

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Фундаментальной биологии и биотехнологии

институт

Базовая кафедра биотехнологии

кафедра

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

_____ _____
подпись инициалы, фамилия
« ____ » _____ 20 __ г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

**КОНСТРУИРОВАНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ГЕРБИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРОЛОНГИРОВАННОГО
ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ П(ЗГБ)**

тема

06.04.01 Биология

код и наименование направления

06.04.01 – 01 Микробиология и биотехнология

код и наименование магистерской программы

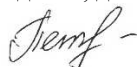
Научный руководитель

к.т.н, доцент

С.В. Барановский

подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Выпускник



О.Д. Петровская

подпись, дата инициалы, фамилия

Рецензент

_____ _____
подпись, дата должность, ученая степень инициалы, фамилия

Красноярск 2020

АННОТАЦИЯ

Магистерская диссертация на тему «Конструирование и исследование эффективности гербицидных препаратов пролонгированного действия на основе П(ЗГБ)» содержит 68 страницы текста, 27 иллюстраций, 4 таблицы и 98 источников литературы.

Ключевые слова: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ФОРМЫ, МЕТРИБУЗИН, ТРИБЕНУРОН-МЕТИЛ, П(ЗГБ), ГЕРБИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ, ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ, ДОЛГОВРЕМЕННЫЕ ФОРМЫ, ПРОЛОНГИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ.

Разработка экологически безопасных препаратов нового поколения с контролируемым высвобождением гербицида с использованием специального покрытия или матриц (носителей) является актуальным направлением биотехнологии в сельском хозяйстве. В данной работе матрицей для депонирования гербицида являлся биоразрушаемый полимер – поли-3-гидроксibuтират с наполнителем из березовых опилок.

Целью данной работы было исследование эффективности экспериментальных форм препаратов гербицидного действия. Были реализованы следующие задачи: провести биосинтез бактерий *Cupriavidus eutrophus* B10646 и получить образцы полимера; сконструировать и охарактеризовать экспериментальные формы препаратов на основе П(ЗГБ) и древесных опилок с депонированными гербицидами; исследовать разрушаемость депонированных препаратов в почвенных микросистемах и влияния на почвенные микроорганизмы; исследовать гербицидную активность долговременных форм препаратов метрибузина и трибенурон-метила в лабораторных посевах сорных растений различных видов; исследовать эффективность применения долговременных форм гербицидных препаратов в лабораторных посевах зерновых культур и микрополевых посадках овощных культур, зараженных сорняками; исследовать повреждающее действие депонированных форм гербицидов по результатам регистрации функциональной активности фотосинтетического аппарата сорных растений.

АВТОРЕФЕРАТ

В ходе проделанной работы получены следующие результаты:

1. Проведен процесс культивирования бактерий *Cupriavidus eutrophus* B10646 на опытном производстве и получены образцы полимера для дальнейших исследований. По результатам процесса культивирования концентрация биомассы составила более 67 г/л с содержанием П(ЗГБ) – 63 %, максимально достигнутая удельная скорость роста составила 0,19 ч⁻¹. Полученный П(ЗГБ) имел следующие свойства: средневесовая молекулярная масса $M_v = 561$ кДа; полидисперсность $(D) = 4,6$; степень кристалличности – 76 %.

2. Сконструированы и охарактеризованы экспериментальные формы препаратов на основе П(ЗГБ) и древесных опилок с депонированными гербицидами – метрибузин (МЕТ) и трибенурон-метил (ТРИБ). Получены экспериментальные формы в виде гранул с соотношением П(ЗГБ)/березовые опилки/гербицид - 50/40/10%. Степень кристалличности (C_x) гранул МЕТ и ТРИБ составляла 65 и 61%, температура плавления ($T_{пл}$, °C) 127,9; 162,8 °C и 133,1; 164,1 °C, температура деградации ($T_{дегр}$, °C) 261,4 и 265,3 °C.

3. Исследована разрушаемость депонированных препаратов в почвенных микросистемах и их влияния на почвенные микроорганизмы. Исследование биоразрушения экспериментальных форм в течении длительного времени, показало их медленную деградацию и длительное функционирование в почве. Остаточная масса гранул составила около 75% от изначального веса и не зависела от режима инкубации. Исследование влияния депонированных препаратов МЕТ на почвенные микроорганизмы, показало временное ингибирующее действие на рост органотрофных бактерий независимо от режима инкубации. Внесение форм с ТРИБ не подавляло численность микроорганизмов в обоих вариантах эксперимента. Изменения численности микромицетов при обработки экспериментальными формами с МЕТ и ТРИБ были незначительны.

4. Исследована эффективность применение экспериментальных форм препаратов гербицидного действия в лабораторных посевах сорных растений. Полученные результаты показали, что депонированные формы обоих гербицидов обладают выраженной гербицидной активностью по отношению ко всем исследованным сорным растениям, и их действие сопоставимо с гербицидной активностью МЕТ и ТРИБ в свободной форме, а в ряде случаев превосходила таковую. Массовая гибель сорняков, обработанными препаратами МЕТ зарегистрирована на 21 сутках. Депонирование ТРИБ увеличила его гербицидную активность и продолжительность действия по сравнению с коммерческим препаратом. Остаточное количество сорняков при внесении коммерческого препарата в среднем составило около 40%, при внесении экспериментальных форм – 25%.

5. Исследована эффективность применения экспериментальных форм препаратов гербицидного действия в лабораторных посевах пшеницы и микрополевых посевах Свеклы сорта «Цилиндра» и Томатов сорта «Загадка». Внесение экспериментальных форм ТРИБ в лабораторные посевы позволило снизить количество сорняков до 20%, а также замедлить их рост. Исследование эффективности применения экспериментальных форм препаратов гербицидного действия в микрополевых экспериментах, показали, что применение экспериментальной формы с МЕТ позволило снизить количество сорняков до 9 шт/м² в посадках свеклы и 56 шт/м² в посадках томатов. Кроме того при обработке экспериментальными формами с МЕТ зафиксирована максимальная урожайность свеклы и томатов - 3,4 и 2,3 кг/м².

6. Изучена функциональная активность фотосинтетического аппарата и состояние хлорофилл-белковых комплексов исследуемых сорняков под действием препаратов МЕТ и ТРИБ. Показано, что применение МЕТ, независимо от формы его доставки, останавливает ключевые процессы фотосинтеза у сорных растений. При внесении экспериментальных форм препаратов ТРИБ прослеживалось более длительное и возрастающее воздействие гербицида по сравнению с коммерческим препаратом в течение всего эксперимента. Полученные результаты состояния хлорофилл-белковых комплексов Овсяга обыкновенного и Щирицы запрокинутой показали в целом близкое снижение содержания всех пигментов сорных растений при их обработке, как свободными, так и депонированными формами МЕТ и ТРИБ. Содержание хлорофилла а и б, каротиноидов снизилось на 25-30 % независимо от формы доставки гербицидов. Изменение показателей фотосинтетической активности сорных растений Одуванчика обыкновенного и Щирицы запрокинутой в микрополевых экспериментах показало, что внесение экспериментальных форм, в особенности МЕТ ингибирует фотосинтетическую активность сорняков на протяжении всего вегетационного периода.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	7
1. Литературный обзор.....	9
1.1 Пестициды: классификация и характеристика	9
1.2 Формы с контролируемым и медленным высвобождением пестицидов..	10
1.3 Системы доставки пестицидов	11
1.4 Типы систем с контролируемым высвобождением.....	11
1.5 Использование биополимеров в качестве матрикса для пестицидов.....	13
1.6 Использование метода индукции флуоресценции хлорофилла для идентификации повреждения фотосистем гербицидами.....	17
1.7 Полигидроксиалканоаты: биосинтез и характеристики	20
2. Материалы и методы	24
2.1 Объекты исследования.....	24
2.2 Материалы.....	25
2.3 Методы исследования	25
2.3.1 Технология синтеза ПГА бактериями <i>Cupriavidus eutrophus</i> B10646.	25
2.3.2 Конструирование и исследование экспериментальных форм пестицидных препаратов	27
2.3.3 Исследование динамики деградация гранул П(ЗГБ)/древесные опилки в лабораторных почвенных экосистемах.....	28
2.3.4 Анализ почвенной микрофлоры	29
2.3.5 Исследование гербицидной активности долговременных форм препаратов метрибузина и трибенурон-метила в лабораторных посевах сорных растений различных видов	29
2.3.6 Лабораторные тест –системы для исследования эффективности разработанных пестицидных препаратов.....	30
2.3.7 Микрополевые опыты.....	30
2.3.8 Измерение фотосинтетической активности листьев сорняков	31
2.3.9 Количественное определение хлорофилл-белкового комплекса растений.....	33
2.4 Статистика	35
3 Результаты и обсуждение.....	36

3.1 Синтез и характеристика разрушаемых полимеров	36
3.2 Конструирование и характеристики долговременных форм пестицидных препаратов.....	36
3.3 Разрушение долговременных форм пестицидных препаратов и влияние на микрофлору почву.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.4 Оценка гербицидной активности долговременных форм препаратов метрибузина и трибенурон-метила в лабораторных посевах сорных растений различных видов.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.5 Результаты исследования эффективность долговременных форм гербицидных препаратов в лабораторных посевах зерновых культур зараженных сорняками	Ошибка! Закладка не определена.
3.6 Исследование функциональной активности фотосинтетического аппарата высших растений под воздействием гербицидов	Ошибка! Закладка не определена.
3.7 Исследование нарушений в синтезе хлорофилл-белковых комплексов высших растений под воздействием гербицидов	Ошибка! Закладка не определена.
3.8 Эффективность действия долговременных форм гербицидов в овощных культурах, засоренных сорняками, выращиваемых в открытом грунте	Ошибка! Закладка не определена.
3.8.1 Гербицидный эффект разработанных препаратов в овощных культурах, засоренных сорняками.....	Ошибка! Закладка не определена.
3.8.2 Исследование функциональной активности фотосинтетического аппарата высших растений под воздействием долговременных форм гербицидов в овощных культурах, засоренных сорняками, выращиваемых в открытом грунте.	Ошибка! Закладка не определена.
3.8.3 Урожайность овощных культур.....	Ошибка! Закладка не определена.
ВЫВОДЫ	37
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ	38

ВВЕДЕНИЕ

Современное сельское хозяйство невозможно без применения средств защиты культурных растений (пестицидов). Гербициды составляют одну из самых больших групп пестицидов, используемых для защиты культурных растений от сорняков [4]. Большинство применяемых гербицидов не достигают намеченной цели, основная масса этих веществ аккумулируется в биологических объектах, загрязняет почвы, водоемы, вызывает гибель полезных организмов. Использование пестицидов для обработки сельскохозяйственных культур приводит к включению пестицидов в пищевые цепи, что определяет высокую опасность этих поллютантов для экосистем. Пестициды обладают репродуктивной токсичностью, тератогенной активностью, являются эндокринными дисрапторами, снижают активность гуморального иммунитета, обладают эпигенетической активностью [9].

В последние годы все больше внимания уделяется разработке препаратов с контролируемым выходом активного вещества за счет депонирования их в биоразрушаемые материалы [1]. Важнейшим компонентом создания таких препаратов является наличие соответствующих материалов со следующими свойствами: экологическая совместимость с окружающей средой, т.е. разлагаемость; безопасность для живой и неживой природы; длительное (недели и месяцы) присутствие в естественной среде и контролируемая деградация с последующим образованием нетоксичных продуктов; химическая совместимость с пестицидами и удобрениями; и обрабатываемость доступными методами, совместимыми с технологиями производства пестицидов и удобрений. Материалами, широко изучаемыми в качестве матриц для депонирования агрохимикатов, являются синтетические не разлагаемые полимеры или биоразлагаемыми матрицами и покрытиями. В естественной среде полимерные матрицы преобразуются почвенной микрофлорой в безвредные продукты для живой и неживой природы.

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – биоразлагаемые полимеры микробиологического происхождения являются перспективными материалами для создания таких систем. Эти полимеры широко применимы в медицине, фармакологии, а также и в сельском хозяйстве, однако исследования по применению ПГА в сельском хозяйстве находятся еще на раннем этапе [2]. Свойства ПГА, такие как долгосрочная биоразлагаемость и возможность получения из них полимерных изделий в различных физических состояниях (порошки, растворы, расплавы) открывают им перспективу построения долгосрочных форм препаратов на их основе.

Целью работы является исследование эффективности экспериментальных форм препаратов гербицидного действия.

Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Провести процесс культивирования бактерий *Cupriavidus eutrophus* B10646 и получить образцы полимера;
2. Сконструировать и охарактеризовать экспериментальные формы препаратов на основе П(ЗГБ) и древесных опилок с депонированными гербицидами;
3. Исследовать разрушаемость депонированных препаратов в почвенных микросистемах и влияния на почвенные микроорганизмы;
4. Исследовать гербицидную активность долговременных форм препаратов метрибузина и трибенурон-метила в лабораторных посевах сорных растений различных видов;
5. Исследовать эффективность применение долговременных форм гербицидных препаратов в лабораторных посевах зерновых культур и микрополевых посадках овощных культур, зараженных сорняками;
6. Исследовать повреждающее действия депонированных форм гербицидов по результатам регистрации функциональной активности фотосинтетического аппарата сорных растений.

1. Литературный обзор

1.1 Пестициды: классификация и характеристика

Пестициды-это вещества, которые предназначены для уничтожения вредителей. Термин “-cide ” происходит от латинского слова, которое означает "убивать". В целом, это химические или биологические агенты, такие как вирусы, бактерии, противомикробные препараты или дезинфектанты которые уничтожают вредителей. К предполагаемым вредителям относят насекомых, патогены растений, сорняки, моллюски, птицы, млекопитающие, рыбы, круглые черви, а также микробы. Пестициды имеют огромное значение для современного сельскохозяйственного производства, поскольку они могут эффективно бороться с различными сельскохозяйственными вредителями, которые могут повредить посевы и снизить урожайность сельскохозяйственных культур [20].

Пестициды могут быть классифицированы по объектам применения (таблица 1), функции (таблица 2), химическому составу и по степени воздействия на организм (рисунок 1).

Таблица 1- Классификация пестицидов по объектам применения

Тип пестицида	Объект
Бактерициды	Бактерии
Дефолиант	Лиственные растения
Фунгициды	Грибы
Гербициды	Растения
Инсектициды	Насекомые
Нематоциды	Нематоды
Моллюскоциды	Слизни и улитки

Таблица 2 - Классификация пестицидов на основе их функции

Тип пестицида	Функция
Контактные	Действуют при контакте с вредителем
Неселективные	Ядовитые для сельскохозяйственных культур и сорняков
Послевсходовый	Эффективен при применении после появления урожая или сорняков
Довсходовый	Эффективен при применении после посадки и до появления урожая или сорняков
Предпосевные	Эффективна при нанесении перед

	посадкой
Селективный	Ядовитый только для сорняков
Кишечный	Убивает вредителей после приема внутрь



Рисунок 1 – Классификация пестицидов по степени воздействия на организм [21]

Пестициды могут быть как органическими (углеродсодержащими), так и неорганическими. Обычно применяют неорганические пестициды: медные фунгициды; сера известки, используемая для контролирования численности грибков и клещей; борная кислота, используемая для борьбы с тараканами, и гербициды сульфамата аммония. Органические пестициды могут быть как синтетические, так и природные (выделенные из растений или бактерий). В наше время в основном используют синтетические органические пестициды, которые сгруппированы в химические семейства на основе их структуры и способа действия [22].

1.2 Формы с контролируемым и медленным высвобождением пестицидов

В 1960-х годах ученые ограничили разработку новых пестицидов и начали работать над улучшением их доставки. Таким образом, в результате использования технологии контролируемого высвобождения (КВ) при разработке пестицидных составов, которые эффективны в течение длительного периода времени, имеют большой потенциал для борьбы с вредителями [23]. Обычно пестицид применяется с более высокими концентрациями, чем это необходимо. Но в КВ составы пестицид высвобождается с течением времени с заданной скоростью из матрицы, что позволяет снизить количество активного вещества. Такая форма доставки главным образом используется для не персистентных пестицидов [24].

Преимущества составов с контролируемым высвобождением по сравнению с обычными составами являются:

1. Увеличенный срок действия нестойких пестицидов;
2. Эффективность пестицидов улучшается за счет лучшего таргетирования;
3. Снижение токсичности для нецелевых видов;
4. Снижение загрязнения окружающей среды (снижение загрязнения поверхностных вод и грунтовых вод);
5. Безопасность для пользователей, которые вступают в контакт с пестицидными составами [23, 25].

1.3 Системы доставки пестицидов

Системы доставки пестицидов с контролируемым высвобождением для агрохимикатов обычно классифицируют на физические или химические.

- *Физическая система контролируемого высвобождения*

В физической системе биологически активное вещество смешивается с некоторыми веществами, которые будут тормозить его потери от улетучивания и вымывания, химического разрушения под действием воды, воздуха и солнечного света, или микробной деградации.

- *Химическая система контролируемого высвобождения*

Агрохимикат химически связан с субстратом с помощью четкой и идентифицируемой химической связи. Это полностью дезактивировало бы агрохимикат до тех пор, пока он не был бы освобожден из своей матрицы химическими процессами, которые происходят в почве [25].

1.4 Типы систем с контролируемым высвобождением

Для контролируемого высвобождения носители резервуарного типа обычно получают методом микрокапсулирования. Мелкие твердые частицы, капельки жидкости или пузырьки газа покрываются тонким слоем. Таким образом, было инкапсулировано множество активных материалов, таких как адгезивы, живые клетки, активные ферменты, агрохимикаты и т.п.

Пестицидные составы с контролируемым высвобождением обычно получают с использованием природных полимерных материалов. Благодаря низкой стоимости, доступности, нетоксичности и биоразлагаемости природных полимеров, они предпочтительны в качестве пестицидных носителей. Одним из распространенных полимеров для создания контролируемого отпуска пестицида является альгинат [25].

Альгинат - это биополимер на основе полисахаридов, полученный в основном из бурых морских водорослей и бактерий. Он широко используется во многих сферах за счет своей не токсичности и распространенности. Но имеются и недостатки альгината как матрицы для контролируемого высвобождения препарата. Альгинат имеет плохую механическую прочность, неконтролируемое разложение, и большое влагопоглощение,

которые влияют на темпы высвобождения активных пестицидов. Альгинат можно легко преобразовать в гель методом инотропного гелеобразования при взаимодействии двухвалентных катионов, таких как Ca^{2+} , Ba^{2+} , или Sr^{2+} и проходят медленное, бесконтрольное растворение. Альгинат-глинистые композиты были использованы как матрица для депонирования различных пестицидов с медленным высвобождением, таких как: дикват бромид [23] и 2,6-дихлорбензонитрил [26], карбофуран и тиобенкарб [27], метрибузин и алахлор [28].

Включение нескольких адсорбентов в альгинатно-глинистые составы снижает скорость высвобождения гербицида метрибузина. Из адсорбентов используется только древесный уголь, благодаря которому снижена скорость высвобождения, но вызвана необратимая адсорбция части метрибузина. Таким образом, 1% древесного угля, используемого вместо глины, замедляет высвобождение гербицида [29]. Сообщалось о некоторых работах по петролейно-эфирным растворам льняного масла, используемого в качестве связующего для пропитки пестицидов на различных неорганических носителях. Еще один препарат с медленным высвобождением метрибузина с использованием альгината-каолин и льняное масло, которые могут снижают темпы выпуска гербицида по сравнению с обычными препаратами [28].

Хитозан-катионный полисахарид, водонерастворимый полимер, в основном, присутствует в экзоскелетах насекомых и ракообразных и клеточных стенках грибов. Это деацетилированное производное хитина (N-ацетил-d-глюкозамин) [30]. Благодаря своей нетоксичности, биodeградируемости и биосовместимости в тканях животных [31], хитозан широко применим в медицинских и фармацевтических областях. Сочетание хитозана с другими полимерами является эффективным методом улучшения его физико-механических свойств. Препараты пестицида с контролируемым высвобождением были приготовлены с использованием альгината, бентонита и хитозана в качестве гидрогелей путем экструзии в растворы хлористого кальция [32]. Бентонит может улучшить размер и сферичность шарика гидрогеля и может увеличить загрузку препарата и эффективность инкапсуляции пестицида. Бентонит также улучшает производительность высвобождения за счет образования водородных связей с натрием альгината и хитозана.

Синклер [33] разработал новую систему, в которой в качестве инкапсулирующих агентов использовали сополимеры гликолевой и молочной кислот. Это исследования также показали, что полиэфиры молочной и гликолевой кислот разлагаются через гидролиз до конечных продуктов - продукты были молочная и гликолевая кислоты, CO_2 , и вода.

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – биоразлагаемые полимеры микробиологического происхождения являются перспективными материалами для создания систем с контролируемым высвобождением. Множество работ [1, 3, 5, 6, 7, 8, 10] показали пригодность ПГА в качестве матрицы для депонирования пестицидов.

1.5 Использование биополимеров в качестве матрикса для пестицидов

В последнее время основным направлением научных исследований в области сельскохозяйственной биотехнологии является разработка экологически безопасных форм гербицидов с целенаправленным и контролируемым высвобождением активного вещества (пестицида), внедренные в биоразлагаемые матриксы или покрытые биоразлагаемой оболочкой [3]. Эти матрицы и покрытия разлагается в почве и других биологических средах почвенной микрофлорой с образованием продуктов, безвредных для окружающей среды. Использование таких препаратов может уменьшить количество химических веществ, добавляемых в почву, и обеспечить их устойчивое действие [2]. Важнейшей частью построения таких препаратов является наличие соответствующих материалов со следующими свойствами: экологическая совместимость с окружающей средой и способность внедряться в биосферные циклы; безопасность для живой и неживой природы; долгосрочное (недели и месяцы) присутствие в природной среде и контролируемая деградация с последующим образованием нетоксичных продуктов; химическая совместимость с пестицидами и удобрениями; обрабатываемость доступными методами, совместимыми с технологии производства пестицидов и удобрений [3,4,5].

В работе Shershneva et al. были разработаны и всесторонне охарактеризованы микрочастицы на основе поли-3-гидроксибутирата (ПЗГБ), нагруженного тебуконазолом. Загруженные тебуконазолом (ТЕБ) микрочастицы с начальными загрузочными количествами фунгицида 10, 25 и 50% от массы полимера (ТЕБ 10, ТЕБ 25 и ТЕБ 50%) получали эмульсионным способом. Эффективность инкапсуляции ТЭБ варьировалась от 59 до 86%. Противогрибковая активность микрочастиц ПЗГБ/ТЕБ в отношении фитопатогенных грибов *Fusarium moniliforme* и *Fusarium solani* была продемонстрирована в опытах *in vitro*, проведенных в чашках Петри. Таким образом, гидрофобные агрохимикаты могут быть эффективно инкапсулированы в микрочастицы ПЗГБ для создания составов с медленным высвобождением [1].

Исследована гербицидную активность метрибузина и трибенурон-метила, внедренных в разлагаемую матрицу природного поли-3-гидроксибутирата [ПЗГБ/МЕТ и ПЗГБ/ТБМ]. Разработанные рецептуры были сконструированы в виде пленок и микрогранул, которые были протестированы против сорняков, таких как *Melilotus albus* и *Chenopodium album* в присутствии мягкой яровой пшеницы (*Triticumaestivum*, cv. Алтайская 70). Экспериментальные препараты МЕТ И ТБМ показали выраженную гербицидную активность в отношении сорняков, используемых в исследовании. Эффективность экспериментальных составов в ингибировании роста сорняков была сопоставима и, иногда, выше, чем у коммерческих составов. Количество биомассы пшеницы, обработанной

экспериментальными гербицидными препаратами, было значительно больше, чем у пшеницы, обработанной коммерческими препаратами [3].

Разработаны и испытаны медленно высвобождающиеся составы гербицида метрибузин (МЕТ), встраиваемого в биodeградируемый полимер поли-3-гидроксибутират (ПЗГБ) в виде микрочастиц, пленок, микрогранул и гранул. Все препараты ПЗГБ / МЕТ обладали выраженной гербицидной активностью, которая варьировала в зависимости от нагрузки МЕТ и этап эксперимента. На ранних стадиях эксперимента наиболее низкая мет-нагрузка (10%) была сопоставима с таковой в коммерческом препарате. Гербицидный эффект препаратов ПЗГБ / МЕТ с более высокими нагрузками МЕТ (25 и 50 %) на более поздних стадиях эксперимента был сильнее, чем эффект от коммерческого препарата [6].

Помимо использования чистого ПЗГБ, в качестве носителя пестицида исследованы его композиты с полиэтиленгликолем (ПЭГ), поликапролактоном (ПКЛ) и древесными опилками в виде прессованных гранул, содержащих 75% полимерной основы (ПЗГБ или его композит со вторым компонентом в соотношении 7: 3) и 25% метрибузина. Наиболее активно высвобождается метрибузин (около 60% внедренного гербицида на 35 сутки) был обнаружен у ПЗГБ/ПЭГ по сравнению с ПЗГБ, ПЗГБ/опилки и ПЗГБ/ПКЛ (30-40%). Таким образом, исследование показывает, что высвобождение гербицидов можно контролировать по мере варьирования состава матрицы. Препараты метрибузина оказывали значительное гербицидное действие на растения *Agrostis stolonifera*, использовать в качестве модели сорных растений [7].

Исследована стабильность полученных препаратов с медленным высвобождением из поли(3-гидроксибутират), использованный в качестве матрицы для метрибузина (МЕТ). Физические смеси П(ЗГБ)/МЕТ в виде растворов, порошков и эмульсий использовались для создания различных составов метрибузина (пленки, гранулы, гранулы и микрочастицы). СЭМ, X-Ray и ДСК доказали стабильность этих препаратов, инкубированных в стерильной воде *in vitro* в течение длительных периодов времени (до 49 дней). Исследовано также выделение метрибузина из полимерной матрицы. Варьируя форму рецептур (микрочастицы, гранулы, пленки и гранулы), возможно контролировать время высвобождения метрибузина, увеличивая или уменьшая его [8].

Исследована рецептура микрокапсулы метилметсульфурана с использованием биополимера поли (3-гидроксибутирата) в качестве матрицы гербицида. В исследовании было три вида препарата микрокапсул в соотношении между метил-метсульфуран, и поли(3-гидроксибутирата) 2:1, 1:1 и 1:2 соответственно. Результаты показали, что биополимер поли(3-гидроксибутират) может быть использован в качестве матричного полимера для препаратов медленного высвобождения и влияет на высвобождение активного вещества метсульфуран-метила в объектах [10].

Разработаны модифицированной системы высвобождения гербицида аметрина путем инкапсуляции активного вещества в биоразлагаемые

полимерные микрочастицы, полученные с использованием полимеров Поли-(гидроксibuтират) или Поли-(гидроксibuтират-валерат), с целью как улучшения гербицидного действия, так и снижения экологической токсичности. Профиль высвобождения аметрина был изменен, когда был инкапсулирован в микрочастицы, с более медленным и имел более длительным высвобождением по сравнению с профилем высвобождения чистого аметрина. Для обоих типов микрочастиц (РНВ и РНВV) высвобождение аметрина происходило за счет диффузионных процессов вследствие аномального транспорта (управляемого диффузией и релаксацией полимерных цепей), которые не следовали законам диффузии Фика. Результаты, представленные в настоящей работе, являются многообещающими, учитывая успешную инкапсуляцию аметрина в микрочастицы полимера, и указывают на то, что эта система может помочь уменьшить воздействие, вызванное гербицидом, что делает ее экологически более безопасной альтернативой [11].

Исследованы формы с контролируемым высвобождением метрибузина в поливинилхлорид [(ПВХ) (эмульсия)], карбокси метил целлюлозы (СМС) и композитного карбоксиметил целлюлозы-каолинит (КМК-КАО). Изучена кинетика его высвобождения в воде и почве по сравнению с коммерческим препаратом. Среди составов с контролируемым высвобождением как в воде, так и в почве было самым быстрым в СМС и самым медленным в ПВХ. Композит СМС-КАО снижает скорость высвобождения по сравнению с одним только СМС [12].

Изучена серия бентонит полимер-композитов (ВРСs), загруженные метрибузином. Высвобождение активного ингредиента из ВРСs было значительно ниже по сравнению с коммерческим препаратом метрибузина. Результаты показали, что кумулятивное высвобождение метрибузина было самым высоким (81%) из ВРСs, содержащих 8% глины (коммерческий бентонит) и 2% метрибузина, которые соответствуют самым низким (14 дней) значениям периода полураспада. Высвобождение метрибузин от ВРСs снижались с увеличением концентрации глины в полимерной матрице. ВРСs, содержащие 12% глины и 2% метрибузина, показали максимальные значения $t_{1/2}$, т. е. 25 и 51 день для коммерческого бентонита и чистого нанобентонита в качестве источников глины, соответственно. Поскольку было установлено, что высвобождение метрибузина в ВРСs происходит медленнее, чем в коммерческих препаратах, его можно использовать для борьбы с сорняками, адаптированными к различным культурам [13].

Также было продемонстрировано, что семейство лактид/гликолид сополимеры непригодны для использования в качестве носителей гербицида из-за очень медленной деградации в почве. Исследовано влияние относительно небольшого содержания ПЭГ-блоков во вновь синтезированном поли(Ллактид-со-гликолид) - Поли (этиленгликоль) - поли (L-лактид-со-гликолид) (PLGA-PEG-PLGA) о деградации в почве, в активном иле и полезности этих терполимеров в качестве биodeградируемый носитель для контролируемого высвобождения двух широко используемых

гербицидов (Метазахлор и Пендиметалин). Наличие даже небольшого количества ПЭГ-блока в терполимерной цепи незначительно увеличивает гидрофильность полимерной цепи, тем самым увеличивая ее подверженность гидролитическому и неожиданно сильному ферментативному разложению в почве [14].

Проведена рецептура микрокапсулирования 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты [(2,4-D)] с использованием биополимера поликапролактона в качестве матрицы методом выпаривания растворителя. В исследовании использовали три типа микрокапсулированной композиции с соотношением между 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой и поликапролактоном (PCL) 2:1, 1:1 и 1:2 соответственно. Результаты показали, что биополимер поликапролактона может быть использован в качестве матричного полимера для препаратов медленного высвобождения и влиять на высвобождение активного вещества 2,4-Д [15, 90].

Также исследованы два набора полимерных микро- и субмикронных частиц, оба с теоретической загрузкой метазахлора 20%, 30% и 40%. Эффективность загрузки достигла 80% для обоих типов частиц. Профили высвобождения были протестированы *in vitro* для отдельных вариантов частиц и показали, что они имеют бимодальный профиль с начальным быстрым высвобождением и гораздо более медленной второй фазой. Наконец, выбранные препараты были протестированы *in vivo* против целевых растений (полевой мак и трава коровника) и нецелевых растений (горчица и рапс) и показали улучшенное ингибирование целевых растений (примерно на 30% выше для травы коровника) и в то же время более низкое ингибирование нецелевых растений (рапс) по сравнению с идентичной дозой одного только метазахлора [16].

Были приготовлены глинисто-желатиновые составы МСРА[4-chloro-2-methylphenoxy) acetic acid] и исследовано содержание веществ и эффективность новых составов. Дифференциально сканирующая калориметрия (ДСК) представила информацию о стабильности желатиновой матрицы в желатин-глинистом комплексе. Преобразование Фурье инфракрасной (ИК) спектроскопии показано, что гербицид удерживается за счет образования водородных связей с боковыми аминогруппами белкового. Составы на основе глины и белка приготовлено при рН ниже значения изоэлектрической точки (pI) белка и в отсутствие глицерина обеспечил самый медленный отпуск МСРА в воде [17].

Еще один часто используемый гербицид 2-метил-4-хлорфеноксиуксусная кислота, конъюгировали с поли (3-гидроксипропанат-со-3-гидроксивалерат). Полученный биоактивный олигомер смешивали со смесью полилактида и поли (адипинат-со-бутилен терефталата) при различных загрузках. Пленки используются в качестве биоактивной, биоразлагаемой матрицы для доставки гербицида к целевому виду. Гербицидное действие полученных пленок исследовано в тепличных условиях с использованием фасоли (*Vicia faba*) в качестве нецелевого модельного вида сельскохозяйственных культур. Было показано, что пленки

полностью подавляют рост сорняков, проявляя при этом лишь умеренное влияние на рост модельную культуру. Деградация пленки в тепличных условиях протекала довольно медленно. Эти данные показывают, что эта биоразлагаемая, биоактивная пленка является хорошим кандидатом для будущих применений в сельском хозяйстве [18].

Для контролируемого высвобождения пестицидов был получен новый композиционный пористый гидрогель на основе лигнина и полиакриловой кислоты для использования в качестве опорного каркаса пористой структуры. Свойства композита с контролируемым высвобождением оценивались с помощью экспериментов в отношении кумулятивного высвобождения пестицидов, с особым акцентом на воздействие на окружающую среду и модели высвобождения. Пористый гидрогель показал улучшенные свойства по сравнению с полиакриловой кислотой и поэтому может считаться эффективным материалом для применения в системах с контролируемым высвобождением в сельском хозяйстве [19].

Таким образом, по результатам выше перечисленных исследований пролонгированных экспериментальных форм пестицидов можно сделать вывод, что данный способ доставки активного ингредиента является более эффективным по сравнению со свободной формой.

1.6 Использование метода индукции флуоресценции хлорофилла для идентификации повреждения фотосистем гербицидами

Система мониторинга пестицидов должна соответствовать следующим требованиям:

- (1) должны быть специфичны для контролируемых химических веществ;
- (2) иметь очень высокую воспроизводимость;
- (3) должны работать в системах водоснабжения, сильно заряженных неизвестными химическими веществами;

Большое значение в отношении пестицидного загрязнения имеет та группа гербицидов, основным механизмом действия которых является блок фотосинтетических функций [77]. Особенно часто используемые фенилмочевины (DCMU) и триазины (атразин, симазин), как известно, связываются специфически с высоким сродством в QB-связывающем сайте PSII. Этот блок фотосинтетического электронного потока вызывает увеличение пси-зависимой $h\nu$ а-флуоресценции [78, 79, 80, 81, 84]. Таким образом, это связанное с гербицидами усиление излучения флуоресценции *in-vivo* PSII может быть использовано в качестве биологической тест-системы для мониторинга гербицидного загрязнения. Недавно были введены различные типы мониторов гербицидов водорослей на основе *in-vivo* chl а-флуоресценции. Сайк и Шмидт [82] и Шмидт [83] использовали импульсный флуорометр, который прикладывает сильные световые импульсы на длине волны 435 Нм к образцу *Scenedesmus subspicatus*, взвешенному в матрице, подлежащей испытанию, и регистрирует интенсивность испускаемого света.

Одним из самых перспективных практических применений метода флуоресценции является использование его для оценки влияния гербицидов на состояние растений. Подавление фотосинтетической активности в результате воздействия гербицидов приводит к увеличению интенсивности флуоресценции, излучаемой листом. Главное преимущество данного экспресс-метода заключается в возможности оценки работы фотосинтетического аппарата и эффективности процесса фотосинтеза, а также детекции наличия повреждений задолго до проявления внешних признаков гибели растения. Известно, что поглощение кванта света переводит молекулу хлорофилла в электронное возбужденное состояние, энергия которого при отсутствии фотосинтеза переходит либо в тепло, либо в флуоресценцию. В фотосинтетической мембране энергия электронного возбуждения хлорофилла используется в реакционных центрах (РЦ) для генерации потока электронов в первичных стадиях фотосинтеза, необходимых для восстановления НАДФ и образования АТФ. Первичные процессы фотосинтеза высших растений осуществляются при участии двух фотосистем, функционирующих последовательно. Фотосистема II (ФС2) разлагает воду с выделением свободного кислорода и отдает электрон через цепь переносчиков на фотосистему I (ФС1), которая уже восстанавливает НАДФ. В клетке в основном флуоресцирует хлорофилл, принадлежащий ФС2, и именно изменения его флуоресценции говорят о состоянии реакционных центров этой фотосистемы.

Множество исследований основываются на использовании метода флуоресценции хлорофилла для подтверждения или идентификации повреждения фотосинтетического аппарата вызванного действием гербицидов. Так были проведены два исследования, в ходе которых в первом из них оценивались фотосинтетические параметры растений пшеницы в двух сезонных сборах после применения гербицидов бентазон, клодинафоп, йодосульфурон, метрибузин, метсульфурон и 2,4-Д, а во втором - контроль дикого редиса (*Raphanussativus*), фитотоксичность пшеницы и урожайность за счет применения бентазона, йодосульфурона, метрибузина, метсульфурона и 2,4-Д гербицидов [85].

Флуорометрический метод с амплитудно-импульсной модуляцией (РАМ), как чувствительный и быстрый метод, был использован для оценки токсического действия этих загрязнителей на Лемну минор. Были отобраны четыре гербицида (паракват, норфлуразон, флазасульфурон и атразин), часто встречающиеся в пробах воды на открытом воздухе и индуцирующие специфические изменения выхода *in vivo* хлорофилла а флуоресценции PSII. Эти гербициды влияли на фотосинтез различными способами: принимая электрон от PSI, ингибируя каротиноиды и биосинтез белка или блокируя перенос электронов PSII. Данные показали, что фотосинтетические параметры, основанные на эмиссии флуоресценции, изменялись с увеличением концентрации гербицида. Токсичность этих соединений была следующей (от наибольшей до наименьшей): паракват / норфлуразон / атразин / флазасульфурон. Анализ скорости роста и фотосинтетических

пигментов подтвердил результаты, полученные с помощью ФЛЮОРОМЕТРИИ РАМ. Установлено, что среди параметров флуоресценции наиболее подходящим индикатором воздействия гербицидов является нефотохимическое тушение. Компоненты нефотохимического тушения были затем разрешены путем исследования релаксационной кинетики тушения при добавлении DCMU и импульса светонасыщения во всей установке. Наблюдались три кинетически различные фазы, которые ранее были идентифицированы в тилакоидах (Horton and Hague, 1988) как обусловленные гашением энергетического состояния (qE), переходом состояния (qT) и фотоингибированием (qI). Эти исследованные компоненты NPQ показали различные уровни чувствительности к действию гербицида. Было обнаружено, что: (I) QE было основным компонентом NPQ; и (II) программы количественного смягчения повлиял на всех выбранных гербицидов; (III) в Q_t был существенно изменен параквата и атразин; (IV) в ци была затронута norflurazon и flazasulfuron. Мы интерпретировали эти результаты с помощью метода пестицидов. Это исследование показывает, что использование NPQ в качестве биомаркера может быть целесообразным в лабораторных и полевых гербицидных исследованиях. Кроме того, применение нефотохимического анализа тушения может позволить лучше понять механизм действия гербицида [76].

Среди гербицидов, используемых на виноградниках, флумиоксазин (fmx), применяемый в почве до появления всходов, является недавно использованной молекулой, которая ингибирует биосинтез хлорофилла в сорняках. Целью данной работы является дальнейшая характеристика влияния fmx на нецелевую виноградную лозу (*Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay) использование резки в качестве модели. Несколько параметров фотосинтеза оценивали в течение 25 дней после обработки различными концентрациями fmx (от 0,5 мм до 50 мм). Измерение флуоресценции хлорофилла показало, что fmx или побочный продукт проникает в растение через корни и распространяется по сосудам. Помимо исходной мишени, протокс, ФМГ влиял и на другие функции, связанные с фотосинтезом. Мотофристайл индуцированной одновременное сокращение обеих Пн, GS и т. мотофристайл вызвало закрытие устьиц, что частично объясняет снижение интенсивности фотосинтеза. Снижение F_v / F_m указывает на то, что фотохимия PSII и его способность снижать первичный акцептор QA также влияют на fmx в виноградной лозе. Fmx приводит к уменьшению как фотохимических, так и нефотохимических коэффициентов тушения [86].

Для изучения влияния бенсульфурон-метилового остатка (БСМ) на рост и фотосинтез проростков местного сорта огурца (СяФЭн № 1) был проведен почвенный опыт в горшках. Когда остаток бенсульфурон-метила в почве превысил 50 мкг кг^{-1} , оно значительно заблокировал рост огурца, содержание хлорофилла и фотосинтетическую емкость огурца. Обработка БСМ вызвала значительное снижение биомассы, содержания хлорофилла, скорости чистого фотосинтеза, устьичной проводимости и скорости транспирации, максимального квантового выхода фотосистемы II (PSII),

фактического квантового выхода, коэффициента фотохимического тушения и скорости переноса электронов в проростках огурца, но увеличила минимальный выход флуоресценции и скорость темнового дыхания. Кроме того, сравнение закономерностей распределения поглощенной световой энергии показало, что доля избыточной и термически рассеянной энергии увеличивается с ростом концентрации остатка БСМ, но доля фотохимии ПСИИ уменьшается. Остатки БСМ вызывали обратимую деструкцию в реакционных центрах PSII и уменьшали долю доступной энергии возбуждения, используемой в фотохимии PSII. Полученные результаты свидетельствуют о том, что рисовые или пшеничные поля, опрыскиваемые БСМ, не будут пригодны для посева огурцов последовательно или по севообороту [87].

1.7 Полигидроксиалканоаты: биосинтез и характеристики

Проблемы с утилизацией отходов, а также загрязнение окружающей среды являются причинами для поиска других веществ, которые будут менее вредны для окружающей среды и смогут заменить нефтесодержащие полимеры. Ученые ищут биоразлагаемые полимеры, которые могли бы полностью деградировать и не наносить вреда окружающей среде [34]. Биоразлагаемые полимеры подразделяются на четыре группы в зависимости от их состава. Биополимеры, такие как целлюлоза, лигнин, натуральный каучук или полигидроксиалканоаты относятся к первой группе и синтезируются микроорганизмами. Вторая группа содержит полимеры, полученные полимеризацией мономеров, которые либо существуют в природе, либо получены из материалов, которые существуют в природе (полилактид, политриметиленгликоль). Третья группа состоит из смеси мономеров из возобновляемых источников с синтетическими мономерами (уретаны на основе сои). Четвертая группа состоит из смесей возобновляемых ресурсов и компонентов нефтехимического происхождения (крахмал и поливиниловый спирт) [35]. Однако двумя наиболее перспективными биополимерами, обладающими уникальными свойствами, являются полилактид (ПЛ) и полигидроксиалканот (ПГА). ПГА представляют собой класс линейных полиэфиров гидроксисалкановых кислот-карбоксилатная группа одного мономера связана с гидроксильной группой соседнего мономера сложноэфирной связью [36]. Привлекательность ПГА обусловлена тем, что он:

- Биосовместим;
- Не гидролизует в жидких средах;
- Биоразрушаем;
- ПГА получают методом прямой ферментации;
- Доступное сырье для биосинтеза ПГА.

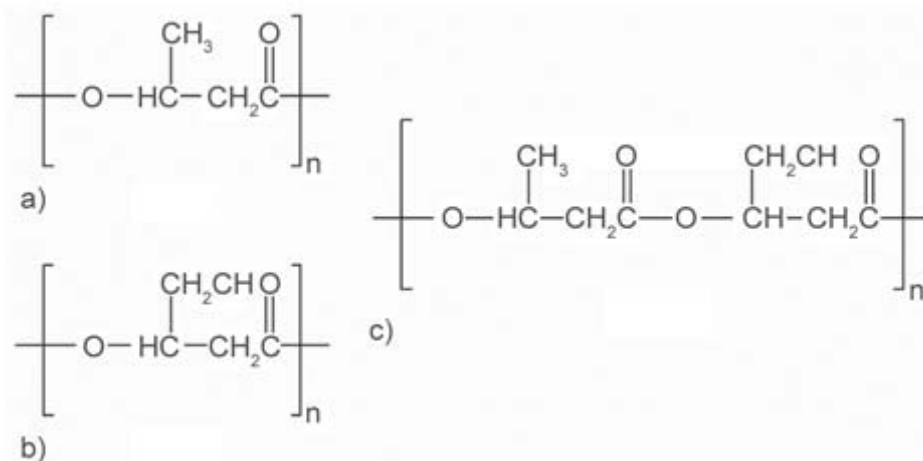


Рисунок 2 - Структурные формулы некоторых полигидроксиалконатов, а) ПЗГБ, б)ПГВ, в)ПГБВ [39]

Выделяют несколько путей биосинтезе ПГА. Самый простой, синтез ПГБ из ацетил-КоА. Этот путь включает три стадии: ацето-ацетил-КоА-трансферазную (β -кетотиолазную), NADPH-зависимую ацетоацетил-КоА-редуктазную и R(-)-3-гидроксибутирил-КоА-синтазную (полимеразную). Столько же реакций вовлечено а процесс его гидролиза: деполимеразная, NADH-зависимая дегидрогеназная и ацетоацетат: сукцинил-КоА-трансферазная. Этот набор ферментов осуществляет круговорот ацетил-КоА в метаболизме ПГА [40].

Список микроорганизмов, способных внутриклеточно аккумулировать полиоксibuтират или продукты сополимеризации ПОб с другими оксипроизводными жирных кислот, быстро пополняется. К настоящему времени он насчитывает свыше 300 организмов. Среди описанных организмов – аэробные и анаэробные бактерии, гетеротрофы, хемоорганотрофы, фототрофные прокариоты. (*Azotobacter*, *Alcaligenes* (рисунок 3), метанотрофы *Bacillus*, *Nocardia*, *Methylobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Zoogloea*); аэробные фотобактерии (*Chloroglaea*, *Chloro-flexus*); олиготрофныеполипротектовые бактерии (*Labrys*, *Prostheco-microbium*, *Stelle*), архебактерии (*Haloferax*), анаэробные фототрофные бактерии (*Chromatium*, *Rhodospirillum*) и другие [41].

ПГА проявляют ценные характеристики, такие как биодegradуемость, биосовместимость и термопластичность, и поэтому могут быть использованы для медицинских, сельскохозяйственных и морских применений [42, 43]. ПГА являются частично кристаллическими полимерами. Поэтому их термические свойства обычно выражаются в терминах температуры стеклования (T_g) аморфной фазы и температуры плавления (T_m) кристаллической фазы [44]. Более изученный ПГА, поли(3-гидроксибутират) П(ЗГБ) (рисунок 2) имеет T_m 177 °С и T_g 4 °С [45]. Термические свойства П(ЗГБ) подобны полипропилену; однако, П(ЗГБ) сильно кристаллический материал с плохой упругостью. Кроме того, П(ЗГБ) показывает вторичную кристаллизацию при комнатной температуре, что

означает, что его физические свойства изменяются в зависимости от времени старения [46,47]. Эти характеристики ограничивают практическое

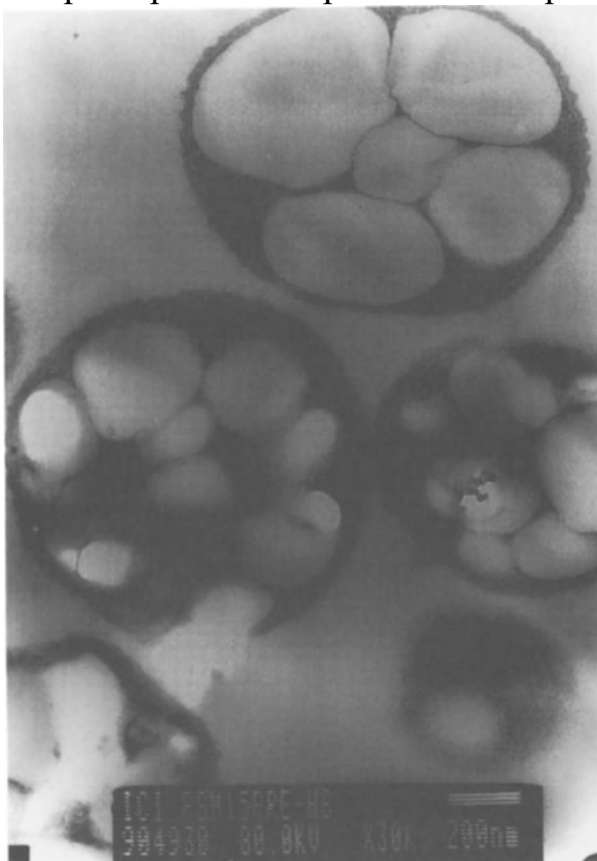


Рисунок 3 – Микрофотография бактерий *Alcaligenes eutrophus*

использование П(ЗГБ). Физико-механические свойства ПГА зависят от типов мономеров и мономерного состава. На сегодняшний день около 150 различных гидроксильных кислот были зарегистрированы в качестве мономеров биосинтезированных ПГА [48,49]. Среди охарактеризованных к настоящему времени полиоксиалканоатов выделено несколько групп полимеров. [38]. Исходя из длины углеродной цепи, полигидроксиалканоаты можно подразделять на три основные группы:

- 1) короткоцепочечные (ПГА_{кц}), состоящие из кислот с длиной углеродной цепи от 3-х до 5-ти углеродных атомов;
- 2) среднецепочечные (ПГА_{сц}), в составе которых от 6 до 14 атомов углерода;
- 3) длинноцепочечные (ПГА_{дц}) состоящие из мономеров с длиной С-цепи выше 14 атомов углерода [37].

Эти ПГА проявляют различные температурные и физические свойства. Вообще, ПГА_{сц} показывают более низкие T_m и T_g и больше гибкости сравненной с ПГА_{кц}. Изменение типов мономеров и / или состава ПГА может привести к желательным свойствам полимера. Например, П(ЗГБ-5 моль % 3-гидроксигексаноат) имеет T_m 138-147°C и T_g 0°C [50], тогда как ПГА средней длины цепи с С6-С12 являются эластомерами с T_g между -53 и -28°C и T_m между 45 и 69°C [51]. В 1990 году Fritzscheetal. [52] сообщили о получении

ароматического ПГА, Р(3-гидрокси-5фенилвалерата), из 5-фенилвалериановой кислоты с помощью *Pseudomonas oleovorans*. Это был первый доклад синтезированной ПГА принимая ароматическую группу в качестве боковой цепи. Недавно, большого разнообразия ароматических мономеров были введены в синтезированной ПГА цепи. Эти ароматические фазы привлекательны не только с точки зрения новизны, но и с точки зрения их возможной функциональности, обеспечиваемой бензольным кольцом.

Универсальность ПГА придает им широкий спектр использования. Основными рынками, где ПГА уже достиг определенной степени распространения, являются упаковка, сельское хозяйство и медицинские изделия. Распространенным заблуждением является то, что долговечные изделия не может быть изготовлен из компостируемых пластмасс. На самом деле компостируемые пластмассы могут быть пригодны для изготовления изделий с различным сроком службы от одноразовых изделий до изделий, рассчитанных на значительное количество лет, таких как автомобильные компоненты и игрушки [53].

2. Материалы и методы

2.1 Объекты исследования

Объектами исследований были культивируемые и сорные растения, пестициды гербицидного действия; разрушаемый полимер и депонированные формы пестицидов на его основе в смеси с природным материалом наполнителем.

Исследуемые культивируемые растения представлены зерновыми и овощными культурами:

Яровая пшеница сорт «Новосибирская 15». Создан Сибирским НИИ Растениеводства и Селекции методом межсортовой ступенчатой гибридизации [(Безенчукская 98 х Иртышанка 10) х Тулунская 10] х Новосибирская 22, А. Н. Лубниным, Н. В. Вавенковым, В. В. Советовым, Ж. А. Бахаревой, Н. И. Степочкиной индивидуально-семейственным отбором. Сорт зарегистрирован в государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию, с 2003 г. по Уральскому, Западно-Сибирскому, Восточно-Сибирскому регионам.

Ячмень сорт «Биом». Оригинатор – Сибирский НИИ растениеводства и селекции.

Свёкла столовая сорт «Цилиндра», включен в государственный реестр селекционных достижений и рекомендован для возделывания во всех природно-климатических зонах России. Цилиндра – среднеспелый столовый сорт. Срок созревания с момента посадки 120 дней.

Томаты сорт «Загадка ультраранний». От посадки семян до сбора первых плодов проходит 83–87 дней.

В качестве сорных растений исследованы:

- – щирица запрокинутая (*Amaranthus retroflexus*) – однолетний яровой сорняк распространенный повсеместно, засоряет посевы, пропашные культуры и огороды, а также зерновые (пшеница, рожь, овёс, ячмень, кукуруза);
- – горчица полевая (*Sinapis arvensis*) – однолетнее растение, злостный сеgetальный сорняк яровых посевов (особенно зерновых);
- – щетинник-лисий хвост (*Setaria crocheata*) – однолетнее травянистое растение; всхожесть семян высокая; развивается очень интенсивно; светолюбив, холодостоек, относительно засухоустойчив, не требователен к почвам;
- – гулявник Лезеля (*Sisymbrium loeselii*) – однолетние, двулетние, реже многолетние травы, засоряет полевые и овощные культуры, особенно посева озимой пшеницы и озимого ячменя;
- – нивяник (*Leucanthemum maximum*) – многолетний стержнекорневой сорняк, высотой до 80 см; засоряет многолетние травы, многие однолетние культуры, чаще всего зерновые;

- – овсюг обыкновенный (*Avena Fatula* L.) – однолетний, очень злостный и обременительный сорняк из семейства злаковых;
- – эльсгольция реснитчатая (*Elsholtzia ciliata*) – ароматный многолетний чувствительный сорняк, поражающий посеvy сои, кукурузы и зерновых.

2.2 Материалы

Образцы полимера П(ЗГБ-со-ЗГВ) были синтезированы с использованием штамма *Cupriavidus eutrophus* В10646 по авторской технологии. Полимер экстрагировали из клеток хлороформом, а экстракты осаждали с использованием гексана. Извлеченные полимеры повторно растворяли и снова осаждали 3-4 раза для получения однородных образцов.

В качестве наполнителя полимера использовали березовые опилки, полученные измельчением древесины березы на деревообрабатывающем станке МД 250–85 (компания «СтанкоПремьер», Россия).

Используемые пестициды:

Метрибузин [4-амино-6-трет-бутил-3-метилтио-1,2,4-триазин-5(4Н)-ОН] (далее МЕТ) является системным избирательным гербицидом из группы 1,2,4-триазинов и отличается широким спектром действия на ряд двудольных и злаковых сорняков, обладая продолжительным эффектом и действуя как через листья, так и через почву. Механизм действия основан на ингибировании реакции Хилла (фотолиза воды) и фотосинтетического переноса электронов между первичным и вторичным акцепторами электронов фотосистемы II.

Трибенурон-метил [метилловый эфир 2-[6-метил-4-метокси-1,3,5-триазин-2-ил(метил) карбомилсульфаминоил]бензойной кислоты] (далее ТРИБ) представляет собой системный селективный гербицид из группы сульфониломочевин. Механизм действия основан на ингибировании фермента ацетолактатсинтазы, вовлеченного в биосинтез разветвленных незаменимых аминокислот (валин, лейцин, изолейцин), что приводит к снижению их уровня в растительных тканях с последующим нарушением синтеза белка и нуклеиновых кислот.

2.3 Методы исследования

2.3.1 Технология синтеза ПГА бактериями *Cupriavidus eutrophus* В10646.

Технологический цикл процесса синтеза полимеров (ПГА) состоит из следующих операций и стадий:

- приготовление технологических сред;
- стадия приготовления растворов;
- стерилизация полученных растворов;
- подготовка питательных сред;
- получение инокулята из музейной культуры в колбах;

- масштабирование: получения инокулята в ферментёре-инокуляторе;
 - двустадийная ферментация в производственном ферментёре;
 - концентрирование бактериальной культуры;
 - центрифугирование сгущенной культуры и получение пасты биомассы;
 - лиофильная сушка биомассы;
 - выделение и очистка полимера;
- сушка, анализ и затаривание продукта (ПГА) [92]

После стерилизации в колбах готовят среду и вносят культуру *S. eutrophus* В-10646. Музейную культуру, хранящуюся на скошенной агаризованной среде в холодильнике, смывают с поверхности среды (4 пробирки) в стерильную коническую колбу ёмкостью 2 л с 1 л полной средой Шлегеля. Оптическая плотность исходного инокулята (без разведения), не менее 0,1 (440 нм). Все работы ведутся с соблюдением асептики. После чего колбы устанавливают в шейкер-инкубатор Innova 44 и инкубируют в течение 20–22 ч при 30 °С. Инкубирование проводится до получения оптической плотности не менее $0,2 \pm 0,02$. Полученный инокулят переносят в ферментёр-инокулятор Bioengineering NLF 22 объемом 30 литров. Ферментёр-инокулятор, объемом 30 литров, предназначен для получения не менее 10 л посевной культуры, необходимой для загрузки пилотного ферментера, объемом 150 литров. Процесс выращивания биомассы в ферментёре-инокуляторе длится 5 ч в режиме хемостата [91]. Полученный инокулят в количестве 10–20 л поступает в производственный ферментёр Bioengineering тип Р-сосуд объемом 150 литров. Культивирование осуществляется в две стадии. На первой стадии происходит накопление биомассы в течение 24 ч до концентрации 40–50 г/л. На данном этапе используются подпитывающие растворы солей азота и глюкозы. На второй стадии лимитируют подачу азота (подпитывающий раствор карбамида или раствор мочевины). В этот момент концентрация клеток перестаёт увеличиваться, а содержание полимера в клетках растёт. Длительность стадии составляет 30 ч. После процесса ферментации полученная культуральная жидкость сливается в сборник, откуда далее поступает в вакуум-выпарную установку «УВВ-50», где концентрируется до 300 – 350 г/л, а затем перистальтическим насосом Ismatec Flowmaster FMT300 подается в сборник упаренной суспензии. Упаренную суспензию подвергают дальнейшему концентрированию в центрифуге Avanti. После центрифугирования бактериальную биомассу в виде сырой пасты переносят на подносы-лотки для дальнейшей сушке [92]. Бактериальную биомассу в виде сырой пасты с влажностью 50–60 % высушивают лиофильно в сублимационной установке IlshinBioBase (Корея); замороженную до температуры минус 40 °С биомассу высушивают нагреванием до +20 °С при давлении в камере 40 Па. Бактериальная паста загружается в подносы-лотки, и проходит лиофилизацию в лиофильной сушилке для получения сухой биомассы. Далее высушенная биомасса используется для выделения полимера. Получают биомассу с влажностью не более 0,5 %. [5]. Процесс

подготовки биомассы и дальнейшее извлечение из нее полимера проходит в несколько стадий: первичная обработка биомассы бактерий детергентами с последующей экстракцией ПГА органическими растворителями, такими как дихлорметан и трихлорметан. Далее полимер осаждают гексаном или этиловым спиртом.

2.3.2 Конструирование и исследование экспериментальных форм пестицидных препаратов

В качестве полимерного носителя для гербицида использовали полимер β -гидроксимасляной кислоты (PHB). Полимер был синтезирован в Институте биофизики СО РАН по технологии, разработанной Воловой и др.[54] В качестве носителя гербицида использовали коммерческий препарат (далее ТРИБ +, МЕТ +) и препарат с долговременным высвобождением гербицида в виде гранул (средний вес 5 мг).

Формы в виде гранул получены из смеси полимера и древесных опилок, предварительно измельченные ударно-сдвиговым воздействием на ультразвуцентрической мельнице ZM 200 («Retsch», Германия). Для достижения тонкого помола полимера, измельчаемый материал и корпус с размольными элементами мельницы предварительно охлаждали при -80°C около 30 мин в морозильной камере InnovaU101 (NEWBRUNSWICKSCIENTIFIC, США). Размол проводили при использовании сита с диаметром отверстий 2 мм и скорости вращения ротора 18000 об/мин. Фракционный состав полимера и наполнителей определяли с помощью аналитической просеивающей машины AS 200 control (Retsch, Германия). Смешивание смесей производили в настольном планетарном миксере SpeedMixer DAC 250 SP (Hauschild Eng., Германия), время смешения 1 мин, скорость 1000 об/мин.

Для получения форм гербицидов в виде гранул использовали сырую пасту полимера, увлажненную этанолом, смешанную с березовыми опилками и гербицидом с применением гранулятора Fimar (Италия). Соотношение компонентов в формах было следующим: П(ЗГБ)/опилки/гербицид как 50/40/10 (вес.%).

Термический анализ исходных материалов и разработанных форм гербицидов проводился с использованием дифференциального сканирующего калориметра DSC-1 (METTLER TOLEDO, Швейцария). Порошкообразные образцы (по $4,0 \pm 0,2$ мг каждый) помещали в алюминиевый тигель и сжимали перед измерением. Каждый образец измеряли не менее 3 раз. Образцы подвергались однократному нагреву от -20°C до 320°C . Температуру стеклования (T_g), температуру кристаллизации (T_c), температуру плавления (T_{melt}) и температуру термического разложения (T_{degr}) определяли по пикам на термограммах с использованием программного обеспечения «StarE».

Молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение исследовали с использованием хроматографа для гелепроникающей хроматографии

Agilent Technologies 1260 Infinity (Германия) с использованием калибровочных стандартов Agilent PS-H EasiVial. Находили средневесовую (МВ) и среднечисловую (МЧ) молекулярную массу, а также полидисперсность (ПД), растворяя образцы сополимерных ПГА навеской 10–12 мг в 2 мл хлороформа с дальнейшей их фильтрацией. Значение средней молекулярной массы сополимеров (МЧ, Да) определялось по формуле:

$$MЧ = \sum (N_i \times M_i / N) \quad (1)$$

где N_i – количество молекул массы i ;

N – общее количество молекул;

M_i – масса молекул длины i , Да.

Вес средней молярной массы сополимера (МВ, Да) определялся по формуле:

$$MВ = \sum (w_i \times M_i) \quad (2)$$

где w_i – доля массы.

Доля массы определяется по следующей формуле:

$$w_i = N_i \times M_i / \sum (N_i \times M_i) \quad (3)$$

Полидисперсность, позволяющую оценить соотношение в полимере фрагментов с различной степенью полимеризуемости, вычисляли из формулы (4):

$$ПД = MВ / MЧ \quad (4)$$

2.3.3 Исследование динамики деградация гранул П(ЗГБ)/древесные опилки в лабораторных почвенных экосистемах

Деградация гранулированных форм исследовали в почвенных микроэкосистемах (рисунок 4). Для этого в контейнер с почвой помещали исследуемые формы в центр на глубину не более 1 см по три штуки в мешочке из органзы. Инкубировали в термостате при температуре 30 °С и при комнатной температуре (21 -23°С) и 50 %. После инкубационного периода, гранулы изымали из почвы, очищали, и высушивали. Деградацию форм оценивали каждые две недели в течение 4-х месяцев весовым методом.



Рисунок 4 - Фото лабораторных почвенных микроэкосистем

2.3.4 Анализ почвенной микрофлоры

Для анализа почвенных проб использовали общепринятые микробиологические методы. Общую численность органотрофных бактерий определяли на мясопептонноагаре, численность микромицетов – на агаре Сабуро.

Состав сред из расчета на 1 л воды:

МПА: пептон –10г, питательный бульон –15г, агар –20г.

Агар Сабуро: глюкоза –40г, пептон –10г, агар –18г.

2.3.5 Исследование гербицидной активности долговременных форм препаратов метрибузина и трибенурон-метила в лабораторных посевах сорных растений различных видов

Гербицидная активность разработанных форм МЕТ и ТРИБ исследована в лабораторных культурах сорных растений различных видов: щирица запрокинутая (*Amaranthus retroflexus*), горчица полевая (*Sinapis arvensis*), щетинник-лисий хвост (*Setaria macrocheata*), гулявник Лезеля (*Sisymbrium loeselii*), нивяник (*Leucanthemum maximum*), овсюг обыкновенный (*Avena Fatula* L), эльсгольция реснитчатая (*Elsholtzia ciliata*).

На трех сорняках (щирица запрокинутая, горчица полевая и нивяник) исследовано действие свободных и депонированных форм метрибузина и трибенурон-метила; на гулявнике Лезеля и эльсгольции реснитчатой – две формы трибенурон-метила; на овсюге обыкновенном и щетиннике-лисий хвост – две формы метрибузина. Выбор препаратов по отношению к сорным растениям обусловлен чувствительностью исследуемых сорняков к гербицидам и исходя из действующих рекомендаций использования гербицидов по отношению к конкретным сорнякам [93].

Сорные растения исследованы при выращивании в лабораторных почвенных микрэкосистемах в эксперименте длительностью 35 суток. Использована почва полевого стационара Красноярского государственного агроуниверситета, расположенного в окрестностях г. Красноярска (Россия). Это лугово-черноземная почва по строению профиля близкая к черноземам с мощным гумусовым горизонтом и рыхлой зернистой структурой. Почва имела нейтральную реакцию, низкую гидролитическую кислотность, высокое содержание азота, подвижного фосфора и обменного калия.

Важно отметить, что использованная почва отобрана на участке, который ранее не обрабатывали пестицидами, включая гербициды метрибузин и трибенурон-метил; семена сорных растений были собраны в окрестностях города Красноярска, где почва и сорняки также не обрабатывались гербицидами. Это исключало возможное проявления устойчивости в поколениях у исследуемых растений к данным гербицидам, и их биологический эффект исследован в чистом виде.

Почву помещали в пластиковые контейнеры объемом 500 см³ (масса почвы в контейнере составляла 400 г) и засевали семенами зерновых культур из расчета 150 г семян на 1 м². Одновременно в почву вносили гранулы с депонированными гербицидами, упакованные в чехлы из мелкоячеистой сетки на глубину 1,5-2,0 см. В качестве положительного контроля в почву вносили растворы свободных гербицидов в концентрации, рекомендованной для полевого применения и сопоставимых с концентрацией гербицидов в гранулах. Необходимую концентрацию депонированных гербицидов регулировали внесением различного количества гранул. Растения выращивали в климатической камере (Фитотрон-ЛиА-2 (Россия), поддерживая суточный цикл по температуре, освещенности и влажности в шестиступенчатом режиме «ночь – раннее утро – позднее утро – день – ранний вечер – поздний вечер». Температура изменялась в пределах от 10 °С ночью до 18 °С днем в первые семь недель эксперимента и от 14 °С до 22 °С – в последующие пять недель. Освещенность изменялась от 0 до 300 мкмоль/м²/с с шагом 100 мкмоль/м²/с. Минимальную влажность почвы поддерживали на уровне 50 %.

2.3.6 Лабораторные тест –системы для исследования эффективности разработанных пестицидных препаратов

Гербицидная активность разработанных экспериментальных препаратов изучалась с использованием лабораторных экосистем. В контейнеры объемом 0,9 л с 400 г почвы в качестве культурного растения была посеяна мягкая яровая пшеница (сорт Новосибирская 15) и сорняк – Горчица полевая. Гранулы ТРИБ вносили во время посадки. В положительном контроле почву обрабатывали коммерческим препаратом трибенурон-метила, соответствуя их нормами внесения (20-25 г/га). В отрицательном контроле обработку препаратом не проводили. В ходе эксперимента регистрировали высоту и динамику гибели сорняков.

2.3.7 Микрополевые опыты

Микрополевые опыты проведены в вегетационный сезон 2019 года в условиях полевого стационара Красноярского государственного агроуниверситета, расположенного в окрестностях г. Красноярска на лугово-черноземной мощной тяжелосуглинистой почве. Земледельческая часть Красноярского края относится к длительно-сезоннопромерзающему типу. Схема проведения исследований включала для каждой овощной культуры следующие варианты применения двух гербицидов: метрибузина (МЕТ) и трибенурон-метила (ТРИБ):

1. контроль «-» отрицательный (выращивание растений без применения гербицидов);

2. контроль «+» положительный (опрыскивание растений водными растворами МЕТ и ТРИБ);

3. экспериментальные группы (внесения депонированных форм МЕТ и ТРИБ в виде гранул в почву одновременно с посевом семян свеклы и высадкой рассады томатов).

Площадь опытных делянок составляла 1 м², повторность – 3-х кратная, размещение – систематическое. Посев томатов для получения рассады проведен 25 марта; пикировка в фазу двух настоящих листьев проведена 4 апреля, высадка в открытый грунт 14 июня. Схема посадки – по 4 растения на 1 м². Посев свёклы проведен в третьей декаде мая по схеме: 25 x 7 см. Сроки сбора урожая томатов и свеклы различались; сбор томатов выполнен 20 августа, свеклы 11 сентября.

Сравнительное исследование применения различных форм гербицидов включало еженедельный осмотр и фотодокументирование посадок овощных культур и ежемесячный отбор проб для анализов. В ходе эксперимента полив и внесение удобрений в посадки овощных культур не производили.

2.3.8 Измерение фотосинтетической активности листьев сорняков

Фотосинтетическую активность листьев определяли на основе показателей быстрой флуоресценции хлорофилла, регистрируемых методом индукции флуоресценции хлорофилла с использованием флуориметра JUNIOR-РАМ фирмы Walz (Effeltrich, Germany) (рисунок 5). Перед измерением листья адаптировали к темноте в течении 30 минут. Интенсивность актинического света ступенчато возрастала (0, 66, 90, 125, 190, 285, 420, 625 и 820 ×10⁻⁶ М фотонов м⁻²×с⁻¹) с интервалом в 10 секунд. Температура и влажность находились на уровне окружающей среды при измерении параметров флуоресценции.

В ходе эксперимента регистрировали следующие параметры флуоресценции: F_0 – минимальная флуоресценция у выдержанного в темноте образца при открытых реакционных центрах; F_m – максимальная флуоресценция во время действия импульса насыщающего света 0,8 с, который закрывает реакционные центры и убирает фотохимическое тушение, эти два уровня задают максимальную величину переменной флуоресценции $F_v = F_m - F_0$, постоянную и максимальную флуоресценцию после продолжительного освещения F_0' и F_m' ; максимальный квантовый выход ФСII $-F_v/F_m$ [55]; скорость транспорта электронов ETR ; коэффициент фотохимического тушения $qP = (F_m' - F) / (F_m' - F_0')$ [56,57]; квантовый выход нефотохимического тушения $Y(NPQ)$ [58].



Рисунок 5 – Флуориметр JUNIOR-PAM фирмы Walz (Effeltrich, Germany)

$Y(II)_{max}$ - максимальный квантовый выход ФСII, отражающий внутреннюю эффективность преобразования энергии реакционными центрами ФСII. $Y(II)$ уменьшается в результате стресса и обычно отождествляется с повреждением светособирающих комплексов ФСII [59,60,61]. ETR_{max} – максимальная скорость нециклического транспорта электронов. Данное значение отражает скорость передачи фотосинтетической энергии. При воздействии стресса скорость переноса электронов снижается [59,60]. В тоже время, цикл Кальвина, хоть и основной, но далеко не единственный процесс, поддерживающий электронный транспорт в хлоропластах. Циклический транспорт электронов, генерация и деактивация активных форм кислорода, метаболизм азота и серы могут влиять на интенсивность электронного транспорта, особенно в условиях вызванного стрессом ингибирования активности цикла Кальвина [62,63,64]. В целом интенсивность электронного транспорта регулируется растением в соответствии с потреблением энергии в темновой фазе. $Y(NPQ)_{max}$ - максимальный квантовый выход нефотохимического тушения определяют для количественной оценки доли энергии возбуждения, рассеиваемой в виде тепла через фотозащитные механизмы. Чем выше показатель, тем больше энергия рассеивается в виде тепла и тем ниже эффективность процесса фотосинтеза. Изменения интенсивности тепловой диссипации направлены на то, чтобы компенсировать лимитирование электронного транспорта путём безопасной утилизации той части энергии возбуждения, которая не может быть использована для фотохимии [60,61]. В

статье Laisk *et al.* 1997 [65] показано, что квантовые выходы фотохимического (Y_P) и нефотохимического (Y_N) тушения флуоресценции хлорофилла (отражающие эффективность фотохимического превращения энергии и тепловой диссипации, соответственно) изменяются комплементарно и их сумма является константой ($Y_P + Y_N = 0,8$). Показатели опытных образцов сравнивали с отрицательным контролем.

2.3.9 Количественное определение хлорофилл-белкового комплекса растений

Важную роль в процессе фотосинтеза играет зеленый пигмент — хлорофилл. Хлорофилл (от греч. chloros — зеленый и phyllon — лист), зеленый пигмент растений, с помощью которого они улавливают энергию солнечного света и осуществляют фотосинтез, т. е. превращают солнечную энергию в энергию химических связей органических соединений. Содержится и в фотосинтезирующих организмах других видов — водорослях и бактериях. С точки зрения химического строения хлорофилл неоднороден. Существуют различные типы хлорофиллов. Основой химического строения всех хлорофиллов является сложное циклическое соединение — порфирин, содержащий центральный атом Mg и многоатомный гидрофобный спиртовый остаток.

Каротиноиды - группа пигментов желтого, оранжевого и красного цвета. Каротиноиды широко распространены в природе: их обнаружено больше трехсот. Однако в фотосинтезе участвуют лишь некоторые из них. Имеют в своей структуре изопреновую цепь из четырех метилбутадиеновых остатков, разделенных в середине $CH=CH$ -группой, и одно или два циклогексеновых β -иононовых кольца на концах цепи. Каротиноиды делятся на каротины — ненасыщенные углеводороды и ксантофиллы — кислородсодержащие каротиноиды, имеющие гидрокси-, метокси-, карбокси-, кето-и эпокси группы. Имеются данные, что каротиноиды выполняют защитную функцию, предохраняя различные органические вещества, в первую очередь молекулы хлорофилла, от разрушения на свету в процессе фотоокисления[88].

Навеску тканей листа (без центральной жилки) (40-60 мг) помещают в пробирку, добавляют 5 мл 95% этилового спирта, 10 мг $CaCO_3$ (порошок), закрывают пробкой. Экстракцию пигментов проводят на водяной бане при температуре $60^\circ C$ до полного обесцвечивания листа течением 20-30 мин. После водяной бани пробирку изолируют от света и помещают на 12 часов в холодильник ($+ 4^\circ C$) для окончательной экстракции пигментов и осветления раствора (рисунок 6).

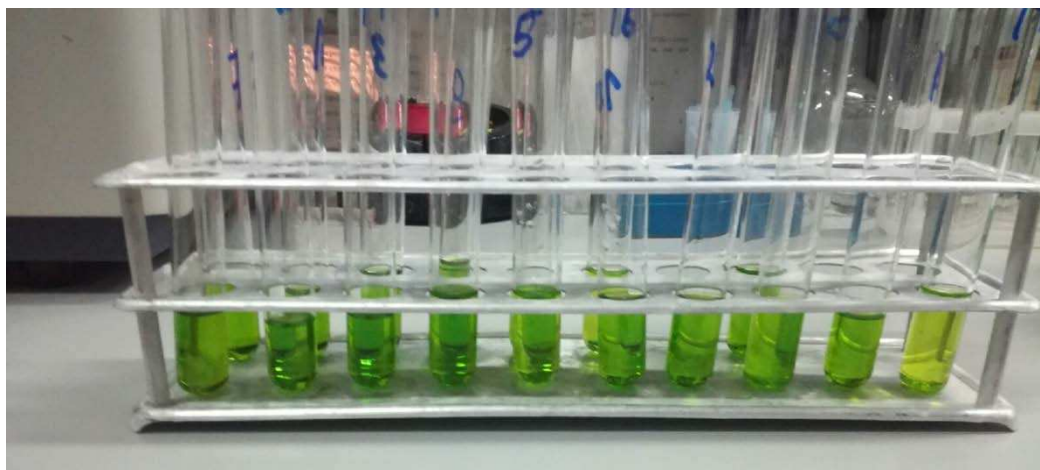


Рисунок 6 –Спиртовая вытяжка пигментов



Рисунок 7 – Спектрофотометр UNICO 2100

Оптическую плотность определяют с помощью спектрофотометра (рисунок 7). Концентрацию хлорофиллов C_a , C_b и суммы ксантофиллов и каротинов C_{x+c} (мкг/мл) рассчитывают по следующим формулам [74]:

$$C_a = 13,36 * (D_{664} - D_{720}) - 5,19 * (D_{648} - D_{720})$$

$$C_b = 27,43 * (D_{648} - D_{720}) - 8,12 * (D_{664} - D_{720})$$

$$CAR = (1000 * (D_{470} - D_{720}) - 2,13 * C_a - 97,4 * C_b) / 209$$

Содержание пигментов выражают в $\text{мкг} \cdot \text{г}^{-1}$ сырой массы или $\cdot \text{мкг} \cdot \text{г}^{-1}$ сухой массы.

2.4 Статистика

Статистическую обработку результатов проводили по стандартным методикам с использованием программного пакета анализа данных Microsoft Excel для Windows 10 и Statgraphics Centurion 8 [89].

3 Результаты и обсуждение

3.1 Синтез и характеристика разрушаемых полимеров

В результате культивирования получена биомасса бактерий с концентрацией 67 г/л, с содержанием ПГА - 42 г/л или 62 % (рисунок 8). Максимально достигнутая удельная скорость роста составила $0,19 \text{ ч}^{-1}$. Лиофильно высушенная биомасса бактерий содержала 62 % ПГА от абсолютно сухой биомассы. Полученный П(ЗГБ) имел следующие свойства: средневесовая молекулярная масса $M_w = 561 \text{ кДа}$; полидисперсность $(D) = 4,6$; степень кристалличности - 76 %.

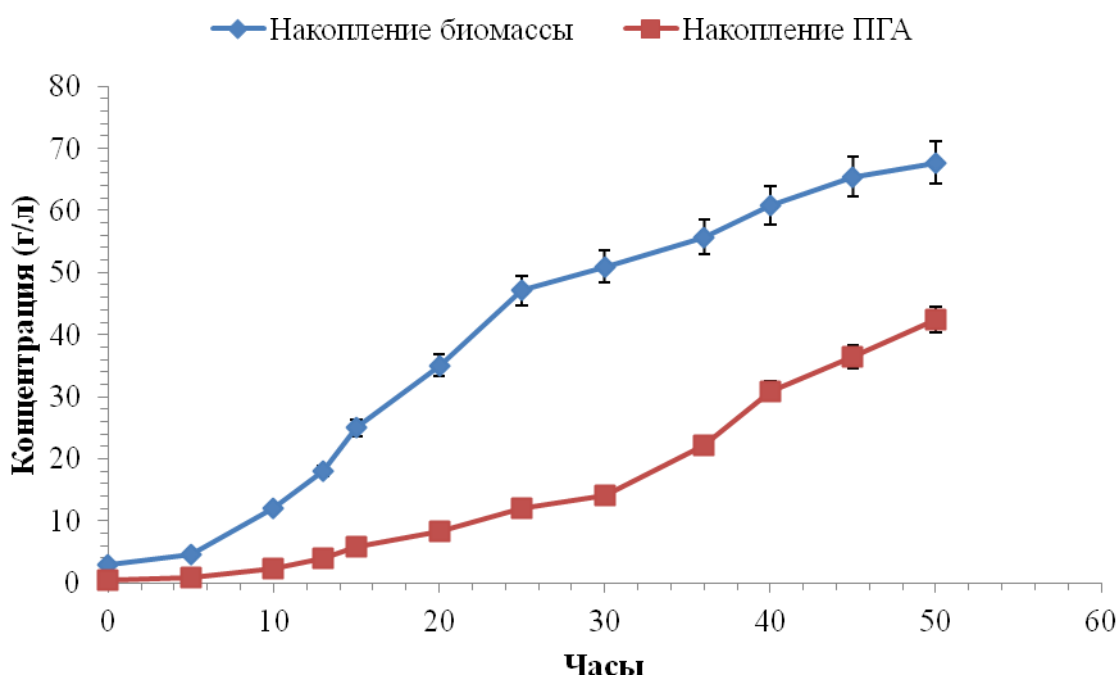


Рисунок 8 – Накопление биомассы и П(ЗГБ) в процессе культивирования бактерий *Cupriavidus eutrophus* B-10646

3.2 Конструирование и характеристики долговременных форм пестицидных препаратов

В ходе эксперимента были сконструированы экспериментальные формы в виде гранул (рисунок 9) содержащие П(ЗГБ)/березовые опилки/гербицид (метрибузин или трибенурон-метил) в соотношении 50/40/10 %.

ВЫВОДЫ

1. Проведен процесс культивирования бактерий *Cupriavidus necator* В 10646 на опытном производстве. Получены и охарактеризованы образцы поли-3-гидроксибутирата для дальнейшего конструирования экспериментальных форм гербицидных препаратов.

2. Сконструированы экспериментальные формы препаратов на основе П(ЗГБ) и древесных опилок с депонированными гербицидами метрибузином (МЕТ) и трибенурон-метилом (ТРИБ). У исходных материалов и готовых экспериментальных форм исследована молекулярная масса, степень кристалличности и температура плавления.

3. Исследование разрушаемости депонированных препаратов в почвенных микросистемах показало, что экспериментальные формы медленно деградируют и длительно функционируют в почве, а также существенно не влияют на численность почвенных микроорганизмов.

4. В лабораторных экспериментах депонированные формы МЕТ и ТРИБ показали выраженную гербицидную активность по отношению ко всем исследованным сорным растениям, их действие сопоставимо с гербицидной активностью препаратов в свободной форме, а в ряде случаев превосходила таковую.

5. Показана эффективность применения экспериментальных форм препаратов гербицидного действия в лабораторных посевах пшеницы и микрополевых посевах Свеклы сорта «Цилиндра» и Томатов сорта «Загадка». Экспериментальные формы превосходили по гербицидному действию коммерческие препараты и способствовали повышению урожайности культур.

6. Исследование функциональной активности фотосинтетического аппарата опытных сорняков показало, что использование экспериментальных форм МЕТ и ТРИБ приводит к более длительному и возрастающему ингибированию по сравнению с коммерческими препаратами во всех проведенных опытах, а также зафиксировано угнетение сорняков на протяжении всего вегетационного периода. Установлено, что экспериментальные формы МЕТ обладают более выраженной гербицидной активностью по сравнению с ТРИБ. Результаты состояния хлорофилл-белковых комплексов исследуемых сорняков показали в целом близкое снижение содержания всех пигментов при их обработке как коммерческими, так и депонированными формами МЕТ и ТРИБ.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Shershneva A.M Antifungal activity of P3HB microparticles containing tebuconazole / A.M. Shershneva, A.V. Murueva, N.O. Zhila, T.G. Volova // Journal of Environmental Science and Health, Part B – 2019 – P. 196-204
2. Lobo, F Poly(Hydroxybutyrate-Cohydroxyvalerate) Microspheres Loaded with Atrazine Herbicide: Screening of Conditions or Preparation, Physico-Chemical Characterization, and In Vitro Release Studies / F. Lobo, C.Aguirre, M. Silva, R. Grillo, N. de Melo, L. Oliveira, L. Morais, V. Campos, A. Rosa, L. Fraceto //Polym. Bull. – 2011 – V. 67 – P. 479–495
3. Zhila N., (2017): Herbicidal activity of slow-release herbicide formulations in wheat stands infested by weeds / N. Zhila, A. Murueva, A. Shershneva, E. Shishatskaya, T. Volova // Journal of Environmental Science and Health, Part B – P. 729-735
4. Wang, Y Preparation and Characterization of Controlled Release Poly(MelamineFormaldehyde) Microcapsules Filled with 2,4-D Isooctyl / Y. Wang, C. Qian, X. Yan, H. Liu // Ester. Int. J. Polym. Mat. Polym. Biomater. – 2017 – V. 66 – P. 963–969
5. Volova T.G. Efficacy of tebuconazole embedded in biodegradable poly-3-hydroxybutyrate to inhibit the development of Fusarium moniliforme in soil microecosystems Release kinetics and fungicidal activity of tebuconazole embedded in P3HB / T.G. Volova, S.V. Prudnikova, N.O. Zhila, O.N. Vinogradova, A.A. Shumilova, E.D. Nikolaeva, E.G. Kiseleva, E.I. Shishatskaya // Pest Management Science – 2017 – V. 73 Is. 5 – P. 925-935
6. Volova T. Poly(3-hydroxybutyrate)/metribuzin formulations: characterization, controlled release properties, herbicidal activity, and effect on soil microorganisms / T. Volova, N. Zhila, E. Kiselev, S. Prudnikova, O. Vinogradova, E. Nikolaeva, A. Shumilova, A. Shershneva, E. Shishatskaya // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2016 – V. 23, [Is. 23](#) – P. 23936–23950
7. Boyandin A.N. Constructing slow-release formulations of metribuzin based on degradable poly(3-hydroxybutyrate) / A. N. Boyandin, N. O. Zhila, E. G. Kiselev, T.G. Volova // J. Agric. Food Chem., Just Accepted Manuscript – 2016 – V. 64. Is.28. – P. 5625 – 5632
8. Volova T.G. Constructing herbicide metribuzin sustained-release formulations based on the natural polymer poly-3-hydroxybutyrate as a degradable matrix / T.G. Volova, N. O. Zhila, O. N. Vinogradova, Elena D. Nikolaeva, Evgeniy G. Kiselev, Anna A. Shumilova, Anna M. Shershneva, E. I. Shishatskaya

// Journal of Environmental Science and Health, Part B – 2016, V. 51, №. 2, P. 113–125

9. Roy A. Controlled pesticide release from biodegradable polymers / A. Roy, S. K. Singh, J. Bajpai, A. K. Bajpai // [Central European Journal of Chemistry](#) – 2014 – V. 12 Is. 4 – P. 453- 469

10. Agustien A. Manufacture of a Slow Release Herbicide of Methyl-Metsulfuron using biopolymer of Poly (3-hydroxybutyrate) as Matrix / A. Agustien, K. Sari, A., A. Fitria, A. Djamaan // *Der Pharma Chemica* – 2016 – V.8, Is.7 – P.105-111

11. Grilloa R. Controlled release system for ametryn using polymer microspheres: Preparation, characterization and release kinetics in water / R. Grilloa, A. do Espirito S. Pereirab, N. Ferreira, S. de Meloa, R. M. Portoc, L. O. Feitosac, P. S. Tonelloa, N. L. Dias Filhod, A. H. Rosaa, R. Lima, L. Fernandes // *Journal of Hazardous Materials* – 2011 – V. 186 – P. 1645–1651

12. Kumar J. Controlled release formulations of metribuzin: Release kinetics in water and soil / J. Kumar , K. Nisar , N. A. Shakil , S. Walia, R. Parsad // *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* – 2010 – V. 45, Is:4 – P. 330-335

13. Sahoo S. Kinetics of metribuzin release from bentonite-polymer composites in water / Sonalika Sahoo, K.M. Manjaiah, S.C. Datta, T.P. Ahmed Shabeer & Jitendra Kumar // *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes* – 2014 – V. 49, Is.8 – P. 591-600

14. Rychter P. PLGA– PEG terpolymers as a carriers of bioactive agents, influence of PEG blocks content on degradation and release of herbicides into soil / Rychter P, Lewicka K, Pastusiak Mał, Domański M, Dobrzyński P // *Polymer Degradation and Stability* – 2019 – V. 161 – P. 95 -107

15. Akmal D Slow release herbicide of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid using a biopolymer as matrix of microcapsule / D. Akmal, N. Suharti, S. Yasin, U. Maria, P. D. Asiska // *J. Chem. Pharm. Res.* – 2015 – V. 7, Is. 9, P. 407-416

16. . Salač J. Slow release formulation of herbicide metazachlor based on high molecular weight poly(lactic acid) submicro and microparticles / .J. Salač, T. Šopík, P. Stloukal, N. Janásová, M. Jursík, M. Koutný // *International Journal of Environmental Science and Technology* – 2019 – V. 16, Is. 10 – P. 6135–6144

17. Alromeed A.A. Slow release formulations of the herbicide MCPA by using clay-protein composites / A. A. Alromeed1, L. Scranio, S. Bufo, T. Undabeytia // [Pest Management Science](#) – 2014 – V. 71, Is.9 – P. 1303-1310

18. Kwiecien I. Biodegradable PBAT/PLA blend with bioactive MCPA-PHBV conjugate suppresses weed growth / I. Kwiecien1, G. Adamus, G. Jiang, I. Radecka, T. C. Baldwin, H. R. Khan, B. Johnston, V. Pennetta, D. Hill, I. Bretz, M. Kowalczyk // *Biomacromolecules* – 2018 – V. 19, Is. 2 – P. 511 -520

19. Sun Y. Controlled Pesticide Release from Porous Composite Hydrogels Based on Lignin and Polyacrylic Acid / Y. Sun, Y. Ma, G. Fang, S. Ren, Y. Fu // *Bioresources* – 2016, V. 11, Is. 1 – P. 2361-2371

20. Sun C Advances in targeted pesticides with environmentally responsive controlled release by nanotechnology / C. Sun, Y. Shen, B. Huang, Z. Zeng, K. Qian, F. Gao, B. Cui, H. Cui, F. Chen, X. Zhao, Y. Wang // *Nanomaterials* -2018 – V. 8, Is. 2 – P.102
21. Шкрабак В. С. Безопасность жизнедеятельности в сельскохозяйственном производстве / В.С.Шкрабак, А.В. Луковников, А. К. Тургиев // М.: Колос - 2002
22. Cloyd R. A. IPM of midwest landscapes: tactics and tools for IPM / chapter 8 pesticide characteristics and use // - 2013 – P. 40–41
23. Fernández-Pérez M Use of bentonite and activated carbon in controlled release formulations of carbofuran / M. Fernández-Pérez, M. Villafranca-Sánchez, F. Flores-Céspedes, F.J. Garrido-Herrera, S. J. Pérez-García // *Agric Food Chem* – 2005 – V. 53 – P. 6697–6703
24. Lewis D.H. Principles of controlled release pesticides / D.H. Lewis, D.R. Cowsar // In: ACS symposium series American Chemical Society -1977 – P. 1–16
25. Ashitha A. Characteristics and Types of Slow/Controlled Release of Pesticides / A. Ashitha, M. Jyothis // In book: *Controlled Release of Pesticides for Sustainable Agriculture* - 2019
26. Connick W.J. (1982) Controlled release of the herbicides 2,4-D and dichlobenil from alginate gels // *J Appl Polym Sci* – 2019 – V. 27 – P. 3341–3348
27. Gan J (1994) Behaviour of an alginate-kaolin based controlled-release formulation of the herbicide thiobencarb in simulated ecosystems / J. Gan, M. Hussain, R. Rathor // *Pestic Sci* – 1994 – V. 42 – P. 265–272
28. Pepperman A.B. Slow release formulations of metribuzin based on alginate-kaolin-linseed oil / A.B. Pepperman, J.C.W. Kuan // *J Control Release* – 1993 – V. 26 – P. 21–30
29. Pepperman A.B. Alginate controlled release formulations of metribuzin / A.B. Pepperman, J.C.W. Kuan, C. McCombs // *J Control release* – 1991 – V. 17 – P. 105–112
30. Nnamonu L.A. Alginate reinforced chitosan and starch beads in slow release formulation of imazaquin herbicide—preparation and characterization / L.A. Nnamonu, R. Sha’Ato, I. Onyido // *Mater Sci Appl* - 2012 – V. 03 – P. 566–574
31. Borzacchiello A. Chitosan-based hydrogels : synthesis and characterization / A. Borzacchiello, L. Ambrosio, P. A. Netti, L. Nicolais, C. Peniche, A. Gallardo, J. Roman // *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* – 2001 – V. 12, Is. 10-12 – P. 861–864
32. Yan H. (2013) Preparation and evaluation of alginate-chitosan-bentonite based beads for the delivery of pesticides in controlled-release formulation / H. Yan, Y. Feng, W. Hu, C. Cheng, R. Liu, C. Wang, J. Li, Q. Lin // *Asian J Chem* – 2013 – V. 25 – P. 9936–9940
33. Sinclair R.G. Slow-release pesticide system polymers of lactic and glycolic acids as ecologically beneficial, cost-effective encapsulating materials // *Environ Sci Technol* - 1973 – V. 7 – P. 955–956

34. Singh, P. Integrated Plastic Waste Management: Environmental and Improved Health Approaches. *Procedia Environ / P. Singh, V.P. Sharma // Procedia Environmental Sciences* – 2016 – V. 35 – P. 692-700
35. . Averous L. Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch, polymer reviews // *J. Macromol. Sci. Part C* – 2004 – V. 44 – P. 231–274
36. Fukui T. Cloning and analysis of the poly(3hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) biosynthesis genes of *Aeromonas caviae* / T. Fukui, Y. Doi // *J. Bacteriol* – 1997 – V. 179 – P. 4821–4830
37. Yasotha K. Recovery of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates (PHAs) through enzymatic digestion treatments and ultrafiltration / K.Yasotha, M. K. Aroua, K. B. Ramachandran, I. Tan // *Biochemical Engineering Journal.* – 2006. – № 30. – P. 260–268.
38. Quines Luci K. M. Methods of extraction of polyhydroxyalkanoates from bacterial biomass / Luci K. M. Quines, Mélodi Schmidt, Kellen Zanfonato, Willibaldo Schmidell e Gláucia M. F. Aragão // *Quím. Nova* vol. 38 – 2015. – P. 1207–1218.
39. Hejazi P. Supercritical fluid disruption of *Ralstonia eutropha* for poly(3-hydroxybutyrate) recovery / P. Hejazi, E. Vasheghani-Farahani, Y. Yamini // *Biotechnology Progress.* – 2003. – №19. – P. 1519–1523.
40. Schlegel G. N. Production of polyhydroxyalkanoic acids by bacteria and their application / G. N. Schlegel, A. Steinbuchel // *Harnessing – Biotechnol. 21st century* – 1992 – P. 94-97
41. Волова Т.Г. Полиоксисалканоаты (ПОА) - биоразрушаемые полимеры для медицины/ Волова Т.Г., Севастьянов В.И., Шишацкая Е.И. – Новосибирск, Издательство СО РАН. – 2003. – С. 330
42. Chen G.Q. A microbial polyhydroxyalkanoates (PHA) based bio- and materials industry // *Chem. Soc. Rev* – 2009 – V. 38 – P. 2434–2446
43. Pizzoli M. Crystallization kinetics and morphology of poly(3-hydroxybutyrate)/ cellulose ester blends / M. Pizzoli, M. Scandola, G. Ceccorulli, // *Macromolecules* – 1994 – V. 27 – P. 4755–4761
44. . Anderson A.J. Occurrence, Metabolism, Metabolic Role, and Industrial Uses of Bacterial Polyhydroxyalkanoates / A.J. Anderson, E.A. Dawes // *Microbiol. Rev.* – 1990 – V. 54 – P. 450–472
45. Tsuge T. Metabolic improvements and use of inexpensive carbon sources in microbial production of polyhydroxyalkanoates // *J. Biosci. Bioeng.* – 2002 – V. 94 – P. 579–584
46. De Koning G.J.M. Crystallization phenomena in bacterial poly[(R)-3-hydroxybutyrate]: Embrittlement and rejuvenation / G.J.M. De Koning, P.J. Lemstra // *Polymer* – 1993 – V. 34 – P. 4089–4094
47. De Koning G.J.M. Crystallization phenomena in bacterial poly[(R)-3-hydroxybutyrate]: Toughening via texture changes / G.J.M. De Koning, A.H.C. Scheeren, P.J. Lemstra // *Polymer* – 1994 – V. 35 – P. 4598–4605
48. Hazer B. Increased diversification of polyhydroxyalkanoates by modification reactions for industrial and medical applications / B. Hazer, A. Steinbuchel // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2007 – V. 74 – P. 1–12

49. Steinbuchel A. Diversity of bacterial polyhydroxyalkanoic acids / A. Steinbuchel, H.E. Valentin // *FEMS Microbiol. Lett.* – 1995 – V. 128 – P. 219–228
50. Tsuge T. Biosynthesis and compositional regulation of poly[(3-hydroxybutyrate)-co-(3-hydroxyhexanoate)] in recombinant *Ralstonia eutropha* expressing mutated polyhydroxyalkanoate synthase genes / T. Tsuge, Y. Saito, Y. Kikkawa, T. Hiraishi, Y. Doi // *Biosynthesis Macromol. Biosci.* – 2004 – V. 4 – P.238–242
51. Abe H. Thermal properties and crystallization behaviors of medium-chain-length poly(3-hydroxyalkanoate)s / H. Abe, N. Ishii, S. Sato, T. Tsuge // *Polymer* – 2012 – V. 53 – P. 3026–3034
52. Fritzsche K. An unusual bacterial polyester with a phenyl pendant group / K. Fritzsche, R.W. Lenz // *Macromol. Chem.* – 1990 – V. 191 – P. 1957–1965
53. E. Bugnicourt. Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging / E. Bugnicourt, P. Cinelli, A. Lazzeri, V. Alvarez // *eXPRESS Polymer Letters* –2014-Vol.8., №.11.– C.791-808
54. Volova T.G. Means of Obtaining a Polymer of b-oxybutyric Acid / T.G. Volova, I.I. Gitelzon, G.S. Kalacheva, V.N. Kuznrtsov, V.F. Shabanov // Patent of Russian Federation for invention, No 2207375 – 2001
55. Kitajima M. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone / M. Kitajima, W.L. Butler // *Biochim Biophys Acta.*- 1975.-Vol. 376.-P. 105-115.
56. Schreiber U. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer / U. Schreiber, U. Schliwa, W. Bilger // *Photosynth Res.* – 1986. – Vol.10. – P. 51–62
57. van Kooten O. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology / O. van Kooten, J. Snel // *Photosynth Res.* – 1990. – Vol.25. – P. 147–150
58. Kramer D.M. New flux parameters for the determination of Q_A redox state and excitation fluxes / D.M. Kramer, G. Johnson, O. Kiirats, G.E. Edwards // *Photosynthesis Res.* – 2004 – Vol. 79. – P. 209–218
59. Корнеев Д.Ю. Информационные возможности метода индукции флуоресценции хлорофилла // “Альтерпрес” – 2002 – 188 с
60. Liu-qing Y. Effect of herbicides on the photosynthetic rate and chlorophyll fluorescence of *Solidago Canadensis* / Y. Liu-qing, L. Fei-yong, Z. Kun // *Advanced Materials Research.* – 2012 – Vols 356-360. – P. 2785-2790
61. Рубин А.Б. Первичные процессы фотосинтеза // *Соросовский Образовательный Журнал.* – 1997 – №10 – С. 79-84
62. Katona E. Photosystem I-dependent cyclic electron transport is important in controlling Photosystem II activity in leaves under conditions of water stress / E. Katona, S. Neimans, K. Siebke, G. Schonknecht, U. Heber // *Photosynth. Res.* – 1992 – Vol.34, №3 – P.449-464.

63. Neubauer C. Photochemical and non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence induced by hydrogen peroxide / C. Neubauer, U. Schreiber // *Z. Naturforsch.* – 1989 – Vol.44, №3/4 – P.262-270
64. Genty B. Regulation of light utilization for photosynthetic electron transport.-In: *Photosynthesis and the Environment*.N.R.Baker (ed) / B. Genty, J. Harbinson // Kluwer Acad. Publishers, Dordrecht. – 1996 – P.67-99
65. Laisk A. Quantum yield and rate constant of photochemical and nonphotochemical excitation quenching. Experiment and model / A. Laisk, V. Oja, B. Rasulov, H. Eichelmann, A. Sumberg // *Plant Physiol.* – 1997 – Vol.115,№2 – P. 803-815
66. Ahrens W.H. Chlorophyll fluorescence assay for determination of triazine resistance / W.H. Ahrens, C.J. Arntzen, W.E. Stoller // *Weed Sci.* – 1981 – Vol.29 – P. 316-322
67. Ali A. Rapid detection of triazine resistant weeds using chlorophyll fluorescence / A. Ali, V.S. Machado // *Weed Res.* – 1981 – Vol.21 – P. 191-197
68. Richard E.P. Determination of herbicide inhibition of photosynthetic electron transport by fluorescence / E.P. Richard, J.R. Goss, C.J. Arntzen, F.W. Slife // *Weed Sci.* – 1983 – Vol.32 – P. 361-367
69. Bahler C.C. Using leaf fluorescence for evaluating atrazine tolerance of three perennial warm-season grasses / C.C. Bahler, L.E. Moser, K.P. Vogel // *J. Range Management.* – 1987 – Vol.40,№2 – P. 148-151
70. Караваев В.А. Изменение индукции флуоресценции листьев высших растений в присутствии метилвиологена и диурона / В.А. Караваев, А.К. Кукушкин, Т.Л. Шагурина, М.К. Солнцев // *Биофизика* – 1985 – Т.30 – С.661-665
71. Soskic M. Inhibition of the Hill reaction by 2-methylthio-4,6-bis (monoalkylamino)-1,3,5-triazines A QSAR study / M. Soskic, D. Plavsic, N. Trinajstic // *J. Mol. Struct.* – 1997 – Vol. 394 – P. 57–65
72. Kornerova M. [The Effect of Irradiance on Hill Reaction Activity of Atrazine-resistant and -susceptible Biotypes of Weeds](#) / M. Kornerova, D. Hola, D. Chodova // *Photosynthetica* – 1998 – Vol.35. – P. 265–268
73. Follak S. Effect of airborne bromoxynil–octanoate and metribuzin on non-target plants / S. Follak, K. Hurle // [Environmental Pollution.](#) – [2003](#) – [Vol.126,№2](#) – [P. 139-146](#)
74. Lichtenthaler H. K. Reflectance spectra and images of green leaves with different tissue structure and chlorophyll content / H. K. Lichtenthaler, C. Buschmann, S. Lenk // [Israel Journal of Plant Sciences](#) – 2001 – Vol.60 – P. 49-54
75. Дремова М.С. Изменение хлорофилльных показателей в растениях яровой пшеницы при обработке посевов гербицидными препаратами // *Вестник алтайского государственного аграрного университета* – 2009 – Т. 6, № 56 – С. 10-13
76. Frankart C. Comparative effects of four herbicides on non-photochemical fluorescence quenching in *Lemna minor* / C. Frankart, P. Eullaffroy, G. // *Verne Environmental and Experimental Botany* – 2003 – Vol. 49– P. –159-168

77. Reupert R Bestimmung stickstoffhaltiger Pflanzenbehandlungsmittel in Trink-, Grund- und Oberflächengewässern / R. Reupert, E. Ploger // *Vom Wasser* – 1989. – Vol. 72. – P. 211-233.
78. Renger G Herbicide interaction with photosystem II: recent developments // *Physiol. Veg.* – 1986. – Vol. 24. – P. 509-521.
79. Van Reensen J.J.S. (1982) Molecular mechanism of herbicide action near photosystem II // *Physiol. Plant.* – 1982. – Vol. 54. – P. 515-521.
80. Fedtke C. Biochemistry and physiology of herbicide action // Springer Verlag, Berlin, Heidelberg. – 1982. – P. 23-49.
81. Draber W. (1991) Herbizide in der Photosyntheseforschung / W. Draber, J.F. Kluth, K. Tietjen, A. Trebst // *Angew. Chem.* – 1991. – Vol. 103. – P. 1650 - 1663.
82. Sayk F. Schmidt C. Algen-Fluoreszenz-Automat, eine computergesteuerte Biotest-Meßapparatur / F. Sayk, C. Schmidt // *Z. Wasser Abwasser Forsch.* – 1986. – Vol. 19. – P. 182-184.
83. Schmidt C Actual standard and further development of an algal fluorescence bioassay // *Ecotoxicology and Environmental Safety.* – 1983. – Vol. 7. – P. 276-283.
84. Dai Y.J. Effects of shade treatments on the photosynthetic capacity, chlorophyll fluorescence, and chlorophyll content of *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg / Y.J. Dai, Z.G. Shen, Y. Liu, L.L. Wang, D. Hannaway, H.F. Lu // *Environ Exp Bot.* – 2009. – Vol. 65(2-3) / - P. 177-182.
85. Agostinetto, D. Changes in Photosynthesis and Oxidative Stress in Wheat Plants Submitted to Herbicides Application / D. Agostinetto, L.T. Perboni, A.C. Langaro, J. Gomes, D.S. Fraga, J.J. Franco // *Planta Daninha.* – 2016. – Vol. 34, № 1. – P. 1-9.
86. Bigot A. Effect of the herbicide flumioxazin on photosynthetic performance of grapevine (*Vitis vinifera* L.) / A. Bigot, F. Fontaine, C. Clément, N. Vaillant-Gaveau // *Chemosphere.* – 2007. – Vol. 67. – P. 1243–1251.
87. Sun L. Effects of bensulfuron-methyl residue on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in leaves of cucumber seedlings / L. Sun, H. Xu, H. Hao, S. An, C. Lu, R. Wu // *PLoS ONE.* – 2019. – Vol. 14, № 4.
88. Медведев С. С. Физиология растений: учебник. — СПб.: БХВ-Петербург, 2012. — С. 36-45.
89. Пен Р.З. Планирование эксперимента в Statgraphics Centurion / Р. З. Пен. – Красноярск : СибГТУ, 2014 – 293 с.
90. Preisler A. C. Atrazine nanoencapsulation improves pre-emergence herbicidal activity against *Bidens pilosa* without enhancing long-term residual effect on *Glycine max* / A. C. Preisler, A. E. S. Pereira, E. V. R. Campos, G. Dalazen, L. F. Fraceto, H. C. Oliveira // *Pest Manag Sci.* – 2019. – Vol. 75.
91. Д. А. Сырвачева Микробиологический синтез и характеристика полигидроксиалканоатов, содержащих мономеры среднецепочечного 3-гидроксигексаноата : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.03 / Сырвачева Дарья Анатольевна. - Красноярск, 2016. - 138 с.

92. Киселев Е. Г. Масштабирование технологии синтеза биodeградируемых полигидроксиалканоатов в условиях опытного производства / Е. Г. Киселев, А. В. Демиденко, С. В. Барановский, Т. Г. Волова // Журнал Сибирского Федерального Университета. Сер. 2. Биология. - 2014. - № 7 — С. 134-147.
93. Справочник по пестицидам (токсиколого-гигиеническая характеристика). Выпуск 1. под редакцией академика РАН В.Н. Ракитского. М.: Изд-во Агрорус, 2011.
94. Gerwick B.C. Rapid diagnosis of ALS AHAS-resistant weeds/ B.C. Gerwick, L.C. Mireles, R.J. Eilers // Weed Technol. 1993 Vol. 7. P. 519–524.
95. Zhou, Q., Liu, W., Zhang, Y., and Liu, K. K. Action mechanisms of acetolactate synthase-inhibiting herbicides/ Q. Zhou, W. Liu, Y. Zhang, and K. K. Liu // Pest Biochem. Physiol. 2007. Vol. 89. P. 89–96.
96. Liu X.Q. Acetolactate synthase-inhibiting gametocide amidosulfuron causes chloroplast destruction, tissue autophagy, and elevation of ethylene release in rapeseed // Front. Plant Sci. 2017. Vol. 8. P. 1–20.
97. Kim, J. S. Death mechanisms caused by carotenoid biosynthesis inhibitors in green and in undeveloped plant tissues. // Pestic. Biochem. Physiol. 2004. Vol. 78 (1). P. 127–139.
98. Boussiba, S. Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: Cellular physiology and stress response // Physiologia planetarium. 2000. Vol. 108 (2). P. 111-117.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Фундаментальной биологии и биотехнологии

институт

Базовая кафедра биотехнологии

кафедра

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

М. Волкова Т.Г. Волова
подпись инициалы, фамилия

« 07 » июля 2020 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Конструирование и исследование эффективности гербицидных препаратов
пролонгированного действия на основе П(ЗГБ)

тема

06.04.01 Биология

код и наименование направления

06.04.01 – 01 Микробиология и биотехнология

код и наименование магистерской программы

Научный руководитель

С.В. Барановский
подпись, дата

к.т.н, доцент

должность, ученая степень

С.В. Барановский

инициалы, фамилия

Выпускник

О.Д. Петровская
подпись, дата

О.Д. Петровская

инициалы, фамилия

Рецензент

В.А. Кожухов
подпись, дата

к.т.н, доцент

должность, ученая степень

В.А. Кожухов

инициалы, фамилия

Красноярск 2020