



## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	5
1.1. Общая характеристика фунгицидов	5
1.2. Характеристика исследуемых фунгицидов	6
1.2.1. Дифеноконазол	6
1.2.2. Азоксистробин	7
1.2.3. Протиоконазол	8
1.2.4. Металаксил	8
1.3. Влияние пестицидов на окружающую среду	9
1.4. Системы контролируемого высвобождения препаратов в сельском хозяйстве	11
1.5. Биоразрушаемые полимеры, используемые для конструирования агропрепаратов	13
1.6. Характеристика ПГА и их применение в сельском хозяйстве	18
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	21
2.1. Общий план эксперимента	21
2.2. Изготовление депонированных форм фунгицидов	22
2.3. Исследование динамики биodeградации депонированных форм фунгицидов в почве	23
2.4. Исследование динамики численности бактерий и микромицетов в ходе биodeградации депонированных форм фунгицидов	24
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	25
3.1. Исследование динамики биodeградации малых депонированных форм фунгицидов в почве	25
3.2. Исследование динамики биodeградации больших депонированных форм фунгицидов в почве	26
3.3. Исследование динамики численности бактерий в ходе биodeградации больших депонированных форм фунгицидов	28

3.4. Исследование динамики численности бактерий в ходе биodeградации малых депонированных форм фунгицидов	29
3.5. Исследование динамики численности микромицетов в ходе биodeградации малых депонированных форм фунгицидов	30
3.6. Исследование динамики численности микромицетов в ходе биodeградации больших депонированных форм фунгицидов	31
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	33
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	34

## ВВЕДЕНИЕ

Патогенные организмы, вызывающие различные болезни у растений, могут привести в негодность огромное количество сельскохозяйственных культур и продукции, что критически сказывается на уровнях урожайности и доходов. [2]

Пестициды (гербициды, уничтожающие сорняки; инсектициды, уничтожающие насекомых-вредителей; фунгициды, уничтожающие патогенные грибы; и т. д.) — химические вещества, предназначенные для уничтожения или контроля патогенных организмов, в последние годы стали применяться все чаще и более широко. Это способствует улучшению производства в сельскохозяйственном секторе за счет значительного снижения риска катастрофических потерь урожая. Известно, что большая часть возделываемых культур, таких как зерновые, более всего восприимчивы к грибковым инфекциям, что приводит к необходимости использовать фунгициды чаще, чем любой другой класс пестицидов. Так, в 2004 году в Великобритании на долю фунгицидов приходилось 36% от общей площади обработанных пестицидами пахотных сельскохозяйственных культур, а во всем мире только в 1996 году на фунгициды было потрачено до шести миллиардов долларов США. [1]

Несмотря на масштабное применение фунгицидов, некоторые исследования указывают, что лишь небольшая часть активного вещества (10%) имеет прямое воздействие на патогенные микроорганизмы, в то время как основное количество даже не попадает в предназначенную цель. Это приводит к загрязнению сред, в том числе водной, а также к угнетению жизнедеятельности непатогенных микроорганизмов. [4;3]

Негативные последствия использования пестицидов главным образом связаны между собой. При этом возрастает вероятность отдаленных последствий, обусловленных патологическим и генетическим действием ряда препаратов на биоту. Остатки пестицидов концентрируются и

распространяются в трофических цепях; имеет место их вынос за пределы обрабатываемых территорий.

Известно, что уровень плодородия зависит не только от количества содержания в почве гумуса и комплексов питательных и минеральных веществ; не менее важными являются показатели ферментативной и микробиологической активности, которые и определяют основные биохимические свойства почвы. [45]

В настоящее время существует решение данных проблем в виде применения пестицидов в депонированной форме пролонгированного действия на основе биоразрушаемых полимеров. Таковыми являются безопасные для окружающей среды полигидроксиалканоаты (ПГА), синтезируемые различными бактериями и разрушаемые ими. Использование таких полимеров в качестве основы для депонированных форм пестицидов обеспечивает минимизирование ущерба от действия активного вещества, а также снижает неконтролируемое распространение ксенобиотиков в биосфере. [43]

Целью работы являлось исследование влияния фунгицидов, депонированных в биоразрушаемые гранулы на основе смеси поли(3-гидроксибутирата) и опилок, на почвенную микрофлору в процессе биодegradации гранул.

В задачи исследования входило:

1. Изготовление гранул различных размеров из смеси поли(3-гидроксибутирата) и опилок с добавлением активного вещества – фунгицида (дифеноконазола, азоксистробина, металаксила, протиоконазола и комбинации азоксистробина и металаксила).
2. Исследование динамики биодegradации гранул в почвенных микроэкосистемах.
3. Исследование динамики численности почвенных бактерий и микровицетов в ходе биодegradации гранул.

# ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

## 1.1. Общая характеристика фунгицидов

Фунгицид — вещество химического или биологического происхождения, предназначенное для борьбы с заболеваниями растений.

Сама классификация фунгицидов является условной, так как один и тот же препарат может проявлять различные свойства в зависимости от вида культуры и разнообразия самих патогенов. Проявление тех или иных признаков также зависит от концентрации вещества, локализации, а также сроках его применения. [13]

По характеру распределения в растениях фунгициды бывают:

1) Контактные (они же протектанты), которые не поглощаются растением, а взаимодействуют на его поверхности. Они обеспечивают защитный барьер, который предотвращает проникновение патогена и повреждение тканей растений. Большая часть фунгицидов именно контактные: производные дитиокарбаминовой кислоты, препараты на основе меди, серы и т.д.

2) Системные препараты (также известные как пенетранты) проникают внутрь растения и могут перемещаться из первоначального места в другие его части. Стоит отметить, что мобильность зависит от вида фунгицида: он может перемещаться в старые и новые ткани (амфимобильный, или истинный системный), по ксилеме (акропетальный), перемещаться сверху вниз по поверхности листа (трансламинарный). Такой класс фунгицидов «обнаруживает» патогены и уничтожает их (производные триазола, бензимидазола, оксатиина). [54]

По характеру действия фунгициды делятся на следующие группы:

1) Профилактические фунгициды, предотвращающие попадание грибка в растение. Такой класс пестицидов должен вступать в непосредственный контакт с патогеном. Более того, его необходимо

повторно наносить на новые ткани растения по мере распускания листьев и при смыве лекарства.

2) Лечебные фунгициды, воздействующие на грибок после заражения. Это означает, что они могут остановить болезнь после начала заражения или после проявления первых симптомов. Фунгициды, способные перемещаться в растениях, могут быть как профилактическими, так и лечебными.

3) Иммунизирующие фунгициды, повышающие устойчивость растений к действию патогенов.

По избирательности действия на возбудителя фунгициды разделяют на две группы:

1) Препараты, эффективные в отношении ложномучнисто-росяных грибов (класс Оомицеты, порядок Переноспоровые).

2) Препараты, действующие против мучнисто-росяных грибов (класс Аскомицеты, порядок Эризифоровые).

Средства, входящие в эти группы, токсичны и для многих других возбудителей. Довольно большая часть фунгицидов проявляют активность как против настоящей мучнистой росы, так и против ложномучнисто-росяных грибов. К ним относятся производные фосфорной кислоты, а также стробилурины (например, азоксистробин). [44]

## **1.2. Характеристика исследуемых фунгицидов**

### **1.2.1. Дифеноконазол**

Дифеноконазол — это фунгицид широкого спектра действия, который контролирует жизнедеятельность представителей семейств аскомицетов, базидиомицетов и дейтеромицетов. Он используется в качестве средства для обработки семян, внекорневого опрыскивания, а также в роли системного фунгицида. Дифеканозол всасывается через поверхность зараженного растения и переносится во все его части, обладая и лечебным, и

профилактическим действием. Он способен предотвращать такие заболевания, как: бурая ржавчина пшеницы и ржи, светлая листовая пятнистость, листовая пятнистость, пятнистость стручков, кольцевая пятнистость и стеблевой рак. Он также предотвращает обесцвечивание колоса у озимой пшеницы. Действие дифеноконазола заключается в ингибировании деметилирования стеролов, например, эргостерола клеточной мембраны, что приводит к нарушению развития микроорганизма. [23]

### **1.2.2. Азоксистробин**

Азоксистробин — это синтетический фунгицид с новым биохимическим способом действия. Его синтез был вдохновлен группой природных продуктов, стробилуринов, которые производятся несколькими видами грибов базидиомицетов, растущих на разлагающейся древесине. Азоксистробин имеет общий биохимический принцип действия с природными стробилуринами. Он демонстрирует крайне широкий спектр активности против грибковых патогенов из всех четырех таксономических групп — оомицетов, аскомицетов, дейтеромицетов и базидиомицетов. [12]

Азоксистробин воздействует на митохондрии, связываясь с комплексом цитохрома bc<sub>1</sub>, тем самым предотвращая перенос электронов и производство энергии посредством окислительного фосфорилирования. Азоксистробин не обладает перекрестной устойчивостью к другим сайт-специфическим фунгицидам, таким как бензимидазолы или фениламиды, что делает его эффективным инструментом в борьбе с резистентностью, которая часто является существенным фактором при выборе фунгицидных препаратов. [54]

### **1.2.3. Протиоконазол**

Протиоконазол — синтетическое соединение семейства триазолинтенонов. Это системный фунгицид широкого спектра действия, обладающий лечебным и профилактическим действием. Его можно использовать при обработке как семян, так и внекорневой системы. После поглощения растением он перемещается в клетки целевых организмов,



воздействуя на биосинтез стеролов и, тем самым, нарушая целостность структуры мембран. Это в конечном итоге влияет на рост гифы и удлинение зародышевой трубки. К протиоконазолу чувствительны такие грибы, как *Mycosphaerella arachidis*, *Rhizoctonia cerealis*, *Fusarium spp.*, мучнистая роса, *Drechslera teres*, *Rhynchosporium secalis*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Septoria tritici*, *Septoria nodorum*. Протиоконазол одобрен для применения на ячмене, твердой пшенице, овсе, масличном рапсе (озимом), ржи (озимой) и пшенице. Протиоконазол продается в комбинации с другими многочисленными фунгицидами, включая бифаксен, спирокарбамин, тебуконазол, флуоксастробин и трифлуксистробин. [44]

#### **1.2.4. Металаксил**

Металаксил относится к классу ацилаланиновых системных фунгицидов. Он эффективен против оомицетов и некоторых видов пушистой мучнистой росы. Металаксил широко используется для обработки почвы и семян, а также для борьбы с семенной гнилью и стеблевыми заболеваниями на однолетних и многолетних растениях. Поскольку применение металаксила уже привело к появлению устойчивых к нему штаммов некоторых патогенов, рекомендуется использовать его в сочетании с другими фунгицидами широкого спектра действия. [44]

### **1.3. Влияние пестицидов на окружающую среду**

На данный момент развитие сельского хозяйства невозможно представить без использования пестицидов. Для получения высоких урожаев культурных растений применяются различные химикаты, которые позволяют защитить растения от вредителей (насекомых, сорных растений и фитопатогенных грибов), а также обеспечить необходимыми питательными веществами (азот, фосфор и др.) Стоит отметить, что применение пестицидов имеет и свои недостатки: химикаты, которые вносятся в почву для

повышения продуктивности растений, через некоторое время начинают ее снижать.

Почва представляет собой не только набор питательных веществ, которые необходимы для развития растений, но и одним из основных резервуаров живых организмов на Земле, которые и обеспечивают ее плодородные свойства. В 1 грамме почвы содержатся миллионы микроорганизмов, участвующие в создании плодородного слоя. Они обеспечивают трансфер веществ из одной формы в другую, более удобную для усвоения растениями, таким образом, обеспечивая круговорот веществ в природе. Чем выше численность и разнообразнее видовой состав почвенных микроорганизмов, тем лучше само плодородие почвы. [33]

Несмотря на высокую специфичность современных пестицидов, избежать отрицательного воздействия на непатогенные почвенные микроорганизмы довольно сложно, так как принцип действия этих препаратов основан на нарушении синтеза важных и необходимых для жизни патогенов веществ, которые также присутствуют и в клетках нецелевых микроорганизмов.

Основные критерии, по которым оценивается влияние пестицидов на микроорганизмы — это дыхание почвы, нитрификация, азотфиксация, аммонификация, активность уреазы, протеазы и фосфотазы. Также оценивается численность микроорганизмов и их видовой состав: ведь чем ниже данные показатели, тем хуже качество почвы.

Длительное применение пестицидов приводит к значительному снижению численности микроорганизмов в почве, а также к нарушению динамики численности и изменению видового состава эндофитных микроорганизмов, выполняющих защитные функции. [2]

В данной работе были использованы такие фунгициды, как азоксистробин, дифеноконазол, металаксил и протиоканазол. Эти вещества приводят к снижению численности микроорганизмов и их разнообразия, если применяются в дозах, превышающие рекомендованные.

Известно, что пестициды негативно влияют не только на почвенные микроорганизмы, но и на животных: распространение подобного рода загрязнений приводит к их гибели. Несмотря на то, что в первую очередь страдают почвенные обитатели, более чувствительными к воздействию химикатов являются насекомые-опылители, например, пчелы. [2]

Пестициды загрязняют не только сельскохозяйственный сектор. Они, вымываясь с поверхности, вместе с грунтовыми водами попадают на необработанные участки почвы, а также в водоемы, становясь поллютантами различной степени загрязнения. Стоит отметить, что попадание пестицидов в водную среду является более серьезной проблемой, чем загрязнение почв. Некоторые исследования показывают, что водные экосистемы намного чувствительнее к воздействию химикатов.

Существует еще одна серьезная проблема, связанная с массовым применением пестицидов, — развитие резистентности (устойчивости) организмов-мишеней. Однако внедрение химикатов в таких объемах является больше необходимостью, чем неразумным использованием. Связано это все с той же слабой доступностью активных веществ, о которой была информация выше. [32]

Не стоит забывать, что аккумуляция пестицидов в почве может приводить к их накоплению в растениях, для защиты которых они и используются, что приводит к повышенному содержанию химикатов в продуктах питания. Более того, пестициды могут накапливаться в различных органах животных, например, в печени рыб или в жировых отложениях млекопитающих, что, при употреблении в пищу человеком приводит к его отравлению. Исследования показывают, что некоторые виды пестицидов могут приводить к нарушению в работе жизненно важных органов, а также вызывать онкологические заболевания. [2]

Для снижения темпов загрязнения окружающей среды пестицидами предлагается использовать препараты, позволяющие осуществлять адресную доставку активных веществ. Они обладают пролонгированным действием,

что повышает их эффективность, а также позволяет снизить количество используемых пестицидов.

#### **1.4. Системы контролируемого высвобождения препаратов в сельском хозяйстве**

Системы контролируемого высвобождения препаратов или системы адресной доставки — препаративная форма, которая состоит из пестицида, особым образом заключенного в инертную оболочку. Такие системы обеспечивают контролируемый выход активного вещества в окружающую среду за счет его постепенного высвобождения из инертной оболочки, а также пролонгированный эффект, повышающий эффективность с течением времени. Подобные системы защищают активное вещество от влияния агрессивных внешних факторов, которые приводят к деградации самой оболочки. Нельзя не отметить, что методы адресной доставки веществ не является новинкой: похожие технологии успешно используются в таргетной медицине, для доставки живых микроорганизмов, а также генетического материала внутрь клетки. [5]

В качестве инертной оболочки в таких системах можно использовать вещества различной природы. Это могут быть как простые неорганические соединения, например, кремнезем, цеолит, оксиды различных металлов, так и сложные полимерные молекулы природного происхождения: полисахариды (целлюлоза, агароза, альгинаты, крахмал, хитозан и др.), белки (желатин, альбумин), липиды (мицеллы). Также в качестве инертного вещества могут выступать синтетические материалы — полистирол, полиакриламид, полиамиды, полиэфиры, полиуретаны, аминокальдегидные смолы.

Важными свойствами для веществ, используемых в качестве основы для депонирования, являются их способность к биodeградации, нетоксичность самих материалов и продуктов их распада.

Контролировать выход активного вещества из основы для депонирования возможно благодаря способности данных материалов или систем на их основе к деградации — в зависимости от скорости разложения будет варьировать и скорость выхода активного вещества. Также данный параметр зависит от формы препарата и его размеров, которые могут быть различные: микрокапсулы, микрочастицы (гранулы), микросферы. Эти препараты отличаются техникой производства, что отражается на характере распределения активного вещества в самой системе. Так, в микрокапсулах пестициды расположены в центре и окружены снаружи полимерной основой или другим материалом, в микросферах активное вещество формирует множество ядер, а в микрочастицах оно распределяется в объеме основы для депонирования. Также существует препаративная форма в виде нанокапсул и наносфер, отличающиеся меньшими размерами, не превышающие 1 мкм. [43]

Активное вещество и материал, используемые для депонирования, могут быть связаны посредством химических связей или же вовсе их не иметь. Таким образом, выделяют препараты, основанные на химической или физической упаковке активного вещества. При использовании систем на основе химической упаковки активное и инертное вещества, как уже говорилось выше, связываются между собой за счет образования химических связей. Образовавшееся соединение может обладать совершенно иными свойствами, по сравнению со своими предшественниками, поэтому требуются его дополнительные исследования. Известно, что не все материалы способны вступать в реакцию друг с другом из-за отсутствия свободных функциональных групп, для получения которых требуется предварительная обработка материала, что в перспективе усложняет процесс создания препаратов. Высвобождение активного вещества из таких систем происходит за счет разрушения химических связей между активным и инертным веществами под действием различных внешних факторов. [12]

Системы физической комбинации позволяют избежать вышеперечисленных проблем, что делает их более простыми для

конструирования и применения. Релиз активного вещества из таких систем осуществляется благодаря диффузионным процессам из основы для депонирования, зависящее от соотношения активного и инертного вещества в препарате и от скорости деградации самой полимерной основы. Благодаря простоте создания таких систем и возможности напрямую варьировать скорость выхода активного вещества в удобных пределах, они находят широкое применение на практике. [54]

### **1.5. Биоразрушаемые полимеры, используемые для конструирования агропрепаратов**

В предыдущем параграфе было описано, что собой представляет адресная доставка и её преимущества по сравнению с традиционными способами обработки растений. Как уже говорилось выше, активное вещество помещается в основу для депонирования, которая и позволяет контролировать выход вещества в окружающую среду. Наиболее перспективными материалами для создания таких систем на данный момент являются биоразрушаемые полимеры. [2]

Главное преимущество биоразрушаемых полимеров перед другими материалами, используемыми для депонирования, является их способность к деградации под воздействием различных факторов окружающей среды, в том числе ферментов микроорганизмов.

Биоразрушаемые полимеры имеют различное происхождение, это могут быть как синтетические полимеры, так и полимеры природного происхождения. [2]

Синтетические полимеры разлагаются в окружающей среде за счет своей способности поглощать влагу. Под ее воздействием синтетики разбухают и увеличиваются в объеме, что приводит к образованию микротрещин. Через микротрещины вода поступает в ещё больших объемах, что приводит к гидролизу полимера, а также его деградации. Чем лучше

поглощающая способность полимера, тем выше скорость его деструкции. Примерами таких полимеров являются оксипроизводные монокарбоновых кислот, например, полилактид, полигликолид, а также их комбинации. Данные полимеры хорошо подвергаются деструкции, а их сополимеры подвержены более быстрому гидролизу, что уменьшает сроки их разложения [4].

В одном из исследований системы доставки на основе полилактида в комбинации с полибутиленсукцинатом для депонирования фунгицидов дифеноконозола и азоксистробина показали свою более высокую эффективность и безопасность в сравнении с коммерческими препаратами в свободной форме.

Еще одним примером синтетических биоразрушаемых полимеров являются полиуретаны. Полиуретаны — это большое семейство полимеров, имеющих различное строение и степень сложности, что также отражается на разнообразии их свойств и, как следствие, на способности к биоразрушаемости. Примером использования данной группы полимеров в качестве основы для депонирования является эксперимент по включению инсектицидного препарата в основу из полиуретана. В данном исследовании была получена наноэмульсия, обеспечивавшая пролонгированный инсектицидный эффект и большую сохранность на листьях после обработки [36].

Биоразлагаемые полимеры природного происхождения также широко используются для конструирования систем адресной доставки и контролируемого высвобождения пестицидов. Данная группа веществ разлагается в окружающей среде под воздействием ферментов микроорганизмов. Благодаря своему природному происхождению такие полимеры не загрязняют окружающую среду продуктами своего распада, а утилизируются и разлагаются до углекислого газа и воды благодаря включению в метаболические пути почвенного микробиоценоза.

Скорость высвобождения активного вещества можно регулировать благодаря вариабельности свойств полимеров, а также за счет применения различных техник изготовления препаративных форм и комбинаций полимеров [35].

Для создания агропрепаратов наиболее широко используются такие биополимеры как хитозан, альгинат, лигнин и целлюлоза [31]. Однако они имеют существенные недостатки с точки зрения производства — стоимость их синтеза, а также сложности с регулированием скорости деградации в почве.

Несмотря на подобные трудности, поиски оптимальных решений для работы с данными природными полимерами все еще ведутся.

Продолжая тему таргетных систем природного происхождения, нельзя не отметить такой полимер, как лигнин, который часто используется в комбинации с другими веществами, что позволяет достигать оптимальных характеристик форм для депонирования.

В одном из исследований для снижения негативного воздействия выщелачивания почв под действием гербицидов (метрибузина и хлоридозона) были созданы системы с контролируемым высвобождением препаратов на основе лигнина и полиэтиленгликоля, в последствии покрытые этилцеллюлозой и дибутилсебацинатом. Полученные формы продолжительное время поддерживали концентрацию гербицидов на необходимом для их работы уровне и оказывали меньший выщелачивающий эффект по сравнению с гербицидами в свободной форме.

Другим примером использования лигнина в качестве основы для депонирования является упаковка инсектицида имидаклоприда в комбинации с полиэтиленгликолем в оболочке из этилцеллюлозы. Было подтверждено, что полученный препарат обладают пролонгированным инсектицидным эффектом, не уступающим по качеству препаратам в свободной форме [34].



Еще один полимер, который может использоваться для создания агропрепаратов с контролируемым выходом — хитозан [42, 47].

Фунгицидный препарат гексаконазол полученный на основе хитозана и триполифосфата. обеспечивал замедленный выход активного вещества из полимерной основы. Данный препарат доказал свою эффективность в эксперименте и *in vitro*, и в почве. Также была оценена его цитотоксичность, которая оказалась ниже, чем у препаратов в свободной форме [46].

Следующий полимер — это альгинат. Он также, как и предыдущие представители этого класса веществ, может быть использован в качестве основы для депонирования пестицидов [24]. В качестве примера можно привести исследование, в ходе которого были сконструированы нанокапсулы инсектицидного препарата ацетамиприда на основе альгината и хитозана. Возможность использования таких препаратов для адресной доставки инсектицида была показана как в экспериментах *in vitro*, так и в экспериментах в почве [52].

В качестве биополимерной основы для депонирования пестицидов может быть использована целлюлоза. Примером такого использования является исследование эффективности гербицида атразина, депонированного в этилцеллюлозу. В ходе этого исследования было показано, что такие препараты оказывают пролонгированное действие в борьбе с сорными растениями, что позволяет сократить количество используемого пестицида, тем самым снизив нагрузку на окружающую среду [39].

Еще одним полимером, который может быть использован в системах адресной доставки пестицидов, является крахмал. В ходе одного из исследований, посвященных созданию препаратов с контролируемым выходом действующего вещества, были получены инсектицидные препараты с активным веществом авермектином в виде микрокапсул. Полученные препараты хорошо зарекомендовали себя на начальных этапах исследования, показав возможность их использования для адресной доставки пестицидов [29].

В приведенных выше примерах практически все полимеры использовались в комбинации с одним или даже несколькими полимерами, в связи с этим для создания различных препаративных форм приходилось использовать довольно сложные методы. Это связано с малой вариабельностью свойств используемых полимеров, что не давало регулировать скорость их деградации в полном объеме, а значит и скорость релиза активных веществ.

В качестве альтернативы для вышеперечисленных природных полимеров, применявшихся в области создания современных агропрепаратов с контролируемым выходом активного вещества, могут быть использованы полигидроксиалканоаты. Это полимеры природного происхождения, которые биodeградируют в окружающей среде, например, в почве, под действием ферментов микроорганизмов. Они обладают широким спектром свойств, который можно адаптировать под необходимые условия, меняя условия синтеза, а также саму обработку полимера.

## **1.6. Характеристика ПГА и их применение в сельском хозяйстве**

Полигидроксиалканоаты (ПГА) — это линейные полиэфиры, синтезируемые прокариотическими микроорганизмами в специфических условиях несбалансированного роста.

ПГА — резервные макромолекулы клетки, синтезирующиеся при недостатке биогенных веществ, например, азота или фосфора. Синтезировать полигидроксиалканоаты способны различные виды бактерий, которые накапливаются их в виде гранул. В зависимости от условий культивирования, субстрата и вида продуцента может накапливаться различное количество полимера, в среднем до 90% от массы самой клетки.

ПГА являются биоразрушаемыми полимерами. Они разлагаются в окружающей среде под действием ферментов микроорганизмов. Среди микроорганизмов-деструкторов ПГА выделяют как бактерии, так и грибы.

Встречаются аэробные и анаэробные представители, обитающие в почве, морской и речной воде, а также в активном иле. Наиболее часто встречаются среди бактерий-деструкторов представители следующих родов: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Comamonas*, *Rhodococcus*, *Rhodocyclus*, *Syntrophomonas*. Среди грибов способность к деструкции ПГА проявляют 16 видов *Ascomycetes*, 46 — *Basidomycetes*, 26 — *Deuteromycetes*, 2 — *Zygomycetes*, а также *Myxomycetes*, *Mastigomycetes*, *Penicillium* и *Fusarium*. Стоит отметить, что способность к деструкции ПГА обладает от 0,5 до 9,6% микроорганизмов окружающей среды [3, 51, 53].

Способность к деструкции данной группы полимеров определяется наличием ферментов класса гидролаз и деполимераз.

ПГА используются микроорганизмами в качестве экзогенного источника углерода и энергии. Деструкция ПГА осуществляется экзодеполимеразами. Они обладают необходимыми характеристиками для использования в качестве основ для депонирования: стабильность по отношению к рН и ионной силе среды, устойчивость к перепадам температур, относительная небольшая молекулярная масса (менее 100 кДа). Деполимеразы грибов и бактерий практически не отличаются, их активность подавляется при наличии в среде доступных источников углерода [10].

Установлено, что сополимеры поли(3-гидроксibuтирата) (ПГБ) в смеси с другими биоразлагаемыми продуктами деградирует быстрее, чем чистый полимер. Также было доказано, что в присутствии ПГБ повышается численность микроорганизмов в почве, так как данный полимер может являться субстратом для некоторых видов микроорганизмов [44, 54].

Приведенные выше данные позволяют сделать вывод о том, что ПГА являются перспективным материалом в области сельского хозяйства, в частности, они могут быть использованы в качестве основы для депонирования пестицидов для их адресной доставки.

Пестицидные препараты на основе поли(3-гидроксibuтирата) (наиболее изученный представитель класса ПГА) показали свою эффективность в ряде

исследований. В работах научного коллектива Сибирского федерального университета были представлены данные по исследованию эффективности депонированных форм фунгицидов и гербицидов, депонированных в биоразрушаемую основу из ПГБ. Эффективность таких препаратов была сопоставима с вариантами коммерческих препаратов и обеспечивают пролонгированный эффект на фитопатогены. При этом такие формы пестицидов не оказывают ингибирующего действия на почвенную микрофлору [23, 55, 56, 57].

Подобные исследования ведутся и зарубежными научными коллективами. Была показана возможность использования поли(3-гидроксibuтирата) и поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерата) в качестве основы для депонирования гербицида аметрина [48]. В другом исследовании в качестве основы для депонирования гербицида трифлуарина был использован поли (3-гидроксibuтират-со-4-гидроксibuтират) [38].

Также были исследованы инсектицидные препараты бупрофезина на основе поли(3-гидроксibuтирата-со-3-гидроксигексаноата) [27]. Во всех случаях доказана эффективность препаратов и подтверждена возможность их использования в качестве форм для снижения негативного воздействия пестицидов на микробиоценоз.

В данной работе в качестве основы для депонирования фунгицидов, использовался поли(3-гидроксibuтират) — высококристаллический гомополимер 3-гидроксимасляной кислоты в смеси с наполнителем природного происхождения, использующийся не только для регуляции скорости деградации готовых препаратов в почве, но и для снижения себестоимости готовых форм, ведь одним из главных недостатков ПГА, как и других полимеров природного происхождения, является их высокая стоимость производства.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Общий план эксперимента

Объектом исследования была микрофлора образцов почвы, в которой экспонировались экспериментальные гранулы, содержащие депонированные фунгицидные препараты.

Исследование влияния долговременных форм препаратов фунгицидного действия на почвенный микробиоценоз включало несколько этапов:

1) На первом этапе была изготовлена смесь полимера поли(3-гидроксибутирата) [П(ЗГБ)] с березовыми опилками в качестве наполнителя. Березовые опилки изготовлены в компании «СтанкоПремьер» (Россия).

В эту смесь вносили один из 4 фунгицидов: дифеноконазол, азоксистробин, металаксил или протиоконазол, а также комбинация азоксистробина и металаксила. Препараты были изготовлены в виде гранул с разным процентным соотношением полимера, действующего вещества и наполнителя (опилок) [П(ЗГБ)/опилки/фунгицид]. Доля веществ в гранулах (по массе) составила:

— 10% фунгицид, 30% опилки и 60% П(ЗГБ); комбинированная форма включала по 5% азоксистробина и металаксила.

2) На втором этапе были подготовлены лабораторные почвенные микрэкосистемы – пластиковые контейнеры с агропреобразованной почвой, в которые помещали экспериментальные гранулы с фунгицидами и экспонировали в течение 8 недель, периодически изымая гранулы из почвы для взвешивания: через 2, 4 и 8 недель.

3) На третьем этапе были исследованы биodeградационные параметры изготовленных депонированных форм фунгицидов, а также исследовано влияние состава смесевой основы и действующего вещества на структуру микробного сообщества.

## 2.2. Изготовление депонированных форм фунгицидов

Производство гранул начинали с измельчения полимера ударно-сдвиговым воздействием на ультрацентрибежной мельнице Z.M 200 «Retsch» произведенной в Германии. Для предотвращения плавления полимера во время помола, измельчаемый материал и корпус с размольными элементами мельницы предварительно охлаждали при  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  около 20 мин. в морозильной камере Innova U101 фирмы «New Brunswick Scientific», произведенной в США. Размол проводили с использованием сита и диаметром отверстий 2 мм, скорость вращения ротора составляла 18000 об/мин.

Далее делали навеску полимера массой 40г и растворяли в дихлорметане объемом 800 мл. После этого к навескам полимера добавили наполнитель (опилки) в количестве 20 г. Все ставили на лабораторные плитки с магнитными мешалками (Heidolph Instruments D-91126 Schwabach) при температуре  $39\text{ }^{\circ}\text{C}$  до полного растворения примерно на 60 минут.

После полного растворения без образования осадка и мелких кусочков, осаждали смесь, добавив этанол объёмом 1600 мл, и ставили в холодильник (Бирюса-151) на сутки до полного осаждения и образованного белого хлопьевидного осадка.

Смесь отфильтровали вакуумным насосом (Millipore WP6122050) и добавили 10 г фунгицида, тщательно все смешав в металлическом цилиндре при помощи электрической верхнеприводной мешалки (Heidolph, Германия).

В эксперименте создавались гранулы двух размеров (масса больших гранул составляла 20-23 мг, масса малых гранул – 16-17 мг) из четырех видов фунгицидов, а также из комбинации двух из них (азоксистробина и металаксила). В качестве отрицательного контроля использовались гранулы из смеси полимера и опилок без добавления фунгицидов.

Большие гранулы изготавливались методом равномерного выдавливания смеси из шприца на металлический поднос. Маленькие гранулы получали методом дозированного пропускания смеси через шнековый гранулятор.

Сушка гранул длилась не менее 24 часов.

### **2.3. Исследование динамики биodeградации депонированных форм фунгицидов в почве**

При подготовке данного эксперимента использовали контейнеры с четырьмя отделениями, каждый из которых был объемом в 200 см<sup>3</sup>. Во все отделения помещали агропреобразованную почву массой 150 г и поддерживали влажность на протяжении всего эксперимента около 50 %. Образцы препаратов двух размеров помещали в сетчатые мешочки из следующего расчета:

- По одной большой грануле на каждые 150 г почвы (около 20-23 мг).
- По две маленькие гранулы на каждые 150 г почвы (около 16-17 мг).

Мешочки с гранулами закладывали на глубину до 1,5 см только в три отделения. Для сравнения динамики был отрицательный контроль без фунгицида в четвертом отделении.

Контейнеры помещали в климатическую камеру (Фитотрон-ЛПА-2 (Россия) при температуре 29 °С. Длительность эксперимента составила 57 дней.

Извлечение мешочков производили согласно графику проведения эксперимента: на 2, 4 и 8 недели соответственно. При извлечении мешочков из земли гранулы отряхивали от остатков почвы и сушили при комнатной температуре в течении 20 часов. Массу гранул измеряли на аналитических весах AGN 200, AXIS.

## 2.4. Исследование динамики численности бактерий и микромицетов в ходе биодegradации депонированных форм фунгицидов

Подсчет общей численности микроорганизмов проводили методом Коха [15]. Количество аммонифицирующих копитрофных бактерий определяли на мясопептонном агаре (Nutrient agar, HiMedia), численность микромицетов – на сусло-агаре.

Производили посев почвенной суспензии из разведений  $10^{-6}$  и  $10^{-5}$  в трёхкратной повторности. Чашки инкубировали в термостате при температуре  $30^{\circ}\text{C}$  в течение 3-7 суток.

Общую численность микромицетов определяли посевом на сусло-агаре с бензилпенициллином для подавления роста бактерий. Посев производили из разведений почвенной суспензии до  $10^{-3}$  и  $10^{-2}$  в трехкратной повторности. Чашки инкубировали при температуре  $25^{\circ}\text{C}$  в течение 7-10 суток.

Подсчёт динамики численности микробиоценоза производилась по формуле:  $x = \frac{a*b}{c*d}$ ,

Где а — среднее количество колоний на чашке Петри, b — разведение, из которого сделан высев, с — количество выносимой суспензии, мл; d — коэффициент влажности почвы, равный 0,225.



### **ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Изъято 8 страниц

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Была отработана технология и получены гранулы разного размера, содержащие фунгицидные препараты – дифеноконазол, азоксистробин, металаксил или протиоконазол, а также комбинацию азоксистробина и металаксил, депонированные в основу из смеси поли(3-гидроксибутирата) и опилок. Масса больших гранул составляла 20-23 мг, масса малых гранул – 16-17 мг.
2. В течение 8 недель экспозиции полученных гранул в почвенных микрэкосистемах происходила постепенная убыль массы в процессе биодegradации. Наибольшее снижение массы за 8 недель зарегистрировано для гранул с азоксистробином – на 12 и 15% для больших и малых гранул, соответственно. Гранулы с дифеноконазолом разрушались медленнее, чем формы без фунгицида, убыль их массы составила 4,7 и 6%.
3. Все депонированные формы обладали фунгицидным действием в отношении почвенных микромицетов. Наиболее эффективное и стабильное снижение численности микромицетов в течение 8 недель выявлено при экспозиции больших гранул, содержащих дифеноконазол или металаксил.
4. Депонированные фунгициды в небольших концентрациях (малые гранулы) как правило стимулировали рост бактерий в почве. Экспозиция больших гранул в почве в большинстве случаев не приводила к ингибированию роста бактерий, кроме препаратов с азоксистробином, которые снижали численность бактерий в 1,7-2,6 раза по сравнению с численностью в негативном контроле.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аубакирова Д.С, Ремеле В.В, Фитотоксичность грибов рода *Altemaria* // Сельское, лесное и водное хозяйство. 2013. № 12 [Электронный ресурс], URL: <http://agro.snauka.ru> (дата обращения: 30.04.2021).
2. Березненко Н. М., Лепешкина М. И. Перспективы использования пестицидных формуляций с контролируемым высвобождением действующего вещества //SWord: сб. науч. ст. — Иваново: Научный мир. 2015. - 2 (39). Том 18. — С. 56-69.
3. Бояндин А. Н., Прудникова С. В., Филипенко М. Л., 51. Храпов Е. А., Васильев А. Д., Волова Т. Г. Биodeградация полигидроксиалканоатов почвенными микробиоценозами различной структуры и выявление микроорганизмов-деструкторов // Прикладная биохимия и микробиология. — 2012. - Т. 48. — № 1. — С. 35-35.
4. Волова Т. Г. Современные биоматериалы: мировые тренды. место и роль микробных полигидроксиалканоатов. — 2014. — №12. — С. 13-15.
5. Гагкаева Т. Ю., Гаврилова О. П. Фузариоз зерновых культур // Защита и карантин растений. - 2009. — №12. — С. 13-15.
6. Галлямова О. В. Действующие вещества фунгицидов. Тебуконазол [Электронный ресурс]: Пестициды.ру. Сельскохозяйственный онлайн справочник [сайт] — Москва. 2014. — Режим доступа: <http://www.pesticidy.ru> (дата обращения: 01.06.2021).
7. Гапямова О. В. Действующие вещества фунгицидов. Азоксистробин [Электронный ресурс]: Пестициды.ру. Сельскохозяйственный онлайн справочник [сайт] — Москва. 2014. — Режим доступа: <http://www.pesticidy.ru> (дата обращения: 01.06.2021).
8. Ганнибал Ф. Б., Орина А. С., Левитин М. М. Альтернариозы сельскохозяйственных культур на территории России //Защита и карантин растений. — 2010. — № 5. — С. 31-32.

9. Гоготов И. Н. Биodeградация полигидроксиалканоатов и их свойства // Пластические массы. - 2012. — № 11. — С. 54-61.
10. ГОСТ 120-14-93. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями. Дата издания: 01.01.2004. Дата последнего изменения: 19.07.2010.
11. Дорофеева Л. Л., Шкаликов В. А., Болезни зерновых культур //М.: Печатный город. — 2007 — 96 с.
12. Круглов Ю. В. Микрофлора почвы и пестициды. — М.: Агропромиздат — 1991 — 28 с.
13. Мельников Н. Н. Пестициды, Химия. технология и применение //М.: Химия. — 1987. — 712 с.
14. Мехдиев И. Т. Фузариозная болезнь и способ ведения предупредительных мероприятий против неё // Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков. — 2013. — № 4. — С. 99-104.
15. Николаева С. И., Николаев А. Н., Шубина В. Е., Волощук Л. Ф. Влияние состава питательной среды на рост грибов рода *Alternaria* // В: StudiaUniversitatis. — 201. — № 1(41). — С.117-23.
16. Павлюшин В. А. Фузариоз зерновых культур и опасность микотоксинов в России // АгроСнабфорум. — 2017. — № 3. — С. 41-43.
17. Попов С. Я., Дорожкина Л. А., Калинин В. А. Основы химической защиты растений // Под ред. профессора С. Я. Попова — М.: Арт-Лион. — 2003. - 208 с.
18. Прудникова С. В., Цыремпилов ВЦ. Долговременные системы доставки удобрений на основе полигидроксиалканоатов. Журнал Сибирского федерального университета. Серия Биология. — 2012. — 5 (3)— С. 322-328
19. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов // М.: Мир. — 2001 — 486 с.
20. Федоров Л. А., Яблоков А. В. Пестициды—токсический удар по биосфере и человеку // Л.А. Федоров. А.В. Яблоков—М.: Наука. — 1999.

21. Anatoly Nikolayevich Boyandin, Natalia Olegovna Zhila, Ergeniy Geiuidievich Kiselev, Tatiana Grigorievna Volova. Constructing slow-release formulations of metribuzin based on degradable poly (3-hydroxybutyrate) // *Journal of agricultural and food chemistry*. - 2016. — T. 64. — № 28. — C. 562-563.
22. Baljit Singh, D. K. Shanna, Abhishek Dhiman. Environment friendly agar and alginate-based thiram delivery system // *Toxicological & Environmental Chemistry*. — 2013. — T. 95. — № 4. — C. 567-578.
23. Baoxia Lin, Yan Wang, Fei Yang, Xing Wang, Hong Slien, Haixin C., Decliang Wu. Construction of a controlled-release delivery system for pesticides using biodegradable PLA-based microcapsules // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. — 2016. — T. 144. — C. 38-45.
24. Bending G. D., Rodriguez-Cruz M. S., Lincoln S. D., Fungicide impacts on microbial communities in soils with contrasting management histories // *Chemosphere*. — 2007. — T. 69. — № 1. — C. 82-88.
25. Chan Zhang, RuzhuJia Yuefeng Dong, Liangqi Zhao. Preparation and characterization of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) microspheres for controlled release of buprofezin // *Environmental Science and Pollution Research*. — 2019. — C. 1-9.
26. Dan Li, Baoxia Li, Fei Yang, Xing Wang, Hong Slren, Decheng Wu. Preparation of uniform starch microcapsules by premix membrane emulsion for controlled release of avenectin // *Carbohydrate polymers*. — 2016. — T. 136. — C. 341-349.
27. Dubey S., Jhelum V., Patanjali P. K. Controlled release agrochemicals formulations: a review // *Journal of Scientific and Industrial Research*. — 2011. — 0105-112.
28. Estefania Vangelie, Ramos Campos, Jhones Luiz de Oliveira, Leonardo Femandes, Baljit Singh. Polysaccharides as safer release systems for agrochemicals // *Agronomy for sustainable development*. — 2015. — T. 35. — № 1. — C. 47-66.

29. Fenghua Wang, Xiaoying Li, Lusheng Zhu, Zhongkun Du, Cheng Zhang, Jun Wang, Jinhua Wang, Dongdong. Responses of Soil Microorganisms and Enzymatic Activities to Azoxystrobin in Cambisol // Polish Journal of Environmental Studies — 2018 — T. 27 - № 6 — C. 277-278.
30. Flores-Cespedes F., Daza-Fernandez., Villatiauca-Sanchez., Fernandez-Perez M., Morillo E., Unclabeytia T. Lignin and ethylcellulose in controlled release formulations to reduce leaching of chloridazon and metribuzin in light-textured soils. — 2018. — T. 343. — C. 227-234.
31. Flores-Cespedes, Figueredo—Flores., Daza-Fernandez. I., Vidal-Pena F., Villafranca-Sanchez M., Fernandez-Perez M., Preparation and characterization of lignin—polyethylene glycol matrices coated with ethylcellulose // Journal of agricultural and food chemistry. — 2012. — T. 60. — № 4. — C. 10-12-1051.
32. Francesco Puoci, Francesca lemma, Umile Gianfranco Spizzin, Giuseppe Cirillo. Polymer in agriculture: a review // American Journal of Agricultural and Biological Sciences. — 2008. — T. 3. — №1. — C. 299-314.
33. He Qin, Hong Zhang, Lingxiao Li, Xiaoteng Zhou, Jlupei Li, Chengyou Kan. Preparation and properties of lambda-cyhalotrin/polyurethane drug loaded nanoemulsions // RSC Advances. — 2017. — T. 7. — №83. — C. 524-526.
34. Helal N. A. Nanotechnology in Agriculture: A Review // PoljoprivedaiSumarstvo. — 2013. — T. 59. — № 1. — C. 117-142.
35. Lindong Cao, Yajing Liu, Chtuili Xu, Zhaolu Zhou, Pengyue Zhao, Qiliang Huang. Biodegradable poly (3-hydroxybntyrate-co-4-hydroxybntyrate) microcapsules for controlled release of trifluralin with improved photostability and herbicidal activity // Science and Engineering: C. — 2019. — T. 102. — C. 134-141.
36. M. Cea., P. Cartes., G. Palma., M.L. Mora. Atrazine efficiency in an andisol as affected by clays and nanoclays in ethylcellulose controlled release formulations // Revista de la ciencia del suelo y nutricion vegetal. — 2010. — T. 10. — № 1. — C. 62-77.

37. Malgorzata Bacmaga, Jadwiga Wyszowska, Jan Kucharski. The effect of the Falcon 460 EC fungicide on soil microbial communities. enzyme activities and plant growth // *Ecotoxicology*. — 2016. — T. 25. — M. 8. — C. 1575-1587.
38. Malgorzata Bacmaga, Jan Kucharski, Jadwiga Wyszowska, Microbial and enzymatic activity of soil contaminated with azoxystrobin // *Environmental monitoring and assessment*. — 2015. — T. 187. — № 10. — 615 c.
39. Massimo Malerba, Raffaella Cerana, Chitosan effects on plant systems // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2016. — T. 17. — № 7. — 996 c.
40. Mohammad A. Chowddury, The controlled release of bioactive compounds from lignin and lignin-based biopolymer matrices». *International Journal of Biological Macromolecules*. — 2014. — T. 65. — C. 136-147.
41. Neetu Chauhan, Neeraj Dilbaghi, Madhuban Gopal, Ki- Hyun Kim, Sandeep Kumar. Development of chitosan nanocapsules for the controlled release of hexaconazole // *International journal of biological macromolecules*. — 2017. — T. 97. — C. 616-624.
42. Prem Lal Kashyap, Xu Xiang, Patricia Heiden. Chitosan nanoparticle-based delivery systems for sustainable agriculture // *International journal of biological macromolecules*. — 2015. — T. 77. — C. 36-51.
43. Rachel Nettles, John Watkins, Kevin Ricks, Monica Boyer, Megan Licht, Lesley. W. Atwood, Matthew Peoples, Richard. G. Smith, David A. Monenses, Roger T. Koide. Influence of pesticide seed treatments on fungal and bacterial communities and leaf fungal endophyte communities in maize and soybean // *Applied soil ecology*. — 2016. — T.102. — C. 61-69.
44. Renato Grillo, Anderson do Espirito. Controlled release system for ametryn using polymer microspheres: preparation, characterization and release kinetics in water // *Journal of hazardous materials*. — 2011. — T. 186. - № 3. — C. 164-165.
45. Roy A., Singh. S. K., Bajpai L. Controlled pesticide release from biodegradable polymers // *Central European Journal of Chemistry*. — 2014. — T. 12. № 4. — C. 453-469.

46. Rummi Devi Saini. Biodegradable polymers International Journal of Applied Chemistry. - 2017. - T. 13. — № 2. — C. 179-196.
47. Sandeep Kumar, Neetu Chaulran, Madhuban Gopal. Development and evaluation of alginate—chitosan nanocapsules for controlled release of acetamiprid // International journal of biological macromolecules. — 2015. — T. 81. — C. 631-637.
48. Sudesh K., Abe I., Doi Y., Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters Progress in polymer science. — 2000. T25. — C. 1503-1555.
49. Suzan Aline Casarin, Cassia Priscila Rodrigues. Biodegradation in soil of the phb/wood flour (80/20) and PHB/sisal fiber (80/20) tubes // Materials Research. — 2017. — T. 20. — C. 47-50.
50. Tatiana G. Volova, Svetlana V. Prudnikova, Natalia O. Zhila. Fungicidal activity of slow-release P (3HB)/TEB formulations in wheat plant communities infected by *Fusarium moniliforme* // Environmental Science and Pollution Research. — 2018. — T. 25. — № 1. — C. 552-561.
51. Tatiana Volova, Natalia Zhila, Evgeniy Kiselev, Svetlana Prudnikova, Olga Vinogradova, Elena Nikolaeva, Anna Shumilova, Aruta Shershueva, Ekaterina Shishatskaya. Poly(3-hydroxybutyrate) metribuzin formulations: characterization, controlled release properties, herbicidal activity and effect on soil microorganisms // Environmental Science and Pollution Research. - 2016. — T. 23. — № 23. — C. 239-250.
52. Tatiana Volova, Natalia Zhila, Anna Shumilova, Olga Vinogradova, Ekaterina Shishatskaya. Characterization of biodegradable poly-3-hydroxybutyrate films and pellets loaded with the fungicide tebuconazole Environmental Science and Pollution Research. — 2016. — T. 23. — № 6. — C. 5243-5254.
53. Wadhad Edrees. Study the Effects of Chemical Pesticides on Soil Bacterial Community on Khat // Clinical Biotechnology and Microbiology. — 2019. — T. 3. — №2. C. 599-604.

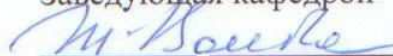


54. Watanabe T. Pictorial atlas of soil fungi: morphologies of fungi and key species. — CRC Press, 2002. — 486 p.
55. Ya Wang. Chaonan Li. Yuxiang Wang. Ying Zhang. Xiaogang Li. Compound pesticide-controlled release system based on the mixture of poly (butylene succinate) and PLA //Journal of microencapsulation. — 2018. — T. 35. — N9. 5. — C. 494-503.
56. Dubey S., Jhelum V., Patanjali P. K. Controlled release agrochemicals formulations: a review. — 2011.
57. Roy, A. et al. Controlled pesticide release from biodegradable polymers // Central European Journal of Chemistry. — 2014. — №4. — C. 453-469.
58. Helal N. A. S. Nanotechnology in Agriculture: A Review //Poljoprivreda i Sumarstvo. — 2013. — T.59. —№1. — 117 c.
59. Pérez - de - Luque A., Rubiales D. Nanotechnology for parasitic plant control // Pest Management Science: formerly Pesticide Science. — 2009. —T. 65. — № 5. C. 540-545.
60. Sopena F., Maqueda C., Morillo E. Controlled release formulations of herbicides based on micro-encapsulation //Ciencia e investigación agraria. — 2009. — T. 36. — №1. — C. 27-42.

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующая кафедрой



подпись инициалы, фамилия

«30» июня 2021г.

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

06.03.01 – Биология

Влияние фунгицидов, депонированных в основу из поли(3-гидроксибутирата),  
на структуру почвенного микробиоценоза

Руководитель


  
подпись, дата

профессор, д.б.н.

должность, ученая степень

С. В. Прудникова

Выпускник

 29.06.21  
подпись, дата

М.А. Иманалиев

Красноярск 2021