

Взаимодействие эндофитных микроорганизмов по отношению к циперметрину

Ленар Р. Валиуллин^{1,2}, Евгений В. Скворцов³, Владислав И. Егоров³,
Леонид Н. Алексейко⁴, Сергей В. Климович⁴, Игорь Э. Памирский⁵,
Александр Ф. Артеменко⁵, Александр М. Захаренко⁵, Кирилл С. Голохваст⁵

¹Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, Казань, Россия

²Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Большие Вяземы, Россия

³Казанский государственный аграрный университет, Казань, Россия

⁴Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Республика Беларусь

⁵Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук, Краснообск, Россия

Контактное лицо

Ленар Р. Валиуллин, зав. сектором питательных сред и культур клеток Федерального центра токсикологической, радиационной и биологической безопасности; 420075 Россия, г. Казань, ул. Научный городок 2.

Тел. +79509698469

Email lvaliullin@yandex.ru

ORCID <https://orcid.org/0000-0002-8277-3941>

Формат цитирования

Валиуллин Л.Р., Скворцов Е.В., Егоров В.И., Алексейко Л.Н., Климович С.В., Памирский И.Э., Артеменко А.Ф., Захаренко А.М., Голохваст К.С. Взаимодействие эндофитных микроорганизмов по отношению к циперметрину // Юг России: экология, развитие. 2023. Т.18, N 2. С. 53-69. DOI: 10.18470/1992-1098-2023-2-53-69

Получена 14 декабря 2022 г.

Прошла рецензирование 24 января 2023 г.

Принята 6 февраля 2023 г.

Резюме

Цель. Поиск и отбор микроорганизмов, обладающих активными ферментативными свойствами для возможной биодеструкции пиретроидов.

Материалы и методы. Для эффективного скрининга и отбора наиболее активных изолятов для последующей разработки биотехнологических способов деструкции пестицидов и снижения их токсичности были отобраны пробы филосферы и ризосферы сельскохозяйственных культур, продовольственных продуктов и др. Из отобранных проб было выделено 23 изолята. Изоляты оценивали по внутриклеточному метаболизму и выработке экзоферментов. Выделенные микроорганизмы были идентифицированы на основе «Определителя бактерий Берджи». Скрининг микроорганизмов для разработки биотехнологических способов снижения токсичности экотоксикантов включал следующие этапы: выбор источников, отбор проб, посев на плотную среду для выделения чистой культуры, пересев чистой культуры, исследование биологических свойств выделенных штаммов.

Результаты. С целью поиска микроорганизмов способных утилизировать пиретроиды получены изоляты микроскопических грибов и бактерий. Из 23 штаммов 12 обладали наиболее широким спектром активности, 5 штаммов показали наиболее выраженную и стабильную антагонистическую активность в отношении патогенных микроорганизмов при различных температурных параметрах от 30°C до 42°C (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*). Для отобранных штаммов была проведена оптимизация среды для активации обменных процессов в клетке. Оценивалась активность амилаз, протеаз, ксиланаз и целлюлаз гриба *Trichoderma*, и протеаз *L. plantarum*, *L. lactis*, *B. subtilis* и *Propionibacterium*. Проведены исследования влияния на синтез гидролитических ферментов различных концентраций в культуральной среде в присутствии полисахаридов ксилана, целлюлозы, крахмала и белка казеина.

Заключение. Проведены токсикологические исследования отобранных изолятов и композиции, состоящей из этих изолятов в виде культуральной суспензии, на простейших стилонихиях. Биотестирование на водных обитателях выделенных микроорганизмов (*Trichoderma*, *L. plantarum*, *L. lactis*, *B. subtilis* и *Propionibacterium*) показало, что процент гибели инфузорий (*S. mytilus*) в опыте и контроле не имел значительных отличий. Создана микробиологическая композиция, которую возможно использовать для защиты окружающей среды при воздействии токсикантов агротехногенного происхождения. Отобранные штаммы были протестированы на возможность осуществлять биodeградацию пиретроидов на примере циперметрина.

Ключевые слова

Пестициды, пиретроиды, биodeградация, микроорганизмы, бактерии, микроскопические грибы, амилазы, ксиланазы, целлюлазы, протеазы, казеин, целлюлоза, ксилан, крахмал, циперметрин, токсины, стилонихии.

Interaction of endophytic microorganisms with respect to cypermethrin

Lenar R. Valiullin^{1,2}, Evgeny V. Skvortsov³, Vladislav I. Egorov³,
Leonid N. Alekseyko⁴, Sergey V. Klimovich⁴, Igor E. Pamirsky⁵,
Alexander F. Artemenko⁵, Alexander M. Zakharenko⁵ and Kirill S. Golokhvast⁵

¹Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russia

²All-Russia Research Institute of Phytopatology, Large Vyazems, Russia

³Kazan State Agrarian University, Kazan, Russia

⁴Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

⁵Siberian Federal Scientific Centre of Agrobiotechnologies, Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, Russia

Principal contact

Lenar R. Valiullin, Head. Sector of Nutrient Media and Cell Cultures, Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, 2 Nauchny Gorodok St, Kazan, Russia 420075. Tel. +79509698469 Email lvaliullin@yandex.ru ORCID <https://orcid.org/0000-0002-8277-3941>

How to cite this article

Valiullin L.R., Skvortsov E.V., Egorov V.I., Alekseyko L.N., Klimovich S.V., Pamirsky I.E., Artemenko A.F., Zakharenko A.M., Golokhvast K.S. Interaction of endophytic microorganisms with respect to cypermethrin. *South of Russia: ecology, development*. 2023, vol. 18, no. 2, pp. 53-69. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2023-2-53-69

Received 14 December 2022

Revised 24 January 2023

Accepted 6 February 2023

Abstract

Aim. Search and selection of microorganisms with active enzymatic properties for possible biodegradation of pyrethroids.

Materials and Methods. For effective screening and selection of the most active isolates, for the subsequent development of biotechnological methods for the destruction of pesticides and reduction of their toxicity, samples of the phyllosphere and rhizosphere of agricultural crops, food products, etc. were taken. The isolates were evaluated by intracellular metabolism and the production of exoenzymes. The isolated microorganisms were identified on the basis of the "Bergey's Bacteria Determinant". Screening of microorganisms for the development of biotechnological methods to reduce the toxicity of ecotoxicants included the following stages: selection of sources, sampling, seeding on a dense medium for isolation of pure culture, replanting of pure culture and investigation of biological properties of isolated strains.

Results. In order to search for microorganisms capable of utilising pyrethroids, isolates of microscopic fungi and bacteria were obtained. Of the 23 selected strains, 12 had the widest spectrum of activity, while 5 strains showed the most pronounced and stable antagonistic activity against pathogenic microorganisms at various temperature parameters from 30°C to 42°C (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*). For the selected strains, the environment was optimised to activate cellular metabolic processes. The activity of amylases, proteases, xylanases and cellulases of the fungus *Trichoderma*, and proteases of *L. plantarum*, *L. lactis*, *B. subtilis* and *Propionibacterium* was evaluated. Studies of the effect on the synthesis of hydrolytic enzymes of various concentrations in the culture medium in the presence of xylan polysaccharides, cellulose, starch and casein protein were carried out.

Conclusion. Toxicological studies of the selected isolates and of a composition consisting of these isolates in the form of a culture suspension on the simplest stylonychia were carried out. Biotesting on isolated aquatic microorganisms (*Trichoderma*, *L. plantarum*, *L. lactis*, *B. subtilis* and *Propionibacterium*) showed that the percentage of dead infusoria (*S. mytilus*) in both the experiment and the control showed no significant differences. A microbiological composition has been created that can be used to protect the environment when exposed to toxicants of agrotechnogenic origin. The selected strains were tested for the possibility of biodegradation of pyrethroids using the example of cypermethrin.

Key Words

Pesticides, pyrethroids, biodegradation, microorganisms, bacteria, microscopic fungi, amylases, xylanases, cellulases, proteases, casein, cellulose, xylan, starch, cypermethrin, toxins, stylonychia.

ВВЕДЕНИЕ

Для защиты растительного сырья и достижения высокой урожайности сельскохозяйственных культур, ненормированное использование почвенных концентратов и пестицидов, может привести к необратимым изменениям в окружающей природной среде, к различным патологиям у людей, тепловых животных и уничтожению биологического равновесия. На данном этапе развития агрохимического сектора количество соединений направленного действия постоянно растёт, и список их пополняется соединениями высокой опасности, способными в малых дозах вызывать изменения функционирования органов и систем организма как у млекопитающих, так и птиц [1; 2]. Преобладающее большинство хлорорганических пестицидов обладают стабильностью в окружающей среде [3; 4], в связи с этим все более широкое применение в сельском хозяйстве находят инсектициды, относящиеся к группе синтетических пестицидов или пиретроидов, которые имеют более короткий период жизни в окружающей среде [5; 6].

Синтетические пиретроиды масштабно применяются как инсектициды для защиты клубней картофеля, плодовых и огородных культур, для борьбы с паразитарными болезнями сельскохозяйственных животных, с вредителями запасов продовольствия в быту [7; 8]. Наличие инсектоакарицидов включает около 270 наименований, из них 12 являются пиретроидами, история которых насчитывает всего 40 лет. Пиретроиды являются 4-м поколением пестицидов, пришедшим на смену хлорорганическим (ДДТ, гексахлорциклогексан), фосфорорганическим соединениям и карбаматам. Рынок пиретроидов превышает 10 млрд долларов США, а их ежегодное производство составляет более 100000 т в расчёте на активное начало. Существенным преимуществом пиретроидов является их незначительная токсичность для теплокровных [9; 10].

По параметрам стабильных свойств синтетические пиретроиды существенно отличаются от своих предшественников, но стабильность циперметрина варьирует в зависимости от физико-химических условий окружающей среды [11–13]. Многие производные пиретроидов плохо растворимы в воде и лучше растворимы в полярных растворителях, что даёт возможность в пиретроидах использовать галогены, тем самым, обеспечивая большую остаточную инсектицидную активность. Наличие в пиретроидах различных элементов увеличивает вероятность влияния на биосферу и возможность к биодеструкции эндофитной микрофлорой [14; 15].

Основным фактором появления пиретроидов на муниципальных территориях является внесение в вегетирующие растения, а в продовольственном сырье – обработка животных и амбары для складирования растительного сырья [16–18]. В воздушную среду муниципальных и городских участков пестициды попадают при опрыскивании наземными средствами или авиацией. Благодаря химической структуре пиретроиды обладают низким испарением от поверхности [19–22]. По многим исследованиям показана, что пиретроиды в неизменном виде находятся в растениях в течение 2–3 недель после распыления [23–26]. В агробиоценозе распад

пестицидов наступает в зависимости от микробной обсеменённости, а так же от химического состава почвы в течение 90–180 дней [27–30]. Пестициды и их метаболиты могут образовывать в окружающей среде стойкие комплексы, которые при незначительных количествах могут вызвать острые и хронические отравления потребителей. Остатки пестицидов могут сохраняться в течение длительного времени на полях после применения из-за их сниженных свойств к биологическому разложению [31–34]. Они могут поглощаться водными организмами, такими как рыба, что приводит к негативному влиянию на их здоровье и качество мяса, что негативно сказывается на здоровье человека [35; 36]. Кроме того, они обладают быстрой скоростью биodeградации в водной среде, где существуют водоросли и макрофиты. Эти пестициды более чем в 100 раз более ядовиты для рыбы из-за повышенной чувствительности её к токсичным агентам, из-за их прямого контакта с водой через жабры и отсутствия или недостаточного количества гидролитических ферментов для пиретроидов [37; 38].

Исследовательскими работами показано, что растворимость пиретроидов в полярных растворителях проявляет их инсектицидную активность и нейротоксичность [39; 40].

Биологический метод деградации является идеальным подходом для удаления остатков циперметрина из-за её высокой эффективности, экологичности и низкой стоимости [41; 42]. На сегодняшний день выделено множество микроорганизмов, способных разлагать техногенные соединения и циперметрин (бактерии, микроскопические грибы и актиномицеты) [43–46].

В биотрансформации пиретроидов основную роль играют биохимические процессы гидролазных ферментов [47; 48].

В связи вышесказанным актуальным является поиск и отбор микроорганизмов, обладающих активными ферментативными свойствами для возможной биодеструкции пиретроидов, что и стало целью данной работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для эффективного скрининга и отбора наиболее активных изолятов, для последующей разработки биотехнологических способов деструкции пестицидов и снижения их токсичности, были отобраны пробы филосферы и ризосферы сельскохозяйственных культур, молока и кисломолочных продуктов, содержимого желудочно-кишечного тракта телят. Из отобранных проб было выделено 23 изолята. Изоляты оценивали по внутриклеточному метаболизму и выработке экзоферментов. Выделенные микроорганизмы были идентифицированы на основе «Определителя бактерий Берджи» [49].

Скрининг микроорганизмов для разработки биотехнологических способов снижения токсичности экотоксикантов включал следующие этапы: выбор источников, отбор проб, посев на плотную среду для выделения чистой культуры, пересев чистой культуры, исследование биологических свойств выделенных штаммов.

Целлюлазную (ЦА), ксиланазную (КА) и амилазную (АА) активность ферментов определяли

согласно калориметрическому методу, который основан на определении восстанавливающих углеводов, образующихся при их воздействии на субстрат карбоксиметилцеллюлозу, ксилан и крахмал, [50–52]. При установлении ЦА и КА, реакционную смесь, содержащую 0,2 мл раствора неочищенного фермента, 0,5 мл 1%-го (мас./об.) раствора субстрата, приготовленного в 0,1 М ацетатном (pH 5,0) и 0,05 М фосфатном (pH 6,0), соответственно, буферных растворах и 0,3 мл указанных буферов, выдерживали при 50°C в течение 15 мин. При установлении АА, реакционную смесь, содержащую 1,0 мл раствора неочищенного фермента и 1,0 мл 1%-го (мас./об.) раствора крахмала в 0,1 М фосфатном буфере (pH 6,0), инкубировали при 37°C в течение 15 минут. Для предотвращения гидролиза и установления содержания восстанавливающих углеводов применяли DNS-реагент (реагент 3,5-динитросалициловая кислота) [50–53]. Активность гидролаз выражали в международных единицах. За 1 единицу принимали определенное количество ферментов, катализирующее процесс образования 1 мкмоль продукта за 1 мин.

Активность протеазы устанавливали согласно универсальной методике с использованием в качестве субстрата казеина [54; 55]. Гидролазную активность выражали в ед./мл. За 1 единицу активности фермента принимали определенное его количество, катализирующее отщепление 1 мкмоль тирозина за 1 мин в опытных условиях (37°C, pH 7.5).

Микроорганизмы культивировали на различных жидких (МПА, бульон Сабуро) и плотных (МПА, сусло агар, Сабуро агар, MRS, M9) питательных средах с последующим изучением их морфологических, тинкториальных, биологических свойств. Антагонистическую активность изолятов в отношении некоторых бактерий, контаминирующих корма растительного происхождения, устанавливали с помощью методов агаровых блоков [56–60].

Исследование токсичности микроорганизмов на водных обитателях проводили методом биотестирования на простейших стилонихиях (*Stylonychia mytilus*) в соответствии с государственными нормами и правилам ГОСТ 31674-2012. Каждую пробу исследовали в пяти повторностях. Оценка результата биотеста дается по реакции гибели инфузорий.

Исследуемые препараты содержали бактерии в виде культуральной суспензии. Для испытания использовали культуры микроорганизмов второго или третьего пассажа, которые инкубировали на плотных питательных средах: *Trichoderma* на среде сабуро; *Lactobacillus* spp. и *Propionibacterium* на среде MRS; *Bacillus subtilis* – на МПА при температуре 37°C. Отобранные пробы суспензий бактерий в количестве 2 мл тщательно перемешивали и осаждали центрифугированием при 3000 об/мин 15 минут. Надосадочную жидкость отбирали, а осадок бактерий ресуспендировали в 2 мл физраствора. Таким образом, получали исходные пробы культуральной жидкости, содержащей растворенные метаболиты – продукты микробиологического синтеза.

Отобранные штаммы были протестированы на возможность осуществлять биodeградацию пиретрицидов на примере циперметрина [45–62]. Находящиеся в воде микроорганизмы в процессе своей жизнедеятельности используют растворенный в воде

кислород для биохимического окисления органических соединений, в том числе загрязняющих веществ. Количество кислорода, израсходованное в определенный промежуток времени в процессе биохимического окисления органических веществ, содержащихся в анализируемой воде, называется биохимическим потреблением кислорода (далее – БПК BOD5). Этот показатель является некоторой условной мерой загрязнения вод органическими соединениями, в особенности достаточно легко поддающимися биохимической деградации. Скорость биodeградации органических загрязняющих веществ зависит от множества факторов. При неполном окислении органических веществ для сопоставимости величин БПК его определение должно проводиться в некоторых стандартных условиях. В качестве таковых приняты следующие: продолжительность инкубации 5 суток, температура (20±1)°C, отсутствие доступа света и воздуха. Потребление кислорода, определенное при этих условиях называется пятисуточным биохимическим потреблением кислорода (BOD5). Его находят как разность между содержанием кислорода в анализируемой пробе воды до и после инкубации.

Расчет потребленного кислорода проводили согласно методике РД 52.24.421-2012 «Химическое потребление кислорода в водах. Методика выполнения измерений титриметрическим методом». Вычисление и оформление результатов измерений (BOD5) проводили по следующей схеме. Массовую концентрацию растворенного в воде кислорода X , мг/дм³, находят по формуле:

$$X = (M \times C_m \times V_m \times V \times 1000) / (50(V - V_1)),$$

где M – молярная масса КВЭ кислорода, равная 8 мг/ммоль; C_m – концентрация раствора тиосульфата натрия, моль/дм³ КВЭ; V_t – объем раствора тиосульфата натрия, пошедший на титрование, см³; V – вместимость кислородной склянки, см³; V_1 – суммарный объем растворов хлорида марганца и йодида калия, добавленных в склянку при фиксации растворенного кислорода, л.

Обработку результатов измерений (COD) проводили следующим образом. ХПК является общепринятым, важным и достаточно быстро определяемым показателем для характеристики загрязнения природных и сточных вод органическими соединениями. Химическое потребление кислорода (ХПК, COD) – количество кислорода, расходуемого на окисление содержащихся в воде органических и неорганических веществ сильными окислителями.

Величину ХПК (бихроматной окисляемости) X , мг/дм³, находят по формуле:

$$X = (8,0 \times (V_1 - V_2) \times M_m \times 1000) / V,$$

где V_1 – объем раствора соли Мора, израсходованный на титрование холостого опыта, см³; V_2 – объем раствора соли Мора, израсходованный на титрование пробы воды, см³; V – объем аликвоты пробы воды, взятый для выполнения анализа, см³; 8,0 – масса миллимоля КВЭ кислорода, мг/ммоль [63].

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гидролазная и антагонистическая активности изолятов

Результаты исследования биохимических свойств изолятов микроорганизмов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Биохимические показатели изолятов микроорганизмов**Table 1.** Biochemical parameters of isolates of microorganisms

Изолят Isolate	Показатель / Indicator				
	Целлюлозо- литическая Cellulolytic	Амилито- литическая Amylolytic	Протео- литическая Proteolytic	Липо-литическая Lipolytic	Способность к выработке каталазы Catalase production
1	-	+	+	±	-
2	-	+	±	-	-
3	-	+	+	+	-
4	-	±	+	±	-
5	-	-	±	±	-
6	±	+	±	±	-
7	-	±	+	-	-
8	-	+	+	±	-
9	-	+	+	±	-
10	-	+	-	±	+
11	±	-	+	±	-
12	±	+	+	±	-
13	-	+	+	±	-
14	-	+	±	-	-
15	-	+	+	-	-
16	-	±	+	±	-
17	-	+	±	-	-
18	-	+	+	±	-
19	-	+	+	±	-
20	±	+	-	-	+
21	+	-	-	-	+
22	±	-	±	-	-
23	-	+	+	±	-

Примечание: (+) – ярко выраженная активность; (±) – умеренно или слабо выраженная активность;

(-) – отсутствие активности

Note: (+) – pronounced activity; (±) – moderate or weakly expressed activity; (-) – lack of activity

Как видно из таблицы 1, наиболее широким спектром активности обладали 12 штаммов № 1, 3, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 16, 19, 21 и 23. Продуцируемые ими гидролазы позволяют эффективно расщеплять белковые субстраты и полисахариды. Данные штаммы показали потенциал применения в промышленном производстве и были отобраны для дальнейших исследований по оценке биологических свойств.

Известно, что разные микроорганизмы могут менять свои антагонистические свойства при воздействии различных факторов, в том числе при изменении температуры окружающей среды. Поэтому нами проведены исследования в разных температурных диапазонах. Результаты исследования антагонистических свойств изолятов при различных температурах (37°C, 30°C и 40°C) представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2. Антагонистическая активность изолятов в отношении патогенных штаммов бактерий (t=37°C)**Table 2.** Antagonistic activity of isolates against pathogenic bacterial strains (t=37°C)

Изолят Isolate	Патогенный штамм / Pathogenic strain			
	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	1,26±0,07	1,28±0,07	1,25±0,08	1,14±0,08
2	0,21±0,06	0,16±0,07	0,22±0,07	0,06±0,06
3	1,38±0,07	1,32±0,08	1,30±0,08	1,35±0,08
4	1,25±0,08	1,13±0,07	1,02±0,08	1,10±0,07
5	1,34±0,11	1,12±0,11	1,46±0,10	1,04±0,11
6	1,34±0,11	1,46±0,09	1,41±0,10	1,41±0,11
7	1,61±0,10	1,64±0,11	1,62±0,11	1,68±0,10

8	1,30±0,09	1,42±0,09	1,35±0,07	1,40±0,07
9	1,43±0,11	1,12±0,10	1,35±0,10	1,21±0,11
10	1,22±0,06	1,17±0,04	1,21±0,06	1,19±0,06
11	1,50±0,11	1,53±0,10	1,46±0,09	1,41±0,09
12	1,39±0,09	1,41±0,10	1,43±0,10	1,46±0,11
13	1,30±0,10	1,35±0,17	1,28±0,12	1,40±0,10
14	1,16±0,04	1,21±0,06	1,18±0,06	1,20±0,06
15	1,43±0,09	1,48±0,10	1,37±0,09	1,34±0,09
16	1,84±0,12	1,78±0,11	1,82±0,11	1,81±0,11
17	1,47±0,10	1,53±0,11	1,51±0,09	1,49±0,10
18	1,54±0,11	1,51±0,09	1,46±0,12	1,50±0,10
19	1,80±0,11	1,82±0,11	1,77±0,10	1,78±0,11
20	1,33±0,07	1,29±0,12	1,37±0,16	1,38±0,10
21	1,86±0,12	1,87±0,12	1,74±0,11	1,79±0,11
22	1,14±0,06	1,12±0,05	1,16±0,06	1,20±0,06
23	1,86±0,12	1,90±0,12	1,79±0,11	1,82±0,12

Таблица 3. Антагонистическая активность изолятов в отношении патогенных штаммов бактерий при различной температуре

Table 3. Antagonistic activity of isolates against pathogenic bacterial strains at different temperatures

t°C	Изолят Isolate	Патогенный штамм / Pathogenic strain			
		<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
30°C	9	1,83±0,11	1,75±0,10	1,75±0,11	1,80±0,12
	16	1,43±0,11	1,73±0,10	1,56±0,11	1,50±0,12
	19	1,34±0,11	1,42±0,11	1,35±0,10	1,67±0,10
	20	1,65±0,11	1,70±0,11	1,62±0,10	1,56±0,11
	23	1,62±0,10	1,71±0,11	1,68±0,11	1,73±0,11
42°C	9	1,01±0,10	1,05±0,10	0,98±0,09	0,61±0,11
	16	1,77±0,11	1,75±0,10	1,72±0,09	1,74±0,10
	19	1,82±0,11	1,82±0,11	1,79±0,10	1,78±0,11
	20	1,90±0,12	1,91±0,12	1,78±0,10	1,84±0,12
	23	1,82±0,11	1,84±0,11	1,72±0,11	1,75±0,11

Установлено, что наиболее выраженную антагонистическую активность при 37°C проявили 5 и 23 изолятов: №9, 16, 19, 20, и 23. Данные штаммы были отобраны для дальнейших экспериментов при 30°C и 40°C.

Из данных таблицы 3 видно, что при понижении температуры среды до 30°C выраженных изменений в антагонистической активности всех изученных изолятов отмечено не было, однако отмечается тенденция к ее снижению.

Напротив, при повышении температуры среды до 42°C наблюдаются выраженные изменения в антагонистической активности различных изолятов как в сторону увеличения, так и понижения. Так, у изолята №20 наблюдается повышение антагонистической активности, а изоляты № 9, 16 и 23 показали ее понижение.

Подбор оптимальной среды культивирования микроорганизмов для повышения процесса образования гидролаз

Выделенные микроорганизмы под № 9, 16, 19, 20 и 23 были идентифицированы как микроскопические грибы и бактерии.

Микроскопический гриб *Trichoderma* (изолят №9) возможно применять в качестве защиты от фитопатогенных микроорганизмов, а также и для возможной деструкции токсикантов [64–67]. Остальные изоляты представляли бактерии: *Lactobacillus plantarum* (изолят № 16), *Lactococcus Lactis* spp. (изолят №19), *B. subtilis* (изолят №20) и *Propionibacterium* (изолят №23). Изоляты №16, 19, 20 и 23 из гидролаз в значимом количестве синтезируют протеазы [68–74].

Для развития и синтеза ферментов микроорганизмами в питательной среде должны присутствовать источники азота и углерода. В связи с этим проведены работы по воздействию на биосинтез ферментов различных концентраций в культуральной среде в присутствии полисахаридов ксилана, целлюлозы, крахмала и белка казеина.

Оптимизация среды культивирования *Trichoderma* для повышения образования гидролаз

Для начала мы изучили динамику накопления гидролаз при выращивании штамма *Trichoderma* на среде, содержащей 5 г/л белка и 5 г/л ксилана (рис. 1).

Из представленных данных рисунка 2 видно, что синтез ферментов снижается к 48 часам, динамика

биосинтеза протеазы невысокая, поэтому при проведении дальнейших исследований продолжи-

тельность культивирования бактерий была ограничена до 48 часов.

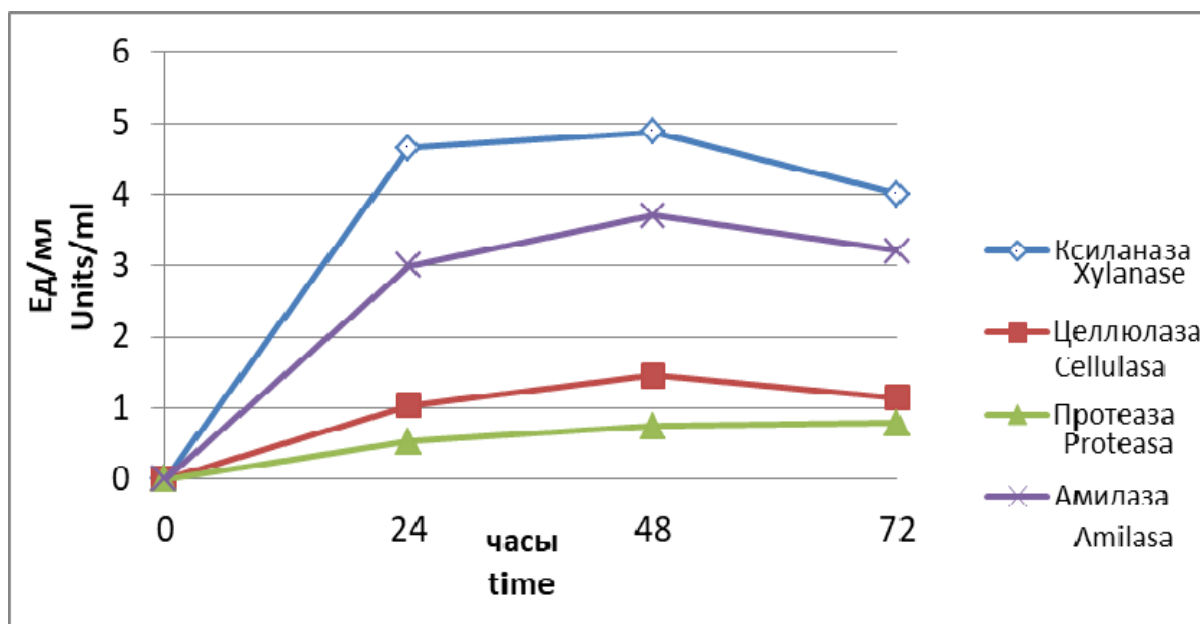


Рисунок 1. Кинетика биосинтеза ферментов при культивировании *Trichoderma* на среде, содержащей ксилан 5 г/л и белок 5г/л

Figure 1. Kinetics of enzyme biosynthesis during *Trichoderma* cultivation on a medium containing xylan 5 g/l and protein 5 g/l

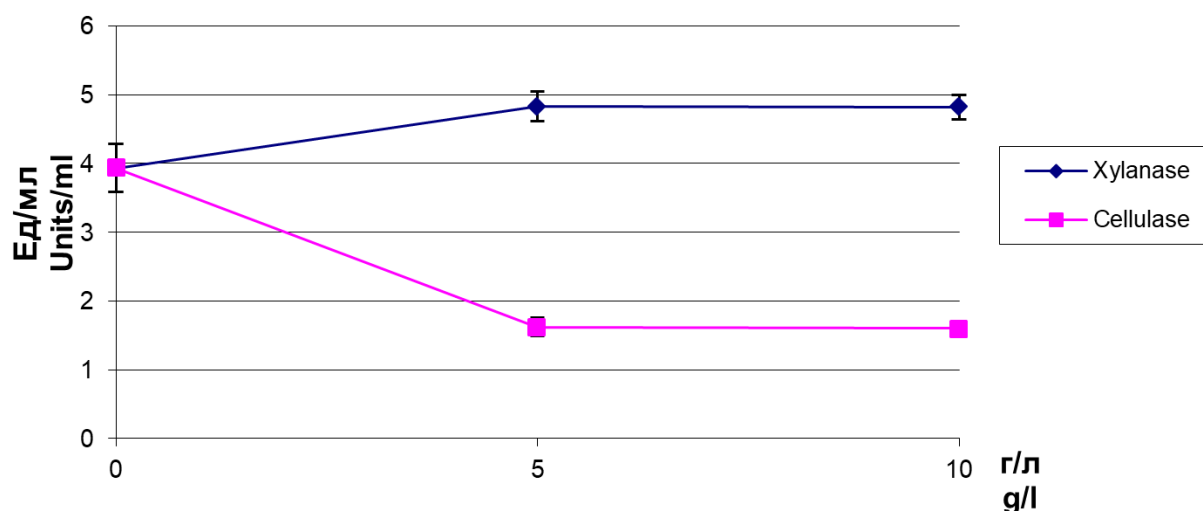


Рисунок 2. Активность ксиланаз *Trichoderma* в присутствии целлюлозы и ксилана

Figure 2. *Trichoderma* xylanase activity in the presence of cellulose and xylanase

Результаты по влиянию различных концентраций ксилана и белка для выращивания и синтеза гидролазных ферментов *Trichoderma* показала что ксиланазная активность увеличивается при концентрации белка до 5 г/см³. Медленный дальнейший рост ксиланазной активности культуральной жидкости прослеживался вплоть до увеличения содержания ксилана в исходной среде до 10 г/л. Оптимальное содержание белка составило 5 г/л. Максимальная ксиланазная активность культуральной жидкости была получена при исходной концентрации белка 5 г/л и ксилана 10 г/л и составила 4,86 Ед/мл (табл. 4).

Результаты исследования эффективности целлюлозы и ксилана в качестве источников углерода

для синтеза ксиланазы бактериями *Trichoderma* представлены в таблице 5.

Из полученных данных таблицы 5 видно, что в результате проведенных исследований во второй группе при добавлении совместно в культуральную среду ксилана и белка синтез фермента ксиланазы и целлюлазы было выше, чем в первой группе (контроль) на 16,0 и 18,3%. В третьей группе при повышении концентрации ксилана при культивировании *Trichoderma* концентрация ксиланазы и целлюлазы повысилась на 18,6 и 26,7% в сравнении с первой группой. В четвертой группе при добавлении совместно в культуральную среду белка и целлюлозы синтез фермента ксиланазы и целлюлазы микроскопическим грибом было ниже

контроля на 38,0 и 25,3%. В пятой группе при добавлении совместно в культуральную среду белка и целлюлозы в концентрации 10 гр/л синтез фермента ксиланазы и целлюлазы микроскопическим грибом было ниже контроля на 39,0 и 20,0%. В ходе исследований выявлено, что ксилан является более сильным, чем целлюлоза индуктором целлюлаз. При

культивировании микромицета на ксилане и белке полученные препараты проявляли целлюлазную активность на 25% большую, чем на целлюлозе и белке (рис. 3).

Исследование влияние крахмала на синтез фермента амилаз микромицетом *Trichoderma* представлена в таблице 6.

Таблица 4. Влияние ксилана и казеина на биосинтез ферментов *Trichoderma* (n=3, $\alpha \leq 0.05$)

Table 4. The effect of xylan and casein on the biosynthesis of *Trichoderma* enzymes (n=3, $\alpha \leq 0.05$)

№	Ксилан Xylan	Белок Protein	Биомасса Biomass	Ксиланазная активность Xylanase activity	Целлюлазная активность Cellulase activity	Протео- литическая активность Proteolytic activity	Амилазная активность Amylase activity
	г/л / gr/l	г/л / gr/l	мг/мл / mg/ml	Ед/мл / Units/ml	Ед/мл / Units/ml	Ед/мл / Units/ml	Ед/мл / Units/ml
1	0	2.5	0.26±0.05	3.06±0.38	1.19±0.12	0.37±0.13	3.02±0.38
2	0	5.0	0.32±0.02	3.93±0.39	1.28±0.13	0.43±0.20	3.13±0.31
3	0	7.5	0.32±0.05	3.39±0.40	1.20±0.12	0.67±0.15	3.31±0.40
4	5.0	2.5	0.48±0.08	4.33±0.45	1.42±0.14	0.75±0.19	3.33±0.35
5	5.0	5.0	0.48±0.08	4.52±0.20	1.42±0.12	0.80±0.19	3.72±0.20
6	5.0	7.5	0.49±0.10	4.51±0.40	1.52±0.14	0.80±0.18	3.51±0.30
7	10.0	2.5	0.45±0.05	4.22±0.45	1.42±0.13	0.81±0.20	3.22±0.35
8	10.0	5.0	0.44±0.04	4.22±0.40	1.43±0.13	0.93±0.18	3.22±0.30
9	10.0	7.5	0.42±0.05	4.57±0.45	1.32±0.12	0.98±0.20	3.49±0.34

Таблица 5. Влияние ксилана и целлюлозы на биосинтез ферментов *Trichoderma* (n=3, $\alpha \leq 0.05$)

Table 5. The effect of xylan and cellulose on the biosynthesis of *Trichoderma* enzymes (n=3, $\alpha \leq 0.05$)

№	Ксилан, г/л Xylan, gr/l	Белок (казеин), г/л Protein, gr/l	Целлюлоза, г/л Cellulose, gr/l	Биомасса, мг/мл Biomass, mg/ml	Ксиланазная активность, Ед/мл Xylanase activity, Units/ml	Целлюлазная активность, Ед/мл Cellulase activity, Units/ml
1	0	5.0	0	0.36±0.04	3.93±0.39	1.20±0.06
2	5.0	5.0	0	0.44±0.04	4.56±0.20	1.42±0.12
3	10.0	5.0	0	0.44±0.04	4.66±0.40	1.52±0.14
4	0	5.0	5.0	0.32±0.03	1.62±0.13	0.90±0.08
5	0	5.0	10.0	0.32±0.03	1.60±0.11	0.96±0.12

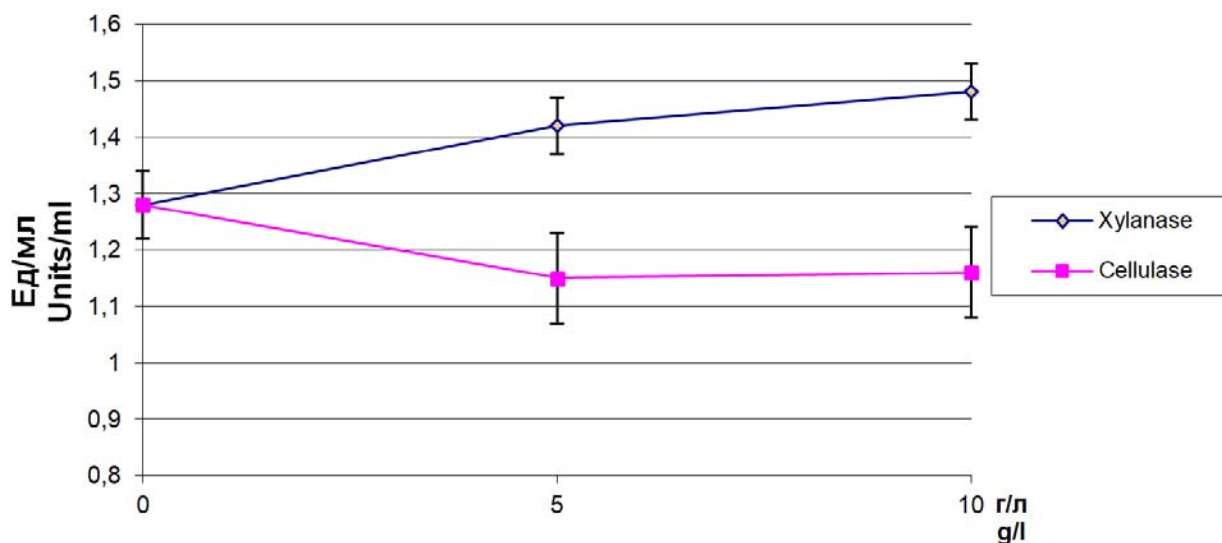


Рисунок 3. Активность целлюлаз *Trichoderma* в присутствии целлюлозы и ксилана

Figure 3. Activity of *Trichoderma* cellulases in the presence of cellulase and xylanase

Таблица 6. Исследование влияние крахмала на синтез фермента амилаз микромицетом *Trichoderma* ($n=3$, $\alpha \leq 0.05$)
Table 6. Study of the effect of starch on the synthesis of the enzyme amylase of micromycetes *Trichoderma* ($n=3$, $\alpha \leq 0.05$)

№	Белок (казеин), г/л Protein (casein), g/l	Крахмал, г/л Starch, g/l	Амилазная активность, Ед/мл Amylase activity, Units/ml
1	5,0	0	0,8±0,20
2	5,0	1,25	3,6±0,20
3	5,0	2,50	2,5±0,07
4	5,0	3,75	1,13±0,02
5	5,0	5,0	0,11±0,01

Из результатов представленных таблицы 6 видно, что во второй группе при повышении концентрации крахмала на 1,25 г/л в культуральной среде, синтез амилазы микромицетом повысился более 3 раза в сравнении с контрольной группой. В третьей группе при повышении концентрации крахмала на 2,50 г/л в культуральной среде синтез амилазы микромицетом повысился в 2 раза в сравнении с контрольной группой. При повышении концентрации крахмала на 3,75 г/л в культивируемой среде синтез амилазы микромицетом

повысился 41,0% в сравнении с контрольной группой. В пятой группе при повышении концентрации крахмала на 5,0 г/л в культуральной среде синтез амилазы микромицетом понизился на 86,0% в сравнении с контрольной группой. Анализируя полученные данные можно сказать, что при высоких концентрациях крахмала амилазная активность снижается в отрицательную сторону в сравнении с контролем (рис. 4).

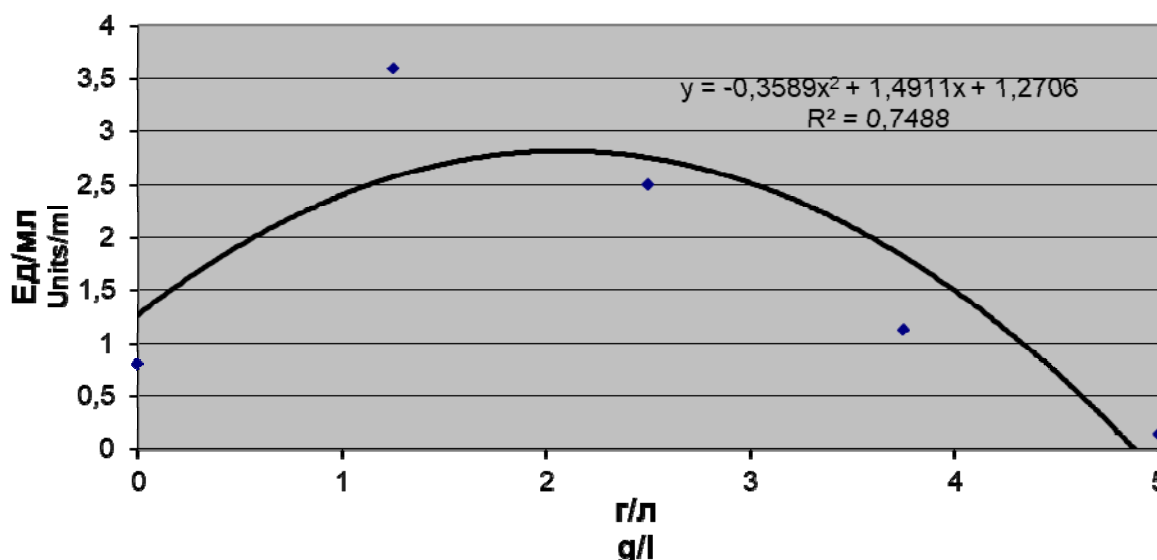


Рисунок 4. Изменение амилазной активности *Trichoderma* при добавлении крахмала
Figure 4. Change in the amylase activity of *Trichoderma* when starch is added

Оптимизация среды культивирования Lactobacillus plantarum, Lactococcus lactis, B. subtilis и Propionibacterium для повышения образования протеаз

Изначально для всех бактерий проведено изучение кинетики накопления протеаз в процессе культивирования на среде, содержащей 5 г/л белка и 5 г/л ксилана (рис. 5). Исследование показало, что после 2 суток роста протеолитическая активность растет незначительно либо снижается, поэтому при проведении дальнейших исследований продолжительность культивирования штаммов бактерий *L. plantarum*, *L. lactis* и *B. subtilis* была ограничена 2 сутками. Оптимизация компонентов культуральной среды не проводилась для бактерий *Propionibacterium* поскольку их протеолитическая активность была незначительная и как продуценты протеаз данные микроорганизмы не представляют интереса.

Далее проведены исследования влияния концентрации ксилана и казеина в культуральной среде на синтез протеолитических ферментов (табл. 7).

Результаты эксперимента показали нарастание протеазной активности культуральной жидкости при увеличении содержания белка в интервале 0–5 г/л при всех концентрациях ксилана для всех исследуемых бактерий. Дальнейший рост протеазной активности (с незначительными отличиями у разных штаммов) культуральной жидкости прослеживается вплоть до увеличения содержания белка в исходной среде до 7,5 г/л. Максимальная протеазная активность культуральной жидкости, полученная при исходной концентрации белка 7,5 г/л и ксилана 10 г/л составила 0,72±0,21 Ед/мл для *L. plantarum*, 0,44±0,19 Ед/мл для *L. lactis* и 0,57±0,17 Ед/мл для *B. subtilis*. Для всех штаммов оптимальное содержание белка составило 5 г/л.

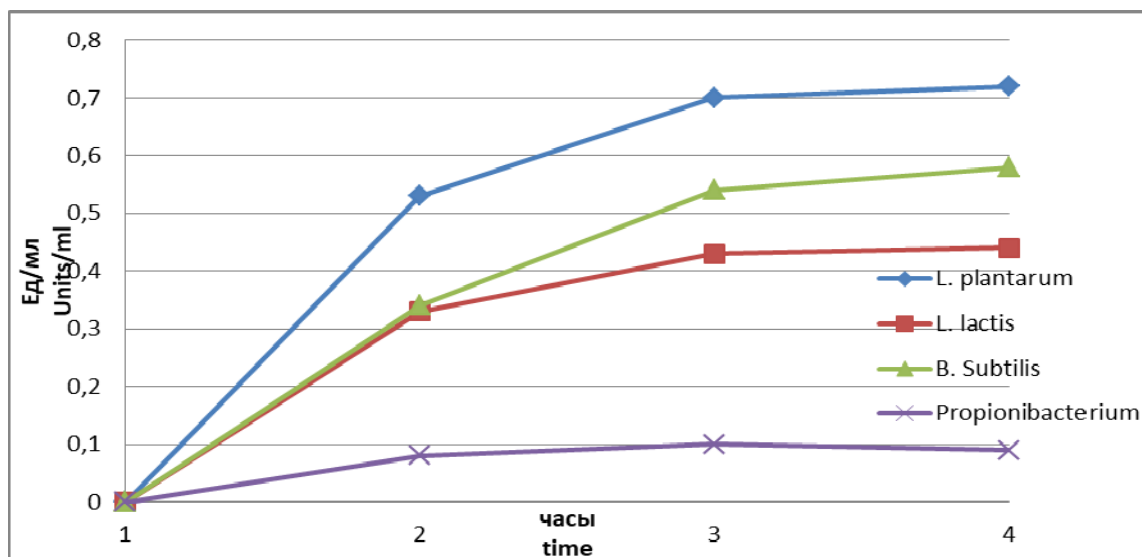


Рисунок 5. Кинетика биосинтеза протеаз при культивировании бактерий на среде содержащей ксилан 5 г/л и белок 5 г/л

Figure 5. Kinetics of protease biosynthesis during bacterial cultivation on a medium containing xylan 5 g/l and protein 5 g/l

Таблица 7. Влияние ксилана и казеина на биосинтез протеолитических ферментов бактерий (n=3, $\alpha \leq 0.05$)

Table 7. The effect of xylan and casein on the biosynthesis of proteolytic enzymes of bacteria (n=3, $\alpha \leq 0.05$)

Название штамма Strain	№	Ксилан Xylan	Белок (казеин) Protein	Биомасса Biomass	Протеолитическая активность Proteolytic activity
		г/л / g/l	г/л / g/l	мг/мл / mg/l	Ед/мл / Units/ml
<i>L. plantarum</i>	1	0	2.5	0.24±0.06	0.18±0.07
	2	0	5.0	0.32±0.03	0.29±0.09
	3	0	7.5	0.32±0.04	0.52±0.12
	4	5.0	2.5	0.49±0.09	0.45±0.13
	5	5.0	5.0	0.50±0.07	0.40±0.14
	4	5.0	7.5	0.52±0.12	0.44±0.15
	7	10.0	2.5	0.41±0.08	0.54±0.15
	8	10.0	5.0	0.42±0.06	0.71±0.13
	9	10.0	7.5	0.42±0.06	0.72±0.21
<i>L. lactis</i>	1	1	2.5	0.14±0.05	0.15±0.04
	2	0	5.0	0.12±0.02	0.29±0.10
	3	0	7.5	0.14±0.05	0.32±0.11
	4	5.0	2.5	0.28±0.08	0.25±0.15
	5	5.0	5.0	0.29±0.08	0.40±0.15
	4	5.0	7.5	0.39±0.10	0.43±0.14
	7	10.0	2.5	0.25±0.05	0.24±0.13
	8	10.0	5.0	0.26±0.04	0.41±0.12
	9	10.0	7.5	0.36±0.08	0.44±0.19
<i>B. subtilis</i>	1	0	2.5	0.12±0.06	0.13±0.05
	2	0	5.0	0.12±0.08	0.29±0.09
	3	0	7.5	0.15±0.06	0.42±0.12
	4	5.0	2.5	0.29±0.09	0.24±0.14
	5	5.0	5.0	0.31±0.12	0.51±0.14
	4	5.0	7.5	0.39±0.11	0.53±0.12
	7	10.0	2.5	0.28±0.08	0.26±0.13
	8	10.0	5.0	0.32±0.06	0.48±0.13
	9	10.0	7.5	0.38±0.10	0.57±0.17

Изучение токсичности микроорганизмов на водных обитателях

Для создания биологических препаратов, используемых для защиты окружающей среды, необходимо исследование их токсикологических свойств. Поэтому это стало следующим этапом исследований для отобранных микроорганизмов, проявивших выраженную антагонистическую активность по отношению к

патогенной и условно патогенной микрофлоре, загрязняющей окружающую среду. Также проведены токсикологические исследования композиции изолятов, состоящей из этих изолятов в виде культуральной суспензии, взятых в равных пропорциях.

Процент выживания простейших *Stylonychia mytilus* при экспозиции с клеточной суспензией суточной культуры изолятов представлены в таблице 8.

Таблица 8. Выживаемость простейших *Stylonychia mytilus* при экспозиции с клеточной суспензией суточной культуры изолятов, %

Table 8. Survival of the protozoa *Stylonychia mytilus* when exposed to a cell suspension of a daily culture of isolates, %

Изолят Isolate	Титр микроорганизмов / Titer of microorganisms		
	1x10 ⁹ КОЕ/мл 1x10 ⁹ КОЕ/ml	1x10 ¹⁰ КОЕ/мл 1x10 ¹⁰ КОЕ/ml	1x10 ¹¹ КОЕ/мл 1x10 ¹¹ КОЕ/ml
<i>Trichoderma</i>	95,2	93,7	92,8
<i>L. plantarum</i>	93,6	93,1	92,8
<i>L. lactis</i>	94,7	93,3	92,6
<i>B. subtilis</i>	94,2	93,7	92,8
(<i>Trichoderma</i> , <i>Lactobacillus</i> spp., <i>B. subtilis</i> , <i>Propionibacterium</i>)	93,2	91,5	92,4
Контроль / Control	95,7		

Установлено, что выживаемость инфузорий после экспозиции с изолятами составила для *Trichoderma* spp. – 92,8–95,2%; *L. plantarum* – 92,8–94,7%; *B. subtilis* – 92,1–94,2%; для композиции – 92,6–94,7%, что незначительно отличается от контроля – 95,7%.

Процент гибели инфузорий в опыте и контроле не имел значительных отличий, что свидетельствует об отсутствии токсического действия суспензии в отношении одноклеточных водных обитателей на примере *S. mytilus*. Таким образом созданную микробиологическую композицию возможно использовать для защиты окружающей среды при воздействии токсикантов агротехногенного происхождения.

Тестирование биodeградации пиретроидов на примере циперметрина

Последним этапом исследования было тестирования микроорганизмов осуществлять биodeградацию пиретроидов. В качестве целевого пестицида был выбран типичный представитель пиретроидов – циперметрин. Высокое соотношение биохимической

потребности в кислороде через 5 дней (BOD₅) и химической потребности в кислороде (COD_{cr}) является показателем лучшей биоразлагаемости циперметрина. Способность к биологическому разложению можно разделить на четыре категории: легко поддающиеся биологическому разложению, биоразлагаемые, трудно поддающиеся биологическому разложению и с трудом поддающиеся биологическому разложению, в которых соотношение BOD₅/COD_{cr} составляет > 0,45, >0,3, <0,3 и < 0,2 соответственно.

Биodeградация циперметрина микроорганизмами на основе соотношения биохимической потребности в кислороде через 5 дней (BOD₅) и химической потребности в кислороде (COD_{cr}) представлены в таблице 9. Наиболее активным биоразлагаемым действием обладают изоляты микроскопического гриба и спорообразующей бактерии *B. subtilis*. Этот результат намного лучше, чем у других представленных микроорганизмов, которые возможно в биологическом консорциуме будут эффективней разлагать синтетические пиретроиды [45; 67–75].

Таблица 9. Биodeградация циперметрина микроорганизмами на основе соотношения биохимической потребности в кислороде через 5 дней (BOD₅) и химической потребности в кислороде (COD_{cr})

Table 9. Biodegradation of cypermethrin by microorganisms based on the ratio of biochemical oxygen demand after 5 days (BOD₅) and chemical oxygen demand (COD_{cr})

Микроорганизмы Microorganism	БПК ₅ (BOD ₅) (mg L)	ХПК _{cr} (COD _{cr}) (mg L)	Биodeградация, % Biodegradation, %	Остаток, % Residue, %
<i>Trichoderma</i>	115±25	640±38	18,0±4,1	82,03±9,7
<i>L. plantarum</i>	40±20	785±44	5,10±2,4	94,90±9,2
<i>L. lactis</i>	30±21	795±39	3,77±3,1	96,23±9,3
<i>B. subtilis</i>	100±26	700±43	14,29±3,6	85,71±8,6
(<i>Trichoderma</i> , <i>Lactobacillus</i> spp., <i>B. subtilis</i> , <i>Propionibacterium</i>)	145±24	600±37	24,2±3,3	75,8±8,2

На 5 сутки биодegradация циперметрина составила 18,0% для изолята микроскопического гриба *Trichoderma*, 5% для *L. plantarum*, 3,7% для *L. lactis* и 14,3% для *B. subtilis*. Композиция микроорганизмов подвергла циперметрин максимальной биодegradации, которая составила 24,2%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время в условиях активного сельскохозяйственного производства особое значение отводится новым способам утилизации агротехногенных токсикантов различного происхождения, которые дают возможность быстро и безопасно обезвреживать токсические вещества, не нанося вред окружающей среде и его обитателям. Изучение биологических свойств, в том числе и ферментативной активности, является основным показателем метаболизма микроорганизмов, которая является основным механизмом дальнейшего разложения пестицидов и их промежуточных продуктов. В результате проведенной работы выявлено, что из 23 выделенных изолятов наибольшей ферментативной активностью обладало 5 изолятов, продуцируемые ими гидролазы позволяют не только эффективно расщеплять биологические субстраты, но так же предоставляют возможность применения данных штаммов в деструкции пестицидов. Отобранные на первом этапе работы изоляты, обладающие наибольшей ферментативной активностью, показали и высокую антагонистическую активность в отношении некоторых бактерий контаминирующих в окружающей среде и представляющих условно-патогенную микрофлору. Биотестирование на водных обитателях выделенных микроорганизмов показало, что процент гибели инфузорий (*S. mytilus*) в опыте и контроле не имел значительных отличий. Были выделены микроорганизмы, способные к биодеструкции пестицидов из класса синтетических пиретроидов. Исследования также показали, что усиленная деструкция циперметрина может быть достигнута смешанными микробными популяциями при оптимальных режимах окружающей среды.

Таким образом, проведенные исследования указывают на возможность считать перспективными для дальнейшей работы по отбору штаммов для применения в разработке препаратов для защиты окружающей среды от загрязнителей агротехногенного происхождения.

Однако для полного понимания механизмов биодеструкции пестицидов требуется идентификация ферментов, ответственных за дegradацию пиретроидов.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Работа выполнена при поддержке гранта №220-2961-3099 согласно Постановлению Правительства РФ №220.

ACKNOWLEDGMENT

The work was supported by grant No. 220-2961-3099 in accordance with the Decree of the Government of the Russian Federation No. 220.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Chen S., Sun D., Chung J.S. Treatment of Pesticide Wastewater by Moving-Bed Biofilm Reactor Combined with Fenton-Coagulation Pretreatment // J. Hazard. Mater. 2007. V. 144. P. 577–584.

2. Egorov V.I., Aleyev D.V., Malanov A.V., Khalikova K.F., Galyautdinova G.G., Yamalova G.R., Tremasova A.M., Kadikov I.R., Saifutdinov A.M., Semenov E.I., Shuralev E.A., Smolentsev S.Yu. The use of sorbents for intoxication of chickens with imidacloprid // International Journal of Pharmaceutical Research. 2021. V. 13. N 1. P. 3225–3233.
3. Nayak S.K., Dash B., Baliyarsingh B. Microbial Remediation of Persistent Agrochemicals by Soil Bacteria: An Overview // Microb. Biotechnol. 2018. P. 275–301.
4. Abdallah O.I., Hanafi A., Ghani S.B.A., Ghisoni S., Lucini L. Pesticides Contamination in Egyptian Honey Samples // J. Consum. Prot. Food Saf. 2017. V. 12. P. 317–327.
5. Кузнецова Е.Л. Влияние дециса на кур // Материалы Международной конференции ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвященной 125-летию Н.А. Сохественского. Казань. 2001. С. 73–74.
6. Liu C., Qu J., Wu M., Huang X., Li L. Cypermethrin triggers YY1-mediated testosterone biosynthesis suppression // Ecotoxicol Environ Saf. 2021. V. 225. Article ID: 112792. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112792>
7. Aldridge W.N. Toxicology of pyrethroids // Pestic. chem: Hum. Welfare and Environ. Pros.: 5th intern kongr. Kioto. 1982. N 3. P. 485–490.
8. Grey A.J., Soderlund D.M. Mammalian toxicology of pyrethroids // Insecticides. Chichester: John Wiley and Sons. 1985. V. 5. P. 207–212.
9. White G.B. Pyrethroids – why is their use increasing // J. Toxicol. Clin. Toxicol. 1999. V. 37. N 3. Article ID: 361.
10. Cunha E.O., Reis A.D., Macedo M.B., Machado M.S., Dallegrave E. Braz. Ototoxicity of cypermethrin in Wistar rats // J Otorhinolaryngol. 2020. V. 86. Iss. 5. P. 587–592. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2019.02.007>
11. Chen S., Lin Q., Xiao Y., Deng Y., Chang C., Zhong G., Hu M., Zhang L.H. Monooxygenase, a novel beta-cypermethrin degrading enzyme from *Streptomyces* sp. // PLoS ONE. 2013. V. 8. Article ID: 75450.
12. Valiullin L.R., Titova V.Y., Skvortsov E.V., Muhammadiev R.S., Validov S.Z., Rud V.Y., Davydov V.V., Glinushkin A.P. Search for antagonists to protect plant raw materials from pathogens Earth and Environmental Science // All-Russian Conference with International Participation Economic and Phytosanitary Rationale for the Introduction of Feed Plants. 2021. Article ID: 012005.
13. Wang H.X., Zhang R., Li Z., Wang L.S., Yu Y., Wang Q., Ding Z., Zhang J.P., Zhang M.R., Xu L.C. Cypermethrin induces Sertoli cell apoptosis through mitochondrial pathway associated with calcium // Toxicol Res. 2021. V. 10. N 4. P. 742–750. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfab056>
14. Chen S., Geng P., Xiao Y., Hu M. Bioremediation of β -cypermethrin and 3-phenoxybenzaldehyde contaminated soils using *Streptomyces aureus* HP-S-01 // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2012. V. 94. P. 505–515.
15. Pankaj, Sharma A., Gangola S., Khatri P., Kumar G., Srivastava A. Novel pathway of cypermethrin biodegradation in a *Bacillus* sp. strain SG2 isolated from cypermethrin-contaminated agriculture field // Biotech. 2016. V. 6. Iss. 1. Article number: 45. doi: 10.1007/s13205-016-0372-3
16. Ucar A., Özgeriş F.B., Yeltekin A.Ç., Parlak V., Alak G., Keleş M.S., Atamanalp M. J The effect of N-acetylcysteine supplementation on the oxidative stress levels, apoptosis, DNA damage, and hematopoietic effect in pesticide-exposed fish blood // Biochem Mol Toxicol. 2019. V. 6. Article ID: 22311. <https://doi.org/10.1002/jbt.22311>
17. Sharma R., Jindal R., Faggio C. Impact of cypermethrin in nephrocytes of freshwater fish *Catla catla* // Environ Toxicol Pharmacol. 2021. V. 88. Article ID: 103739. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103739>
18. Бадман Л.А., Волкова Н.В., Грекова Т.Д. и др. Справочное издание. Вредные химические вещества.

- Неорганические соединения V-VIII групп. Л.: Химия, 1989. С. 442–473.
19. Sulaiman N., Chee Beng Y., Ahmad Bustamam F.K., Khairuddin NSK., Muhamad H. Fate of cypermethrin in Malaysian oil palm plantation // *Drug Test Anal.* 2020. V. 12. Iss. 4. P. 504–513. <https://doi.org/10.1002/dta.2760>
 20. Yadav A., Tandon A., Seth B., Goyal S., Singh S.J., Tiwari S.K., Agarwal S., Nair S., Chaturvedi R.K. Cypermethrin Impairs Hippocampal Neurogenesis and Cognitive Functions by Altering Neural Fate Decisions in the Rat Brain // *Mol Neurobiol.* 2021. V. 58. P. 263–280. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02108-9>
 21. Di Bella G., Mottese A.F., Potorti A.G., Fede M.R., Sabatino G., Cicero N., Beltifa A., Dugo G., Lo Turco V. Organic pollution in PGI and non-PGI lemons and related soils from Italy and Turkey // *Nat Prod Res.* 2019. V. 33. Iss. 21. P. 3089–3094. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1519818>
 22. Oumbouke W.A., Rowland M., Koffi A.A., Alou LPA., Camara S., N'Guessan R. Evaluation of an alpha-cypermethrin + PBO mixture long-lasting insecticidal net VEERALIN® LN against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* s.s.: an experimental hut trial in M'bé, central Côte d'Ivoire // *Parasit Vectors.* 2019. V. 15. N 12. Article number: 544. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3796-x>
 23. Lissenden N., Kont M.D., Essandoh J., Ismail H.M. et. al. Review and Meta-Analysis of the Evidence for Choosing between Specific Pyrethroids for Programmatic Purposes // *Insects.* 2021. V. 14. Iss. 12. Article number: 826. <https://doi.org/10.3390/insects12090826>
 24. Ali M.H., Sumon K.A., Sultana M., Rashid H. Toxicity of cypermethrin on the embryo and larvae of *Gangetic mystus*, *Mystus cavasius* // *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018. V. 25. N4. P. 3193–3199. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9399-1>
 25. Jin S., Yao X., Xu Z., Zhang X., Yang F. Estimation of soil-specific microbial degradation of alpha-cypermethrin by compound-specific stable isotope analysis // *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018. V. 23. P. 22736–22743. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2399-y>
 26. Мельников Н.Н. Методическое указание по определению микроклимата пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. М.: Госхимкомиссия. 1982. ч. 12. 301 с.
 27. Seema J. Comparative assessment of growth and biodegradation potential of soil isolate in the presence of pesticides // *J Biol Sci.* 2013. V. 20. Iss. 3. P. 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.02.007>
 28. Akbar S., Sultan S., Kertesz S. Determination of cypermethrin degradation potential of soil bacteria along with plant growth-promoting characteristics // *Microbiol.* 2015. V. 70. N 1. P. 75–84. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0684-7>
 29. Amin M., Raza Gurmani A., Rafique M., Ullah Khan S., Mehmood A., Muhammad D., Hussain Syed J.Saudi. Investigating the degradation behavior of Cypermethrin (CYP) and Chlorpyrifos (CPP) in peach orchard soils using organic/inorganic amendments // *J Biol Sci.* 2021. V. 28. Iss. 10. P. 5890–5896. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.035>
 30. Jiang W., Yao G., Jing X., Liu X., Liu D., Zhou Z. Effects of Cd²⁺ and Pb²⁺ on enantioselective degradation behavior of α -cypermethrin in soils and their combined effect on activities of soil enzymes // *Environ Sci Pollut Res Int.* 2021. V. 28. Iss. 34. P. 47099–47106. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13929-z>
 31. Мельников Н.Н. Химия и технология пестицидов. М.: Наука, 1974. С. 209–226.
 32. Yao G., Jing X., Liu C., Wang P., Liu X., Hou Y., Zhou Z., Liu D. Enantioselective degradation of alpha-cypermethrin and detection of its metabolites in bullfrog (*Rana catesbeiana*) // *Ecotoxicol Environ Saf.* 2017. V. 141. P. 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.019>
 33. Jiang W., Gao J., Cheng Z., Zhai W., Liu D., Zhou Z., Wang P. The influence of oxytetracycline on the degradation and enantioselectivity of the chiral pesticide beta-cypermethrin in soil // *Environ Pollut.* 2019. V. 255. Part 1. Article ID: 113215. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113215>
 34. Kanyika-Mbewe C., Thole B., Makwinja R., Kaonga C.C. Monitoring of carbaryl and cypermethrin concentrations in water and soil in Southern Malawi // *Environ Monit Assess.* 2020. V. 192. Iss. 9. Article number: 595. <https://doi.org/10.1007/s10661-020-08557-y>
 35. Lu J., Wu Q., Yang Q., Li G., Wang R., Liu Y., Duan C., Duan S., He X., Huang Z., Peng X., Yan W., Jiang J. Molecular mechanism of reproductive toxicity induced by beta-cypermethrin in zebrafish // *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2021. V. 239. Article ID: 108894. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108894>
 36. Saied E., Fouda A., Alemam A.M., Sultan M.H., et. al. Evaluate the Toxicity of Pyrethroid Insecticide Cypermethrin before and after Biodegradation by *Lysinibacillus cresolivorans* Strain HIS7 // *Plants (Basel).* 2021. V. 10. Iss. 9. Article ID: 1903. <https://doi.org/10.3390/plants10091903>
 37. Yang Y., Ma S., Liu F., Wang Q., Wang X., et. al. Acute and chronic toxicity of acetamiprid, carbaryl, cypermethrin and deltamethrin to *Apis mellifera* larvae reared *in vitro* // *Pest Manag Sci.* 2020. V. 76. N 3. P. 978–985. <https://doi.org/10.1002/ps.5606>
 38. Seven B., Kültiğin, Çavuşoğlu, Yalçın E., Acar A. Investigation of cypermethrin toxicity in Swiss albino mice with physiological, genetic and biochemical approaches // *Sci Rep.* 2022. V. 12. Article number: 11439. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-15800-8>
 39. Raginov I.S., Egorov V.I., Valiullin L.R., Watanabe D., Balakin K.V., Murinov Y.I. Morphological and functional evaluation of the effect of novel pyrimidine derivatives on regeneration of the sciatic nerve in rats // *Neurosci Lett.* 2019. V. 706. P. 110–113. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.05.008>
 40. Akelma H., Kilic E.T., Salik F., Bica E.A., Yektas A. Pyrethroid intoxication: A rare case report and literature review // *J Clin Pract.* 2019. V. 22. N 3. P. 442–444. DOI: 10.4103/njcp.njcp_241_18
 41. Chen S., Geng P., Xiao Y., Hu M. Bioremediation of β -cypermethrin and 3-phenoxybenzaldehyde contaminated soils using *Streptomyces aureus* HP-S-01 // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2012. V. 94. P. 505–515.
 42. Ruan Z.Y., Zhai Y., Song J.L., Shi Y.H., Li K., Zhao B., et al. Molecular cloning and characterization of a newly isolated pyrethroid-degrading esterase gene from a genomic library of *Ochrobactrum anthropi* YZ-1 // *PLoS One.* 2013. V. 8, Article ID: e77329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077329>
 43. Liu F.F., Chi Y.L., Wu S., Jia D.Y., Yao K. Simultaneous degradation of cypermethrin and its metabolite, 3-phenoxybenzoic acid, by the cooperation of *Bacillus licheniformis* B-1 and *Sphingomonas* sp. SC-1 // *J. Agric. Food Chem.* 2014. V. 62. P. 8256–8262. <https://doi.org/10.1021/jf502835n>
 44. Zhao J.Y., Chi Y.L., Xu Y.C., Jia D.Y., Yao K. Co-metabolic degradation of β -cypermethrin and 3-phenoxybenzoic acid by co-culture of *Bacillus licheniformis* B-1 and *Aspergillus oryzae* M-4 // *PLoS One.* 2016. V. 11. Article number: e0166796. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166796>
 45. Pavelyev R.S., Zaripova Y.F., Yarkovoi V.V., Vinogradova S.S., et. al. Performance of Waterborne Polyurethanes in Inhibition of Gas Hydrate Formation and Corrosion: Influence of Hydrophobic Fragments // *Molecules.* 2020. V. 25. Iss. 23. Article ID: 5664. <https://doi.org/10.3390/molecules25235664>
 46. Zhan H., Huang Y.H., Lin Z.Q., Bhatt P., Chen S.H. New insights into the microbial degradation and catalytic mechanism of synthetic pyrethroids // *Environ. Res.* 2020. V.

182. Article ID: 109138.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109138>
47. Gaughan L.C., Unai T., Gasida I.E. Permethrin metabolism in rats // *Agric. Food. Chem.* 1977. V. 25. P. 9–17.
48. Xu Z., Shen X., Zhang X.C., Liu W., Yang F. Microbial degradation of alpha-cypermethrin in soil by compound-specific stable isotope analysis // *J Hazard Mater.* 2015. V. 295. P. 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.03.062>
49. Хоула Дж. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. М.: Мир, 1997.
50. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar // *Analytical Chemistry.* 1959. V. 31. N 3. P. 426–428.
51. Najafi M.F., Deobagkar D., Deobagkar D. Purification and characterization of an extracellular amylase from *Bacillus subtilis* AX20 // *Protein Exp. Purif.* 2005. V. 41. P. 349–354.
52. Schuerg T., et al. Xylose induces cellulase production in *Thermoascus aurantiacus* // *Biotechnol Biofuels.* 2017. V. 10. Article number: 271. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0965-z>
53. Gabriel R., et al. Development of genetic tools for the thermophilic filamentous fungus *Thermoascus aurantiacus* // *Biotechnol Biofuels.* 2020. V. 13. Article ID: 167. <https://doi.org/10.1186/s13068-020-01804-x>
54. Cupp-Enyard C. Sigma's non-specific protease activity assay – casein as a substrate // *J. Vis. Exp.* 2008. V. 19. Article ID: e899. DOI: 10.3791/899
55. Gabriel R., et al. The F-box protein gene *exo-1* is a target for reverse engineering enzyme hypersecretion in filamentous fungi // *PNAS.* 2021. V. 118. Iss. 26. Article number: e2025689118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2025689118>
56. Berg G., Hallmann J., Schulz B.J.E., Boyle C.J.C., Sieber T.N. Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. Berlin: Springer, 2006, pp. 53–69.
57. Chen Y., Gao X., Chen Y., Qin H., Huang L., Han Q. Inhibitory efficacy of endophytic *Bacillus subtilis* EDR4 against *Sclerotinia* access to microbial diversity for drug discovery from natural products. 2014. vol. 69. P. 49–55.
58. Mohamad O.A.A., Li L., Ma J.B., et al. Evaluation of the Antimicrobial Activity of Endophytic Bacterial Populations From Chinese Traditional Medicinal Plant Licorice and Characterization of the Bioactive Secondary Metabolites Produced by *Bacillus atrophaeus* Against *Verticillium dahlia* // *Front Microbiol.* 2018. V. 9. Article ID: 924. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00924>
59. Mukhammadiev R.S., Mukhammadieva A.S., Skvortsov E.V., Valiullin L.R., Glinushkin A.P. Antagonistic properties and biocompatibility as important principles for development of effective and biosafety probiotic drugs iop // All-Russian Conference with International Participation Economic and Phytosanitary Rationale for the Introduction of Feed Plants. 2021, Article ID: 012008.
60. Diabankana R.G.C., Afordoanyi D.M., Safin R.I., Nizamov R.M., Karimova L.Z., Validov S.Z. Antifungal Properties, Abiotic Stress Resistance, and Biocontrol Ability of *Bacillus mojavensis* PS17 // *Curr Microbiol.* 2021. V. 78. N 8. P. 3124–3132. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02578-7>
61. Kelland M.A., Production Chemicals for the Oil and Gas Industry. CRC, Boca Raton, FL. 2014.
62. Erguven G.O., Yildirim N. The Evaluation of Imidacloprid Remediation in Soil Media by Two Bacterial Strains // *Curr Microbiol.* 2019. V. 76. N 12. P. 1461–1466. <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01774-w>
63. РД 52.24.421-2012 Химическое потребление кислорода в водах. Методика выполнения измерений титриметрическим методом. Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (Росгидромет). Ростов-на-Дону, 2012. 20 с.
64. van Loon L.C. Plant responses to plant growth promoting rhizobacteria // *Eur. J. Plant Pathol.* 2007. V. 119. P. 243–254.
65. TariqJaveed M., Farooq T., Al-Hazmi A.S., Hussain M.D., Rehman A.U. Role of *Trichoderma* as a biocontrol agent (BCA) of phytoparasitic nematodes and plant growth inducer // *J Invertebr Pathol.* 2021. V. 183. Article ID: 107626. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107626>
66. Alfiky A., Weisskopf L.J. Deciphering *Trichoderma*-Plant-Pathogen Interactions for Better Development of Biocontrol Applications // *Fungi (Basel).* 2021. V. 7. N 1. Article ID: 61. <https://doi.org/10.3390/f7010061>
67. Apha AWWA, WPCF American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, Washington. 2005.
68. Cove J.H., Holland K.T., Cunliffe W.J. Effects of Oxygen Concentration on Biomass Production, Maximum Specific Growth Rate and Extracellular Enzyme Production by Three Species of Cutaneous Propionibacteria Grown in Continuous Culture // *Journal of General Microbiology.* 1983. V. 129. P. 3327–3334.
69. Sa-Pereira P., Costa-Ferreira M., Aires-Barros M.R. Enzymatic properties of a neutral endo- 1, 3 (4) - xylanase *Xyl II* from *Bacillus subtilis* // *Journal of Biotechnology.* 2002. V. 94. N 3. P. 245–275.
70. Hasan B. Fermentation of fish silage using *Lactobacillus pentosus* // *J Natur Indones.* 2003. V. 4. N 1. P. 11–15.
71. Simova E., Simov Z., Beshkova D., Frengova G., Dimitrov Z., Spasov Z. Aminoacid profiles of lactic acid bacteria, isolated from kefir grains and kefir starter made from them // *Int J Food Microbiol.* 2004. V. 107. N 2. P. 112–123.
72. Savijoki K., Ingmer H., Varmanen P. Proteolytic systems of lactic acid bacteria // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2004. V. 71. P. 394–404.
73. Chebotar V.K., Makarova N.M., Shaposhnikov A.I., Kravchenko L.V. Antifungal and phytostimulating characteristics of *Bacillus subtilis* Ch-13 rhizospheric strain, producer biopreparations // *Appl. Biochem. Microbiol.* 2009. V. 45. N 4. P. 419–423.
74. Lim Y.H., Foo H.L., Loh T.C., Mohamad R., Abdullah N. Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements // *Journal of Animal Science and Biotechnology.* 2019. V. 10. Iss. 15. P. 2–13.
75. Jin X.L., Jing M., Chen X., Zhuang Z.X., Wang X.R., Lee F.S. A study on the relationship between BOD(5) and COD in a coastal seawater environment with a rapid BOD measurement system // *Water Sci Technol.* 2010. V. 61. Iss. 6. P. 1499–1503. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.810>

REFERENCES

1. Chen S., Sun D., Chung J.S. Treatment of Pesticide Wastewater by Moving-Bed Biofilm Reactor Combined with Fenton-Coagulation Pretreatment. *J. Hazard. Mater.*, 2007, vol. 144, pp. 577–584.
2. Egorov V.I., Aleyev D.V., Malanov A.V., Khalikova K.F., Galyautdinova G.G., Yamalova G.R., Tremasova A.M., Kadikov I.R., Saifutdinov A.M., Semenov E.I., Shuralev E.A., Smolentsev S.Yu. The use of sorbents for intoxication of chickens with imidacloprid. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 2021, vol. 13, no. 1, pp. 3225–3233.
3. Nayak S.K., Dash B., Baliyarsingh B. Microbial Remediation of Persistent Agro-chemicals by Soil Bacteria: An Overview. *Microb. Biotechnol.*, 2018, pp. 275–301.
4. Abdallah O.I., Hanafi A., Ghani S.B.A., Ghisoni S., Lucini L. Pesticides Contamination in Egyptian Honey Samples. *J. Consum. Prot. Food Saf.*, 2017, vol. 12, pp. 317–327.
5. Kuznetsova E.L. Vliyaniye detsisa na kur [Influence of decison chickens]. *Materialy Mezhdunarodnoi konferentsii veterinarnykh farmakologov i toksikologov, posvyashchennoi 125-letiyu N.A. Soshestvenskogo, Kazan', 2001* [Proceedings of the International Conference of Veterinary Pharmacologists

- and Toxicologists dedicated to the 125th anniversary of N.A. Soshestvensky, Kazan, 2001]. Kazan, 2001, pp. 73–74. (In Russian)
6. Liu C., Qu J., Wu M., Huang X., Li L. Cypermethrin triggers YY1-mediated testosterone biosynthesis suppression. *Ecotoxicol Environ Saf.*, 2021, vol. 225, article ID: 112792. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112792>
 7. Aldridge W.N. Toxicology of pyrethroids. *Pestic. chem: Hum. Welfare and Environ. Pros.: 5th intern kongr. Kioto.*, 1982, no. 3, pp. 485–490.
 8. Grey A.J., Soderlund D.M. *Mammalian toxicology of pyrethroids*. Insecticides. Chichester: John Wiley and Sons., 1985, vol. 5, pp. 207–212.
 9. White G.B. Pyrethroids – why is their use increasing. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 1999, vol. 37, no. 3, article id: 361.
 10. Cunha E.O., Reis A.D., Macedo M.B., Machado M.S., Dallegrave E. Braz. Ototoxicity of cypermethrin in Wistar rats. *J Otorhinolaryngol*, 2020, vol. 86, iss. 5, pp. 587–592. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2019.02.007>
 11. Chen S., Lin Q., Xiao Y., Deng Y., Chang C., Zhong G., Hu M., Zhang L.H. Monooxygenase, a novel beta-cypermethrin degrading enzyme from *Streptomyces* sp. *PLoS ONE*, 2013, vol. 8, article ID: 75450.
 12. Valiullin L.R., Titova V.Y., Skvortsov E.V., Muhammadiev R.S., Validov S.Z., Rud V.Y., Davydov V.V., Glinushkin A.P. Search for antagonists to protect plant raw materials from pathogens Earth and Environmental Science. All-Russian Conference with International Participation Economic and Phytosanitary Rationale for the Introduction of Feed Plants. 2021, article ID: 012005.
 13. Wang H.X., Zhang R., Li Z., Wang L.S., Yu Y., Wang Q., Ding Z., Zhang J.P., Zhang M.R., Xu L.C. Cypermethrin induces Sertoli cell apoptosis through mitochondrial pathway associated with calcium. *Toxicol Res.*, 2021, vol. 10, no. 4, pp. 742–750. <https://doi.org/10.1093/toxres/tfab056>
 14. Chen S., Geng P., Xiao Y., Hu M. Bioremediation of β -cypermethrin and 3-phenoxybenzaldehyde contaminated soils using *Streptomyces aureus* HP-S-01. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, vol. 94, pp. 505–515.
 15. Pankaj, Sharma A., Gangola S., Khatri P., Kumar G., Srivastava A. Novel pathway of cypermethrin biodegradation in a *Bacillus* sp. strain SG2 isolated from cypermethrin-contaminated agriculture field. *Biotech*, 2016, vol. 6, iss. 1, article number: 45. doi: 10.1007/s13205-016-0372-3
 16. Ucar A., Özgeriş F.B., Yeltekin A.Ç., Parlak V., Alak G., Keleş M.S., Atamanalp M.J. The effect of N-acetylcysteine supplementation on the oxidative stress levels, apoptosis, DNA damage, and hematopoietic effect in pesticide-exposed fish blood. *Biochem Mol Toxicol.*, 2019, vol. 6, article ID: 22311. <https://doi.org/10.1002/jbt.22311>
 17. Sharma R., Jindal R., Faggio C. Impact of cypermethrin in nephrocytes of freshwater fish *Catla catla*. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2021, vol. 88, article ID: 103739. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103739>
 18. Badman L.A., Volkova N.V., Grekova T.D., et al. *Spravochnoe izdanie. Vrednye khimicheskie veshchestva. Neorganicheskie soedineniya V-VIII grupp* [Reference edition. Harmful chemicals. Inorganic compounds of groups V-VIII]. Leningrad, Khimiya Publ., 1989, pp. 442–473. (In Russian)
 19. Sulaiman N., Chee Beng Y., Ahmad Bustamam F.K., Khairuddin N.S.K., Muhamad H. Fate of cypermethrin in Malaysian oil palm plantation. *Drug Test Anal.*, 2020, vol. 12, iss. 4, pp. 504–513. <https://doi.org/10.1002/dta.2760>
 20. Yadav A., Tandon A., Seth B., Goyal S., Singh S.J., Tiwari S.K., Agarwal S., Nair S., Chaturvedi R.K. Cypermethrin Impairs Hippocampal Neurogenesis and Cognitive Functions by Altering Neural Fate Decisions in the Rat Brain. *Mol Neurobiol.*, 2021, vol. 58, pp. 263–280. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02108-9>
 21. Di Bella G., Mottese A.F., Potorti A.G., Fede M.R., Sabatino G., Cicero N., Beltifa A., Dugo G., Lo Turco V. Organic pollution in PGI and non-PGI lemons and related soils from Italy and Turkey. *Nat Prod Res.*, 2019, vol. 33, iss. 21, pp. 3089–3094. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1519818>
 22. Oumbouke W.A., Rowland M., Koffi A.A., Alou L.P.A., Camara S., N'Guessan R. Evaluation of an alpha-cypermethrin + PBO mixture long-lasting insecticidal net VEERALIN® LN against pyrethroid resistant *Anopheles gambiae* s.s.: an experimental hut trial in M'bé, central Côte d'Ivoire. *Parasit Vectors.*, 2019, vol. 15, no. 12, article number: 544. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3796-x>
 23. Lissenden N., Kont M.D., Essandoh J., Ismail H.M. et. al. Review and Meta-Analysis of the Evidence for Choosing between Specific Pyrethroids for Programmatic Purposes. *Insects*, 2021, vol. 14, iss. 12, article number: 826. <https://doi.org/10.3390/insects12090826>
 24. Ali M.H., Sumon K.A., Sultana M., Rashid H. Toxicity of cypermethrin on the embryo and larvae of *Gangetic mystus*, *Mystus cavasius*. *Environ Sci Pollut Res Int.*, 2018, vol. 25, no. 4, pp. 3193–3199. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9399-1>
 25. Jin S., Yao X., Xu Z., Zhang X., Yang F. Estimation of soil-specific microbial degradation of alpha-cypermethrin by compound-specific stable isotope analysis. *Environ Sci Pollut Res Int.*, 2018, vol. 23, pp. 22736–22743. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2399-y>
 26. Mel'nikov N.N. *Metodicheskoe ukazanie po opredeleniyu mikrokolichestv pestitsidov v produktakh pitaniya, kormakh i vneshej srede* [Guidelines for the determination of trace amounts of pesticides in food, feed and the environment]. Moscow, Goskhimkomissiya Publ., 1982, pt. 12, 301 p. (In Russian)
 27. Seema J. Comparative assessment of growth and biodegradation potential of soil isolate in the presence of pesticides. *J Biol Sci.*, 2013, vol. 20, iss. 3, pp. 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.02.007>
 28. Akbar S., Sultan S., Kertesz M. Determination of cypermethrin degradation potential of soil bacteria along with plant growth-promoting characteristics. *Microbiol.*, 2015, vol. 70, no. 1, pp. 75–84. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0684-7>
 29. Amin M., Raza Gurmani A., Rafique M., Ullah Khan S., Mehmood A., Muhammad D., Hussain Syed J.Saudi. Investigating the degradation behavior of Cypermethrin (CYP) and Chlorpyrifos (CPP) in peach orchard soils using organic/inorganic amendments. *J Biol Sci.*, 2021, vol. 28, iss. 10, pp. 5890–5896. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.035>
 30. Jiang W., Yao G., Jing X., Liu X., Liu D., Zhou Z. Effects of Cd²⁺ and Pb²⁺ on enantioselective degradation behavior of α -cypermethrin in soils and their combined effect on activities of soil enzymes. *Environ Sci Pollut Res Int.*, 2021, vol. 28, iss. 34, pp. 47099–47106. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13929-z>
 31. Mel'nikov N.N. *Khimiya i tekhnologiya pestitsidov* [Chemistry and technology of pesticides]. Moscow, Nauka Publ., 1974, pp. 209–226. (In Russian)
 32. Yao G., Jing X., Liu C., Wang P., Liu X., Hou Y., Zhou Z., Liu D. Enantioselective degradation of alpha-cypermethrin and detection of its metabolites in bullfrog (*Rana catesbeiana*). *Ecotoxicol Environ Saf.*, 2017, vol. 141, pp. 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.019>
 33. Jiang W., Gao J., Cheng Z., Zhai W., Liu D., Zhou Z., Wang P. The influence of oxytetracycline on the degradation and enantioselectivity of the chiral pesticide beta-cypermethrin in soil. *Environ Pollut.*, 2019, vol. 255, pt. 1, article ID: 113215. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113215>
 34. Kanyika-Mbewe C., Thole B., Makwinja R., Kaonga C.C. Monitoring of carbaryl and cypermethrin concentrations in water and soil in Southern Malawi. *Environ Monit Assess.*,

- 2020, vol. 192, iss. 9, article number: 595.
<https://doi.org/10.1007/s10661-020-08557-y>
35. Lu J., Wu Q., Yang Q., Li G., Wang R., Liu Y., Duan C., Duan S., He X., Huang Z., Peng X., Yan W., Jiang J. Molecular mechanism of reproductive toxicity induced by beta-cypermethrin in zebrafish. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.*, 2021, vol. 239, article id: 108894.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108894>
36. Saied E., Fouda A., Alemam A.M., Sultan M.H., et. al. Evaluate the Toxicity of Pyrethroid Insecticide Cypermethrin before and after Biodegradation by *Lysinibacillus cresolivorans* Strain HIS7. *Plants (Basel)*, 2021, vol. 10, iss. 9, article id: 1903. <https://doi.org/10.3390/plants10091903>
37. Yang Y., Ma S., Liu F., Wang Q., Wang X., et. al. Acute and chronic toxicity of acetamiprid, carbaryl, cypermethrin and deltamethrin to *Apis mellifera* larvae reared *in vitro*. *Pest Manag Sci.*, 2020, vol. 76, no. 3, pp. 978–985.
<https://doi.org/10.1002/ps.5606>
38. Seven B., Kültiğin, Çavuşoğlu, Yalçın E., Acar A. Investigation of cypermethrin toxicity in Swiss albino mice with physiological, genetic and biochemical approaches. *Sci Rep.*, 2022, vol. 12, article number: 11439.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-15800-8>
39. Raginov I.S., Egorov V.I., Valiullin L.R., Watanabe D., Balakin K.V., Murinov Y.I. Morphological and functional evaluation of the effect of novel pyrimidine derivatives on regeneration of the sciatic nerve in rats. *Neurosci Lett.*, 2019, vol. 706, pp. 110–113.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.05.008>
40. Akelma H., Kilic E.T., Salik F., Bicak E.A., Yektas A. Pyrethroid intoxication: A rare case report and literature review. *J Clin Pract.*, 2019, vol. 22, no. 3, pp. 442–444. DOI: 10.4103/njcp.njcp_241_18
41. Chen S., Geng P., Xiao Y., Hu M. Bioremediation of β -cypermethrin and 3-phenoxybenzaldehyde contaminated soils using *Streptomyces aureus* HP-S-01. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, vol. 94, pp. 505–515.
42. Ruan Z.Y., Zhai Y., Song J.L., Shi Y.H., Li K., Zhao B., et al. Molecular cloning and characterization of a newly isolated pyrethroid-degrading esterase gene from a genomic library of *Ochrobactrum anthropi* YZ-1. *PLoS One*, 2013, vol. 8, article id: e77329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077329>
43. Liu F.F., Chi Y.L., Wu S., Jia D.Y., Yao K. Simultaneous degradation of cypermethrin and its metabolite, 3-phenoxybenzoic acid, by the cooperation of *Bacillus licheniformis* B-1 and *Sphingomonas* sp. SC-1. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, vol. 62, pp. 8256–8262.
<https://doi.org/10.1021/jf502835n>
44. Zhao J.Y., Chi Y.L., Xu Y.C., Jia D.Y., Yao K. Co-metabolic degradation of β -cypermethrin and 3-phenoxybenzoic acid by co-culture of *Bacillus licheniformis* B-1 and *Aspergillus oryzae* M-4. *PLoS One*, 2016, vol. 11, article number: e0166796.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166796>
45. Pavelyev R.S., Zaripova Y.F., Yarkovoi V.V., Vinogradova S.S., et. al. Performance of Waterborne Polyurethanes in Inhibition of Gas Hydrate Formation and Corrosion: Influence of Hydrophobic Fragments. *Molecules*, 2020, vol. 25, iss. 23, article ID: 5664. <https://doi.org/10.3390/molecules25235664>
46. Zhan H., Huang Y.H., Lin Z.Q., Bhatt P., Chen S.H. New insights into the microbial degradation and catalytic mechanism of synthetic pyrethroids. *Environ. Res.*, 2020, vol. 182, article ID: 109138.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109138>
47. Gaughan L.C., Unai T., Gasida I.E. Permethrin metabolism in rats. *Agric. Food. Chem.*, 1977, vol. 25, pp. 9–17.
48. Xu Z., Shen X., Zhang X.C., Liu W., Yang F. Microbial degradation of alpha-cypermethrin in soil by compound-specific stable isotope analysis. *J Hazard Mater.*, 2015, vol. 295, pp. 37–42.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.03.062>
49. Khoulā Dzh. *Opredelitel' bakterii Berdzhii: v 2 tomakh* [Burgey's Bacteria Determinant: in 2 volumes]. Moscow, Mir Publ., 1997. (In Russian)
50. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 1959, vol. 31, no. 3, pp. 426–428.
51. Najafi M.F., Deobagkar D., Deobagkar D. Purification and characterization of an extracellular amylase from *Bacillus subtilis* AX20. *Protein Exp. Purif.*, 2005, vol. 41, pp. 349–354.
52. Schuerg T., et al. Xylose induces cellulase production in *Thermoascus aurantiacus*. *Biotechnol Biofuels*, 2017, vol. 10, article number: 271. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0965-z>
53. Gabriel R., et al. Development of genetic tools for the thermophilic filamentous fungus *Thermoascus aurantiacus*. *Biotechnol Biofuels*, 2020, vol. 13, article id: 167.
<https://doi.org/10.1186/s13068-020-01804-x>
54. Cupp-Enyard C. Sigma's non-specific protease activity assay – casein as a substrate. *J. Vis. Exp.*, 2008, vol. 19, article ID: e899. DOI: 10.3791/899
55. Gabriel R., et al. The F-box protein gene *exo-1* is a target for reverse engineering enzyme hypersecretion in filamentous fungi. *PNAS*, 2021, vol. 118, iss. 26, article number: e2025689118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2025689118>
56. Berg G., Hallmann J., Schulz B.J.E., Boyle C.J.C., Sieber T.N. Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. Berlin, Springer, 2006, pp. 53–69.
57. Chen Y., Gao X., Chen Y., Qin H., Huang L., Han Q. Inhibitory efficacy of endophytic *Bacillus subtilis* EDR4 against *Sclerotinia* access to microbial diversity for drug discovery from natural products. 2014, vol. 69, pp. 49–55.
58. Mohamad O.A.A., Li L., Ma J.B., et.al. Evaluation of the Antimicrobial Activity of Endophytic Bacterial Populations From Chinese Traditional Medicinal Plant Licorice and Characterization of the Bioactive Secondary Metabolites Produced by *Bacillus atrophaeus* Against *Verticillium dahlia*. *Front Microbiol.*, 2018, vol. 9, article ID: 924.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00924>
59. Mukhammadiyev R.S., Mukhammadiyeva A.S., Skvortsov E.V., Valiullin L.R., Glinushkin A.P. Antagonistic properties and biocompatibility as important principles for development of effective and biosafety probiotic drugs iop // All-Russian Conference with International Participation Economic and Phytosanitary Rationale for the Introduction of Feed Plants. 2021, Article ID: 012008.
60. Diabankana R.G.C., Afordoanyi D.M., Safin R.I., Nizamov R.M., Karimova L.Z., Validov S.Z. Antifungal Properties, Abiotic Stress Resistance, and Bioccontrol Ability of *Bacillus mojavensis* PS17. *Curr Microbiol.*, 2021, vol. 78, no. 8, pp. 3124–3132.
<https://doi.org/10.1007/s00284-021-02578-7>
61. Kelland M.A., Production Chemicals for the Oil and Gas Industry. CRC, Boca Raton, FL. 2014.
62. Erguven G.O., Yildirim N. The Evaluation of Imidacloprid Remediation in Soil Media by Two Bacterial Strains. *Curr Microbiol.*, 2019, vol. 76, no. 12, pp. 1461–1466.
<https://doi.org/10.1007/s00284-019-01774-w>
63. RD 52.24.421-2012 *Khimicheskoe potreblenie kisloroda v vodakh. Metodika vypolneniya izmerenii titrimetricheskim metodom. Federal'naya sluzhba po gidrometeorologii i monitoringu okruzhayushchei sredy (Rosgidromet)* [RD 52.24.421-2012 Chemical oxygen demand in waters. Method for performing measurements by the titrimetric method. Federal Service for Hydrometeorology and Environmental Monitoring (Roshydromet)]. Rostov-on-Don, 2012, 20 p. (In Russian)
64. van Loon L.C. Plant responses to plant growth promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.*, 2007, vol. 119, pp. 243–254.
65. TariqJaveed M., Farooq T., Al-Hazmi A.S., Hussain M.D., Rehman A.U. Role of Trichoderma as a biocontrol agent (BCA) of phytoparasitic nematodes and plant growth inducer. *J*

Invertebr Pathol., 2021, vol. 183, article ID: 107626.
<https://doi.org/10.1016/j.jip.2021.107626>

66. Alfiky A., Weisskopf L.J. Deciphering *Trichoderma*-Plant-Pathogen Interactions for Better Development of Biocontrol Applications. *Fungi (Basel)*, 2021, vol. 7, no. 1, article id: 61. <https://doi.org/10.3390/jof7010061>
67. Apha AWWA, WPCF American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, Washington. 2005.
68. Cove J.H., Holland K.T., Cunliffe W.J. Effects of Oxygen Concentration on Biomass Production, Maximum Specific Growth Rate and Extracellular Enzyme Production by Three Species of Cutaneous Propionibacteria Grown in Continuous Culture. *Journal of General Microbiology*, 1983, vol. 129, pp. 3327–3334.
69. Sa-Pereira P., Costa-Ferreira M., Aires-Barros M.R. Enzymatic properties of a neutral endo- 1, 3 (4) - xylanase Xyl II from *Bacillus subtilis*. *Journal of Biotechnology*, 2002, vol. 94, no. 3, pp. 245–275.
70. Hasan B. Fermentation of fish silage using *Lactobacillus pentosus*. *J Natur Indones*, 2003, vol. 4, no. 1, pp. 11–15.
71. Simova E., Simov Z., Beshkova D., Frengova G., Dimitrov Z., Spasov Z. Amino acid profiles of lactic acid bacteria, isolated

- from kefir grains and kefir starter made from them. *Int J Food Microbiol.*, 2004, vol. 107, no. 2, pp. 112–123.
72. Savijoki K., Ingmer H., Varmanen P. Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 2004, vol. 71, pp. 394–404.
73. Chebotar V.K., Makarova N.M., Shaposhnikov A.I., Kravchenko L.V. Antifungal and phytostimulating characteristics of *Bacillus subtilis* Ch-13 rhizospheric strain, producer biopreparations. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2009, vol. 45, no. 4, pp. 419–423.
74. Lim Y.H., Foo H.L., Loh T.C., Mohamad R., Abdullah N. Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2019, vol. 10, iss. 15, pp. 2–13.
75. Jin X.L., Jing M., Chen X., Zhuang Z.X., Wang X.R., Lee F.S. A study on the relationship between BOD(5) and COD in a coastal seawater environment with a rapid BOD measurement system. *Water Sci Technol.*, 2010, vol. 61, iss. 6, pp. 1499–1503. <https://doi.org/10.2166/wst.2010.810>

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Ленар Р. Валиуллин работал над планом научной работы, проанализировал и оценил полученные данные. Евгений В. Скворцов изучил физико-химические свойства ксиланазы. Владислав И. Егоров провел токсикологический подбор доз токсикантов. Леонид Н. Алексейко подобрал и обосновал использование микроорганизмов. Сергей В. Климович подобрал оптимальные параметры выращивания бактерий. Игорь Э. Памирский изучил свойства микромицетов. Александр Ф. Артеменко оформил таблицы и графические данные. Александр М. Захаренко изучил биологические свойства выбранных объектов. Кирилл С. Голохваст обсудил и оформил результаты. Все авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других неэтических проблем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Lenar R. Valiullin worked on the scientific work plan, analysis and evaluation of the data obtained. Evgeny V. Skvortsov studied the physico-chemical properties of xylanase. Vladislav I. Egorov undertook toxicological selection of doses of toxicants. Leonid N. Alekseyko undertook selection and justification of the use of microorganisms. Sergey V. Klimovich undertook selection of optimal parameters for growing bacteria. Igor E. Pamirsky undertook the study of properties of micromycetes. Alexander F. Artemenko designed tables and graphic data. Alexander M. Zakharenko undertook study of biological properties of selected objects. Kirill S. Golokhvast was engaged in discussion and design of the results. All authors are equally participated in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism, self-plagiarism and other ethical transgressions.

NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Ленар Р. Валиуллин / Lenar R. Valiullin <https://orcid.org/0000-0002-8277-3941>
 Евгений В. Скворцов / Evgeny V. Skvortsov <https://orcid.org/0000-0002-1453-4834>
 Владислав И. Егоров / Vladislav I. Egorov <https://orcid.org/0000-0002-9691-2009>
 Леонид Н. Алексейко / Leonid N. Alekseyko <https://orcid.org/0000-0003-3962-9722>
 Сергей В. Климович / Sergey V. Klimovich <https://orcid.org/0000-0002-2728-5996>
 Игорь Э. Памирский / Igor E. Pamirsky <https://orcid.org/0000-0002-9427-2036>
 Александр Ф. Артеменко / Alexander F. Artemenko <https://orcid.org/0000-0003-2927-323X>
 Александр М. Захаренко / Alexander M. Zakharenko <https://orcid.org/0000-0002-9520-8271>
 Кирилл С. Голохваст / Kirill S. Golokhvast <https://orcid.org/0000-0002-4873-2281>