отклик в контроле;  $R_t$  - тест-отклик в присутствии гербицида;  $R_d$  - тест-отклик в присутствии ГК;  $R_{d+t}$  - тест-отклик в присутствии ГК и гербицида. В качестве тест-отклика использовали длину корней проростков или фотосинтетическую активность (для соответствующих экспериментов).

Для характеристики детоксицирующей способности почв при всех дозах внесения гербицида или детоксицирующей способности ГК при всех дозах внесения ГК использовали показатель “суммарная детоксицирующая способность” ( $S_D$ ).  $S_D$  рассчитывали как площадь под кривой зависимости  $D$  от дозы внесения гербицида (для почв) или дозы внесения ГК при постоянстве концентрации гербицида (для препаратов), отнесенную к площади, соответствующей стопроцентному детоксицирующему эффекту.

## **Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **3.1. Характеристика исследуемых почв и выделенных из них препаратов ГК**

Принадлежность почвы к конкретному почвенному типу, вид ее использования в хозяйственной деятельности человека обуславливают специфичность ее свойств и влияют на устойчивость почвы по отношению к загрязнителям различной химической природы, в том числе, гербицидам. Как было показано в литературном обзоре, способность почвы противостоять неблагоприятному влиянию химических соединений может сильно варьировать в зависимости от содержания и качественного состава органического вещества, рН почвенного раствора и целого ряда других факторов. При этом выявление зависимости детоксицирующего потенциала почвы от ее свойств возможно только при работе с набором почв, охватывающим непрерывный зональный ряд. Кроме того, детоксицирующая способность почвы может существенно меняться при вовлечении почвы в сельскохозяйственное использование.

При выполнении настоящей работы выбор почвенных образцов производился с учетом влияния двух основных факторов на свойства почв и формирующихся в них ГК: это смена типовой принадлежности почв в соответствии с законом широтной зональности и различный вид их хозяйственного использования. В данном случае представлялось возможным выделить как общие для всего ряда почв и препаратов ГК, так и свойственные каждому конкретному типу почв и формирующихся в них ГК факторы детоксикации используемых гербицидов.

В связи с этим для проведения исследований было отобрано девять образцов трех типов почв различного вида использования (дерново-подзолистые, серые лесные, черноземы; целинный и распаханый

варианты), из гумусового горизонта А с глубины 3-20 см. Препараты гуминовых кислот были выделены из семи почвенных образцов и представляли все исследуемые типы почв и их варианты в зависимости от вида использования.

### 3.1.1. Свойства исследуемых почв

В соответствии с поставленными в настоящей работе целями в исследуемых почвах были определены те показатели химического состояния, от которых в наибольшей степени зависит поведение гербицидов в почве. Как указывалось в литобзоре, такими показателями являются кислотность почв и насыщенность катионами, содержание органического вещества и его групповой состав. Во всех отобранных образцах были определены  $pH_{\text{водн}}$ ,  $pH_{\text{сол}}$ , гидролитическая кислотность по Каппену, сумма обменных оснований и степень насыщенности почв основаниями по Каппену-Гильковицу, содержание подвижного алюминия по Соколову, содержание свободного кальция методом пламенной фотометрии. Общее содержание органического углерода было определено по методу Тюрина, а состав гумуса - с применением пирофосфатной вытяжки по Кононовой и Бельчиковой. Полученные результаты приведены в таблицах 1 и 2.

Как видно из табл.1, при переходе от дерново-подзолистых почв к черноземам наблюдалось снижение кислотности почвенного раствора и увеличение содержания в почве обменных оснований. Так, значения  $pH_{\text{водн}}$  исследованных почв находились в диапазоне от 4.9 ( $P_{\text{лес}}^{\text{д}}$ ) до 7.6 ( $Ч_{\text{тип}}$ ), величина гидролитической кислотности составляла 9.9 мгэкв/100 г почвы в  $P_{\text{лес}}^{\text{д}}$  и 0.8 - в  $Ч_{\text{тип}}$  и  $Ч_{\text{об}}$ . Максимальное содержание обменных оснований наблюдалось в черноземе обыкновенном - 64.6 мгэкв/100 г почвы. Содержание кальция составляло 0.1 мгэкв/100 г почвы в  $P_{\text{лес}}^{\text{д}}$  и 30.2 - в  $Ч_{\text{тип}}$ . Наибольшая степень

Таблица 1. Показатели химического состояния исследуемых почв.

Почвы	рН <sub>водн</sub>	рН <sub>сол</sub>	мг-экв/100 г почвы			Степень насыщенности основаниями, %	Подвижный алюминий, мг/100 г почвы
			Ca <sup>2+</sup>	Гидролитическая кислотность	Сумма обменных оснований		
П <sup>д</sup> <sub>лес</sub>	4.9	4.2	0.1	9.9	3.1	23	0.388
П <sup>д</sup> <sub>пах</sub>	7.0	6.8	2.8	1.1	17.4	94	0.002
П <sup>д</sup> <sub>ог</sub>	7.2	6.9	15.9	1.5	34.6	96	0.007
СЛ <sub>лес</sub>	5.8	5.4	3.1	4.4	12.7	74	0.004
СЛ <sub>пах</sub>	5.8	5.0	1.9	3.9	9.3	70	0.005
ТС <sub>лес</sub>	5.7	5.2	3.3	4.8	13.9	74	0.013
Ч <sub>тип</sub>	7.6	7.2	30.2	0.8	56.7	98	не обн.
Ч <sub>об</sub>	7.5	7.2	22.2	0.8	64.6	99	не обн.
Ч <sub>луг</sub>	6.2	5.5	15.6	10.8	36.6	77	не обн.

Таблица 2. Показатели гумусного состояния исследуемых почв.

Почвы	C <sub>орг</sub> , %	C <sub>гк</sub> /C <sub>общ</sub> , %	C <sub>гк</sub> /C <sub>фк</sub>
П <sup>д</sup> <sub>лес</sub>	2.1	33	0.5
П <sup>д</sup> <sub>пах</sub>	1.5	39	0.6
П <sup>д</sup> <sub>ог</sub>	4.8	24	0.3
СЛ <sub>лес</sub>	2.8	52	1.1
СЛ <sub>пах</sub>	1.3	54	1.2
ТС <sub>лес</sub>	2.7	58	1.4
Ч <sub>тип</sub>	4.0	68	2.1
Ч <sub>об</sub>	5.0	63	1.7
Ч <sub>луг</sub>	6.4	79	3.7

насыщенности почв основаниями - до 99% - была зафиксирована в черноземных почвах. В дерново-подзолистой почве под лесом наблюдалось высокое содержание подвижного алюминия: ~0.4 мг/100 г почвы; тогда как в черноземах его обнаружено не было.

Результаты исследования гумусного состояния почв приведены в таблице 2. Как свидетельствуют полученные данные, при переходе от дерново-подзолистых почв к черноземам наблюдалось увеличение содержания в почве органического вещества и гуминовых кислот в его составе. Так, содержание органического углерода в гумусовом горизонте дерново-подзолистой почвы под лесом составило 2.1%, серой лесной под лесом - 2.8%, черноземно-луговой - 6.4%; при этом наблюдалось увеличение доли гуминовых кислот в составе гумуса: 33, 52 и 79% для тех же почв, соответственно. Гуматно-фульватный тип гумуса в дерново-подзолистых почвах сменился на гуматный в черноземах. Таким образом, анализ свойств почв различной типовой принадлежности показал соответствие полученных величин характерным для этих почвенных типов показателям.

Существенное влияние на свойства почв оказало их вовлечение в сельскохозяйственное использование. Так, сельскохозяйственное использование дерново-подзолистых почв, характеризующихся неблагоприятной для выращивания многих культурных растений кислой реакцией среды и подверженных быстрой деградации в силу низкой обогащенности органическим веществом, предусматривает их окультуривание. Как показало сопоставление свойств целинных и окультуренных вариантов исследуемых в настоящей работе дерново-подзолистых почв, их окультуривание ("Почвенно-агрономическая характеристика АБС "Чашниково", 1988) способствовало увеличению содержания в почвах обменных оснований, в особенности, кальция (табл.1); наблюдалось снижение величины гидролитической кислотности

и повышение рН. Как видно из данных по гумусному состоянию исследуемых почв (табл. 2), содержание органического углерода в окультуренном варианте дерново-подзолистой почвы ( $P_{\text{пах}}^{\text{Д}}$ ) оказалось ниже, чем в целинном, но при этом в нем наблюдалась более высокая доля гуминовых кислот. Содержание  $C_{\text{орг}}$  в дерново-подзолистой огородной почве оказалось на уровне черноземов (4,8%). Однако органическому веществу данной почвы была присуща наименьшая среди всех исследованных почв степень гумификации - содержание ГК составило 24%. Данный факт может быть следствием внесения органических удобрений, приводящего к возрастанию содержания неспецифических органических веществ в почве.

Уменьшение содержания  $C_{\text{орг}}$  наблюдалось в пахотном варианте серой лесной почвы (1,3%) по сравнению с целинным (2,8%). О некотором ухудшении гумусного состояния черноземов при распашке может свидетельствовать относительно невысокий для этих почв показатель  $C_{\text{ГК}}/C_{\text{ФК}}$ , составивший в черноземе обыкновенном 1,7 при общем содержании  $C_{\text{орг}}$  5% (табл. 2).

Таким образом, в результате определения основных показателей химического и гумусного состояния исследуемых почв были выявлены основные тенденции изменения свойств почв в зависимости от их типа и вида хозяйственного использования. Особо следует отметить значительное изменение количественного и качественного состава органического вещества почв.

### 3.1.2. Свойства препаратов ГК

Препараты ГК были выделены из следующих почв:  $P_{\text{лес}}^{\text{Д}}$ ,  $P_{\text{пах}}^{\text{Д}}$ ,  $P_{\text{ог}}^{\text{Д}}$ ,  $СЛ_{\text{лес}}$ ,  $СЛ_{\text{пах}}$ ,  $Ч_{\text{тип}}$ ,  $Ч_{\text{луг}}$ . Все выделенные препараты были охарактеризованы методами элементного и функционального анализа,

гель-хроматографии и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии. Полученные результаты приведены в табл. 3 и 4.

Как видно из представленных данных, структурные параметры ГК в существенной степени зависят как от типовой принадлежности почв, в которых они были сформированы, так и от вида использования почв.

Согласно результатам элементного анализа (табл. 3), в ГК черноземов наблюдались более низкие отношения Н/С (0.6-0.7) и О/С (0.4) по сравнению с дерново-подзолистыми и серыми лесными почвами (Н/С—1.0-1.04; О/С—0.55-0.59). Уменьшение отношения Н/С является индикатором возрастания содержания ароматических фрагментов в структуре ГК, тогда как снижение О/С свидетельствует о падении степени их окисленности (Орлов, 1990).

Исследование, предпринятое методом  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии, подтвердило указанные тенденции. Так, согласно табл. 4, в ГК черноземов наблюдалось максимальное содержание ароматического углерода (54-55%) по сравнению с ГК дерново-подзолистых и серых лесных почв (45-47%) и минимальное - углерода карбогидратных структур (11%). При этом значимых различий по относительному вкладу ароматических фрагментов в структуру ГК дерново-подзолистых и серых лесных почв обнаружено не было. Определение общей кислотности не выявило существенных различий между препаратами ГК, выделенных из почв различных типов (7.1 - 8.1 мэкв/г).

Исследование молекулярно-массового состава показало (табл. 4), что самые низкие значения молекулярных масс - 15000 г/моль - наблюдались для ГК черноземов, тогда как для ГК дерново-подзолистых и серых лесных почв они достигали 18000 и 24000 г/моль, соответственно. По-видимому, это является следствием того, что макромолекулы ГК серых лесных и дерново-подзолистых почв имеют в своем составе менее трансформированные полисахаридные цепочки,

Таблица 3. Элементный состав гуминовых кислот (в пересчете на абсолютно сухое беззольное вещество).

ГК	Содержание, ат. %				Атомные отношения		
	С	Н	N	О	О/С	Н/С	С/N
П <sup>д</sup> <sub>лес</sub>	38.2	37.6	3.3	20.8	0.55	0.99	11.48
П <sup>д</sup> <sub>пах</sub>	36.9	38.9	3.1	21.0	0.57	1.05	11.73
П <sup>д</sup> <sub>ог</sub>	36.3	39.9	2.6	21.1	0.58	1.10	13.54
СЛ <sub>лес</sub>	36.7	38.3	3.2	21.8	0.59	1.04	11.45
СЛ <sub>пах</sub>	37.2	37.0	3.1	22.6	0.61	1.00	11.79
Ч <sub>тип</sub>	48.7	28.5	3.1	19.6	0.40	0.59	11.82
Ч <sub>луг</sub>	45.9	33.8	3.4	16.8	0.37	0.74	13.52

Примечание. Зольность выделенных препаратов ГК составляла 6 - 13%, содержание гигроскопической влаги - 9 - 11%.

Таблица 4. Распределение углерода (С) в молекулах ГК (по данным <sup>13</sup>С-ЯМР-спектроскопии), общая кислотность и молекулярные массы (ММ) ГК.

ГК	Доля С в составе фрагментов, %				С <sub>Ar</sub>	Общая кислотность, мэкв/г ГК	ММ, г/моль
	С <sub>COOH</sub>	С <sub>Ar</sub>	С <sub>Alk-O</sub>	С <sub>Alk</sub>	С <sub>Alk+С<sub>Alk-O</sub></sub>		
П <sup>д</sup> <sub>лес</sub>	12	46	16	22	1.24	7.5	17900
П <sup>д</sup> <sub>пах</sub>	15	45	18	17	1.28	6.9	25900
П <sup>д</sup> <sub>ог</sub>	14	46	15	18	1.38	5.9	24800
СЛ <sub>лес</sub>	12	46	19	18	1.23	8.2	24300
СЛ <sub>пах</sub>	14	47	15	19	1.36	6.3	23700
Ч <sub>тип</sub>	15	54	11	14	2.13	8.5	14900
Ч <sub>луг</sub>	14	55	11	15	2.12	7.1	15500

тогда как в черноземных ГК, в результате высокой микробиологической активности среды их формирования, достигается самая высокая степень деградации углеводного комплекса.

Полученная структурная информация хорошо согласуется с известным положением о том, что черноземные ГК представляют собой продукт более глубокой гумификации, которому присуща меньшая химическая гетерогенность (Орлов, 1992). На молекулярном уровне это проявляется в обогащенности черноземных ГК ароматическими фрагментами и уменьшении вклада углеводной периферии в структуру молекулы.

При рассмотрении структурных характеристик ГК, выделенных из почв различной степени окультуренности, можно отметить следующие тенденции. В ряду  $P_{лес}^D - P_{пах}^D - P_{ог}^D$  наблюдалось несущественное увеличение атомных отношений Н/С (от 0,99 до 1,1) и О/С (от 0,55 до 0,58) при довольно значительном возрастании С/Н (от 11,5 до 13,5) (табл. 3), свидетельствующем об обедненности азотом ГК, выделенных из  $P_{ог}^D$ . Падение содержания азота по сравнению с нативным вариантом было зафиксировано также и для ГК из  $СЛ_{пах}$ . Согласно изменению показателя  $C_{Ar}/C_{Al}$  в исследуемом ряду дерново-подзолистых и серых лесных почв (от 1,24 до 1,38 -- для ГК из дерново-подзолистых и от 1,23 до 1,36 -- для ГК из серых лесных почв, табл. 4), их вовлечение в сельскохозяйственное использование сопровождалось некоторым увеличением доли ароматического углерода.

Исследование молекулярно-массового состава (табл. 4) показало существенное возрастание средней молекулярной массы ГК в окультуренных вариантах дерново-подзолистых почв (от 18000 г/моль в  $P_{лес}^D$  до ~25000 в  $P_{пах}^D$  и  $P_{ог}^D$ ). В то же время ГК целинного и распаханного вариантов серых лесных почв характеризовались приблизительно одинаковыми значениями средней молекулярной массы.

Таким образом, изучение свойств выделенных препаратов ГК показало возрастание вклада ароматических фрагментов по сравнению с алифатическими в структуру ГК при переходе от дерново-подзолистых почв к черноземам и от целинного варианта почвы к распаханному.

### **3.2. Детоксицирующая способность почв и выделенных из них препаратов ГК по отношению к различным гербицидам**

В настоящее время в сельском хозяйстве для защиты растений от сорняков применяется большое количество гербицидов, относящихся к различным химическим классам. При этом почвы характеризуются неодинаковым детоксицирующим потенциалом по отношению к гербицидам различной химической природы, что связано со спецификой их трансформации в почвенной среде. Принимая во внимание данное обстоятельство, при постановке настоящей работы были выбраны гербициды, принадлежащие к двум принципиально различным химическим классам: трифлуралин - представитель динитроанилинов, и атразин - представитель сим-триазинов.

Для проведения токсикологических экспериментов с применением трифлуралина и атразина были использованы тест-объекты и тест-отклики, отвечающие специфике токсического действия выбранных гербицидов.

#### **3.2.1. Детоксицирующая способность почв и препаратов ГК по отношению к трифлуралину**

Для изучения детоксицирующей способности исследуемых почв и выделенных из них препаратов ГК по отношению к трифлуралину -- ингибитору роста корней растений -- использовали экспресс-тест на проростках пшеницы, где тест-откликом служила длина корней проростков.

#### **Почвы.**

В целях изучения детоксицирующей способности почв был проведен токсикологический эксперимент, предусматривающий внесение в почву пяти последовательно возрастающих доз гербицида (1, 2, 4, 8, 12 мг/кг почвы). Способность почв детоксицировать гербицид оценивалась по длине корней проростков пшеницы. Как показали результаты (рис. 8), для почв черноземного ряда с увеличением дозы гербицида было отмечено более равномерное (по сравнению с другими почвами) снижение величины тест-отклика, что свидетельствует о повышенной устойчивости этих почв по отношению к данному гербициду, связанной, по-видимому, со значительно более высокой степенью гумификации органического вещества этих почв. В то же время наибольшая токсичность трифлуралина (длина корней проростков составила 38% от контроля) наблюдалась на дерново-подзолистой огородной почве, на которой уже после внесения наименьшей дозы гербицида длина корней резко уменьшалась и с увеличением дозы трифлуралина практически не менялась. При этом содержание органического вещества в  $P_{ог}^d$  было на уровне черноземов - 4,8%, однако данной почве была присуща наименьшая степень гумификации: содержание ГК в ней составило 24%. Полученный факт может свидетельствовать о существенной роли ГК в снижении токсичности гербицида, что было ранее отмечено на примере черноземных почв. В целом, для всех типов почв токсичность гербицида была выше на окультуренных вариантах - длина корней составила в среднем 45% от контроля, чем на целинных - 53% от контроля (при коэффициенте вариации 4.6%).

Как показало сравнение величины суммарной детоксицирующей способности ( $S_D$ ) исследованных почв (рис. 9), типовая принадлежность почв в целом не играла существенной роли в формировании их

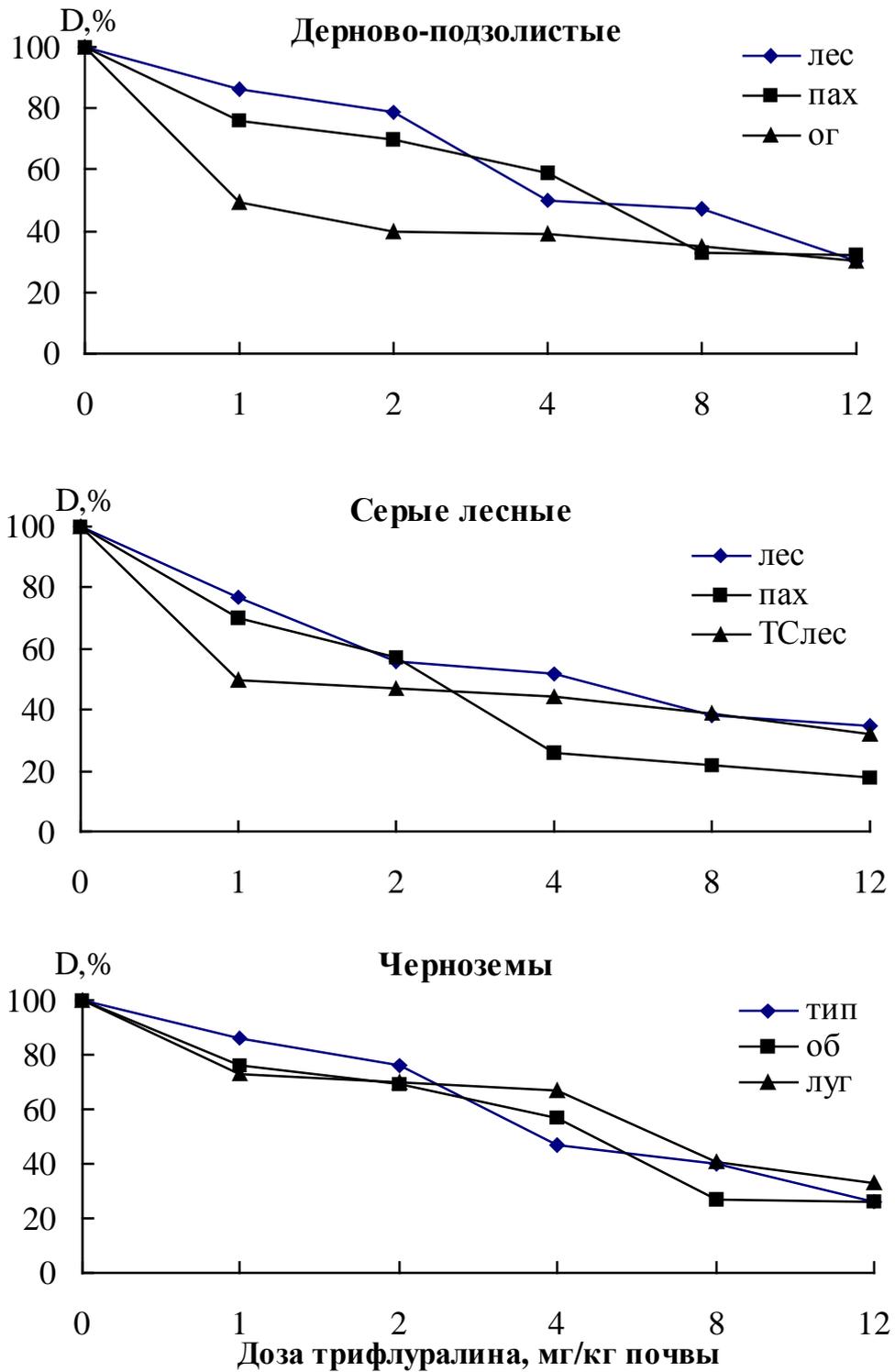


Рис.8. Зависимость тест-отклика от дозы внесения трифлуралина на исследуемых почвах, где D,% - длина корней проростков пшеницы при различных дозах внесения гербицида.

детоксицирующего потенциала по отношению к трифлуралину. В тоже время наблюдалось снижение детоксицирующей способности почв, вовлеченных в сельскохозяйственное использование, по сравнению с их целинными вариантами.

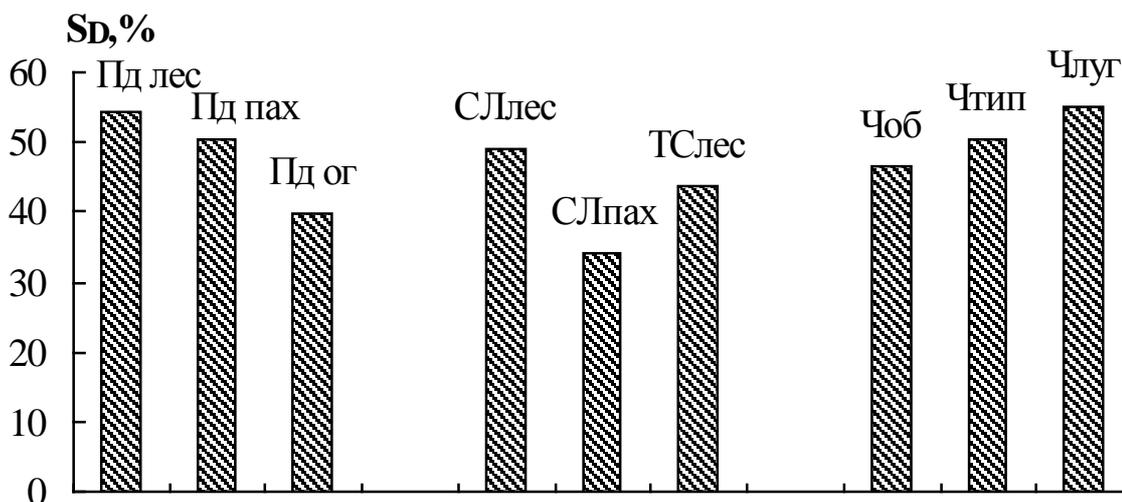


Рис. 9. Суммарная детоксицирующая способность ( $S_D$ ) исследуемых почв по отношению к трифлуралину.

Корреляционный анализ данных по детоксицирующей способности почв и их химическим характеристикам (табл. 1 и 2) не показал наличия значимых взаимосвязей между коррелируемыми параметрами.

Таким образом, полученные результаты не позволили сделать однозначного вывода о влиянии типа почвы, содержания и состава органического вещества на способность почв детоксицировать трифлуралин.

### **Препараты ГК.**

Изучение детоксицирующей способности выделенных препаратов ГК проводилось на нейтральном субстрате - агриперлите, что позволяло исключить влияние различных факторов, характерных для почвенной среды, на взаимодействие “ГК-гербицид” и изучить это взаимодействие в “чистом” виде. Данный эксперимент давал возможность оценить детоксицирующую способность ГК по отношению к трифлуралину и ее

зависимость от структурных параметров ГК. Для этой цели регистрировали тест-отклик - длину корней проростков - при пяти последовательно возрастающих концентрациях ГК (10, 25, 50, 100, 200 мг/кг субстрата) в условиях постоянной концентрации гербицида (0,5 мг/кг субстрата). Для учета влияния самих ГК на рост корней регистрировали тест-отклик в присутствии тех же концентраций ГК, но без гербицида. Опыт проводили на нейтральном субстрате - перлите для исключения мешающих факторов.

Токсикологический эксперимент с использованием выделенных препаратов ГК показал (рис. 10), что детоксицирующие свойства большинства ГК (за исключением  $П_{лес}^d$  и  $СЛ_{лес}$ ) проявлялись при дозах внесения от 10 до 50 мг/кг субстрата. При этом ГК целинных дерново-подзолистых и серых лесных почв практически не обладали детоксицирующим действием по отношению к трифлуралину во всех исследованных дозах. ГК распаханых вариантов снижали токсический эффект на 10-15%, тогда как ГК почв черноземного ряда характеризовались наиболее высоким значением коэффициента детоксикации (D) и в дозах 100-200 мг/кг субстрата снижали токсичность гербицида в среднем на 50%.

Сравнение суммарной детоксицирующей способности ( $S_D$ ) препаратов ГК по отношению к трифлуралину (рис. 11) позволило выявить улучшение детоксицирующих свойств ГК при переходе от целинного варианта почвы к распаханному и от типа дерново-подзолистых почв к черноземам.

Для установления взаимосвязей между детоксицирующей способностью ГК и их структурными параметрами был проведен корреляционный анализ между блоком структурных данных,

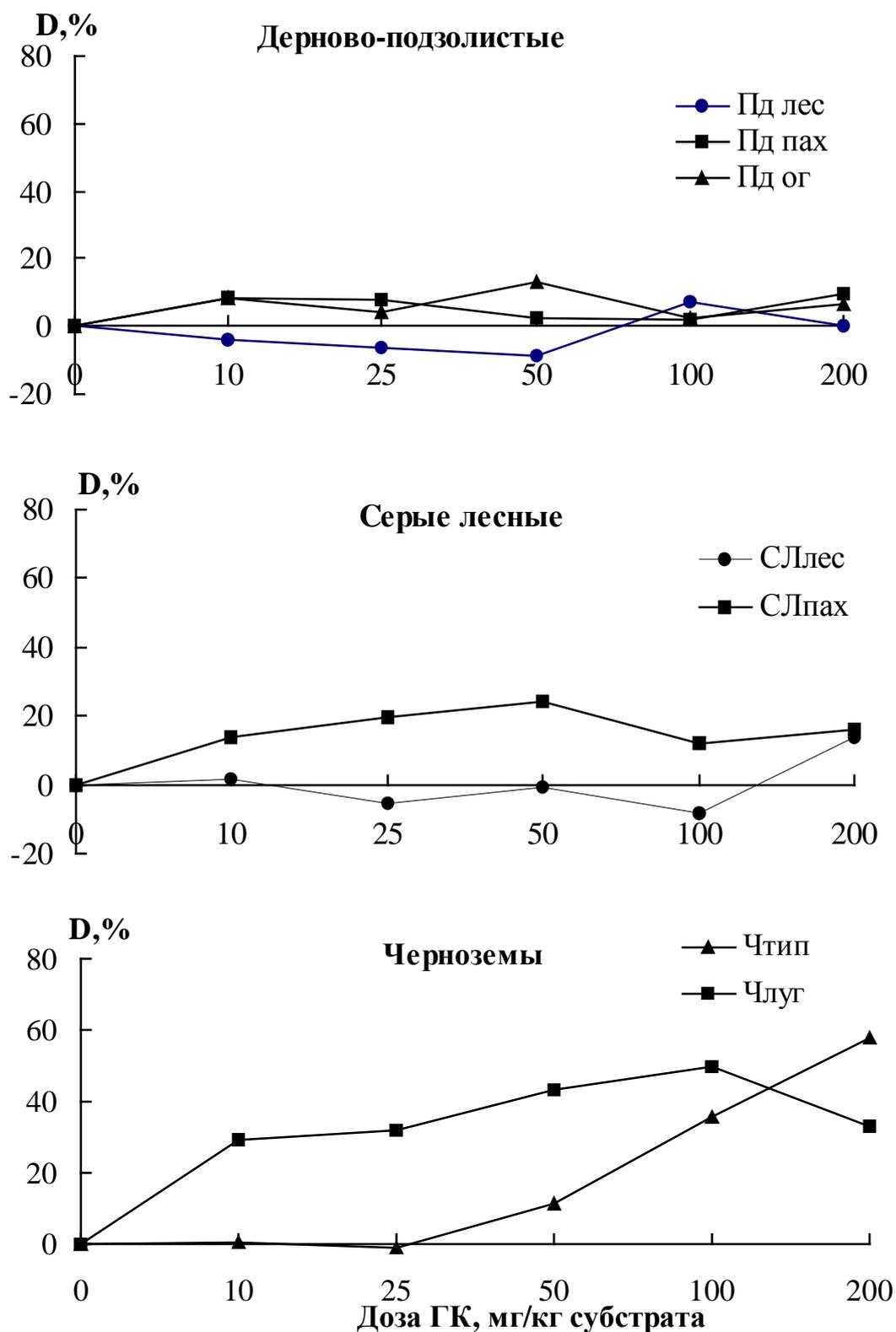


Рис. 10. Детоксицирующая способность ГК, выделенных из исследуемых почв, по отношению к трифлуралину в зависимости от дозы внесения ГК (доза трифлуралина -- 0.5 мг/кг субстрата).

приведенных в табл. 3 и 4, и величиной  $S_D$ . Полученные результаты позволили установить наличие тесной взаимосвязи ( $r=0.95$ ,  $P=95\%$ ) между  $S_D$  и обогаченностью молекулы ГК ароматическими фрагментами. Кроме того, наблюдалась значительная отрицательная корреляция ( $r=-0.85$ ,  $P=95\%$ ) между  $S_D$  и отношением Н/С, что является дополнительным подтверждением важного вклада ароматических фрагментов во взаимодействие между молекулой ГК и трифлуралином.

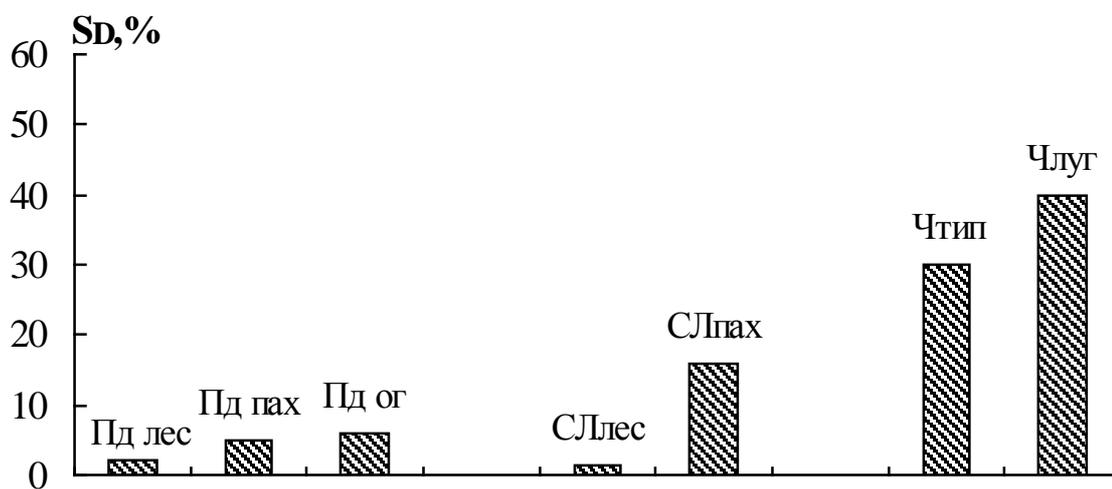


Рис. 11. Суммарная детоксицирующая способность ( $S_D$ ) препаратов ГК по отношению к трифлуралину.

Таким образом, детоксицирующая способность выделенных ГК по отношению к трифлуралину зависела от их обогаченности ароматическими фрагментами по сравнению с алифатическими и увеличивалась с ростом этого показателя при переходе от дерново-подзолистых почв к черноземам и от целинного варианта почвы к распаханному.

В целях объяснения полученных результатов следует обратиться к рассмотрению специфики строения ГК, обуславливающей их реакционную способность по отношению к гербицидам.

Так, особенностью химического строения ГК является присутствие в их молекуле как собственно "гуминового каркаса" - ароматического углеродного скелета, замещенного алкильными и функциональными

группами, так и обширной периферии, представленной фрагментами полисахаридного и полипептидного характера (Ziechmann, 1980; Орлов, 1992). При этом соотношение "каркасной" и периферийной части в молекулах ГК существенно зависит от условий их формирования и может рассматриваться как один из диагностических признаков, позволяющих судить об источнике происхождения ГК. Известно, например, что в условиях черноземных почв с присущей им высокой микробиологической активностью формируются ГК с более развитой каркасной частью, обогащенные ароматическими фрагментами, тогда как для дерново-подзолистых почв, где процессы биодegradации не столь интенсивны, характерно формирование ГК с более развитой алифатической периферией, образуемой карбогидратно-протеиновым комплексом (Орлов, 1990). Повышение степени окультуренности дерново-подзолистых почв способствует увеличению содержания ГК в составе гумуса и формированию ГК с укрупненной ароматической частью (Аммосова, Балаганская, 1991; Орлов с соавт., 1996).

В силу принципиального различия химической природы каркасной и периферийной части можно ожидать, что от их соотношения будет зависеть характер и сила проявляемой реакционной способности ГК. При этом ГК с обширной периферийной частью (ГК торфов, тундровых, дерново-подзолистых, серых лесных и ряда других почв) будут характеризоваться повышенной способностью к гидролитическим и окислительным превращениям, типичным для полисахаридно-полипептидного комплекса. В то же время для ГК с развитой каркасной частью, обогащенной ароматическими структурами с карбоксильными, гидроксильными, карбонильными и другими заместителями, можно ожидать более высокой реакционной способности в отношении металлов и органических соединений с образованием внутри- и межмолекулярных комплексов.

Установленную высокую зависимость детоксицирующих свойств ГК от степени ароматичности их молекул можно рассматривать как подтверждение справедливости высказанной выше гипотезы о ведущей роли каркасной части ГК во взаимодействиях с органическими соединениями, сопровождающихся образованием слабых межмолекулярных  $\pi$ - $\pi$ -комплексов. Так, молекула трифлуралина обладает ярко-выраженными акцепторными свойствами, которые обусловлены наличием в ароматическом кольце данного гербицида сильных акцепторных заместителей: двух нитро- и одной трифторметильной группы; при этом донорные свойства трехзамещенного азота анилиновой группы трифлуралина существенно ослаблены из-за пространственных затруднений. По сравнению с описанной молекулой гербицида, ароматическая система ГК имеет гораздо более высокую электронную плотность и может выступать по отношению к акцепторному кольцу трифлуралина в качестве донора. Способность ГК проявлять акцепторные или донорные свойства в зависимости от реакционной способности партнера теоретически обоснована и подтверждена в работах Kress & Ziechmann (1977), Ziechmann (1980). В результате протекания данного взаимодействия могут образовываться межмолекулярные  $\pi$ - $\pi$ -комплексы “трифлуралин - ГК” и, как следствие, будет происходить снижение гербицидной активности трифлуралина (Perminova et al., 1997). При этом, чем более развита ароматическая система ГК, тем выше будет их связующая и, соответственно, детоксицирующая способность по отношению к трифлуралину, что удовлетворительно объясняет результаты проведенного эксперимента.

Для выявления роли ГК в процессах детоксикации трифлуралина в условиях почвенной среды были сопоставлены ряды почв и ГК,

расположенных по возрастанию суммарной детоксицирующей способности ( $S_D$ ) по отношению к трифлуралину:

$$\text{ПОЧВЫ:} \quad \text{СЛ}_{\text{пах}} \leq \text{П}^{\text{Д}}_{\text{ог}} < \text{СЛ}_{\text{лес}} \leq \text{Ч}_{\text{тип}} \leq \text{П}^{\text{Д}}_{\text{пах}} \leq \text{П}^{\text{Д}}_{\text{лес}} \leq \text{Ч}_{\text{луг}}.$$

$$\text{ГК:} \quad \text{П}^{\text{Д}}_{\text{лес}} \leq \text{СЛ}_{\text{лес}} \leq \text{П}^{\text{Д}}_{\text{пах}} \leq \text{П}^{\text{Д}}_{\text{ог}} < \text{СЛ}_{\text{пах}} \ll \text{Ч}_{\text{тип}} < \text{Ч}_{\text{луг}}.$$

Несовпадение приведенных последовательностей показало, что в условиях почвенной среды содержание органического вещества и его качественный состав не являются определяющими факторами в процессах детоксикации трифлуралина, т.е. ГК в почве не проявляют значительной химической активности по отношению к трифлуралину. По-видимому, это связано со слабостью межмолекулярного донорно-акцепторного взаимодействия между трифлуралином и ГК и его зависимостью от условий почвенной среды, в которых протекает данное взаимодействие.

### **3.2.2. Детоксицирующая способность почв и препаратов ГК по отношению к атразину**

Исследование детоксицирующей способности почв и препаратов ГК по отношению к гербициду другого химического класса - атразину представляло интерес в связи с различиями в процессах его трансформации (по сравнению с трифлуралином) под воздействием факторов почвенной среды. Химическая структура данного соединения обуславливала возможность осуществления не только донорно-акцепторного, но и водородного связывания между молекулами ГК и гербицида.

Для регистрации гербицидной активности атразина, ингибирующего процессы фотосинтеза, на почвах проводили лабораторно-вегетационный опыт, где тест-откликом являлась наземная воздушно-сухая биомасса растений пшеницы. В токсикологическом эксперименте на препаратах ГК использовали альгологическое биотестирование, где

тест-откликом являлась фотосинтетическая активность водоросли *Chlorella vulgaris*.

### **Почвы.**

Для изучения детоксицирующей способности исследуемых почв по отношению к атразину использовали лабораторно-вегетационный опыт, позволяющий оценить детоксицирующие свойства различных почв в условиях модельного эксперимента при внесении 3-х доз гербицида (из расчета 1, 2, 4 кг/га). Проведенное исследование позволило выявить как наличие общей тенденции улучшения детоксицирующих свойств почв по отношению к атразину с повышением содержания в почве органического вещества и гуминовых кислот в его составе, так и некоторые особенности.

Так, результаты лабораторно-вегетационного опыта показали, что для серых лесных почв (за исключением темно-серой лесной) и окультуренных вариантов дерново-подзолистой (рис. 12) биомасса растений снижалась в среднем на 75% уже после внесения наименьшей дозы гербицида. При этом дальнейшее увеличение дозы атразина не приводило к изменению этого показателя. На дерново-подзолистой почве под лесом наблюдался более плавный ход указанной зависимости. Наибольшая устойчивость к токсическому действию атразина наблюдалась на черноземах, а также на темно-серой лесной почве. Внесение дозы атразина, соответствующей 1 кг/га, вызывало снижение биомассы на этих почвах в среднем на 30%. При этом по мере дальнейшего увеличения дозы атразина наблюдалось постепенное снижение тест-отклика до уровня 30% от контроля.

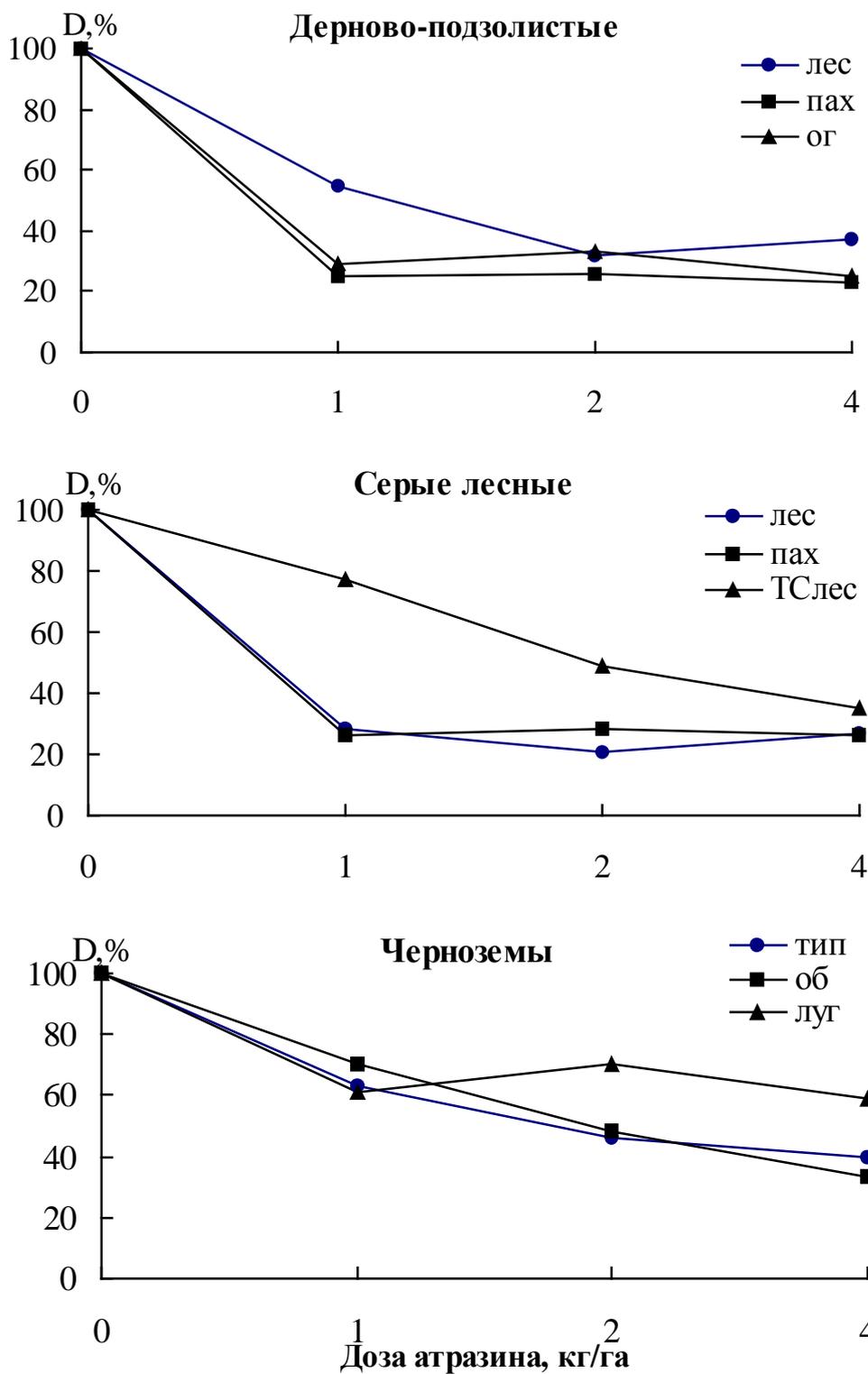


Рис. 12. Зависимость тест-отклика от дозы внесения атразина на исследуемых почвах, где D,% - наземная воздушно-сухая биомасса пшеницы при различных дозах внесения гербицида.

Как видно из ряда почв, представленного на рис. 13, самой высокой детоксицирующей способностью характеризовались черноземные почвы. Существенное влияние вида использования наблюдалось на дерново-подзолистой огородной почве, для которой, так же, как и в случае с трифлуралином, было отмечено значительное снижение детоксицирующей способности по сравнению с целинным вариантом.

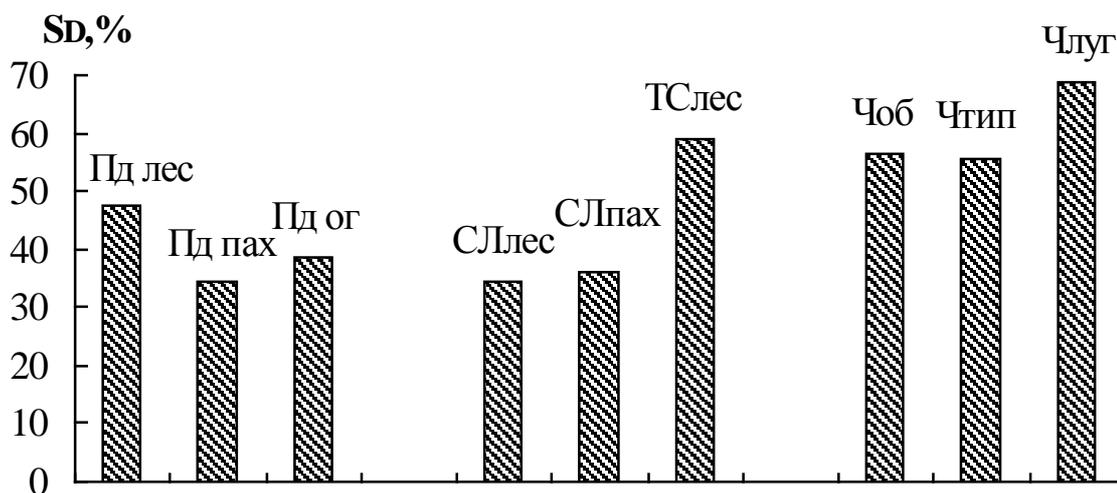


Рис. 13. Суммарная детоксицирующая способность ( $S_D$ ) исследуемых почв по отношению к атразину.

Для установления взаимосвязей между способностью почвы снижать токсичность атразина и ее химическими свойствами был проведен корреляционный анализ между приведенными выше результатами лабораторно-вегетационного опыта и характеристиками почв, представленными в таблицах 1 и 2. В результате удалось установить значимую корреляцию между величиной  $S_D$  и следующими показателями: содержанием в почве  $C_{орг}$  ( $r=0,67$ ,  $P=95\%$ );  $C_{гк}/C_{общ}$  ( $r=0,71$ ,  $P=95\%$ );  $C_{гк}/C_{фк}$  ( $r=0,80$ ,  $P=95\%$ ).

Таким образом, в отличие от трифлуралина, детоксицирующая способность исследуемых почв по отношению к атразину определялась прежде всего их типовой принадлежностью и возрастала с ростом содержания в почве органического вещества и гуминовых кислот в его составе.

После завершения лабораторно-вегетационного эксперимента был проведен анализ всех исследованных почв на содержание остаточных количеств атразина и его метаболитов. Как показали результаты хроматографического определения, в почве после проведения биотестирования обнаруживались только остаточные количества атразина, а его метаболиты практически полностью отсутствовали. Два метаболита - дезизопропил-атразин и дезэтил-атразин - были обнаружены только в одном случае - в пахотном варианте дерново-подзолистой почвы.

Наибольшее количество атразина (21-35% от внесенного) извлекалось из черноземных почв (рис. 14), наименьшее -- из дерново-подзолистой почвы под лесом (12% от внесенного). Из подвергавшихся известкованию окультуренных вариантов дерново-подзолистой почвы со степенью насыщенности основаниями 95% извлекалось атразина на 7-8% больше, чем из почвы под лесом (степень насыщенности основаниями 23%).

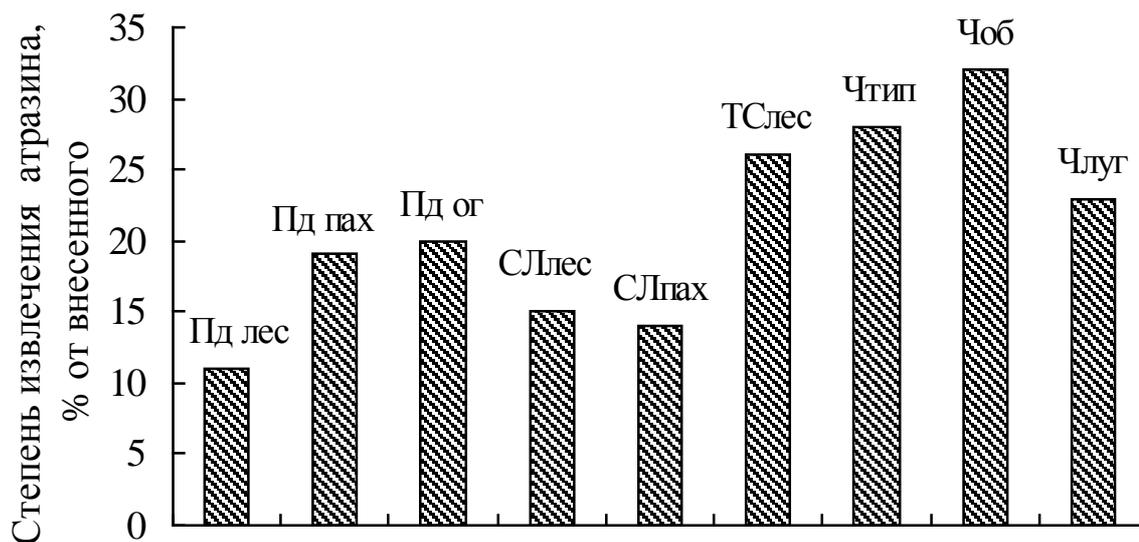


Рис. 14. Степень извлечения остаточных количеств атразина из различных почв при дозе внесения 1 кг/га.

Интересно отметить, что степень извлечения остаточных количеств атразина из всех исследованных почв оставалась постоянной вне зависимости от дозы внесения гербицида. Данный факт

продемонстрирован рисунком 15, где приведены степени извлечения атразина из трех типов пахотных почв при дозах гербицида, соответствующих внесению 1, 2 и 4 кг/га.

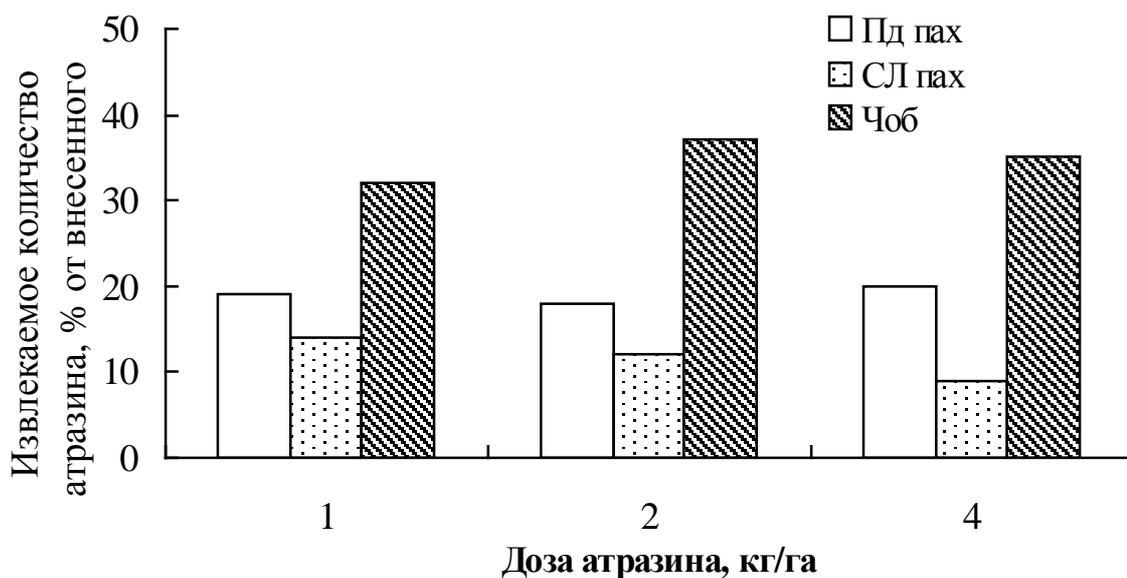


Рис. 15. Степень извлечения остаточных количеств атразина из пахотных вариантов различных почв в зависимости от дозы внесения гербицида.

Сопоставление высокой степени извлечения атразина из черноземов типичного и обыкновенного, а также из темно-серой лесной почвы с наблюдаемой в этих почвах максимальной детоксикацией гербицида может свидетельствовать о переходе атразина в нетоксичную форму в результате связывания с органическим веществом почв. По-видимому, образующиеся ассоциаты настолько прочны, что они не разрушаются при контакте с почвенным раствором, тем самым обуславливая снижение биоусвояемости атразина. Однако при введении органического растворителя, по-видимому, происходит разрушение ассоциатов и атразин извлекается в неизменном состоянии.

Принимая во внимание установленную ведущую роль органического вещества и ГК в процессах инактивации атразина и сопоставляя данные хроматографического анализа исследуемых почв с показателями их детоксицирующей способностью по отношению к атразину, следует

отметить некоторые особенности детоксикации атразина в различных почвах. Так, значительная детоксикация атразина достигалась не только на черноземных почвах, но также на целинной дерново-подзолистой почве под лесом, характеризующейся самой кислой реакцией среды ( $\text{pH}_{\text{сол}} 4,2$ ) среди всех исследованных почв. Здесь следует отметить, что при уменьшении значения  $\text{pH}$  почвенного раствора адсорбция симтриазинов усиливается вследствие более благоприятных условий для протекания реакций протонирования молекул гербицида (Кэлдербенк, 1993). Исследованиями Wang et al. (1991) было показано, что максимальное связывание ГК с молекулами атразина происходило при  $\text{pH} 3,05$  в отсутствие конкурирующих катионов и при повышении концентрации ГК в растворе. По данным McGlamery & Slife (1966), адсорбция атразина  $\text{H}^+$ -насыщенными гуминовыми кислотами в 10 раз превышала адсорбцию  $\text{Ca}^{2+}$ -насыщенными ГК.

С другой стороны, в почвах с низким значением  $\text{pH}$  может происходить кислотный гидролиз атразина и образование его нефитотоксичных производных, что может вызвать существенное снижение токсического эффекта гербицида (Керни, Кауфман, 1971). Однако, как показали результаты хроматографического анализа, во всех исследованных нами почвенных образцах, в том числе и в целинном варианте дерново-подзолистой почвы 2-гидроксиатразин отсутствовал. Насыщенность кальцием черноземных почв, по-видимому, облегчала десорбцию атразина; в то же время связывание с органическим веществом способствовало снижению токсического эффекта гербицида.

Низкая детоксикация атразина наблюдалась в окультуренном варианте дерново-подзолистой почвы ( $\text{П}_{\text{пах}}^{\text{Д}}$ ), а также в целинной и пахотной серых лесных почвах, что, вероятно, явилось следствием низкой обеспеченности этих почв органическим веществом. В то же время содержание органического углерода в дерново-подзолистой огородной

почве составляло 4,8%, что сравнимо с аналогичным показателем для черноземов. Однако данная почва обладает относительно низкой детоксицирующей способностью, что указывает на значительную роль качественного состава органического вещества в процессах связывания гербицида: представленное в основном слабо разложившимися негумифицированными растительными остатками органическое вещество огородной почвы, по-видимому, менее реакционно способно по отношению к атразину. Данная почва также характеризовалась самой низкой детоксицирующей способностью и по отношению к трифлуралину, что еще раз указывает на важную роль ГК в процессах детоксикации гербицидов.

### **Препараты ГК.**

Изучение детоксицирующей способности выделенных препаратов ГК по отношению к атразину проводилось методом альгологического биотестирования. Детоксицирующая способность ГК оценивалась по интенсивности фотосинтетической активности хлореллы в присутствии последовательно возрастающих концентраций ГК (1, 2, 3, 5, 10 мг/л) и при постоянной концентрации атразина ( $2,2 \cdot 10^{-7}$  М). Аналогично токсикологическому эксперименту на препаратах ГК с трифлуралином, выбранная концентрация гербицида вызывала 50%-ное снижение отклика биотеста. Регистрировалось влияние самих ГК на тест-объект. Как видно из рис. 16, максимальная детоксицирующая способность наблюдалась для ГК черноземов: при концентрациях ГК 2-3 мг/л

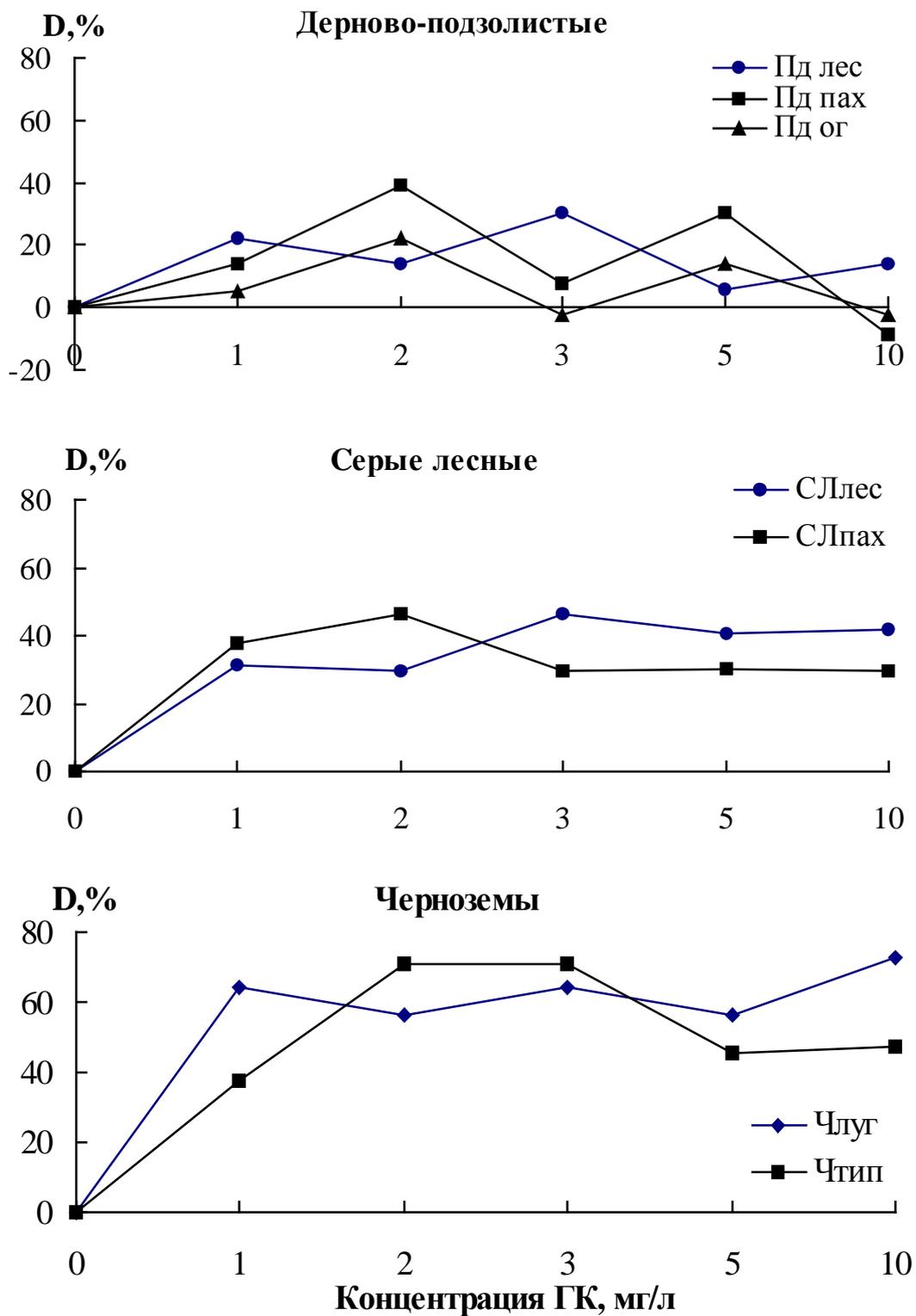


Рис. 16. Детоксицирующая способность ГК, выделенных из исследуемых почв, по отношению к атразину в зависимости от концентрации ГК в тестируемой среде (концентрация атразина --  $2.2 \cdot 10^{-7}$  М).

токсичность атразина снижалась в среднем на 65-70%. Для ГК серых лесных почв показатель D был ниже и составил в среднем 50%. Самой низкой детоксицирующей способностью (8-15%) характеризовались ГК из дерново-подзолистых почв.

Сравнение суммарной детоксицирующей способности ( $S_D$ ) препаратов ГК по отношению к атразину (рис. 17) показало улучшение детоксицирующих свойств ГК при переходе от дерново-подзолистых почв к черноземам. ГК из распаханых вариантов характеризовались некоторым снижением  $S_D$  по сравнению с ГК целинных почв.

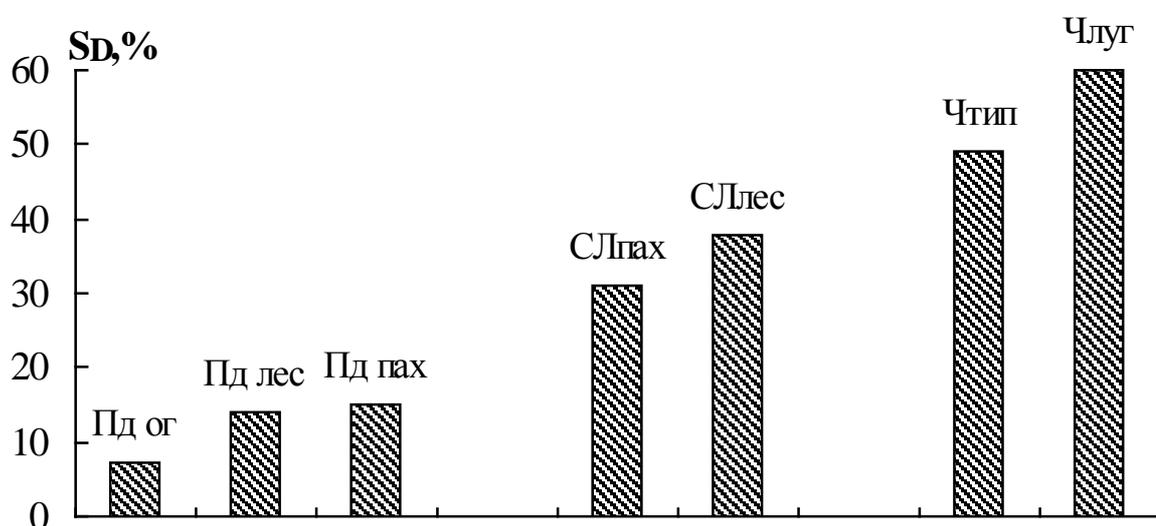


Рис. 17. Суммарная детоксицирующая способность ( $S_D$ ) препаратов ГК по отношению к атразину.

Корреляционный анализ данных по детоксицирующей способности ГК и блока их структурных параметров (табл. 3 и 4) показал, что для атразина, как и для трифлуралина, наиболее тесная взаимосвязь наблюдалась между детоксицирующей способностью ГК и соотношением ароматических и алифатических фрагментов в молекуле ГК ( $r=0.80$ ,  $P=95\%$ ).

Для выявления роли гуминовых кислот в процессах детоксикации атразина в условиях почвенной среды было проведено сопоставление рядов почв и ГК, построенных по возрастанию суммарной детоксицирующей способности ( $S_D$ ) по отношению к атразину:

ПОЧВЫ:  $P_{\text{пах}}^D \cong P_{\text{ог}}^D \cong \text{СЛ}_{\text{пах}} \cong \text{СЛ}_{\text{лес}} < P_{\text{лес}}^D < \text{Ч}_{\text{тип}} < \text{Ч}_{\text{луг}}$ .

ГК:  $P_{\text{ог}}^D < P_{\text{пах}}^D \cong P_{\text{лес}}^D < \text{СЛ}_{\text{пах}} < \text{СЛ}_{\text{лес}} < \text{Ч}_{\text{тип}} < \text{Ч}_{\text{луг}}$ .

Сопоставление приведенных последовательностей свидетельствует о практически полной их идентичности, за исключением целинного варианта дерново-подзолистой почвы. Данная почва характеризовалась детоксицирующей способностью по отношению к атразину на уровне черноземов, что, как уже отмечалось, было связано с низким значением рН почвенного раствора. Этот факт свидетельствует о важности учета различных свойств почв, обусловленных их генезисом и т.д., при рассмотрении факторов детоксикации гербицидов в почвенной среде. В то же время для выделенных препаратов ГК, как видно из соответствующего ряда, наблюдалось последовательное повышение детоксицирующего потенциала при переходе от дерново-подзолистых почв к черноземам симбатно увеличению содержания ароматических фрагментов по сравнению с алифатическими в молекуле ГК.

### **3.3. Сопоставление детоксицирующей способности исследуемых почв и выделенных из них препаратов ГК по отношению к трифлуралину и атразину**

Проведенное в настоящей работе исследование детоксицирующей способности 9 почв трех типов (дерново-подзолистые, серые лесные, черноземы) и различного вида использования (целина, пашня) по отношению к гербицидам - представителям двух химических классов выявило различную роль почвенных свойств в детоксикации данных гербицидов. Так, ведущая роль в формировании детоксицирующего потенциала исследуемых почв по отношению к атразину принадлежала органическому веществу почв в целом и гуминовым кислотам, в частности. В то же время для трифлуралина не было обнаружено значительной зависимости детоксицирующей способности почв от их

свойств, обусловленных типовой принадлежностью почв; некоторое снижение детоксицирующего потенциала наблюдалось в пахотных вариантах почв по сравнению с целинными. Указанные тенденции иллюстрируются следующими рядами почв, расположенных в порядке возрастания их суммарной детоксицирующей способности по отношению к примененным гербицидам:

трифлуралин:  $СЛ_{\text{пах}} \leq П^D_{\text{ог}} < ТС_{\text{лес}} \leq Ч_{\text{об}} \leq СЛ_{\text{лес}} \leq Ч_{\text{тип}} \leq П^D_{\text{пах}} \leq П^D_{\text{лес}} \leq Ч_{\text{луг}}$ ;

атразин:  $П^D_{\text{пах}} \cong П^D_{\text{ог}} \cong СЛ_{\text{пах}} \cong СЛ_{\text{лес}} < П^D_{\text{лес}} < Ч_{\text{тип}} < Ч_{\text{об}} < ТС_{\text{лес}} < Ч_{\text{луг}}$ .

Проведение токсикологических экспериментов с использованием выделенных из исследуемых почв препаратов ГК позволило изучить их детоксицирующую способность по отношению к выбранным гербицидам и оценить вклад этого важнейшего компонента органического вещества в детоксицирующий потенциал почв.

Сопоставление детоксицирующей способности почв и выделенных препаратов ГК по отношению к обоим гербицидам показало, что роль гуминовых кислот в процессах инактивации трифлуралина и атразина в условиях почвенной среды была существенно различной. По-видимому, это связано с различиями в химизме взаимодействия гуминовых кислот с рассматриваемыми гербицидами.

Так, в зависимости от химической структуры гербицида молекулы гуминовых кислот могут проявлять как донорные (по отношению к трифлуралину - сильному акцептору), так и акцепторные (по отношению к электроно-донорному атразину) свойства. При этом взаимодействие ГК с атразином будет приводить к образованию более устойчивых комплексов с переносом заряда, поскольку акцепторные свойства ГК выражены сильнее, чем донорные, за счет обогащенности их молекул хиноно-подобными структурами. Кроме того, существенный вклад во

взаимодействие атразина с ГК вносит водородное связывание, что также способствует инактивации гербицида. Как видно из рис. 18, на котором представлена зависимость детоксицирующей способности ГК от соотношения  $C_{Ar}/C_{Al}$ , увеличение содержания в молекуле ГК ароматических составляющих приводит к увеличению детоксицирующей способности ГК по отношению к обоим гербицидам. При этом детоксицирующие свойства ГК по отношению к атразину более выражены (точки корреляционной зависимости лежат выше), чем к трифлуралину.

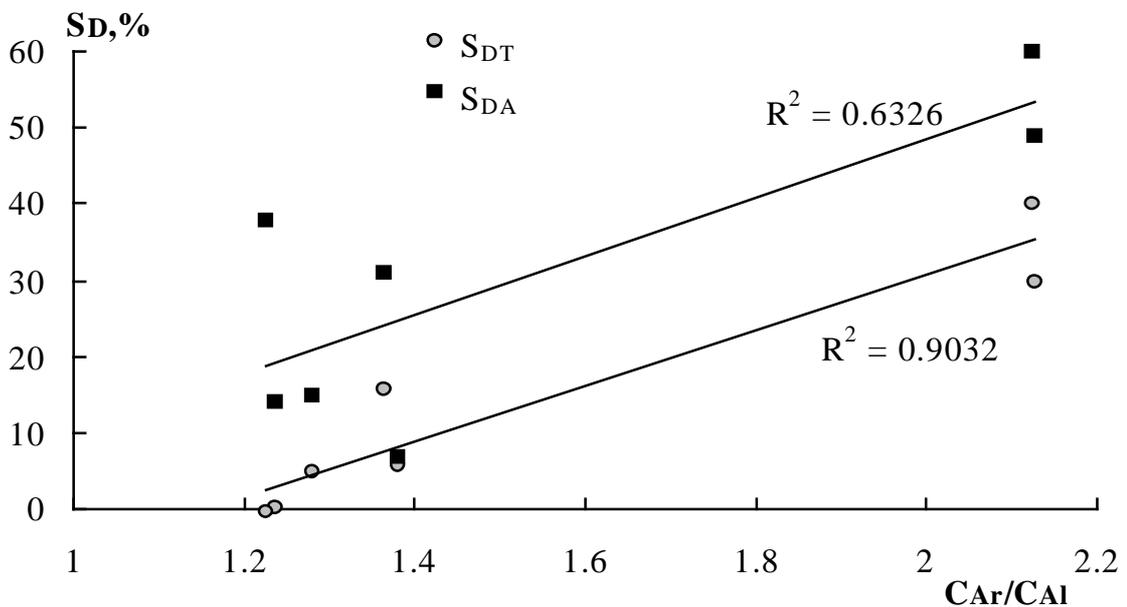


Рис. 18. Корреляционная зависимость между детоксицирующей способностью препаратов ГК по отношению к трифлуралину ( $S_{DT}$ ) и атразину ( $S_{DA}$ ) и структурным параметром  $C_{Ar}/C_{Al}$ .

Представленные на рис. 19 кривые изменения детоксицирующей способности препаратов ГК при переходе от дерново-подзолистых почв к черноземам свидетельствуют о возрастании детоксицирующего потенциала ГК в указанном ряду почв. Данная зависимость обусловлена, как было установлено настоящими исследованиями, увеличением относительного вклада ароматических фрагментов в структуру ГК по сравнению с алифатическими.

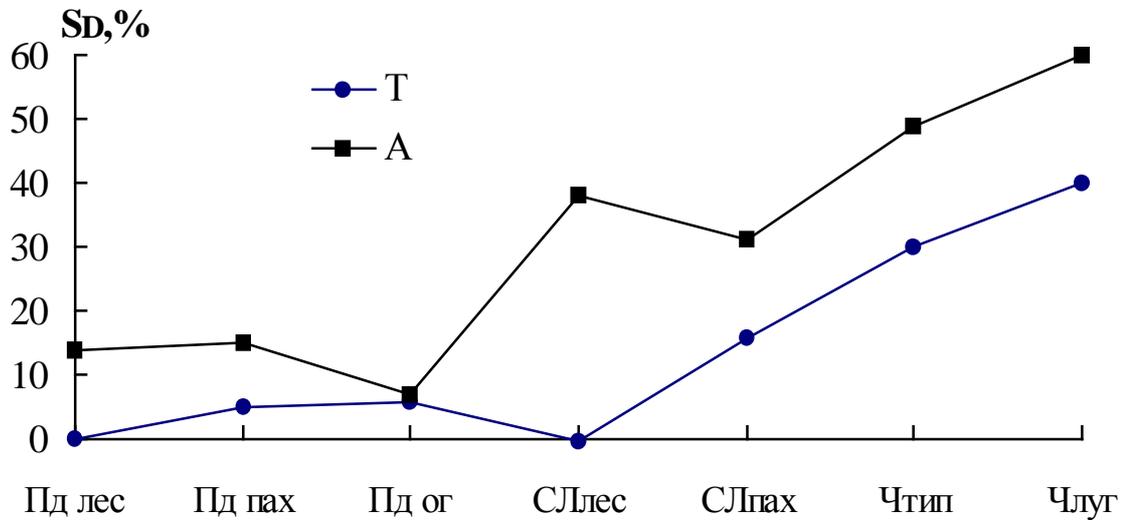


Рис. 19. Изменение детоксицирующей способности препаратов ГК по отношению к трифлуралину и атразину в зональном ряду почв “дерново-подзолистые -- серые лесные -- черноземы”

Следует отметить, что в силу многокомпонентности почвенной системы протекание рассмотренных взаимодействий в условиях почвы будет находиться под влиянием различных факторов. Однако, как показало сопоставление детоксицирующей способности почв и препаратов ГК по отношению к каждому гербициду, специфичность механизмов связывания гербицида проявляется в значительной степени и в условиях почвенной среды.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного в настоящей работе исследования детоксикации трифлуралина и атразина почвами разных зональных типов и видов хозяйственного использования и выделенными из них ГК выявили вклад свойств почв и ГК в формирование их детоксицирующей способности по отношению к гербицидам различных химических классов. Установлена различная роль органического вещества почв в формировании их детоксицирующего потенциала, обусловленная спецификой взаимодействия гуминовых кислот с гербицидами.

Впервые осуществлено систематическое исследование детоксицирующей способности почв и выделенных из них препаратов ГК по отношению к трифлуралину и атразину в непрерывном зональном ряду “дерново-подзолистые - серые лесные - черноземы” для пахотных и целинных вариантов почв. Впервые произведено сопоставление детоксицирующей способности почв и выделенных из них препаратов ГК, которое позволило оценить роль ГК в формировании детоксицирующего потенциала почв по отношению к гербицидам различной химической природы. На основании корреляционного анализа данных по структуре и детоксицирующей способности ГК впервые установлено, что относительный вклад ароматических фрагментов (по сравнению с алифатическими) в структуру ГК является параметром, определяющим детоксицирующую способность гуминовых кислот по отношению к рассматриваемым гербицидам: увеличение содержания ароматических фрагментов способствует повышению детоксицирующего потенциала ГК.

Полученные результаты могут быть использованы при разработке рекомендаций по оптимизации применения гербицидов, относящихся к производным сим-триазинов и динитроанилинов, на почвах различных типов в зависимости от содержания и качественного состава

органического вещества. Обнаруженная тесная взаимосвязь между детоксицирующей способностью ГК и относительным вкладом ароматических фрагментов в структуру ГК по сравнению с алифатическими позволяет сделать вывод о целесообразности применения в качестве детоксикантов гербицидов гуминовых препаратов с высоким содержанием ароматических структур (на основе углей).

## ВЫВОДЫ

1. Исследованы девять образцов почв различного типа (дерново-подзолистые, серые лесные, черноземы) и вида хозяйственного использования (целина, пашня) и семь выделенных препаратов гуминовых кислот. Анализ структуры гуминовых кислот показал нарастание содержания ароматических фрагментов от дерново-подзолистых почв к черноземам и в окультуренных вариантах почв по сравнению с целинными.

2. Исследование детоксицирующей способности почв показало ее возрастание с увеличением содержания гуминовых кислот в составе органического вещества по отношению к атразину, тогда как для трифлуралина аналогичной зависимости не наблюдалось. По возрастанию детоксицирующей способности почвы образовали следующие ряды:

трифлуралин:  $СЛ_{\text{пах}} \leq П^D_{\text{ог}} < ТС_{\text{лес}} \leq Ч_{\text{об}} \leq СЛ_{\text{лес}} \leq Ч_{\text{тип}} \leq П^D_{\text{пах}} \leq П^D_{\text{лес}} \leq Ч_{\text{луг}}$ ;

атразин:  $П^D_{\text{пах}} \cong П^D_{\text{ог}} \cong СЛ_{\text{пах}} \cong СЛ_{\text{лес}} < П^D_{\text{лес}} < Ч_{\text{тип}} < Ч_{\text{об}} < ТС_{\text{лес}} < Ч_{\text{луг}}$ .

3. Корреляционный анализ показал отсутствие значимых взаимосвязей между детоксицирующей способностью и охарактеризованными свойствами почв для трифлуралина и выявил важную роль ГК в детоксикации атразина (коэффициент корреляции между показателем детоксицирующей способности и  $C_{\text{ГК}}/C_{\text{ФК}}$  составил 0,80 при  $P=95\%$ ).

4. Установлено, что ГК черноземных почв обладали максимальной детоксицирующей способностью по отношению к обоим гербицидам. По возрастанию детоксицирующей способности препараты ГК образовали следующие ряды:

трифлуралин:  $П^D_{\text{лес}} \leq СЛ_{\text{лес}} \leq П^D_{\text{пах}} \leq П^D_{\text{ог}} < СЛ_{\text{пах}} \ll Ч_{\text{тип}} < Ч_{\text{луг}}$ ;

атразин:  $P_{ог}^D < P_{пах}^D \cong P_{лес}^D < CЛ_{пах} < CЛ_{лес} < Ч_{тип} < Ч_{луг}$ .

5. Корреляционный анализ данных по детоксицирующей способности препаратов ГК и их структурным параметрам показал наличие тесной взаимосвязи между детоксицирующей способностью препаратов ГК и относительным содержанием ароматических фрагментов по сравнению с алифатическими ( $C_{Ar}/C_{Al}$ ) в структуре ГК ( $r=0,95$  для трифлуралина и  $r=0,80$  для атразина при  $P=95\%$ ).
6. Сопоставление детоксицирующей способности почв и препаратов ГК выявило ведущую роль гуминовых кислот в детоксикации атразина в почве, тогда как в процессах детоксикации трифлуралина содержание органического вещества и его качественный состав не являлись определяющими факторами.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Александрова Л.Н. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации. // Л., “Наука”, 1980, с. 44-77.
2. Аммосова Я.М., Балаганская Е.Д. Свойства гуминовых кислот окультуренных подзолистых почв Мурманской области. // “Почвоведение”, 1991, № 7, с. 29-39.
3. Аринушкина Е.В. Практическое руководство по химическому анализу почв. // М., МГУ, 1970.
4. Багаутдинов Ф.Я. Обновление компонентов гумуса серой лесной почвы и чернозема типичного при длительной гумификации меченых по углероду растительных остатков. // “Почвоведение”, 1994, № 2, с. 50-56.
5. Багаутдинов Ф.Я., Хазиев Ф.Х. Состав, свойства гуминовых кислот целинных и пахотных почв и новообразованных гумусовых веществ. // “Почвоведение”, 1992, № 1, с. 80-83.
6. Березовский М.Я., Немова Г.Н. Особенности применения гербицидов производных сим-триазина на торфяных почвах. // “Агрохимия”, 1973, № 12, с. 102-110.
7. Войтехова В.А. О поглощении гербицидов почвой. // “Агрохимия”, 1969, № 9, с. 102-110.
8. Гамалей В.И., Макаренко Н.А., Корсун С.Г. Гумус при комплексном применении агрохимикатов. // “Химия в сельском хозяйстве”, 1994, № 3, с. 27-29.
9. Гербициды и почва (экологические аспекты применения гербицидов). // Г.Ф. Лебедева, В.И. Агапов, Ю.Н. Благовещенский, В.П. Самсонова. Под ред. Е.А. Дмитриева. М., МГУ, 1990, с. 190-192.
10. Головкин Г.В., Воловник Л.Л. Сорбция пестицидов компонентами почвы. // “Химия в сельском хозяйстве”, 1976, № 9, с. 48-57.
11. Гришина Л.А. Гумусообразование и гумусное состояние почв. // М., МГУ, 1986, с.

12. Гришина Л.А., Копчик Г.Н., Макаров М.И. Трансформация органического вещества почв. // М., МГУ, 1990, с. 64-69.
13. Гришина Л.А., Моргун Л.В. Органическое вещество окультуренных почв. // В сб.: "Биогеохимия агроценозов Нечерноземья", под ред. проф. Л.А. Гришиной, М., МГУ, 1989, с. 48-62.
14. Жирмунская Н.М., Стонов Л.Д. Некоторые вопросы взаимодействия суспензии атразина с почвой. // "Химия в сельском хозяйстве", 1968, № 11, с. 41-44.
15. Захаренко В.А. Гербициды. // М., ВО "Агропромиздат", 1990, с. 19-34.
16. Использование почв, загрязненных гербицидами. Рекомендации. // М., ЦНТИПР, 1991, с. 33.
17. Когут Б.М. Трансформация гумусового состояния черноземов при их сельскохозяйственном использовании. // Автореф. дисс. ...д. с-х. н., М., 1996.
18. Кононова М.М. Органическое вещество почвы. // М., Изд-во АН СССР, 1963, с. 55.
19. Крафтс А. Химия и природа действия гербицидов. // М., Изд-во иностр. лит-ры, 1963, с. 160.
20. Кузьмич М.А. Влияние гуминовых веществ на почву и растение. // "Агрохимия", 1990, № 8, с. 146.
21. Кэлдербенк А. Распространение и роль связанных почвой остатков пестицидов. // В сб.: "Проблемы загрязнения окружающей среды и токсикологии", под ред. Дж. Уэр, М., "Мир", 1993, с. 84-117.
22. Лебедева Г.Ф. Влияние некоторых факторов на длительность токсического действия триазинов в почве. // "Почвоведение", 1970, № 10, с. 93-96.
23. Лебедева Г.Ф., Шустрова З.А. Поведение триазинов в почве. // "Проблемы сельскохозяйственной науки в Московском Университете", М., МГУ, 1975, с. 292-295.

24. Лунев М.И. Пестициды и охрана фитоценозов. // М., “Колос”, 1992, с. 43-55.
25. Майер-Боден Г. Гербициды и их остатки. // М., “Мир”, 1972, с. 375.
26. Матвеев Ю.М. Сорбционно-десорбционное взаимодействие пиклорама с почвой, его влияние на активность гербицида при почвенном применении: Автореф. дисс. ...канд. биол. наук, М., 1982, с. 25.
27. Методические указания по использованию метода биоиндикации для оценки остаточных количеств гербицидов в почве и их фитотоксичности. // М., Госагропром РСФСР, 1988, с. 11-14.
28. Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. 1983, ч. 13, с. 12-22.
29. Миграция и детоксикация пестицидов в почвах (обзор литературы). // М., ВНИИТЭИСХ, 1970, с.
30. Минеев В.Г., Ремпе Е.Х. Эколого-биологическая оценка применения средств химизации на разных типах почв. // “Почвоведение”, 1995, № 8, с. 1011-1021.
31. Митусова Т.М. Влияние длительного систематического применения различных систем удобрений в севообороте на изменение гумусного состояния дерново-подзолистых почв различного механического состава. // Автореф. дисс. ...канд. биол. наук, М., 1986.
32. Мотовилова Л.В., Берман О.Н., Скворцов О.В. Гуматы - экологически чистые стимуляторы роста и развития растений. // “Химия в сельском хозяйстве”, 1994, № 5, с. 12-13.
33. Мочалкина К.И., Епишина Л.В., Спиридонов Ю.Я., Шестаков В.Г. Химическая детоксикация почвенных гербицидов. // “Агрохимия”, 1983, № 7, с. 113-121.
34. Никитин Б.А. Влияние распашки и окультуривания почв Нечерноземья на их органическое вещество // В сб.: “Расширенное

- воспроизводство плодородия почв в интенсивном земледелии", М., 1988, с. 97-104.
35. Овчинникова М.Ф., Еремина Г.В., Орлов Д.С. Особенности группового состава гумуса и сезонной динамики некоторых свойств целинной и окультуренной дерново-подзолистых почв // "Вестн. МГУ", сер. 17, "Почвоведение", 1978, № 3, с. 38-46.
  36. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. // М., МГУ, 1990, с.72-76.
  37. Орлов Д.С. Химия почв. // М., МГУ, 1992, с. 212.
  38. Орлов Д.С., Бирюкова О.Н., Суханова Н.И. Органическое вещество почв Российской Федерации. // М., "Наука", 1996, с. 191.
  39. Орлов Д.С., Бирюкова О.Н. Гумусное состояние почв Нечерноземной зоны РСФСР и его изменение при сельскохозяйственном использовании почв. // В сб.: "Комплексная химическая характеристика почв Нечерноземья", под ред. Д.С. Орлова. М., МГУ, 1987, с. 11-30.
  40. Орлов Д.С., Гришина Л.А. Практикум по химии гумуса. // М., МГУ, 1981, с. 119-126.
  41. Орлов Д.С., Овчинникова М.Ф., Аммосова Я.М. Изменение гумусного состояния дерново-подзолистых почв под влиянием различных факторов. // В сб.: "Комплексная химическая характеристика почв Нечерноземья", под ред. Д. С. Орлова. М., МГУ, 1987, с. 43-57.
  42. Перминова И.В., Данченко Н.Н., Капланова Т.Г., Петросян В.С. Определение общей кислотности баритовым методом - условия применимости для гумусовых кислот. // "Экологическая химия", М., Изд-во ТЭЗА, 1995, 4(4), с. 313-317.
  43. Польшов В.А. Разработка и применение флуоресцентных методов биотестирования токсичности природных и сточных вод. // Дисс. ... канд. биол. наук, М., 1992, с. 19.

44. Почвенно-агрономическая характеристика АБС "Чашниково". Под ред. Л.О. Карпачевского, А.М. Головкова. // М., МГУ, 1988, ч. 2, с. 3.
45. Почвоведение. В 2-х частях. Под ред. В.А. Ковды, Б.Г. Розанова. // М., "Высшая школа", 1988, ч. 1, с.
46. Практикум по химической защите растений. Под ред. Г.С. Груздева. // М., "Колос", 1992.
47. Прогнозирование уровня активности и длительности сохранения гербицидов в почвах (методические разработки). // М., ЦНТИПР, 1992, с.
48. Разложение гербицидов. Под ред. П. Керни, Д. Кауфман. // М., "Мир", 1971, с. 57-81.
49. Самгин П.А. Инактивация и передвижение триазиновых гербицидов в почве. // М., ВНИИТЭИСХ, 1975, с. 5-44.
50. Самойлова Е.М., Сизов А.П., Яковченко В.П. Органическое вещество почв черноземной зоны. // Киев, "Наукова думка", 1990, с. 13.
51. Спиридонов Ю.Я., Каменский В.И. Факторы, определяющие устойчивость атразина в почве. // "Агрохимия", 1970, № 6, с. 112-120.
52. Список химических и биологических средств борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками, регуляторов роста растений и феромонов, разрешенных для применения в сельском, в том числе фермерском, лесном и коммунальном хозяйствах на 1992-1996 гг. // М., "Колос", 1994.
53. Сюняев Х.Х. Радиоиндикаторное исследование трансформации и миграции симазина в почвах подзолистого и черноземного типов. // Автореф. ... канд. биол. наук, 1984.
54. Тейт Р. III Органическое вещество почвы. // М., "Мир", 1991, с. 162.
55. Титова Н.А., Когут Б.М. Трансформация органического вещества при сельскохозяйственном использовании почв. // "Итоги науки и

- техники”, сер. “Почвоведение и агрохимия”, М., ВИНТИ, 1991, т. 8, с. 33-112.
56. Abbt-Braun G., Schmiedel U., Frimmel F.H. // *Vom Wasser*, 1990, B. 75, S. 59-73.
  57. Amador J.A., Alexander M., R.G. Zika. Degradation of aromatic compounds bound to humic acid by the combined action of sunlight and microorganisms. // *Environ. Tox. Chem.*, 1991, v. 10, p. 475-482.
  58. Bailey G.W., White J.L. Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soil. // *Res. Rev.*, 1970, v. 32, p. 29-92.
  59. Barriuso E., Calvet R. Soil type and herbicides adsorption. // *Intern. J. Anal. Chem.*, 1992, v. 46, p. 117-128.
  60. Barriuso E., Koskinen W.C. Incorporating Nonextractable Atrazine Residues into Soil Size Fraction as a Function of Time. // *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1996, v. 60, p. 150-157.
  61. Beck A.J., Jones K.C. The effect of partical size, organic matter content, crop residues and dissolved organic matter on the sorption kinetics of atrazine and isoproturon by clay soil. // *Chemosphere*, 1996, v. 32, p. 2345-2358.
  62. Berger B.M., Bernd T., Menne H.J., Hackfeld U., Siebert C.F. Effect of Crop Management on the Fate of 3 Herbicides in Soil. // *J. Agric. Food Chem.*, 1996, v. 44, p. 1900-1905.
  63. Berry D.F., Boyd S.A. Decontamination of Soil through Enhanced Formation of Bound Residues. // *Environ. Sci. Technol.* 1985, v. 19, p. 1132-1133.
  64. Burns I.G., Hayes M.H.B., Stacey M. Some physico-chemical interaction of paraquat with soil organic materials and model compounds II. Adsorption and desorption equilibria in aqueous suspensions. // *Weed Res.*, 1973, v. 13, p. 79-90.
  65. Carringer R.D., Weber J.B., T.J. Monaco. Adsorption-desorption of selected pesticides by organic matter and montmorillonite. // *J. Agric. Food. Chem.*, 1975, v. 23, p. 569-572.

66. Crespo M.B., Rossel R.A. Change of properties of humic substances in an edaphic climosequence. // "Agrochimica", 1990, v. 34, N 3.
67. Dec J., Bollag J.-M. Determination of covalent and noncovalent binding interactions between xenobiotic chemicals and soil. // Soil Science, 1997, v. 162, N 12, p. 1-16.
68. Draber W., Tietjen K., Kluth J., Trebst A. Herbicides in Photosynthesis Research. // Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1991, v. 30, N 12, p. 1621-1633.
69. Ercegovich C. Herbicide deactivated by dry phosphoric acid. // Sci. Agriculture, 1971, v. 18, N 3, p. 14-15.
70. Gamble D.S., S.U. Khan. Atrazine hydrolysis in aqueous suspensions of humic acid at 25.0°C. // Can. J. Chem., 1988, v. 66, p. 2605.
71. Genevini P.L., Sacchi G.A., Borio D. Herbicide effect of atrazine, diuron, linuron and prometon after interaction with humic acids from coal. // In: "Humic Substances in the Global Environment and Implication on Human Health". Ed. by N. Senesi and T.M. Miano, 1994, p. 1291-1296.
72. Gilchrist G.F.R., Gamble D.S., Kodama H., S.U. Khan. Atrazine interaction with Clay Minerals: Kinetics and Equilibria of Sorption. // J. Agric. Food Chem., 1993, v. 41, p. 1748-1755.
73. Gish T.J., Shirmohammadi A., Vyrvipillai R., Wienhold B.J. Herbicide Leaching Under Tilled and No-Tilled Fields. // Soil Sci. Soc. Am. J., 1995, v. 59, p. 895-901.
74. Golab T., Althaus W.A., H.L. Wooten. Fate of [<sup>14</sup>C]Trifluralin in Soil. // J. Agric. Food Chem., 1979, v. 27, N 1, p. 163-179.
75. Vlasinova, L. Havel, S. Prochazka, S. Heyduk. Influence of humic substances on plant nutrition and growth in in vitro conditions. // Abstract book of the 9-th International Colloquium for Optimization of Plant Nutrition, Prague, Czech Republic, September 8-15, 1996, p. 209.
76. Hance R.J. Influence of pH, exchangeable cation and the presence of organic matter on the adsorption of some herbicides by montmorillonite. // Can. J. Soil Sci., 1969, v. 49, p. 357-364

77. Hargitai L. Some aspects of chemical topology from the evaluation of properties of humic substances. // *Sci. Tot. Environ.*, 1992, v. 117-118, p. 379-392.
78. Harris C.I. Absorption, movement, and phytotoxicity of monuron and s-triazine herbicides in soil. // *Weeds*, 1966, v. 14, p. 6-10.
79. Hayes M.H.B. Adsorption of triazine herbicides on soil organic matter, including a short review on soil organic matter chemistry. // *Res. Rev.*, 1970, v. 32, p. 131-174.
80. Helling C.S., Krivonak A.E. Biological Characteristics of Bound Dinitroaniline Herbicides in Soils. // *J. Agric. Food Chem.*, 1978, v. 26, N 5, p. 1164-1172.
81. Helling C.S., Krivonak A.E. Physicochemical Characteristics of Bound Dinitroaniline Herbicides in Soils. // *J. Agric. Food Chem.*, 1978, v. 26, N 5, p. 1156-1163.
82. Helling C.S., Zhuang W., Gish T.J. Persistence and leaching of atrazine, alachlor, and cyanazine under no-tillage practices. // *Chemosphere*, 1988, v. 17, p. 175-187.
83. Hesketh N., Jones M.N., Tipping E. The interaction of some pesticides and herbicides with humic substances. // *Analitica Chimica Acta*, 1996, v. 327, p. 191-201.
84. Hsu T.S., Bartha R. Biodegradation of chloroaniline humus complexes in soil and in culture solution. // *Soil Sci.*, 1974, v. 118, p. 213-219.
85. Jordan P.D., Smith L.W. Adsorption and deactivation of atrazine and diuron by charcoals. // *Weed Science*, 1971, v.19, N 5, p. 541-544.
86. Kearney P. C. Summary of soil bound residues discussion session. // In: Kaufman D.D., Still G.G., Paulson G.D., Bandal S.K. (eds.): "Bound and Conjugated Pesticide Residues". ACS Symp. Series, 1976, v. 29, p. 378-382.
87. Khan S.U. Interaction of humic substances with bipyridylium herbicides. // *Can. J. Soil Sci.*, 1973, v. 53, p. 199-204.

88. Khan S.U. The interaction of organic matter with pesticides. // In: "Pesticides in the soil environment", 1980, p. 18-186.
89. Khan S.U. The interaction of organic matter with pesticides. // In: "Soil organic matter", ed. by M. Schnitzer and S.U. Khan, Elsevier North-Holland, 1978, p. 137-167.
90. Khan S.U., Dupont S. Bound pesticide residues and their bioavailability. // In: Greenhalgh R., Roberts T.R. (eds.): "Pesticide Science and Biotechnology". Proc. 6th Int. Cong. Pesticide Chemistry, IUPAC. Blackwell Sci. Pub. London, 1987, p. 417-420.
91. Khan S.U. Equilibrium and kinetic studies of the adsorption of 2,4-D and picloram on humic acid. // Can. J. Soil Sci., 1973, v. 53, p. 429-434.
92. Kozak J. Adsorption of prometryn metholachlor by selected soil organic matter fractions. // Soil Sci., 1983, v. 136, p. 94-101.
93. Kress B.M., Ziechmann W. Interactions between humic substances and aromatic hydrocarbons. // Chem. Erde, 1977, v. 36, p. 209-217.
94. Ladislau M.-N., Eni M. Vieira, G. Sposito. Mechanism of Atrazine Sorption by Humic Acid: A Spectroscopic Study. // Environ. Sci. Technol., 1994, v. 28, p. 1867-1873.
95. Lee S.J., Katayama A., Kimura M. Microbial Degradation of Paraquat Sorbed to Plant Residues. // J. Agric. Food Chem., 1995, v. 43, p. 1343-1347.
96. Liu R., Clapp C.E., Hayes M.H.B. Stability of Complexes Formed by the Herbicide Napropamide and Soluble Humic Acids. // Proc. of the 7<sup>th</sup> Int. Conf. Int. Humic Subst. Soc., Ed. by C.E. Clapp, M.H.B. Hayes, N. Senesi, and S.M. Griffith, 1996, p. 305-315.
97. Maggioni A., Varanini Z., Nardi S., Pinton R. Action of soil humic matter on plant roots: stimulation of ion uptake and effects on (Mg<sup>2+</sup>+K<sup>+</sup>) ATPase activity. // Sci. Total Environ., 1987, v. 62, p. 355-363.
98. Manthey M., Faust M., Smolka S., L.H. Grimme. Herbicide bioconcentration in algae: studies on lipophilicity-sorption-activity relationships (LSAR) with *Chlorella fusca*. // Sci. Tot. Environ.,

- Supplement 1993, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, p. 453-459.
99. Maqueda C., Morillo E., J.L.P. Rodriguez. Interaction in aqueous solution of certain pesticides with fulvic acids from a spodosol soil. // *Soil Science*, 1989, v. 148, N 5, p. 336.
  100. Maqueda C., Morillo E., Perez J.L., A. Justo. Adsorption of chlordimeform by humic substances from different soils. // *Soil Science*, 1990, v. 150, N 1, p. 431.
  101. Mathur S.P., Paul E.A. Microbial utilization of soil humic acids. // *Canadian Journal of Microbiology*, 1967, v. 13, p. 573-585.
  102. McGlamery M.D., Slife F.W. The adsorption and desorption of atrazine as affected by pH, temperature, and concentration. // *Weeds*, 1966, v. 14, p. 237-239.
  103. Meikle R.W., Regoli A.J., Kurihara N.H. Classification of bound residues soil organic matter: Polymetric nature of residues in humic substance. // In: Kaufman D.D., Still G.G., Paulson G.D., Bandal S.K. (eds.): "Bound and Conjugated Pesticide Residues". ACS Symp. Series, 1976, v. 29, p. 272 - 284
  104. Menzer R.E., Nelson J.O. Water and Soil Pollutants. // In: Doubl J.D., Klaassen C.D., Amdur M.O. (eds.) Casaret and Doull's Toxicology: The basis science of poisons, Macmillan Pub. Co. Inc. New York, 3rd Ed., 1986, p. 825-853.
  105. Miano T.M., Senesi N., Brunetti G., D'Orazio V. Changes in Humic Substances Induced by Cultivation Practices and Studies of Interaction Mechanisms between Glyphosate and Soil Humic Acids. // Proc. of the 7<sup>th</sup> Int. Conf. Int. Humic Subst. Soc., Ed. by C.E. Clapp, M.H.B. Hayes, N. Senesi, and S.M. Griffith, 1996, p. 345-359.
  106. Miele S. The role of organic matter in agronomy practice and proposals for improving the humic balance of the soil. // In: "Humic substances effect on soil and plants", ed. by Burns R. G. et al., Reda edizioni per lagricolturla, 1986, p. 146.

107. Nakagawa L.E., Luchini L.C., Musumeci M.R., Matalo M. Behavior of Atrazine in Soils on Tropical Zone - Degradation, Mobility and Uptake of Atrazine Residues from Soils in a Crop-Rotation System (Maize/Beans). // *J. Environ. Sci. Health. Part B - Pest. Food Contam Agric. Wastes.* 1996, v. 31, p. 203-204.
108. Nearpass D.C. Adsorption of picloram by humic acids and humin. // *Soil Sci.*, 1976, v. 121, p. 272-277.
109. Nelson J.E., Meggitt W.F., Penner D. Fractionation of Residues of Pendimethalin, Trifluralin, and Oryzalin during Degradation in Soil. // *Weed Science*, 1983, v. 31, p. 68-75.
110. Parris G.E. Covalent Binding of Aromatic Amines to Humates. 1. Reaction with Carbonils and Quinones. // *Environmental Science & Technology*, 1980, v. 14, N 9, p. 1099-1105.
111. Perminova I.V. et. al. Humic Substances as Natural Detoxicants. // *Proc. of the 7<sup>th</sup> Int. Conf. Int.Humic Subst. Soc.*, Ed. by C.E. Clapp, M.H.B. Hayes, N. Senesi, and S.M. Griffith, 1996, p.399-406.
112. Piccolo A. Interaction between organic pollutants and humic substances in the environment. // In: "Humic Substances in the Global Environment and Implication on Human Health". Ed. by N. Senesi and T.M. Miano, 1994, p. 961-977.
113. Piccolo A., Celano G., De Simone C. Interaction of atrazine with humic substances of different origin and their hydrolysed products. // *Sci. Total Env.*, 1992, v. 117/118, p. 403-412.
114. Piccolo A., G. Celano, and P.Conte. Interaction between herbicides and humic substances. // *Pesticide Outlook*, April 1996, p. 21-24.
115. Rahman A. Persistence of terbacil and trifluralin under different soil and climatic conditions. // *Weed Res.*, 1977, v. 17, p. 145-152.
116. Raman S., Krishna M., P. C. Rao. Adsorption-desorption of atrazine on four soils of Hyderabad. // *Water, Air and Soil Pollution*, 1988, v. 40, p. 177-184.

117. Riley D., Tucker B.V., Wilkinson W. Biological unavailability of bound paraquat residues in soil. // In: Kaufman D.D., Still G.G., Paulson G.D., Bandal S.K. (eds.): "Bound and Conjugated Pesticide Residues". ACS Symp. Series, 1976, v. 29, p. 301-353.
118. Saxena A., Bartha R. Microbial mineralization of humic acid-3,4-dichloroaniline complexes. // *Soil Biol. Biochem.* 1983, v. 15, p. 59-62.
119. Schiavon M. Studies of the Leaching of Atrazine, of Its Chlorinated Derivatives, and of Hydroxyatrazine from Soil Using <sup>14</sup>C Ring-Labeled Compounds under Outdoor Conditions. // *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1988, v. 15, p. 46-54.
120. Schnitzer M. The synthesis, chemical structure, reactions and functions of humic substances. // In: "Humic substances effect on soil and plants", ed. by Burns R. G. et al., Reda edizioni per lagricolturla, 1986, p. 26-28.
121. Schnitzer M., Preston C.M. Analysis of Humic Acids by Solution and Solid-state Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance. // *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1986, v. 50, p. 326-331.
122. Schutz S., Weissbecker B., Hummel H.E. Gass-Chromatography Mass-Spectrometry Analysis of the Herbicide Clopyralid in Differentially Cultivated Soils. // *Environ. Tox. Chem.*, 1996, v. 15, p. 249-252.
123. Senesi N. Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. // *Sci. Tot. Environ.*, 1992, v. 123/124, p. 63-76.
124. Senesi N., Dorazio V.D., Miano T.M. Adsorption Mechanisms of S-Triazine and Bipyridylum Herbicides on Humic Acids from Hop Field Soils. // *Geoderma*, 1995, v. 66, p. 273-283.
125. Senesi N., T.M. Miano, C. Testini. Incorporation of water dissolved chlorophenoxyalkanoic herbicides by humic acids of various origin and nature. // In: G. Giovannozzi-Sermanni and P. Nannipieri (eds.), *Current Perspectives in Environmental Biogeochemistry*, CNR-IPRA, Rome, 1987, p. 295-308.

126. Senesi N., Testini C. Physico-chemical investigation of interaction mechanisms between s-triazine herbicides and soil humic acids. // *Geoderma*, 1982, v. 28, p. 129-146.
127. Sequi P. Humic substances: general influences on soil fertility. // In: "Humic substances effect on soil and plants", ed. by Burns R.G. et al., Reda edizioni per lagricolturla, 1986, p. 31-34.
128. Sheets T.J., Crafts A.S., Drever H.R. Influence of soil properties on the phytotoxicities of the s-triazine herbicides. // *J. Agric. Food. Chem.*, 1962, v. 10, p. 458-462.
129. Sigua G.C., Isensee A.R., Sadeghi A.M., Im G.J. Distribution and transport of atrazine as influenced by surface cultivation, earthworm population rainfall pattern. // *Chemosphere*, 1995, v. 31, p. 4237-4242.
130. Smith A.E. Herbicides and the soil environment in Canada. // *Can. J. Soil Sci.*, 1982, v. 62, N 3, p. 452.
131. Smith A.E., Aubin A.J., Derksen D.A. Loss of Trifluralin from Clay and Loam Soils Containing Aged and Freshly Applied Residues. // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1988, v. 41, p. 569-573.
132. Smith A.E., Muir D.C.G. Determination of Extractable and Nonextractable Radioactivity from Small Field Plots 45 and 95 Weeks after Treatment with [<sup>14</sup>C]Dicamba, (2,4-Dichloro[<sup>14</sup>C]phenoxy)acetic Acid, [<sup>14</sup>C]Triallate, and [<sup>14</sup>C]Trifluralin. // *J. Agric. Food Chem.*, 1984, v. 32, p. 588-593.
133. Snelling K.W., Hobbs J.A., Powers W.L. Effects of surface area, exchange capacity, and organic matter content on miscible displacement of atrazine in soils. // *Agronomy J.*, 1969, v. 61, November-December, p. 875.
134. Spark K.M., Swift R.S. Investigation of the interaction between pesticides and humic substances using fluorescence spectroscopy. // *Sci. Total Environ.*, 1994, v. 152, p. 9-17.
135. Sposito G., Martinetto L., Yang A. Atrazine Complexation by Soil Humic Acids. // *J. Environ. Quality*, 1996, v. 25, p. 1203-1209.

136. Stearman G.K., Lewis R.J., Tortorelli L.J., D.D. Tyller. Characterization of Humic Acid from No-Tilled and Tilled Soils Using Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance. // *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1989, v. 53, N 6, p. 744-749.
137. Stearman G.K., Lewis R.J., Tortorelli L.J., D.D. Tyller. Herbicide Reactivity of Soil Organic Matter in No-Tilled and Tilled cotton. // *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1989, v. 53, N 6.
138. Talbert R. Effects of trifluralin on soybean root development. // *Proc. Sothern Weed Control Conf.*, 1965, v. 18, p. 652.
139. Tames R.S., Hance R.J. The adsorption of herbicides by roots. // *Plant and Soil*, 1969, v. 30, N 2, p. 221-226.
140. Terse M., Calvet R. Adsorption of Several Herbicides by Montmorillonite, Kaolinite and Illite Clays. // *Chemosphere*, 1978, v. 4, p. 365-370
141. Tutarli A., Cici M., Celik S. Determination of trifluralin and chloridazon residues in agricultural lands in Elazig Province. // *Environ. Technol.*, 1995, v. 16, p. 995-1000.
142. Tworkoski T.J., Engle M.E., Kujawski P.T. Growth-Regulatory Effects and Soil Concentration of Controlled-Release Trifluralin Applied to Roots of Yellow-poplar and Red Oak. // *J. Am. So. for Horticultural Sci.*, 1996, v. 121, p. 461-465.
143. Upchurch R.P., Mason D.D. The influence of soil organic matter on the phytotoxicity of herbicides. // *Weeds*, 1962, v. 10, p. 9-14.
144. Walker A., Crawford D.V. The role of organic matter in adsorption of the triazine herbicides in soils. // *Weed Abstracts*, 1970, v. 19, N 3, p. 1335.
145. Wang Z.D., Gamble D.S., Langford C.H. Interaction of atrazine with Laurentian fulvic acids: binding and hydrolysis. // *Analytica Chimica Acta*, 1990, v. 232, p. 181-188.

146. Wang Z.D., Gamble D.S., Langford C.H. Interaction of atrazine with Laurentian humic acid. // *Analytica Chimica Acta*, 1991, v. 244, p. 135-143.
147. Weber G.B. Interaction of organic pesticides with particulate matter in aquatic systems. // *Adv. Chem. Ser.*, 1972, v. 111, p. 55-120.
148. Weber J.B. Mechanism of adsorption of s-triazines by clay colloids and factors affecting plant availability. // *Res. Rev.*, 1970, v. 32, p. 93-130.
149. Weber J.B., Weed S.B., Ward T.M. Adsorption of s-triazines on soil organic matter. // *Weed Sci.*, 1969, v. 17, p. 417-421.
150. Welhouse G.J., Bleam W.F. Atrazine Hydrogen-Bonding Potentials. // *Environ. Sci. Technol.*, 1993, v. 27, p. 494-500.
151. Wershaw R.L., Pinckney D.L., S.E. Booker. Chemical structure of humic acids - part 1, a generalized structural model. // *J. Research U.S. Geol. Survey*, 1977, v. 5, N 5, p. 565-569.
152. Wheeler W.B., Stratton G.D., Twilley R.R., Li-Tse Ou, Carlson D.A., J.M. Davidson. Trifluralin Degradation and Binding in Soil. // *J. Agric. Food Chem.*, 1979, v. 27, N 4, p. 702-705.
153. Zech W., Ziegler F., I. Kogel-Knabner, L. Haumaier. Humic substances distribution and transformation in forest soils. // *Sci. Tot. Environ.*, 1992, v. 117/118, p. 155-174.
154. Ziechmann W. Huminstoffe. // *Chemie, Weinheim ...Basel*, 1980.
155. Ziechmann W. Evolution of Structural Models from Consideration of Physical and Chemical Properties // *In: Humic Substances and Their Role in the Environment*. Ed. by F.H. Frimmel & R.F. Christman, 1988, p. 113-132.

## **ПРИЛОЖЕНИЕ**

**Приложение 1**

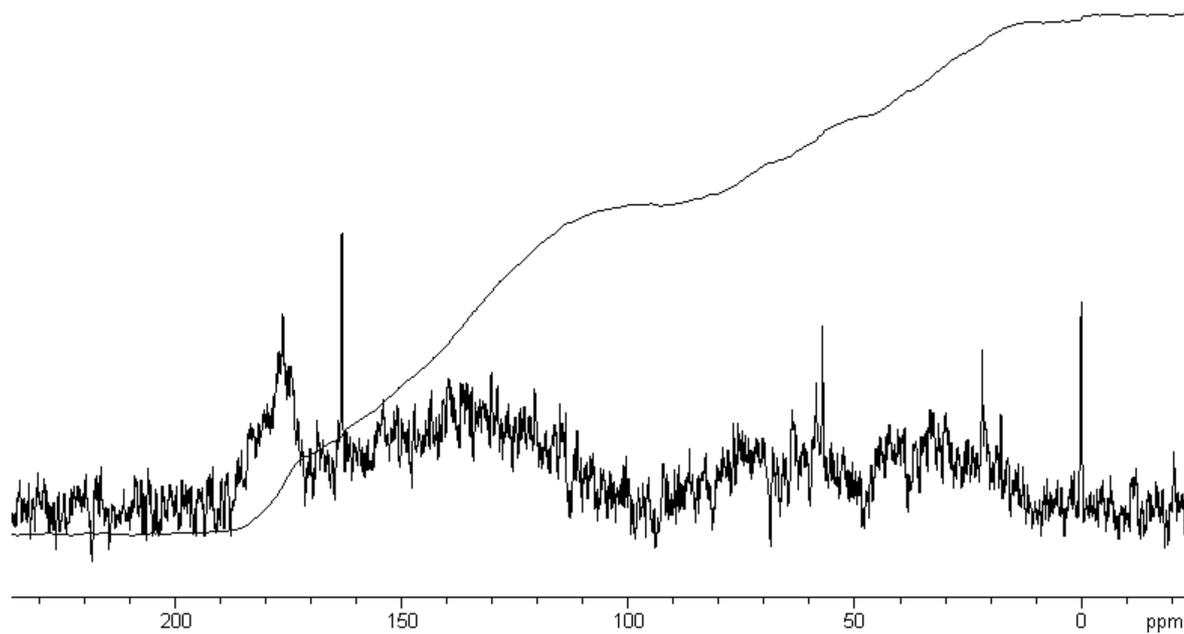
**Выбранные интервалы для интегрирования  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров  
гуминовых кислот**

Интервал	Отнесение
200-190	C=O
190-170	COOH, COOR, CONH <sub>2</sub>
170-145	Ph-OH
145-102	Ar (кроме Ph-OH)
50-102	Alk-O
10-50	Alk

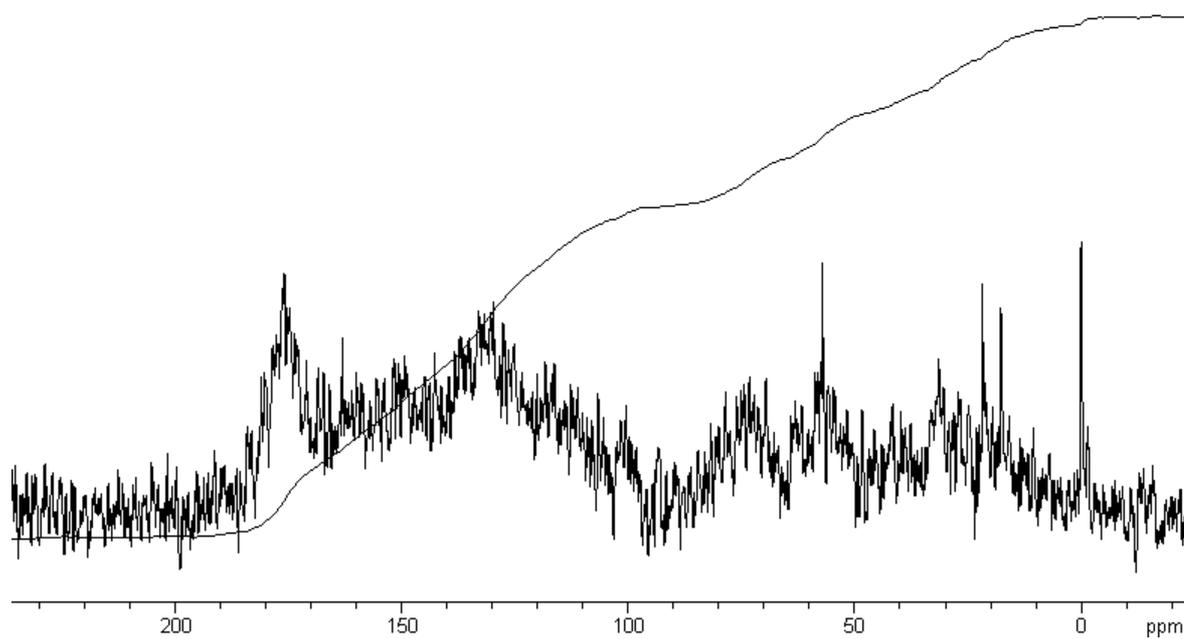
## Приложение 1 (продолжение)

 $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектры препаратов ГК

Дерново-подзолистая под лесом

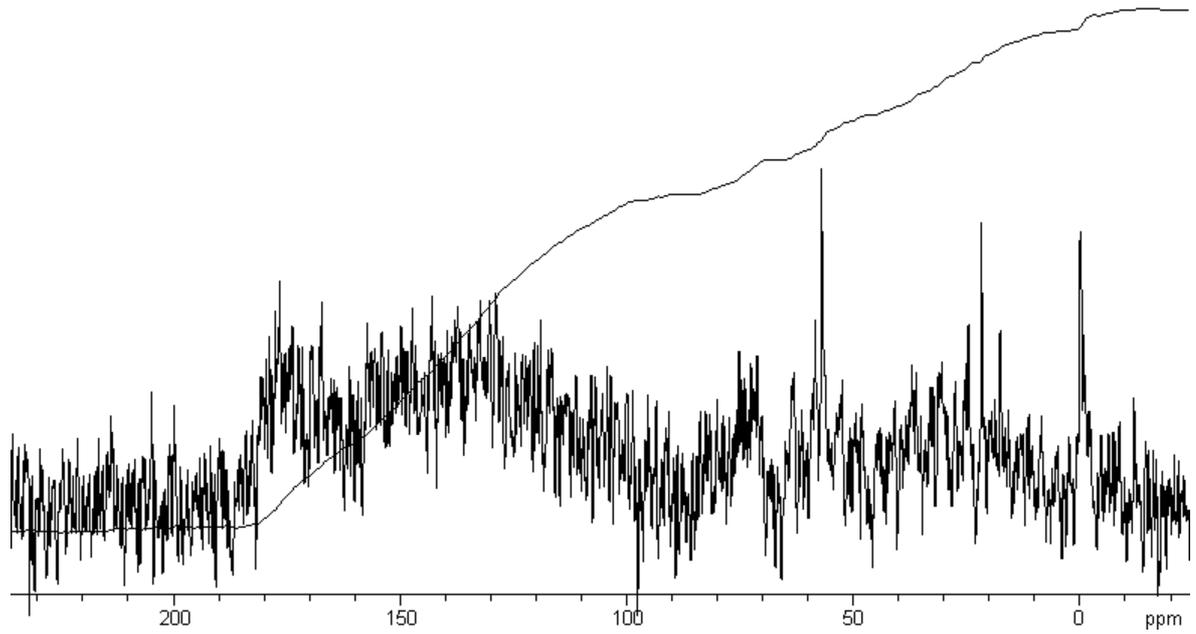


Дерново-подзолистая пахотная



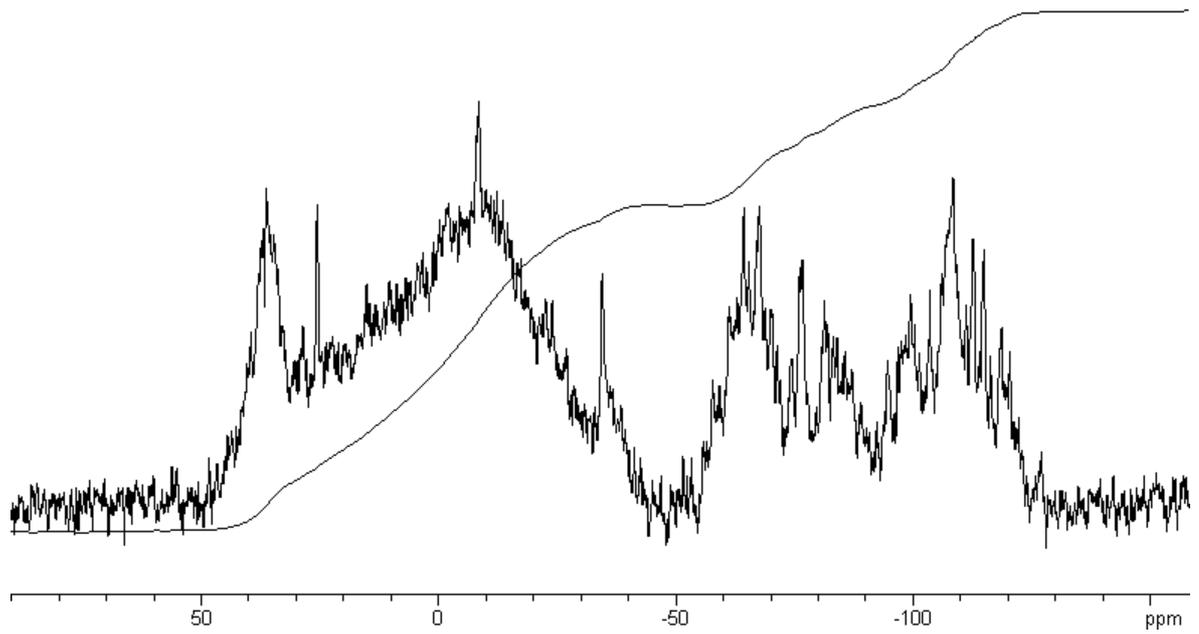
**Приложение 1 (продолжение)**

Дерново-подзолистая огородная

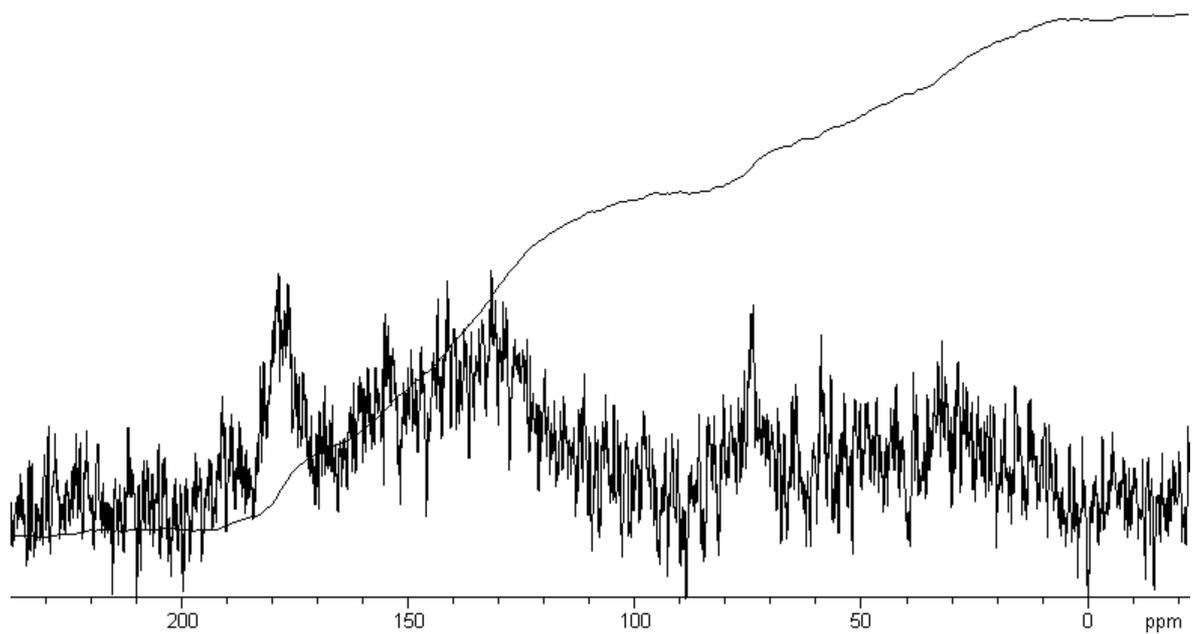


**Приложение 1 (продолжение)**

Серая лесная под лесом

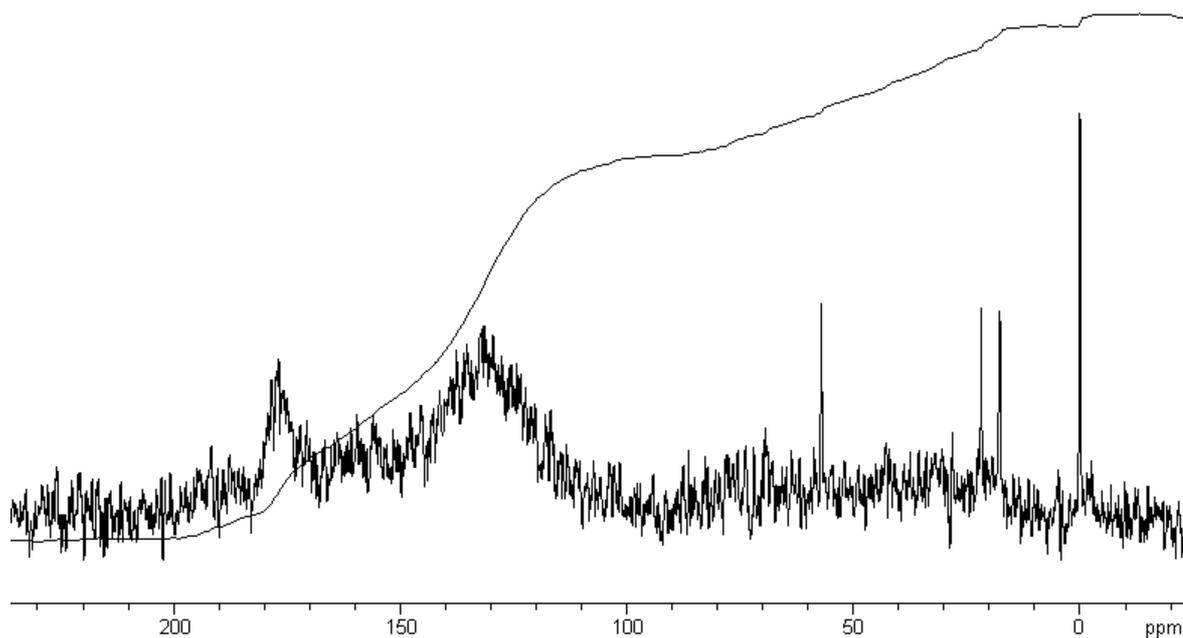


Серая лесная пахотная

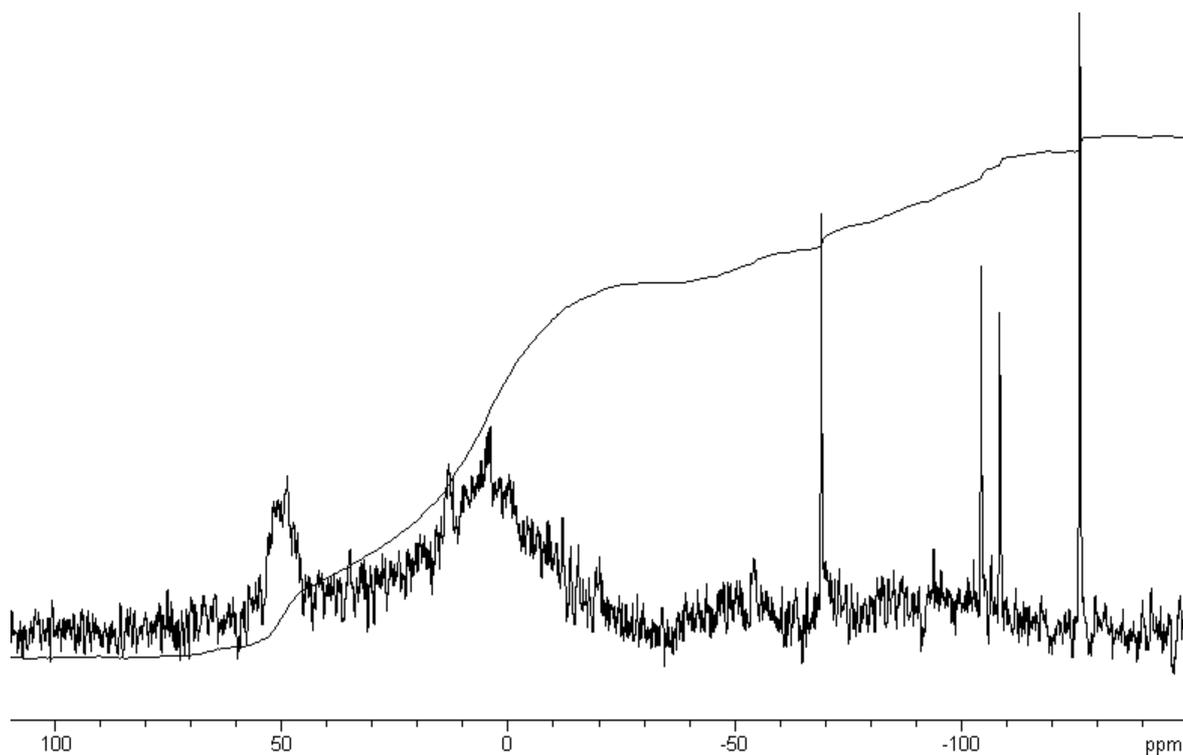


## Приложение 1 (продолжение)

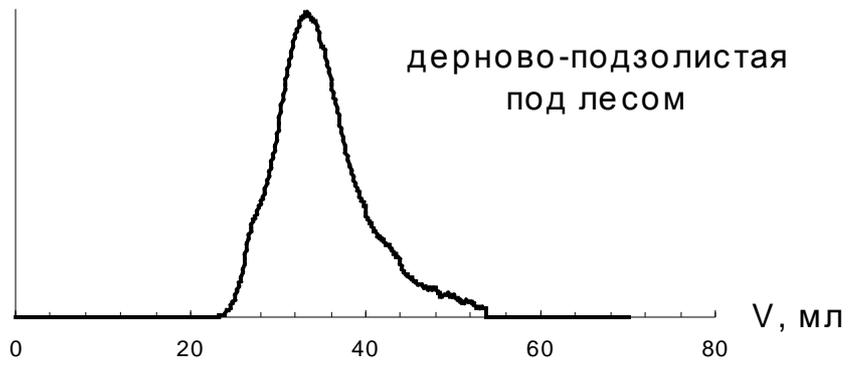
Чернозем типичный



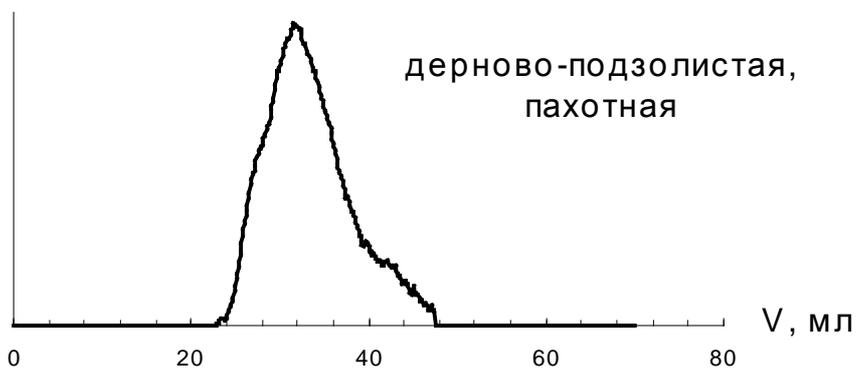
Черноземно-луговая



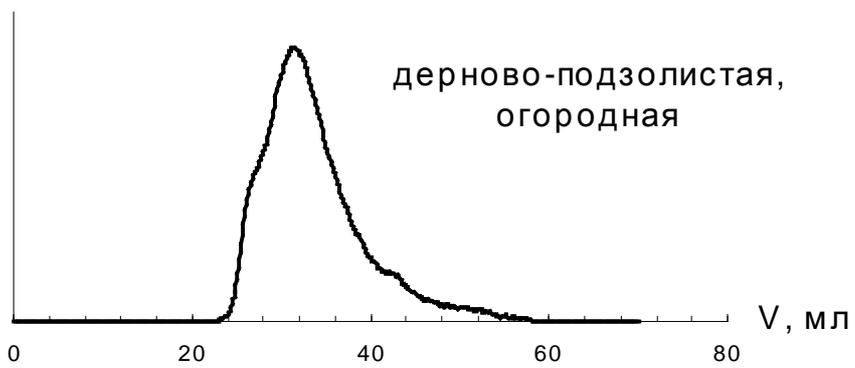
сигнал



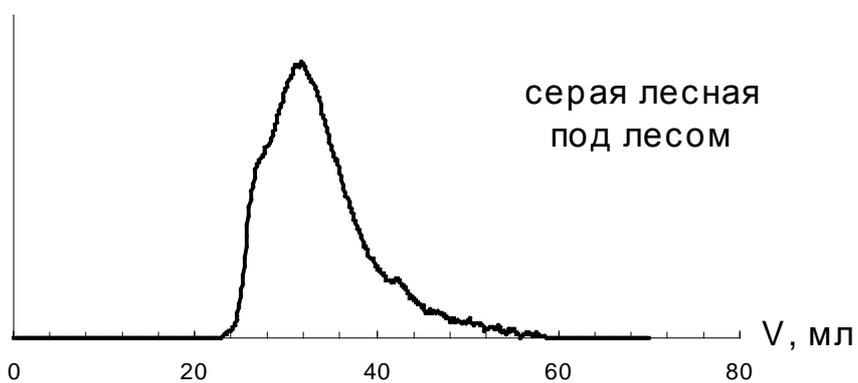
сигнал



сигнал

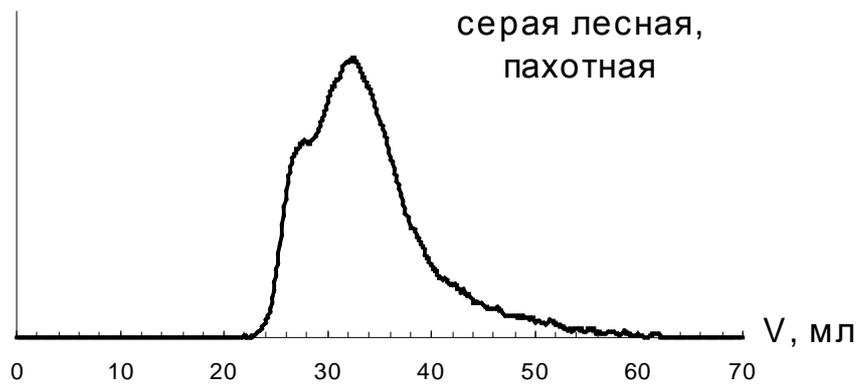


сигнал

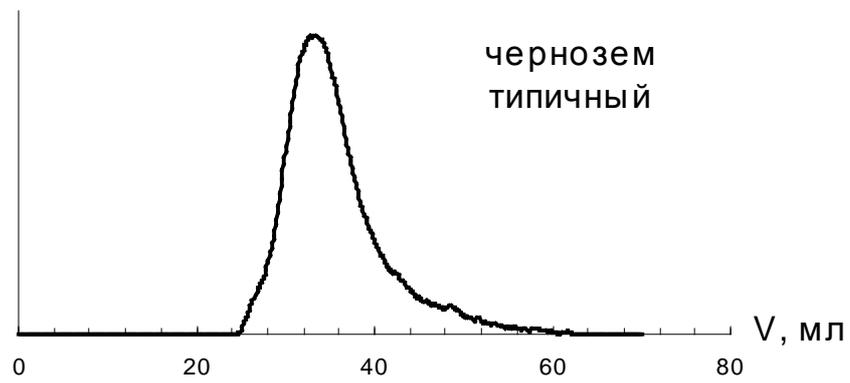


## Приложение 2(продолжение)

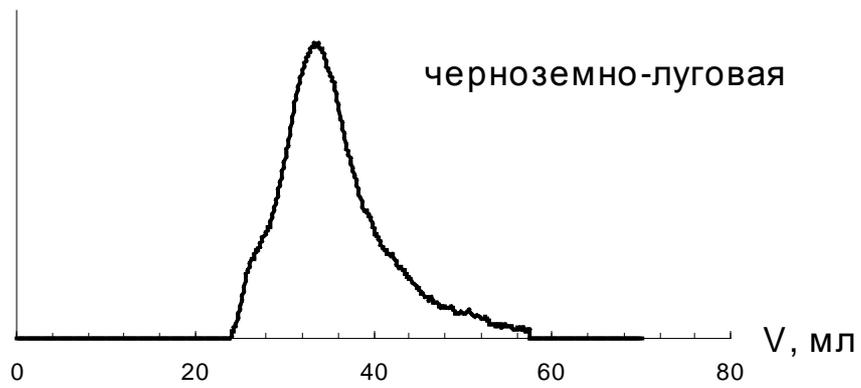
сигнал



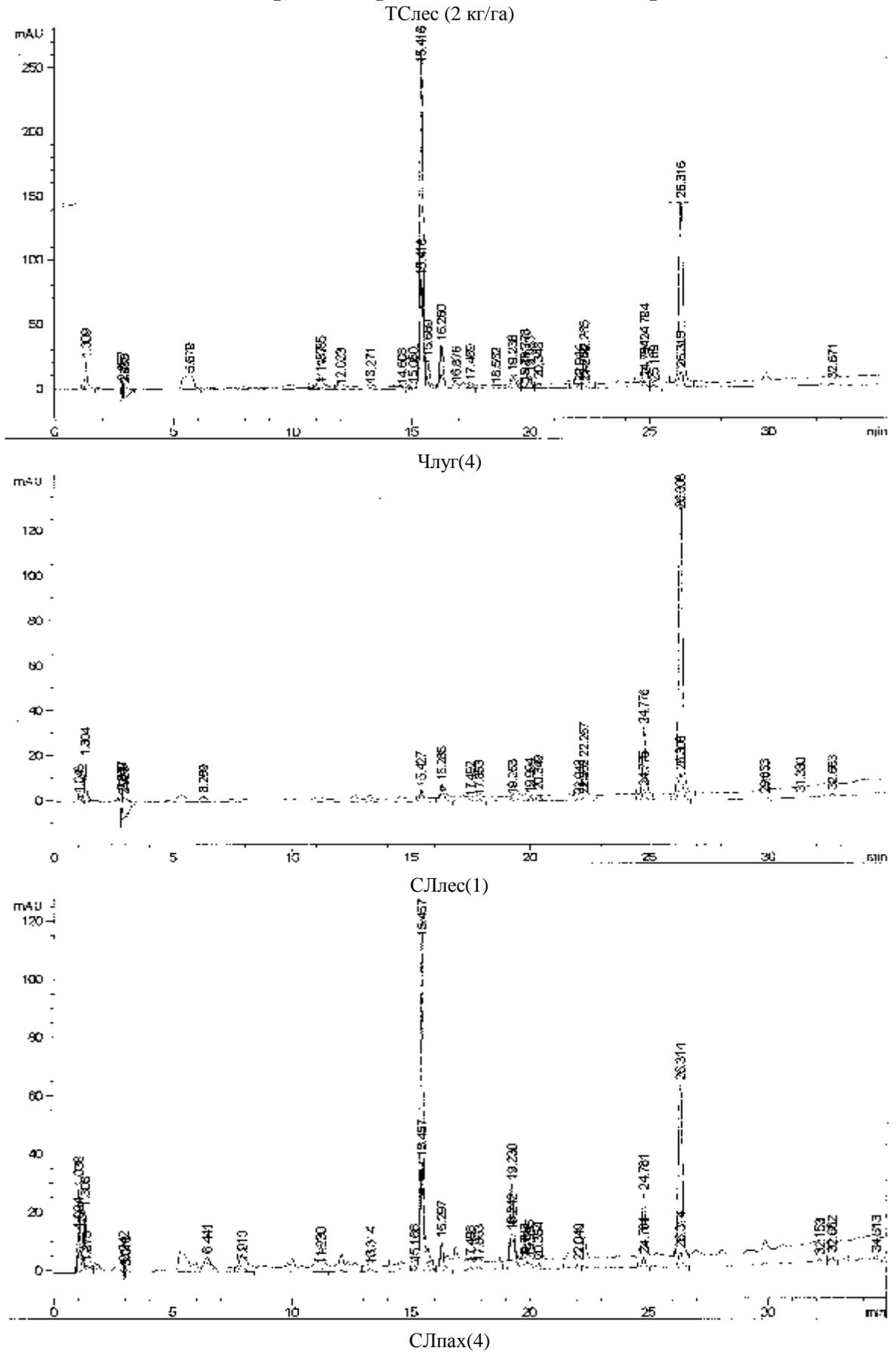
сигнал

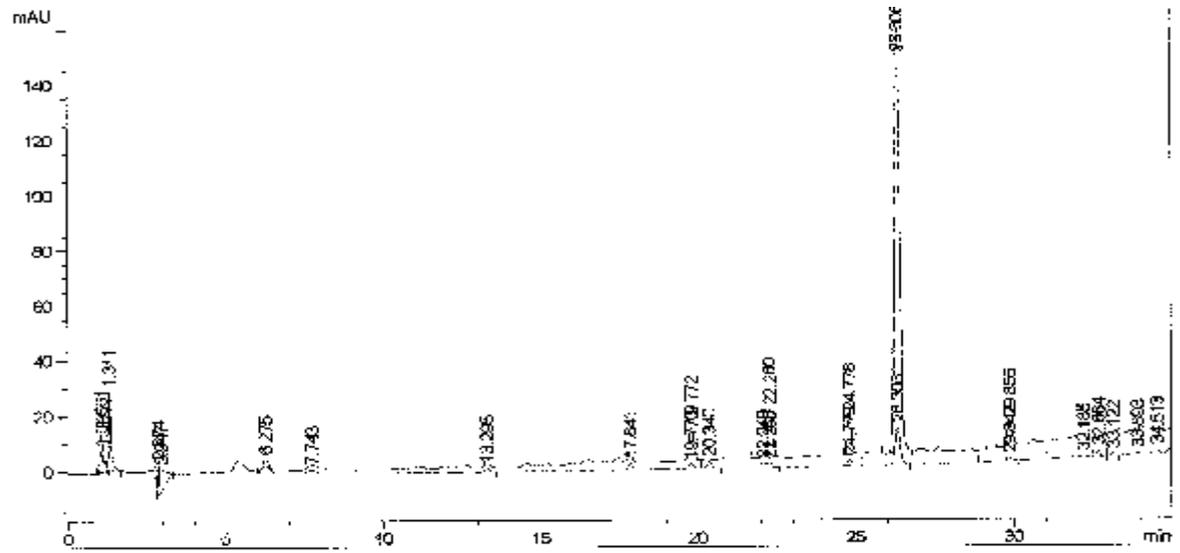


сигнал

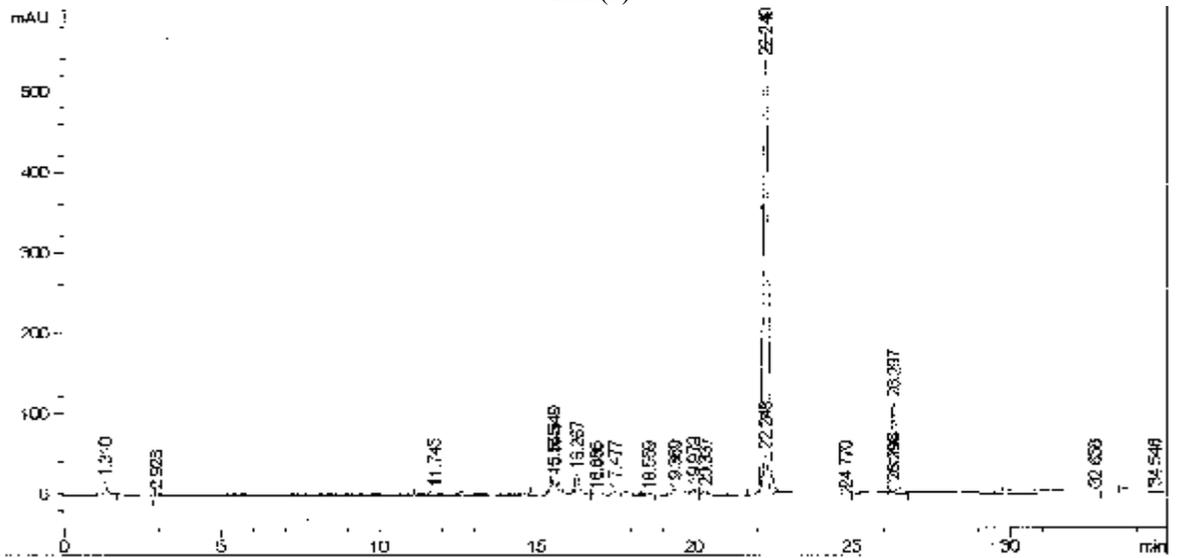


ВЭЖХ-хроматограммы почвенных образцов

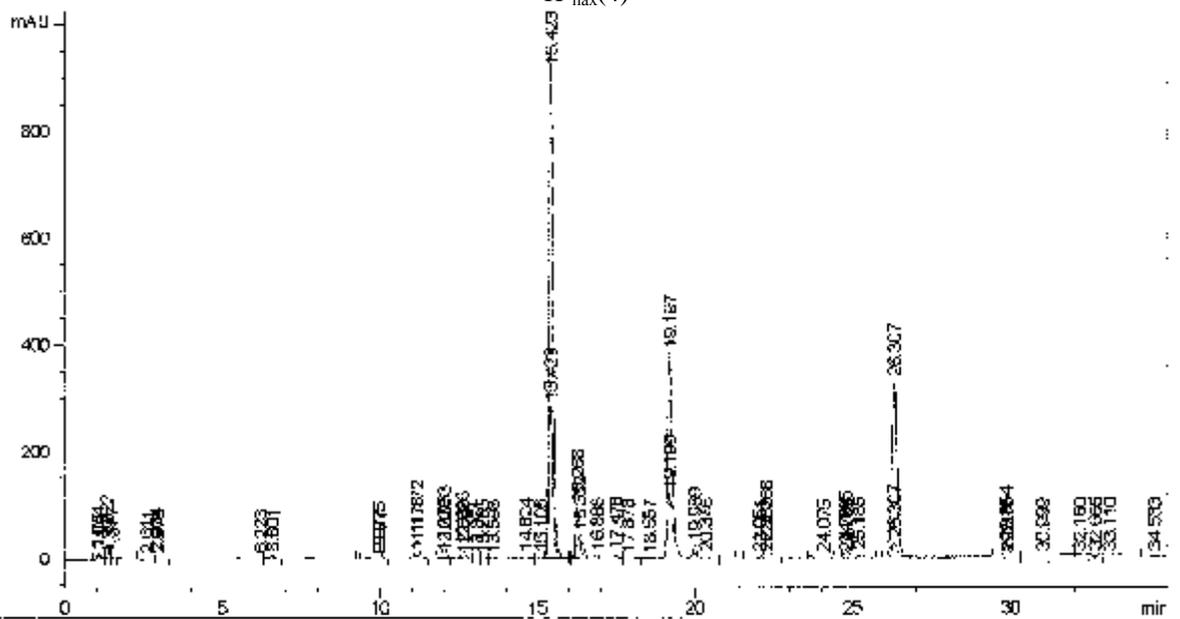




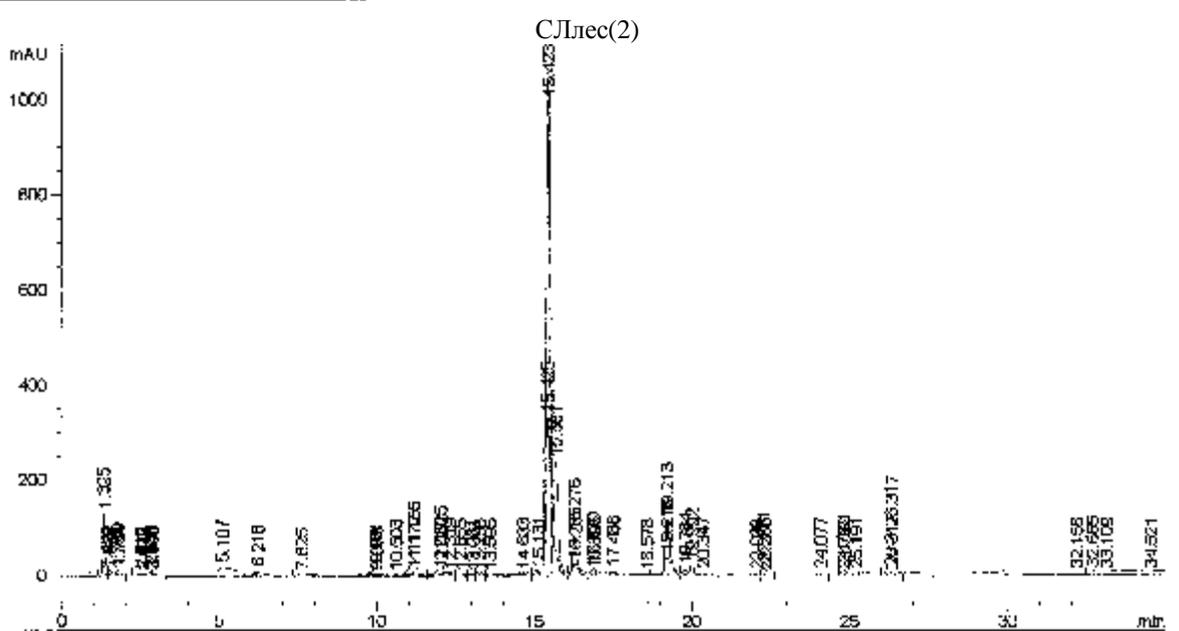
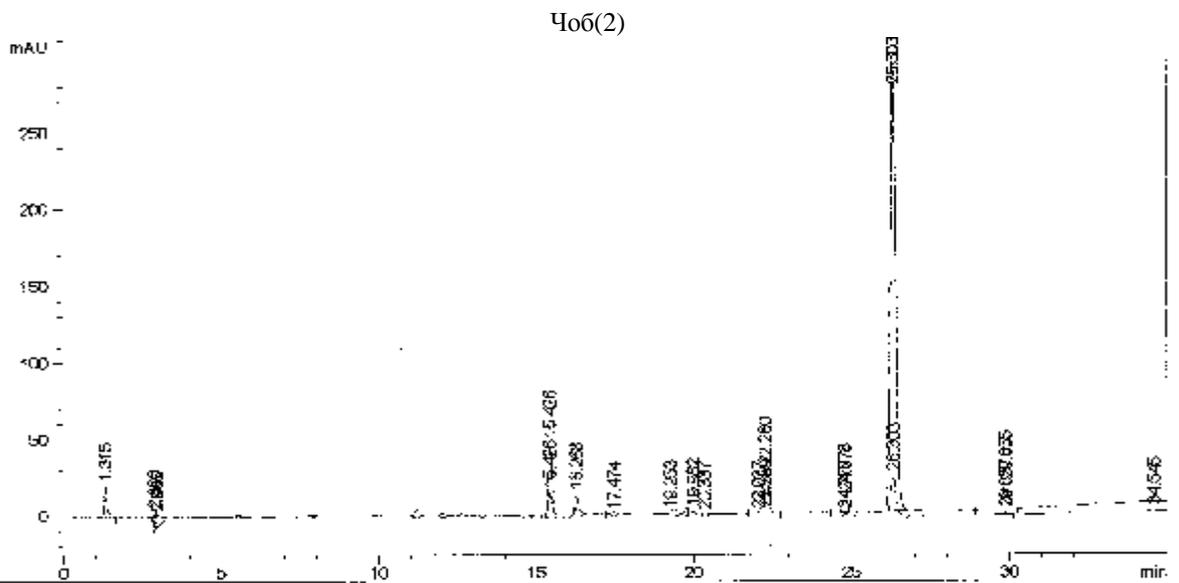
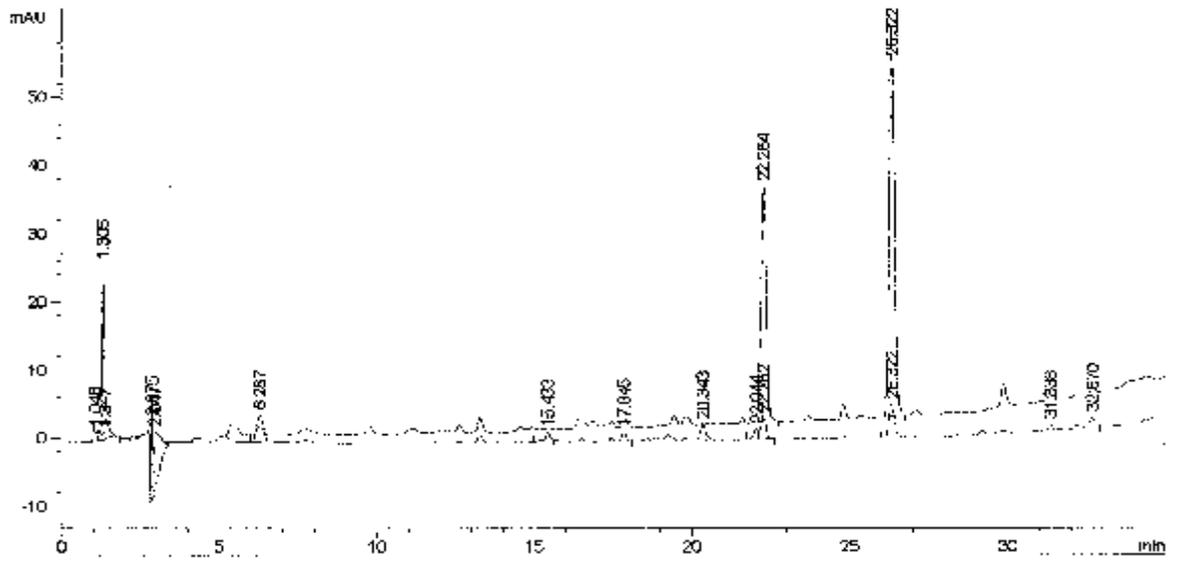
Чтип(1)



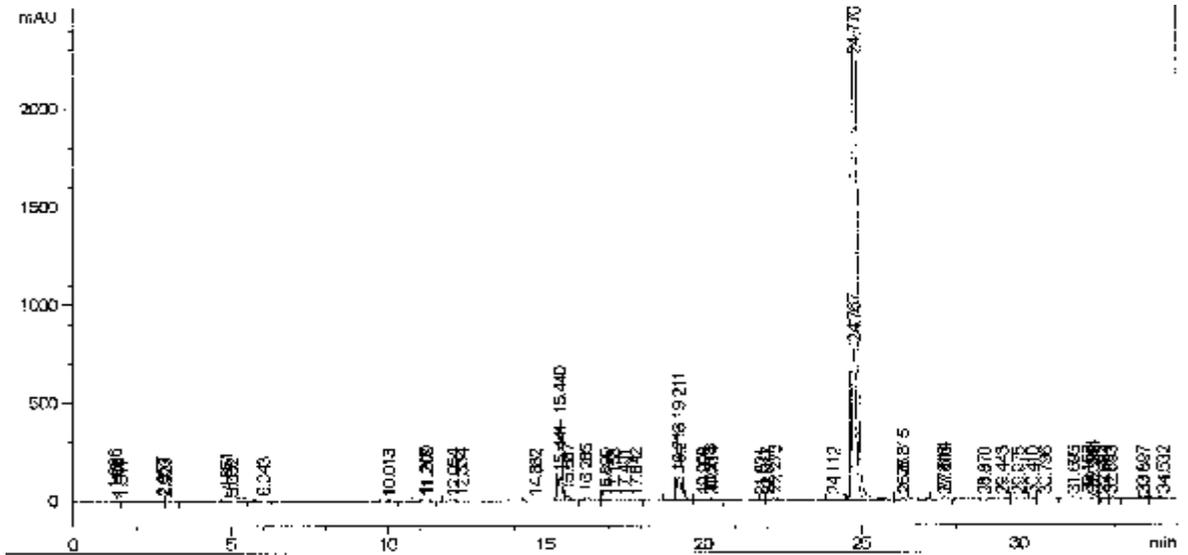
П<sub>max</sub>(4)



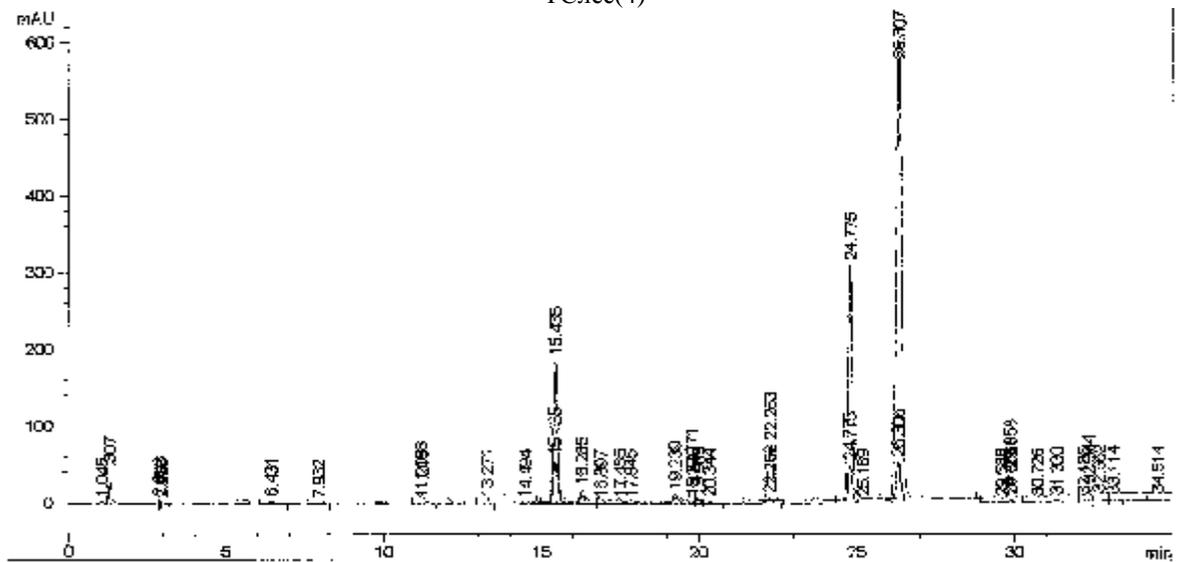
СЛпax(1)



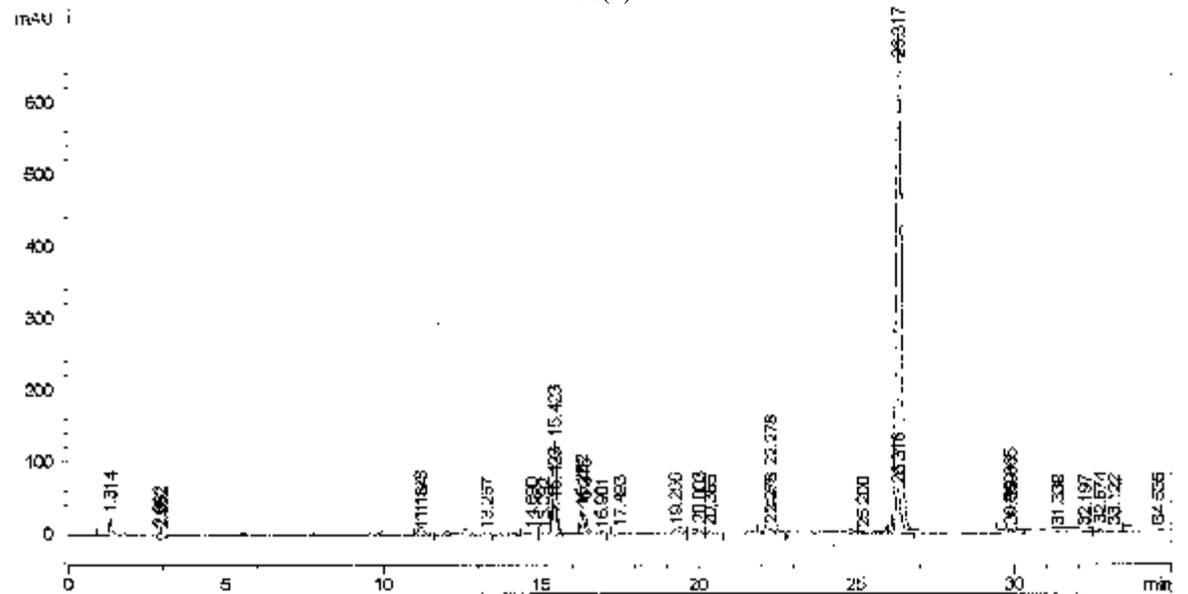
СЛпес(2)



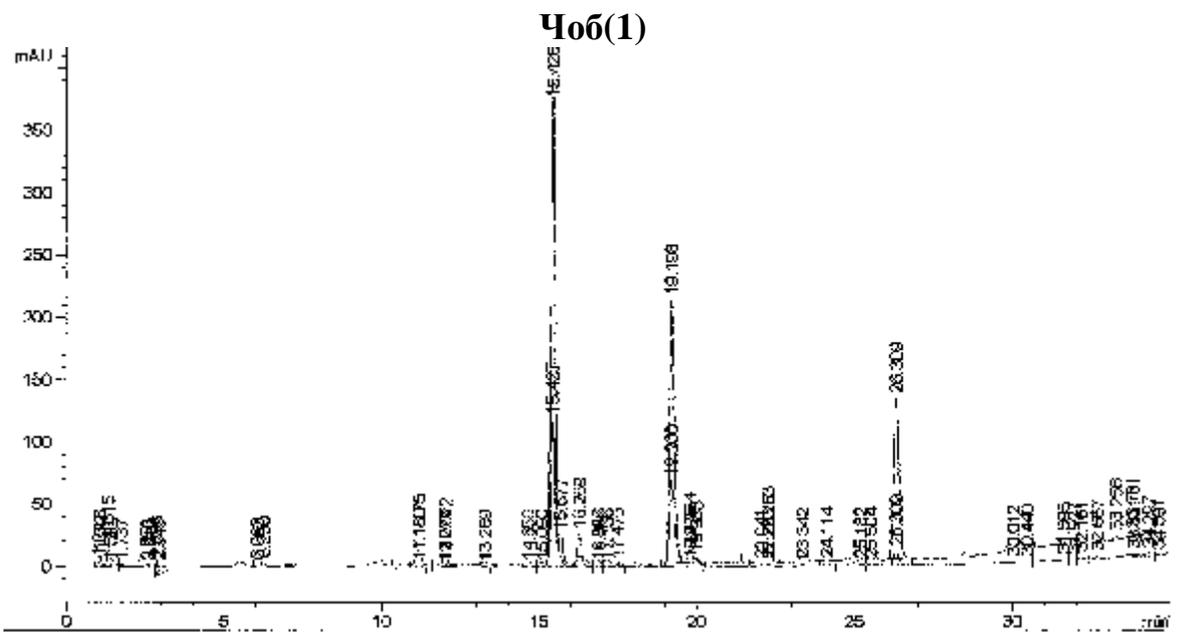
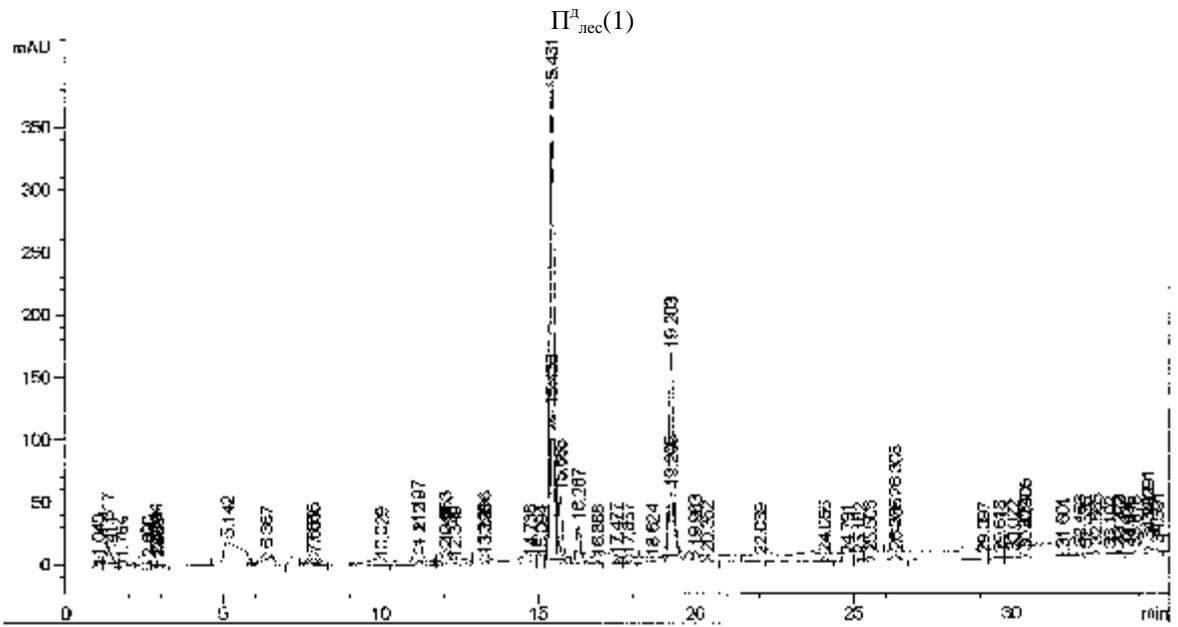
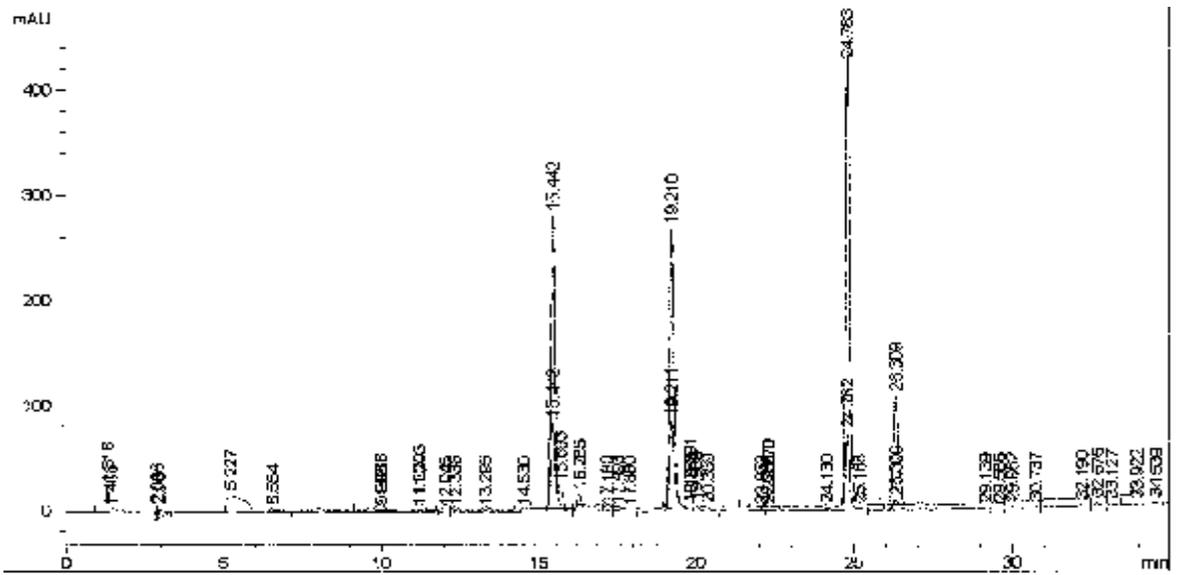
ТСлс(4)

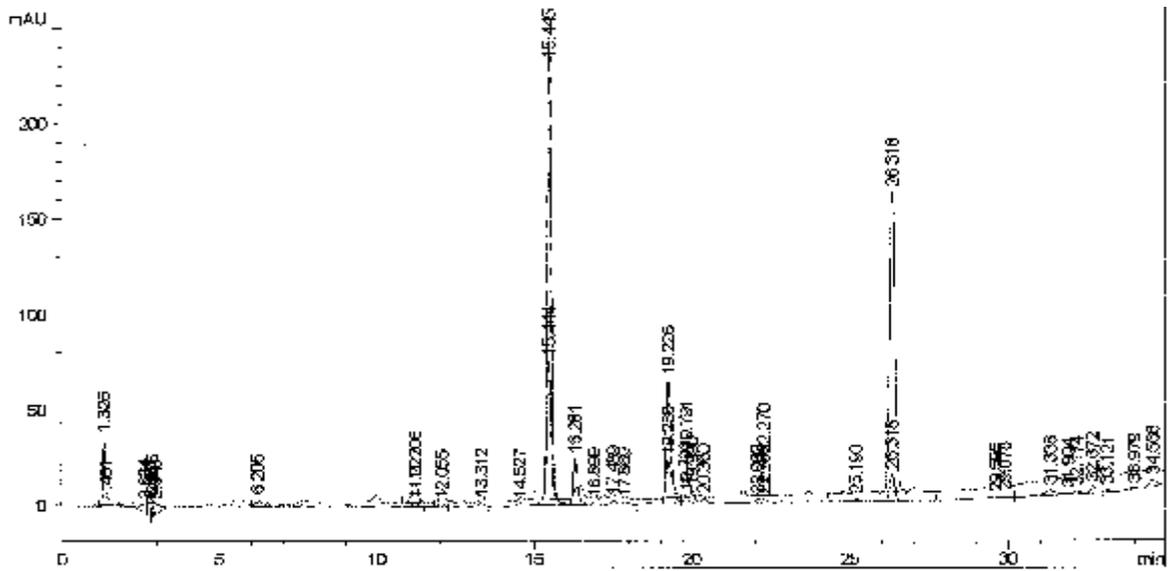


Чоб(4)

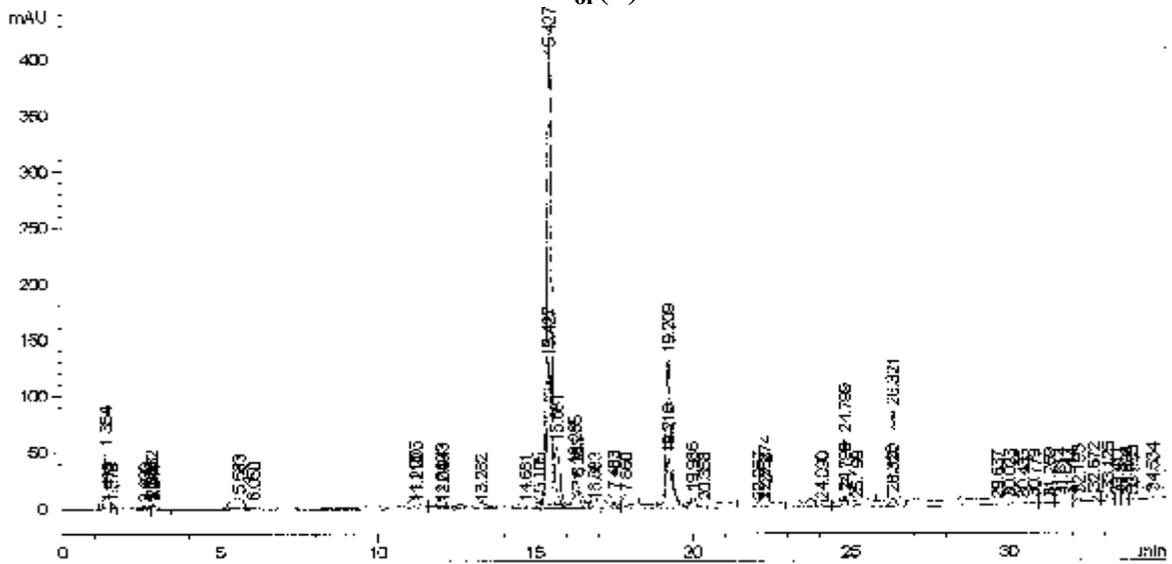


ТСлс(1)

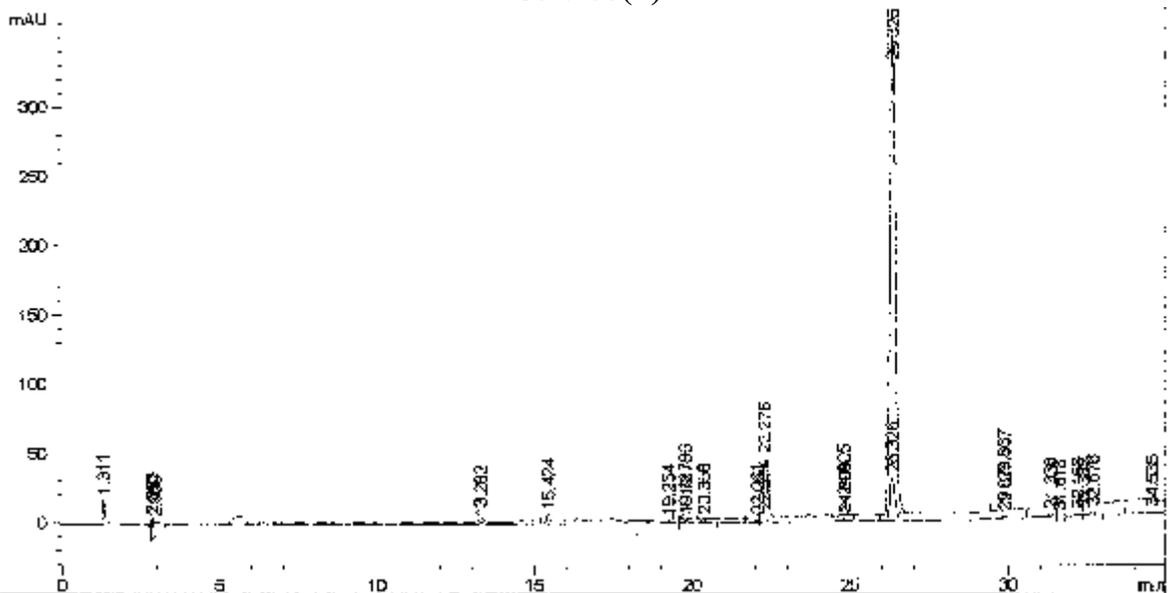




$\Pi^A_{or}(1)$



Слес(4)



$\Pi^A_{max}(4)$

