

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

УТВЕРЖДАЮ  
Заведующий кафедрой  
\_\_\_\_\_ Т.Г. Волова  
подпись      инициалы, фамилия  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Характеристика почвенного микробиоценоза при использовании  
долговременных форм сельскохозяйственных препаратов

06.04.01. Биология

06.04.01.01. Микробиология и биотехнология

Руководитель	_____	проф., д-р биол. наук	С.В. Прудникова
Выпускник	_____		О.Н.Бауман
Рецензент	_____	канд. биол. наук	А.В. Муруева

Красноярск 2021

## РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация на тему: «Характеристика почвенного микробиоценоза при использовании долговременных форм сельскохозяйственных препаратов» содержит 51 страницу текста, 14 иллюстрации, 56 использованных источников.

Ключевые слова: Микробиоценоз, депонирование пестицидов, тебуконазол, тробенурон-метел, поли(3-гидроксипропанат), корневые гнили. Использование сельскохозяйственных препаратов с контролируемым выходом позволяет уменьшить концентрацию пестицидов в окружающей среде и повысить эффективность препаратов за счет пролонгированного действия и адресной доставки.

Целью настоящей работы явилось исследование влияния депонированных форм пестицидов на почвенную микрофлору в сравнении с традиционными формами препаратов. В задачи исследования входило: Оценка влияния комплексного препарата, сочетающего гербицидное и фунгицидное действие [метрибузин (МЕТ) и тебуконазол (ТЕБ)], депонированного в полимерную основу из поли(3-гидроксипропаната) и наполнителя, на ризосферную микрофлору и развитие растений ячменя и щетинника в модельном опыте. Оценка влияния комплексного препарата, сочетающего гербицидное и фунгицидное действие [трибенурон-метил (ТРИБ) и тебуконазол (ТЕБ)], на ризосферную микрофлору пшеницы в полевых условиях: определение численности и таксономического разнообразия бактерий и микромицетов в ризосферной почве; определение численности фитопатогенных микромицетов. Сравнительный анализ эффективности депонированного препарата П(ЗГБ)/опилки/ТРИБ+ТЕБ и коммерческого препарата фунгицидного действия в отношении фитопатогенных микромицетов - возбудителей корневых гнилей пшеницы.

Исследования показали, что под действием разных способов доставки препаратов фунгицидного и гербицидного действия – коммерческие формы

Бункер и Мортира или, как альтернативный способ, депонированные в биodeградируемые гранулы тебуконазол и трибенурон-метил в виде комплексного препарата – происходило снижение общей численности микромицетов преимущественно за счет уменьшения доли фитопатогенов (*Alternaria*, *Bipolaris*, и *Fusarium*) и увеличения доли сапротрофных видов (*Penicillium*, *Mortierella* и *Trichoderma*). Анализ бактериального сообщества показал, что депонированная форма комплексного препарата [П(ЗГБ)/опилки/ГЕБ/ТБМ] повышала долю грамотрицательных бактерий рода *Pseudomonas* и актинобактерий родов *Rhodococcus* и *Streptomyces*, однако влияние экспериментальной формы на бактериальное сообщество оказалось менее значительным, чем традиционная обработка пестицидами Бункер и Мортира.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Гербициды	9
1.2 Фунгициды	10
1.3 Влияние пестицидов на окружающую среду	11
1.4 Контролируемая доставка пестицидных препаратов	13
1.5 Полимеры для доставки пестицидов	14
1.6 Характеристика полигидроксиалканоатов	16
1.7 Корневые гнили зерновых культур	18
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	19
2.1 Характеристика гербицидных и фунгицидных препаратов	19
2.2 Исследование влияния экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору ячменя в лабораторных условиях	22
2.3 Исследование влияния экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору пшеницы в полевых опытах	24
2.4 Микробиологический анализ почвы	25
2.5 Методы анализа зараженности пшеницы корневыми гнилями	27
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	28
3.1 Влияние экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору ячменя в лабораторных условиях	28
3.2 Гербицидное действие экспериментальных долговременных форм препаратов в лабораторных условиях	29
3.3 Влияние экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору пшеницы в полевых опытах	32

3.4 Влияние экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору пшеницы в полевых опытах	35
Список использованных источников	46

## ВВЕДЕНИЕ

Переход сельского хозяйства на интенсивные технологии ведет к применению разнообразных химических веществ, в том числе препаратов для борьбы с вредителями, сорняками, возбудителями болезней культурных растений, а также органических и минеральных удобрений [1].

На сегодняшний день гербициды являются потенциально опасными химическими загрязнителями. При их чрезмерном использовании происходит накопление гербицидов в биосфере: они аккумулируются в биологических объектах, связываются с гумусом почвы, загрязняют водоемы, что нарушает равновесие в агроэкосистемах и природных экосистемах. Применение разнообразных агрохимикатов в сельском хозяйстве влияет не только на урожайность и качество возделываемых культур, но и на экологическое состояние почвы, и, как следствие на количество и разнообразие растительного покрова и почвенных микроорганизмов, что является индикатором безопасности химических веществ, используемых при выращивании сельскохозяйственных культур [3].

Классическое использование химикатов в агрокультуре в жидком и порошкообразном виде не всегда обеспечивает адресную доставку препарата и приводит к нежелательным побочным эффектам, таким как их включение в пищевые цепи, а также их распространение и накопление в окружающей среде[2].

Микроорганизмы крайне чувствительны к всевозможным изменениям химико-экологических условий окружающей среды. Изменение структуры и состава микробного сообщества, численности какой-либо функциональной группы или увеличение ее активности, может свидетельствовать о протекающих в почве процессах деградации[3].

Новое направление исследований, ориентированное на снижение риска неконтролируемого распространения химических препаратов в биосфере,

заключается в использовании биоразрушаемых полимеров в качестве основы для депонирования и адресной доставки препаратов сельскохозяйственного назначения. Такие формы позволяют сократить объемы вносимых в почву препаратов и обеспечить их длительную и контролируемую доставку в течение вегетационного сезона. Проводятся различные исследования по созданию таких препаратов с разнообразными типами полимеров (поликапролактон, этилцеллюлоза, полилактид, альгинат, лигнин) [4].

Еще одним перспективным направлением является исследование возможности применения ПГА в качестве носителя для инсектицидов и гербицидов в форме объёмных матриц, плёнок и микрогранул [6]. С биотехнологической точки зрения полигидроксиалканоаты имеют два важных свойства, дающих им значительное преимущество по сравнению с другими синтетическими продуктами: они биоразрушаемы и биосовместимы [2]. ПГА способны быстро разлагаться, не выделяя токсических веществ в окружающую среду и могут быть использованы микроорганизмами в качестве источника питания, что делает полигидроксиалканоаты полностью биodeградируемым пластиком [7].

Таким образом, одним из актуальных направлений использования ПГА является конструирование долговременных и адресных препаратов нового поколения для применения в сельском хозяйстве. Применение этих долгосрочных составов позволит уменьшить выброс химических веществ в окружающую среду, что ограничит скорость их накопления в трофических цепях экосистем и уменьшит их неблагоприятное воздействие на биосферу.

Поскольку микроорганизмы являются основными деструкторами как природных, так и химически синтезированных веществ в почве, целью настоящей работы явилось исследование влияния депонированных форм пестицидов на почвенную микрофлору в сравнении с традиционными формами препаратов.

В задачи исследования входило:

1. Оценка влияния комплексного препарата, сочетающего гербицидное и фунгицидное действие [метрибузин (МЕТ) и тебуконазол (ТЕБ)], депонированного в полимерную основу из поли(3-гидроксипропиридата) и наполнителя, на ризосферную микрофлору и развитие растений ячменя и щетинника в модельном опыте.

2. Оценка влияния комплексного препарата, сочетающего гербицидное и фунгицидное действие [трибенурон-метил (ТРИБ) и тебуконазол (ТЕБ)], на ризосферную микрофлору пшеницы в полевых условиях:

- определение численности и таксономического разнообразия бактерий и микромицетов в ризосферной почве;

- определение численности фитопатогенных микромицетов.

3. Сравнительный анализ эффективности депонированного препарата П(ЗГБ)/опилки/ТРИБ+ТЕБ и коммерческого препарата фунгицидного действия в отношении фитопатогенных микромицетов - возбудителей корневых гнилей пшеницы.

Работа выполнена на базовой кафедре биотехнологии ИФБиБТ в рамках проекта «Агропрепараты нового поколения: стратегия конструирования и реализация» (№ 074-02-2018-328), выполняемого по Постановлению Правительства РФ от 9 апреля 2010 г. № 220.



## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Гербициды

Гербициды – общепринятое в мировой практике собирательное название химических средств защиты растений, состоящее из корней двух слов – herb – растение и side – уничтожать. Смысловой перевод определения – средства, уничтожающие растения. Термин был введен в обиход примерно в 1944 году [29].

Гербициды – вещества, которые используются для подавления сорной растительности в посевах сельскохозяйственных культур или на других объектах, где нежелательно произрастание сорной травянистой растительности [28].

В пределах каждого направления действия гербициды способны уничтожать все растения или только их часть. Исходя из этого, они распределяются на две группы по спектру действия: Гербициды сплошного действия: губительно действуют на любую растительность, находят применение при обработке территории спортивных площадок, оросительных каналов, обочин дорог и др. Гербициды избирательного действия (селективные) избирательно повреждают растения, применяются при выращивании сельскохозяйственных культур. В свою очередь, по степени селективности средства разделяют на: широко избирательные (например, производные триазина в кукурузных посевах угнетают рост множества сорняков, относящихся как к Двудольным, так и к Однодольным); узко избирательные. [30].

Среди существующих способов использования гербицидов можно выделить следующие:

- опрыскивание (включая сплошное, ленточное и гнездовое);
- внесение гранулированных препаратов;
- внесение в виде пены;

– внесение с поливной водой (гербигация) [29].

Большинство гербицидов вносится непосредственно в почву, поэтому эффективность почвенных гербицидов в значительной степени зависит от такого фактора, как влажность почвы. Если в период обработки и далее до прорастания сорных растений почва была сухая, то внесенный гербицид останется на ее поверхности и, так как не сможет мигрировать на глубину произрастания сорняков по профилю почвы и не окажет токсического действия на их развитие. После развития корневой системы и надземной части сорного растения, выпавшие осадки не повлияют на эффективность гербицидов. Таким образом, даже нелетучие гербициды необходимо тщательно заделывать в почву, если она сухая в период посева сельскохозяйственных культур [28].

## **1.2 Фунгициды**

Фунгициды – химические средства защиты растений, используемые для борьбы с грибными заболеваниями. Современные препараты воздействуют на процессы метаболизма патогена, а также стимулируют защитные процессы в организме культурных растений [38].

Области применения фунгицидов – обработка почвы, опрыскивание растений от болезней, обработка (протравливание) посадочного материала, защита материалов от биоразрушений. Каждый препарат — фунгицид имеет свой состав, назначение и область применения. Механизм действия большинства фунгицидов известен лишь в общих чертах. Чаще всего фунгициды действуют на грибы непосредственно, вмешиваясь в биохимические реакции, происходящие в грибных клетках, либо блокируя ферменты, управляющие этими реакциями.[40]

Протравитель семян Бункер обладает профилактическим и лечебным системным действием. Угнетает развитие грибов-возбудителей болезней, находящихся как на поверхности семян, так и развивающихся внутри них.

Механизм действия: в состав протравителя семян Бункер входит одно действующее вещество из химического класса триазолов – тебуконазол, который подавляет биосинтез эргостерина в мембранах клеток фитопатогенов, что приводит к их гибели. Он препятствует развитию наружной (твердая головня, септориоз, гельминтоспориоз) и внутренней (пыльная головня) инфекции семян.

Преимущества: эффективен против поверхностной и внутренней семенной инфекции. Препарат достаточно эффективен против корневых (прикорневых) гнилей и листостебельной инфекции на начальных этапах роста и развития растений (до фазы кущения зерновых культур, фазы бутонизации льна-долгунца).

Препарат не фитотоксичен при соблюдении регламентов применения по отношению к обработанным семенам и развивающимся растениям. Ускоряет появление всходов. Способствует развитию мощной корневой системы зерновых культур [39].

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

Основные критерии, по которым оценивается влияние пестицидов на микроорганизмы это дыхание почвы, нитрификация, азотфиксация, аммонификация, активность уреазы, протеазы, фосфатазы. Также оценивается численность микроорганизмов и их видовой состав. Чем ниже данные показатели, тем ниже качество почвы [47].

Гербициды активно используются для подавления сорной травянистой растительности в посевах сельскохозяйственных культур или на других объектах (газоны, парки, аэродромы, обочины автомобильных и железных дорог и т.д.), где нежелательно произрастание сорной растительности [17].

На сегодняшний день гербициды являются потенциально опасными химическими загрязнителями. При этом происходит накопление гербицидов в

биосфере: они аккумулируются в биологических объектах, связываются с гумусом почвы, загрязняют водоемы, что нарушает равновесие в агроэкосистемах и природных экосистемах. Применение разнообразных агрохимикатов в сельском хозяйстве влияет не только на урожайность и качество возделываемых культур, но и на экологическое состояние почвы, и, как следствие на количество и разнообразие растительного покрова и почвенных микроорганизмов, что является индикатором безопасности химических веществ, используемых при выращивании сельскохозяйственных культур.

Микроорганизмы крайне чувствительны к всевозможным изменениям химико-экологических условий окружающей среды. Изменение структуры и состава микробного сообщества, численности какой-либо функциональной группы или увеличение ее активности, может свидетельствовать о протекающих в почве процессах деградации [18].

Длительное применение пестицидов приводит к значительному снижению численности микроорганизмов как почвы, так и к снижению численности и изменению видового состава эндофитных микроорганизмов, которые выполняют защитные функции [47].

Накапливаемые химические соединения способны сдвигать химический баланс почвы в нехарактерную для неё сторону, что так же приведет к снижению урожая сельскохозяйственных культур [32]. Пестициды, вымываемые из почвы талыми и дождевыми водами, могут разноситься на большие расстояния, тем самым загрязняя и те почвы, которые не имеют непосредственного контакта с обрабатываемыми данными веществами площадями. Конечным пунктом путешествия пестицидов очень часто становятся водоемы, используемые в качестве источника питьевой воды для различных организмов, в том числе и человека. В конечном счете, различными путями пестициды возвращаются к человеку, но приносят с собой уже не пользу для сельского хозяйства, а вред для здоровья человека [31].

Для снижения темпов загрязнения окружающей среды пестицидами предлагается использовать препараты, позволяющие осуществлять их адресную доставку. Такие препараты обладают пролонгированным эффектом, что повышает их эффективность, а также позволяют снизить количество, используемых пестицидов [48,50].

#### **1.4 Контролируемая доставка пестицидных препаратов**

Гербициды, применяются в течение длительного периода времени и в высоких концентрациях, что может представлять потенциальную опасность как для человека, так и для растений. Таким образом, инкапсуляция сельскохозяйственных средств может уменьшить повреждение растительных тканей и количество химических веществ, выделяемых в среду, обеспечивая более безопасный продукт [14]. На токсичность гербицидов, используемых в сельском хозяйстве, влияет их химическая стабильность, фото разложение, растворимость, биодоступность и сорбция почвы. Существует несколько возможных решений, которые направлены на минимизацию токсичности, в том числе и разработка систем носителей, способных модифицировать свойства соединений и осуществлять их контролируемое высвобождение

Контролируемое высвобождение гербицидов стало универсальным инструментом для уменьшения опасности их использования в природе.

Контролируемое высвобождение – регулируемый перенос активного ингредиента из резервуара на поверхность для поддержания заранее заданного уровня концентрации в течение определенного периода времени. Контролируемое высвобождение позволяет обеспечить более безопасные условия использования пестицидов и минимизировать потенциальную угрозу для окружающей среды. Одновременно с этим, уменьшая количество используемого гербицида, увеличивается его эффективность.

Разрушаемые полимеры широко используются в сельском хозяйстве, в том числе и для контролируемого высвобождения гербицидов и других активных ингредиентов. Возможность прогнозировать их доставку помогает избежать опасности для окружающей среды. Предметом исследования являются высокомолекулярные матрицы – биоразлагаемые полимеры, используемые в качестве носителей, методы их производства, механизмы деградации [15,16].

### **1.5 Полимеры для доставки пестицидов**

Гербициды по масштабам применения (40-50 %) и по ассортименту выпускаемых препаратов (около 40 %) составляют самую обширную группу пестицидов. Связано это с тем, что наибольший ущерб сельскому хозяйству причиняет распространение сорняков [19].

Разрабатываются различные типы систем контролируемой доставки препаратов с использованием разнообразных типов биоразлагаемых полимеров. К примеру, проводились исследования с нанокapsулами из поликапролактона в качестве материала для депонирования гербицидов (атразина и симазина), в которых было показано, что выход гербицидов из нанокapsул был медленнее, по сравнению со свободными гербицидами, а также тесты генотоксичности показали, что инкапсулированные гербициды были менее токсичны, чем свободные [20].

Следует подчеркнуть важную роль материалов, используемых в качестве основы для депонирования гербицидов, которые должны обеспечивать не только долговременность, адресность и эффективность действия, но также быть безвредными для окружающей среды, удобными в работе и доступными по цене. Среди материалов, которые могут оказаться пригодными для этих целей, - разрушаемые полимеры различного происхождения. Анализ литературы

свидетельствует об активном развитии работ, направленных на синтез и изучение полимеров на основе производных карбоновых кислот [21].

Синтетические полимеры разлагаются в окружающей среде за счет своей способности поглощать воду. Данные полимеры под действием воды разбухают и растворяются, за счет поглощения воды они увеличиваются в объеме, что приводит к образованию микротрещин. Через микротрещины вода поступает еще в больших объемах, что приводит к гидролизу полимера и к его деградации. Чем больше поглощающая способность полимера, тем выше скорость его деструкции. Примерами таких полимеров являются оксипроизводные монокарбоновых кислот, такие как полилактид, полигликолид и их комбинации. Данные полимеры хорошо подвергаются деструкции, сополимеры подвержены гидролизу, что увеличивает сроки их деструкции [49].

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 эксперименте была получена наноэмульсия, которая обеспечивала пролонгированный инсектицидный эффект и дольше сохранялась на листьях после обработки по сравнению с коммерческими препаратами [5].

Биоразлагаемые полимеры природного происхождения также широко используются для конструирования систем адресной доставки и контролируемого высвобождения пестицидов. Данные полимеры разлагаются в окружающей среде под воздействием ферментов микроорганизмов. Благодаря своему природному происхождению такие полимеры не загрязняют окружающую среду продуктами своего распада, они утилизируются

почвенными микроорганизмами и разлагаются углекислого газа и воды благодаря включению в метаболические пути микроорганизмов.

Наряду с полилактидами и полигликолидами, из полиэфиров, способных к биоразложению, особое место занимают полигидроксиалканоаты (ПГА) – полиэфиры микробиологического происхождения, которые обладают комплексом разнообразных полезных свойств. ПГА, являющиеся развивающейся отраслью разрушаемых биопластиков, считаются перспективными кандидатами для постепенной замены синтетических полимеров. Эти полимеры разрушаются в природной среде под воздействием естественной микрофлоры. Разрушаются ПГА в результате истинной биологической деградации, поэтому их полная резорбция в биологических, в том числе природных средах, исчисляется месяцами, что очень важно для создания препаратов длительного действия [8].

К примеру, в одной из первых работ показана возможность депонирования пестицидов ронилан и сумилекс в разрушаемые пленки из поли3-гидроксibuтирата, эффективные для подавления фитопатогенных грибов *B. cinerea* [22].

## **1.6 Характеристика полигидроксиалканоатов**

Среди перспективных полимерных материалов для депонирования пестицидов активно рассматриваются микробные полигидроксиалканоаты – ПГА – полимеры, природного происхождения синтезируемые микроорганизмами, биологический аналог синтетических полиолефинов кислот (так называемые биопластики), которые обладают спектром полезных свойств, включая биосовместимость и биоразрушаемость [14,23].

Они представляют собой группу сложных полиэфиров, к ним, например, относится поли-3-гидроксibuтират (П(3ГБ)). Продуцируются многими прокариотическими микроорганизмами в виде резервных макромолекул в



качестве источников энергии и углерода в специфических условиях несбалансированного роста, при избытке углеродного и энергетического субстрата в среде и дефиците минеральных элементов (азота, серы, фосфатов и др.), а также кислорода.

В зависимости от субстрата могут быть синтезированы различные мономеры, а, следовательно, – различные сополимеры, что позволяет получать материалы с широким диапазоном свойств. Синтез ПГА возможен с использованием различных источников углерода, в качестве сырья применяют сахара, спирты, ацетат, а также водород и углекислоты [24].

Несмотря на то, что по ряду физико-химических свойств они близки к синтетическим полимерам, ПГА способны быстро разлагаться, не выделяя токсических веществ в окружающую среду и могут быть использованы микроорганизмами в качестве источника питания, что делает полигидроксиалканоаты полностью биodeградируемым пластиком [25].

На сегодняшний день установлено, что наиболее активно микроорганизмы потребляют полимеры монокарбоновых кислот, среди которых лидирующие позиции занимают ПГА, обладающие спектром полезных свойств таких как биосовместимость и биоразрушаемость [11].

Исследования ПГА в экосистемах с разными климатическими условиями показали, что их биodeградация может варьировать в зависимости от видовой принадлежности и физиологической активности микроорганизмов, живущих в почвах с разным температурным режимом и влажностью. Скорость и характер биodeградации зависит и от состава полимера. Установлено, что сополимеры быстрее разлагаются в сибирских почвах, а гомополимеры в тропических [26].

Биodeградация ПГА зависит от микроорганизмов, обитающих в данной конкретной природной среде, поэтому необходимо проведение всесторонних экологических и таксономических исследований многообразия микроорганизмов – деструкторов полимеров в различных биологических средах. [41]. Среди них было идентифицировано несколько таксонов – *Bacillus*,

*Pseudomonas*, *Streptomyces*. В 1965 г. Были описаны еще 16 микроорганизмов, разрушающих полигидроксibuтират внеклеточно [42]. Далее с расширением круга исследуемых ПГА были выделены и охарактеризованы микроорганизмы, разрушающие, помимо гомогенного поли-3- гидроксibuтирата, гетерополимерные коротко- и среднецепочечные полимеры [43]. Способностью разрушать ПГА обладают грибы. ПГА-разрушающие грибы выделены из таких биологических сред, как почва и компост, а также из пресной и морской воды, илов. В работе [44] микромицеты, способные деградировать ПЗГБ, выделены из 15 различных природных источников и, главным образом, были представлены несовершенными грибами (Deuteromycetes). Среди деструкторов ПГА идентифицировано 95 видов микромицетов, в том числе: Ascomycetes (18), Basidiomycetes (46), Deuteromycetes (26), Mastigomycetes (1) и Mухомycetes (2), Zygomycetes (2). В серии работ последних лет исследован вклад грибов в микробную деградацию ПГА в почве. В результате скрининга штаммов-деструкторов ПЗГБ установлено, что среди изученных штаммов грибов, относящихся к родам *Penicillium*, *Absida*, *Gilbertella*, *Mucor*, *Rhizopus*, более 70 % способно утилизировать ПЗГБ [45]. В ходе исследования биodeградации пленок из ПЗГБ в почве отмечено существенное увеличение численности грибной популяции на поверхности пленок, приводящее к доминированию грибов *Fusarium oxysporium*, *Paecilomyces lilacinus* и *Paecilomyces farinosus*. Выявлена преобладающая роль грибов рода *Aspergillus* в биodeградации ПГА и показано, что *Aspergillus* sp. Более активно участвует в деструкции гомополимера по сравнению с сополимером ПЗГБ/ЗГВ [46].

### **1.7 Корневые гнили зерновых культур**

Возбудителем гельминтоспориозной корневой гнили являются грибы рода *Bipolaris*. Болезнь характерна для злаковых культур. Возбудители в почве сохраняются на инфицированных растительных остатках, на поверхности и

внутри семян. Гельминтоспориоз характеризуется следующими симптомами: побурение колеоптиля на проростках и всходах, пожелтение и деформация листьев, общим угнетением растений; у взрослых растений – загнивание, побурение и почернение корней, узла кущения и приземной части стебля. На листьях образуются светло-бурые пятна, вытянутые вдоль пластинки [54].

Фузариоз зерна – заболевание, вызываемое грибами рода *Fusarium*, поражает генеративные органы растения. Среди представителей рода встречаются как фитопатогенные виды, так и виды, относящиеся к постоянным представителям микрофлоры почвы и растений.

Симптомами фузариозной болезни являются бурые удлиненные пятна, расплывчато переходящие в здоровую ткань. Сначала пятна появляются на листовом влагалище, у основания побегов, а затем переходят и на стебель. На пораженных стеблях образуется колос со щуплым зерном или без зерна

Также многие виды грибов рода *Fusarium* способны продуцировать митотоксины – токсичные метаболиты, относящиеся к различным видам химических соединений. Токсины грибов данного рода довольно стойкие соединения, способные долгое время сохраняться в продуктах питания. Постоянное потребление их в пищу приводит к ухудшению здоровья, особенно у детей [55].

Грибы рода *Alternaria* (преимущественно сапрофиты или факультативные паразиты) широко распространены в природе. Альтернариозы поражают многие сельскохозяйственные культуры и проявляются в виде пятнистостей, гнилей, налетов и т. д. На злаках они вызывают черный зародыш зерна. Заболевание практически повсеместно распространено в районах с теплым и засушливым климатом. Вредоносность данного заболевания обусловлена снижением фотосинтетической поверхности листьев, плесневением плодов и семян, уменьшением урожая и загрязнением сельскохозяйственной продукции микотоксинами и аллергенами [56].

## ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Характеристика гербицидных и фунгицидных препаратов

Экспериментальные формы депонированных гербицидов включали в качестве действующих веществ препараты гербицидного действия - трибенурон-метил (ТРИБ) или метрибузин (МЕТ) и фунгицидного действия - тебуконазол (ТЕБ).

Трибенурон-метил [метиловый эфир 2-[6-метил-4-метокси-1,3,5-триазин-2-ил(метил) карбомоилсульфамоил] бензойной кислоты] – это системный селективный гербицид из группы сульфонилмочевин. Активен в борьбе со многими широколистными сорняками, применяется против двудольных сорных растений в посевах зерновых злаковых культур [53]. Механизм действия основан на ингибировании фермента ацетолактатсинтазы, вовлечённого 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. Препарат малотоксичен для животных и окружающей среды, относится к третьему классу опасности для человека.

Метрибузин [4-амино-6-трет-бутил-3-метилтио-1,2,4-триазин-5(4Н)-он] – это гербицид избирательного действия, относится к 1,2,4-триазиномам. Представляет собой белое кристаллическое вещество, растворимое в органических растворителях, а также устойчивое к действию разбавленных щелочей и кислот, но подверженное быстрой деградации на свету в воде. Метрибузин имеет широкий спектр воздействия на двудольные и злаковые сорняки, действует через листья и почву: поглощается корнями и проростками, но может проникать и через надземные органы растений. Его механизм действия основан на ингибировании реакции Хилла (фотолиза воды) и фотосинтетического переноса электронов между первичным и вторичным акцептором электронов фотосистемы II; работа фотосистемы I и циклическое

фотофосфорилирование при этом не затрагиваются. Метрибузин применяют в посадках томатов, картофеля, сои, кукурузы и др. Метрибузин сравнительно малотоксичен, не обладает раздражающим действием.

Тебуконазол [(RS)-1p-хлорфенил-4,4-диметил-3-(1H-1,2,4-триазол-1-ил-метил)пентан-3-ил] относится к группе триазолов третьего поколения – системных фунгицидов, ингибиторов синтеза стероидов. Тебуконазол представляет собой бесцветные кристаллы. Хорошо растворим в органических растворителях, плохо растворяется в воде. Отличается специфичным действием против всех видов ржавчины зерновых культур. При опрыскивании растений защищает их от болезней в течение 3 недель. Последняя обработка разрешена за 30 дней до уборки урожая. Данный фунгицид может оказывать регуляторное действие на рост растений [12]. При обработке семян он эффективно подавляет головневые грибы, а также возбудителей корневых гнилей и плесневения семян. Относится к третьему классу опасности для человека по ингаляционной токсичности [13].

Экспериментальные гранулы комплексного препарата, включающего оба пестицида, депонировали в биоразрушаемую основу из поли(3-гидроксибутирата) и наполнителя. В качестве наполнителя использовали опилки. Соотношение компонентов в гранулах (по весу) составляло:

- а) П(ЗГБ) - 50%, наполнитель - 20%, метрибузин - 15%, тебуконазол - 15%;
- б) П(ЗГБ) - 50%, наполнитель - 40%, трибенурон-метил - 5%, тебуконазол - 5%.

В качестве положительного контроля для сравнения использовали:

а) в лабораторных опытах: свободные препараты - водные растворы действующего вещества метрибузина и тебуконазола в количестве, эквивалентном его содержанию в гранулах;

б) в полевых опытах: коммерческие препараты, содержащие трибенурон-метил или тебуконазол, в дозировке, рекомендованной производителем.

Коммерческий фунгицидный препарат «Бункер», содержит 60 г/л тебуконазола (зарегистрирован Минсельхозом РФ от 23 января 2018 г. № 1618; регистрационный номер 021-02-1689-1). ЗАО Фирма «Август».

Коммерческий гербицидный препарат «Мортира» содержит 750 г/кг трибенурон-метила (зарегистрирован Минсельхозом РФ от 05 марта 2018 г. № 1795; регистрационный номер 021-03-1795-1). ЗАО Фирма «Август»

## **2.2 Исследование влияния экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору ячменя в лабораторных условиях**

Действие гербицидных и фунгицидных препаратов на ризосферную микрофлору растений исследовали в лабораторных почвенных микросистемах, включающих ячмень (*Hordeum vulgare* L.) сорта «Биом» и сорное растение – щетинник (*Setaria macrocheata*) (рис. 1). Полевую почву помещали в пластиковые контейнеры объемом 500 см<sup>3</sup> (масса почвы 400 г/контейнер, влажность – 50%) и засевали семенами ячменя и щетинника. В контейнерах, засеянных семенами ячменя и щетинника, использовали комплексный тип препарата, содержащий гербицид метрибузин и фунгицид тебуконазол – П(ЗГБ)/опилки/МЕТ+ТЕБ, для подавления как сорных растений, так и корневых гнилей. Гранулы комплексного препарата вносили в почву на глубину 1,5-2 см одновременно с посевом семян.

В качестве положительного контроля (К+) в почву вносили водные растворы свободных препаратов в концентрации, рекомендованной для полевого применения. В отрицательном контроле (К-) пестицидные препараты не вносили. 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/м<sup>2</sup>/с с шагом 100 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. Минимальную влажность почвы поддерживали на уровне 50 %.



Рисунок 1 – Растения ячменя и щетинника в лабораторных почвенных микроэкосистемах при выращивании в фитотроне

На 7-е и 22-е сутки производился учет числа злаковых культурных и сорных растений, а также замер высоты побега для оценки гербицидной активности препаратов.

Количество микроорганизмов в образцах почвы из контейнеров определяли через 1 и 3 недели стандартными методами почвенной микробиологии, высевая разведения почвенной суспензии ( $10^2$ - $10^7$ ) на агаризованные питательные среды [11 - Нетрусов].

### 2.3 Исследование влияния экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору пшеницы в полевых опытах

Полевые испытания депонированного комплексного препарата, содержащего трибенурон-метил и тебуконазол [П(ЗГБ)/опилки/ТРИБ+ТЕБ], проводили согласно нормативному документу Минсельхоза РФ (Руководство по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов в сельском хозяйстве, 2018 г.) на опытных полях Мининского полевого стационара Красноярского НИИ сельского хозяйства ФИЦ КНЦ СО РАН (пос. Минино, Емельяновский район).

В качестве тестовых культур на поле Красноярского НИИСХ выращивали яровую пшеницу (*Triticum aestivum* L.) сорта «Красноярская 12». Засев семян и внесение гранул с препаратами проводили в один и тот же день механизированным способом.

В качестве положительного контроля использовали коммерческие агропрепараты, приобретенные в ЗАО «Август»: гербицидный препарат «Мортира» и фунгицидный препарат «Бункер». Обработка коммерческим препаратом гербицида «Мортира» проводилась методом опрыскивания в соответствии с полевыми рекомендациями. Обработка фунгицидным препаратом «Бункер» проводилась путем замачивания семян перед посадкой. В отрицательном контроле (интактные растения) семена не обрабатывались.

Отбор образцов ризосферной почвы пшеницы проводили в динамике на разных стадиях развития растений:

Точка 0	19 мая – исходная почва, произведен засев семян и внесение гранул
Точка 1	18 июня – фаза "всходы - начало кущения"
Точка 2	3 июля – фаза "выход в трубку-колошение"
Точка 3	4 августа – фаза "цветение"
Точка 4	31 августа – фаза "восковая спелость"; уборка урожая.



Анализировали общую численность ризосферных бактерий, и микромицетов (включая фитопатогенные микромицеты родов *Alternaria*, *Fusarium* и *Bipolaris* – возбудители корневых гнилей пшеницы) в динамике. Также определяли таксономический состав доминирующих бактерий в исходной почве (19 мая) и в конце вегетационного периода (31 августа).

#### **2.4 Микробиологический анализ почвы**

Микробиологический анализ ризосферной почвы ячменя и пшеницы проводили общепринятыми методами почвенной микробиологии [11 - Нетрусов]. Численность копиотрофных бактерий определяли на питательном агаре (Nutrient agar, HiMedia, Индия), прототрофных бактерий – на крахмало-аммиачном агаре, олиготрофных бактерий – на почвенном агаре, аэробных азотфиксирующих бактерий – на агаре Эшби. Численность микромицетов определяли на агаре Сабуро (Sabouraud Dextrose Agar, HiMedia, Индия) с добавлением бензилпенициллина (1 млн. ед./л) для предотвращения роста бактерий.

При идентификации бактериальных изолятов проводили сравнительный анализ их морфологических, культуральных, биохимических свойств, описанных в определителе бактерий Берджи. Определяли морфологию вегетативных клеток, спорообразование, подвижность, окраску по Граму, амилазную, липазную, лецитиназную, и протеазную активность, пигментирование, образование кислоты из глюкозы, лактозы, сахарозы, мальтозы и маннита. Принадлежность изучаемых культур к группе грамположительных или грамотрицательных бактерий определяли экспресс-методом Грезерсона. Определение каталазной активности проводили с 3 %-ным раствором пероксида водорода. Для выявления амилалитической активности использовали среду следующего состава (г/л): пептон – 10.0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 5.0; растворимый крахмал - 2.0; агар – 15.0; рН среды 6,8 – 7.0. Среду

стерилизовали при температуре 121 °С 30 минут и разлили в стерильные чашки Петри. Исследуемые микроорганизмы высевали штрихом по диаметру чашки, культивировали 3-5 суток при 30 °С. Гидролиз крахмала обнаруживали по йодкрахмальной реакции после обработки агаровой поверхности раствором Люголя. Протеолитическую активность определяли по способности гидролизовать желатину. К 100 мл мясопептонного бульона (МПБ) добавили 15 г желатины, оставили на 15 минут, чтобы она набухла, затем нагрели на водяной бане до полного растворения желатины и разлили в пробирки по 10 мл. Стерилизовали при температуре 121 °С 15 минут. Посев проводили уколом. Продолжительность культивирования 2-5 суток при комнатной температуре. Разжижение желатины отмечали визуально. Для выявления липазной и лецитиназной активности использовали желточно-солевую среду следующего состава: к 100 мл расплавленного и охлажденного до 60-70 °С стерильного МПА (рН 7,2), содержащего 10 г NaCl, добавляли 10-20 мл желточной взвеси, перемешивали и разливали в чашки Петри. Исследуемые микроорганизмы высевали штрихом по диаметру чашки. Продолжительность культивирования составила 3 суток, при температуре 27 °С. Визуально отмечали при лецитиназной активности помутнение вокруг колоний, а при липазной активности радужную пленку на поверхности колоний. Способность исследуемых культур ферментировать углеводы изучали на универсальных средах Гисса (с глюкозой, сахарозой, лактозой, мальтозой, маннитом). Засев проводили в пробирки с жидкой средой, культивировали в течение 3 дней. Визуально отмечали образование газа и кислоты.

Видовую принадлежность выделенных доминирующих изолятов бактерий определяли методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) на масс-спектрометре Bruker Microflex (Bruker, Германия)

Идентификацию почвенных микромицетов проводили по микро- и макро-морфологическим признакам (структуре и цвету колоний, строению мицелия и органов спороношения) [52].

## 2.5 Методы анализа зараженности пшеницы корневыми гнилями

Анализ корней производили в динамике в фазы кущения, колошения, цветения и восковой спелости. Для количественного определения зараженности корней пшеницы использовали метод проращивания мицелия гриба-фитопатогена во влажных камерах.

В стерильные чашки Петри на увлажненную фильтровальную бумагу раскладывали корни пшеницы. На одну чашку по 3-4 корня. Предварительно корни промывали водопроводной водой, затем – стерильной (3 раза). Закрытые чашки Петри помещали в термостат (температура 22-25°C). Учет результатов производили на 7-10-е сутки. Зараженность корней грибами *Fusarium*, *Alternaria*, *Bipolaris* анализировали, микроскопируя проросший мицелий и спороношение грибов.

Показатели эффективности депонированных и коммерческих препаратов оценивали, сравнивая долю зараженных корневыми гнилями растений (%) в каждом варианте опыта.

## **ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Изъято 15 страниц**

## Заключение

Микробиологический анализ почвы опытных полей Мининского стационара, засеянных яровой пшеницей, показал, что под действием разных способов доставки препаратов фунгицидного и гербицидного действия – коммерческие формы Бункер и Мортира или, как альтернативный способ, депонированные в биodeградируемые гранулы тебуконазол и трибенурон-метил в виде комплексного препарата – происходило снижение общей численности микромицетов преимущественно за счет уменьшения доли фитопатогенов (*Alternaria*, *Bipolaris*, и *Fusarium*) и увеличения доли сапротрофных видов (*Penicillium*, *Mortierella* и *Trichoderma*). В конце вегетационного периода действие протравителя Бункер было неэффективным и в ризосферной зоне возобновился рост фитопатогенов. Комплексный препарат, содержащий в качестве фунгицидного компонента депонированный тебуконазол, эффективно сдерживал развитие фитопатогенов: виды рода *Fusarium* обнаруживались только в период всходов, а *Bipolaris* и *Alternaria* не выявлялись в течение всего периода вегетации. Анализ бактериального сообщества показал, что депонированная форма комплексного препарата [П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ/ТБМ] повышала долю граммотрицательных бактерий рода *Pseudomonas* и актинобактерий родов *Rhodococcus* и *Streptomyces*, однако влияние экспериментальной формы на бактериальное сообщество оказалось менее значительным, чем традиционная обработка пестицидами Бункер и Мортира.

## ВЫВОДЫ

**По результатам работы были сделаны следующие выводы:**

1. Комплексный препарат, включающий гербицидный (метрибузин) и фунгицидный (тебуконазол) компоненты, депонированные в биоразлагаемую основу из поли(3-гидроксибутирата) и наполнителя – П(ЗГБ)/опилки/МЕТ+ТЕБ, не оказывал ингибирующего действия на развитие ризосферных бактерий ячменя в модельных почвенных микроэкосистемах в течение 3-х недель вегетации. Фунгицидное действие депонированного препарата ярко выражено проявлялось на третьей неделе вегетации, снижая численность микромицетов в 5,1-5,2 раза по сравнению с негативным и позитивным контролями, что обусловлено постепенным и стабильным выходом фунгицида из полимерной основы.
2. Внесение депонированной формы гранул П(ЗГБ)/опилки/МЕТ+ТЕБ не оказало значимого ингибирующего действия на рост ячменя в модельных опытах. Гербицидное действие депонированного метрибузина было менее эффективным, чем его свободной формы, однако количество сорных растений щетинника при внесении гранул с метрибузином уменьшилось в 2,2 раза по сравнению с негативным контролем.
3. В условиях полевого опыта, при выращивании пшеницы на территории Мининского стационара КНИИСХ ФИЦ КНЦ СО РАН, динамика численности ризосферных бактерий соответствовала характерным сезонным флуктуациям. Внесение комплексного препарата, сочетающего гербицидное (трибенурон-метил) и фунгицидное (тебуконазол) действие – П(ЗГБ)/опилки/ТРИБ+ТЕБ, не привело к снижению численности бактерий в ризосфере пшеницы в сравнении с негативным контролем на протяжении всего периода вегетации (с мая по август).

4. Динамика численности микромицетов в ризосфере пшеницы, как под действием комплексного препарата [П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ+ТБМ], так и коммерческого протравителя Бункер соответствовала колебаниям численности в негативном контроле, однако обе формы фунгицидного препарата снижали численность микромицетов по сравнению с негативным контролем. Фунгицидное действие гранул, содержащих депонированный тебуконазол, было более эффективным в конце вегетации, чем у коммерческого протравителя Бункер.
5. Исследование таксономического разнообразия ризосферных бактерий пшеницы показало, что в негативном контроле преобладали грамположительные бактерии рода *Bacillus*, доля которых к концу вегетации составляла до 91%. Обработка растений коммерческим препаратом и внесение гранул комплексного препарата привело к уменьшению доли бактерий рода *Bacillus*, росту доли грамотрицательных бактерий *Pseudomonas* и актинобактерий родов *Rhodococcus* и *Streptomyces*.
6. Таксономический состав доминирующих представителей микромицетов в ризосфере пшеницы представлен преимущественно видами рода *Penicillium*, доля которых составляла от 35,5% до 55,2%. Внесение депонированной и коммерческой форм фунгицидных препаратов привело к подавлению комплекса фитопатогенных грибов *Fusarium*, *Alternaria* и *Vipolaris*. При внесении гранул комплексного препарата фитопатогенные грибы выделялись только в период всходов (частота встречаемости – 5,6-6,3%), в последующие сроки до конца вегетации количество фитопатогенных грибов было ниже порога обнаружения.

## Список использованных источников

1. Damalas C.A. Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2011. - Vol. 8. - 1402–1419.
2. Han X., Chena S. Controlled-release fertilizer encapsulated by starch/polyvinyl alcohol coating. // *The Third Membrane Science and Technology Conference of Visegrad Countries (PERMEA) – 2009.* – V.240. – P.21-26.
3. Бояндин А. Н., Прудникова С. В., Филипенко М. Л., Храпов Е.А., Волова Т.Г. Биодegradация полигидроксиалканоатов почвенными микробиоценозами различной структуры и выявление микроорганизмов // *Прикладная биохимия и микробиология.* – 2012. – Т. 48. – № 1. – С. 35–44.
4. Wu C.-S. Controlled release evaluation of bacterial fertilizer using polymer composites as matrix. *Journal of Controlled Release* – 2008a. – V.132. – P.42-48.
5. Jendrossek D., Handrick R. Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates // *Annu Rev Microbiol.* – 2002. – Vol. 56. – P. 403-432.
6. Волова Т. Г., Жила Н.О., Прудникова С.В., Бояндин А.Н., Шишацкая Е.И. *Фундаментальные основы конструирования и применения сельскохозяйственных препаратов нового поколения.* – Красноярск: Институт биофизики СО РАН, 2016. – 214 с.
7. Тагер, А. А. *Физико–химия полимеров* / А. А. Тагер; под ред. А.А. Аскадского. – М. : Научный мир, 2007. – 576 с.
8. Волова Т. Г., Шишацкая Е. И. «Биоразрушаемые полимеры: синтез, свойства, применение» / под ред. Э.Дж. Сински. - Красноярск: Красноярский писатель, 2011. - 329 с
9. Duke, S. O. Why have no new herbicide modes of action appeared in recent years? // *Pest Management Science.* – 2012. – № 68. – С. 505–512.
10. Gross, R. A. Biodegradable polymers for the environment // *Green Chem.* – 2002. – Vol. 297. – P. 803–807



11. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии: учеб. пособие / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук. – М: Академия, 2005. – 608 с.
12. Мельников Н. Н. Пестициды. Химия, технология и применение //М.: Химия. – 1987. – 712 с.
13. 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
14. Duran, N. Nanobiotechnology perspectives. Role of nanotechnology in the food industry: a review / N. Duran, P. D. Marcato // International Journal of Food Science & Technology. – 2017. – Т. 48. – № 6. – С. 1127-1134.
15. Roy, A. Controlled pesticide release from biodegradable polymers / A. Roy, S. K. Singh, J. Bajpai, A. K. Bajpai // Central European Journal of Chemistry. – 2014. – Т. 12. – № 4. – С. 453-469.
16. Tan, D. Methoxy-modified kaolinite as a novel carrier for high-capacity loading and controlled-release of the herbicide amitrole / D. Tan, P. Yuan, F. Annabi-Bergaya, D. Liu, H. He // Scientific reports. – 2015. – Т. 5.
17. Шутко, А. П. Рынок средств защиты растений в мире и России: тенденции, динамика, прогнозы/А. П. Шутко, А. Г. Долгова//Международный студенческий научный вестник. – 2015. – № 2. –С. 14.
- 18.Grillo, R. Poly(-caprolactone) nanocapsules as carrier systems for herbicides. Physico-chemical characterization and genotoxicity evaluation/R. Grillo, N. Zocal Pereira, C. R. Maruyama, A. H. Rosa, R. de Lima, L. F. Fraceto//Journal of Hazardous Materials. – 2012. – Vol. 231. – P. 1–9.
19. Singh, B. In vitro release dynamics of thiram fungicide from starch and poly (methacrylic acid) – based hydrogels / B. Singh, D. K. Sharma, A.Gupta // Journal of hazardous materials. – 2008. – Vol. 154, № 1. – P. 278–286.
20. Kaur, G. Strategies for large-scale production of polyhydroxyalkanoates/G. Kaur, I. Roy // Chem. Biochem Ing. – 2015. – Vol. 29. – P. 157–172.

21. Savenkova, L. PHB-based films as matrices for pesticides // L. Savenkova, Z. Gercberga, O. Muter, V. Nikolaeva, A. Dzene, V. Tupureina // *Process Biochem.* – 2002. – Vol. 37. – P. 719–722.
22. Jendrossek, D. Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates / D. Jendrossek, R. Handrick // *Annual Review of Microbiology.* – 2002. – Т. 56. – №. 1. – С. 403–432.
23. Севастьянов, Д. В. Полимерные биоконпозиты на основе биоразлагаемых связующих, армированных натуральными волокнами (обзор) / Д. В. Севастьянов, И. В. Сутубалов, М. И. Дасковский, Е. А. Шейн // *Авиационные материалы и технологии.* – 2017. – № 4–49. – С. 42–50.
24. Тагер, А. А. Физико–химия полимеров / А. А. Тагер ; под ред. А.А. Аскадского. – М. : Научный мир, 2007. – С.-576.
25. Biodegradation of Polyhydroxyalkanoate Films in Natural Environments / A.N. Boyandin, V.P. Rudnev, V.N. Ivonin, S.V. Prudnikova, K.I. Korobikhina, M.L.
26. Biodegradability of plastics / Tokiwa Y., Calabria B. P., Ugwu C. U., Aiba S. // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2009. – №10. – P. 3722-3742
27. Прудникова, С. В. Долговременные системы доставки удобрений на основе полигидроксиалканоатов / С. В. Прудникова, В. Ц, Цыремпилов // *Журнал Сибирского федерального университета. Биология.* – 2012. – № 3. – С. 322-328.
28. Попов, С. Я. Основы химической защиты растений / С. Я. Попов, Л. А. Дорожкина, В. А. Калинин. – Москва : Арт-Лион, 2003. – Т. 144. – 194 с.
29. Куликова Н.А, Лебедева Г.Ф. Гербициды и экологические аспекты их применения. Учебное пособие. – Москва, книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2010. – 152с.
30. Белов Д.А. Химические методы и средства защиты растений в лесном хозяйстве и озеленении: Учебное пособие для студентов. –М.: МГУЛ, 2003. – 128 с

31. Cycoń M., Piotrowska-Seget, Z., Kaczyńska, A., Kozdrój, J. Microbiological characteristics of a sandy loam soil exposed to tebuconazole and  $\lambda$ -cyhalothrin under laboratory conditions // *Ecotoxicology*. – 2006. – Т. 15. – №. 8. – С. 639-646

32. Komárek M., Čadková, E., C ravný, V., Bordas, F., Bollinger, J. C. Contamination of vineyard soils with fungicides: a review of environmental and toxicological aspects // *Environment international*. – 2010. – Т. 36. – №. 1. – С. 138-151

33. Прудникова С.В. Закономерности биоразрушения полигидроксиалканоатов на территории Вьетнама и Центральной Сибири/ Прудникова С.В., Коробихина К.И, Бояндин А.Н., Волова Т.Г. // *Биология* – 2012. – Т.3. №5. С. 311-321

34. Волова, Т. Г. Фундаментальные основы конструирования и применения сельскохозяйственных препаратов нового поколения / Т. Г. Волова, Н. О. Жила, С. В. Прудникова, А. Н. Бояндин, Е. И. Шишацкая. – Красноярск : Институт биофизики СО РАН, 2016. – 214 с.

35. Прудникова С.В., Волова Т.Г. Экологическая роль полигидроксиалканоатов – аналога синтетических пластмасс: закономерности биоразрушения в природной среде и взаимодействия с микроорганизмами (монография). Красноярск: Красноярский писатель, 2012. – 184 с

36. Прудникова С.В. Микробиологическая деградация полигидроксиалканоатов в модельных почвенных средах / С. В. Прудникова // *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*. – 2012. – № 10. – С. 39–43.

37. Reddy S. V. Biodegradation of polyhydroxyalkanoates / S.V. Reddy, M. Thirumala, S. K. Mahmood // *The Internet Journal of Microbiology*. 2008. № 4–2

38. Зинченко В.А. Химическая защита растений: средства, технология и экологическая безопасность. – М.: Колос С, 2005. – 232 с.

39.СтимАгро Пестициды,семена,удобрения Режим доступа:  
[agromax.pro/protraviteli-semyan/1042-bunker-vsk.htm](http://agromax.pro/protraviteli-semyan/1042-bunker-vsk.htm)

40. Ганиев М.М., Недорезков В.Д. Химические средства защиты растений. – М.: КолосС, 2006. – 248 с.

41.Chowdhury A.A. Poly- $\beta$ -hydroxybuttersäure abbauende Bakterien and Exoenzym. // Arch. Mikrobiol. - 1963. - Vol. 47. - P. 167-200

42.Delafield F.P. Decomposition of poly- $\beta$ -Hydroxybutyrate by Pseudomonas / Delafield F.P., Doudoroff M., Palleroni N.J. // J. of Bacteriology. – 1965. - Vol. 90. - №5. – P. 1455-1466

43 . Mergaert J. In situ biodégradation of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in natural waters. / J. Mergaert, A. Wouters, J. Swings, C. Anderson. // Can. J. Microbiol. - 1995. - Vol. 41. - №13. -P. 154-159

44. Lee K.M. Fungal degradation of the bioplastic PHB (poly-3-hydroxybutyric acid). / K.M. Lee, D. F. Gimore, M.J. Huss. // J. Polym. Environ. - 2005. - Vol. 13. - №3. - P. 213-219

45.Козловский А.Г. Изучение биодеградации поли- $\beta$ -гидроксibuтирата микроскопическими грибами. / А.Г. Козловский, В.П. Желифонова, Н.Г. Винокурова., и др. // Микробиология. – 1999. – Т. 68. - С. 340-346

46.Sanyal P. Degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrateco-3-hydroxyvalerate) by some soil Aspergillus spp. / P. Sanyal, P. Samaddar, A. Paul. // J. Polym. Environ. – 2006. – Vol. 14. – P. 257-263.

47. Dan Li, Baoxia Liu, Fei Yang, Xing Wang, Hong Shen, Decheng Wu. Preparation of uniform starch microcapsules by premix membrane emulsion for controlled release of avermectin //Carbohydrate polymers. – 2016. – Т. 136. – С. 341-349.

48.Прудникова С. В., Цыремпилов В.Ц. Долговременные системы доставки удобрений на основе полигидроксиалканоатов. Журнал Сибирского федерального университета. Серия Биология. – 2012. – 5 (3). – С. 322-328.

49. Волова Т. Г. Современные биоматериалы: мировые тренды, место и роль микробных полигидроксиалканоатов. – 2014.

50. AgisF. Kydonieus. Treatise on Controlled Drug Delivery. Routledge, 1992. 568 p. [Электронный источник]: Tailor&FrancisGroup. Точка доступа: <https://www.taylorfrancis.com>

51. Roy A., Singh, S. K., Bajpai, J., & Bajpai, A. K. Controlled pesticide release from biodegradable polymers //Central European Journal of Chemistry. – 2014. – Т. 12. – №. 4. – С. 453-469.

52. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов //М.: Мир. – 2001 – 486 с.

53. Пестициды. Справочник [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.pesticidy.ru>

54. Дорофеева Л. Л., Шкаликов В. А. Болезни зерновых культур //М.: Печатный город. – 2007 – 96 с.

55. Гагкаева Т. Ю., Гаврилова О. П. Фузариоз зерновых культур //Защита и карантин растений. – 2009. – №. 12. – С. 13-15.

56. Аубакирова Д.С., Ремеле В.В. Фитотоксичность грибов рода *Alternaria* // Сельское, лесное и водное хозяйство. 2013. № 12 [Электронный ресурс]. URL: <http://agro.snauka.ru/2013/12/1276>

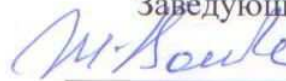
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии

Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

 Т.Г. Волова

« 18 » июня 2021 г.

### МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Характеристика почвенного микробиоценоза при  
использовании долговременных форм сельскохозяйственных  
препаратов

06.04.01 Биология

06.04.01.01 Микробиология и биотехнология.

Научный руководитель



подпись, дата

проф., д-р биол. наук

должность, ученая степень

С.В. Прудникова

инициалы, фамилия

Выпускник



подпись, дата

О.Н. Бауман

инициалы, фамилия

Рецензент



подпись, дата

н.с., канд. биол. наук

А.В. Муруева

инициалы, фамилия

Красноярск 2021