

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

Влияние систем контролируемой доставки пестицидов на основе поли(3-  
гидроксибутирата) на ризосферную микрофлору пшеницы и ячменя

06.04.01. Биология

06.04.01.01. Микробиология и биотехнология

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

Красноярск 2021

## РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация на тему «Влияние систем контролируемой доставки пестицидов на основе поли(3-гидроксибутирата) на ризосферную микрофлору пшеницы и ячменя» содержит 43 страницы текста, 10 иллюстраций, 50 использованных источников.

Ключевые слова: депонирование гербицидов, сорные растения, трибенурон-метил, метрибузин, поли(3-гидроксибутират), контролируемая доставка.

Использование агрохимикатов с контролируемым выходом позволяет уменьшить накопление пестицидов в окружающей среде, повысить эффективность препаратов за счет поддержания концентрации действующего вещества, а также исключить многократное внесение.

Целью данной работы была оценка влияния пролонгированных препаратов гербицидного действия, депонированных в разрушаемую полимерную основу, на ризосферные микроорганизмы.

В задачи исследования: оценка влияния экспериментальных долговременных форм препаратов (метрибузин и трибенурон-метил) на ризосферную микрофлору пшеницы, зараженной сорняками, в лабораторных условиях; оценка влияния депонированного в полимерную основу гербицидного препарата (трибенурон-метил) на ризосферную микрофлору пшеницы и ячменя в полевых условиях; оценка эффективности долговременных форм препаратов против сорной растительности.

В ходе исследования не было выявлено негативного влияния депонированных форм гербицидов (трибенурон-метила и метрибузина) на ризосферные микроорганизмы пшеницы и ячменя. При использовании экспериментальных долговременных форм гербицидных препаратов на посевах пшеницы динамика гибели сорняков была более активной, пролонгирующее действие гранул проявлялось стабильно до периода уборки.

## **СОДЕРЖАНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Применение пестицидов в сельском хозяйстве	6
1.2 Методы борьбы с сорными растениями	7
1.2.1 Трибенурон-метил	8
1.2.2 Метрибузин	10
1.3 Влияние пестицидов на нецелевые организмы и окружающую среду	11
1.4 Влияние пестицидов на почвенные микроорганизмы	14
1.5 Контролируемая доставка пестицидов	18
1.5 Характеристика ПГА	21
Глава 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	24
2.1 Исследование влияния экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору пшеницы в лабораторных условиях	24
2.2 Исследование влияния экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору зерновых культур в полевых условиях	25
2.2.1 Характеристика района исследования	25
2.2.2 Микробиологический анализ почвенных образцов	26
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ	27
3.1 Влияние свободных и депонированных форм гербицидов на ризосферную микрофлору пшеницы в лабораторных условиях	27
3.2 Влияние свободных и депонированных форм гербицидов на зараженность пшеницы сорными растениями	28
3.3 Исследование влияния экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору зерновых культур в полевых условиях	29

3.3.1	Микробиологический анализ полевой почвы	29
3.3.2	Влияние гербицидных препаратов на ризосферные бактерии пшеницы и ячменя	31
3.3.3	Влияние гербицидных препаратов на ризосферные микромицеты пшеницы и ячменя	33
3.4	Анализ сорняков	35
	ВЫВОДЫ	38
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	39

## ВВЕДЕНИЕ

Помимо полезных свойств, интенсивное использование гербицидов часто связано с накоплением высоких концентраций химических соединений в почве, что представляет опасность для здоровья человека, влияет на долгосрочное плодородие почвы, нарушает стабильность агроэкосистем и вызывает развитие видов, устойчивых к гербицидам.

Использование гербицидов не всегда приводит к достижению желаемого эффекта из-за неспособности доставки пестицида к месту назначения в необходимых количествах и поддержании оптимальной концентрации в течение определенного времени. Производство и ассортимент пестицидов с каждым годом увеличивается, а объем их использования растет, важность проблем, связанных со стоимостью и ограничениями в разработке новых пестицидов, осознается во всем мире, поэтому ученые занимаются разработками по улучшению доставки пестицидов, как новых, так и уже используемых. Эффективным решением для сокращения внесения пестицидов и ограничения их накопления в окружающей среде является технология контролируемой доставки. При использовании этого метода пестицид и его носитель (как правило это полимерная структура) соединяются таким образом, чтобы обеспечить доставку пестицида к целевому объекту в контролируемых объемах за определенный промежуток времени. Перспективными материалами для создания систем с контролируемым высвобождением пестицидов являются полимеры микробиологического происхождения.

Цель данной работы – оценка влияния пролонгированных препаратов гербицидного действия, депонированных в разрушаемую полимерную основу, на ризосферные микроорганизмы.

В задачи исследования входили:

- оценка влияния экспериментальных долговременных форм препаратов (метрибузин и трибенурон-метил) на ризосферную микрофлору пшеницы, зараженной сорняками, в лабораторных условиях
- оценка влияния депонированного в полимерную основу гербицидного препарата (трибенурон-метил) на ризосферную микрофлору пшеницы и ячменя в полевых условиях
- оценка эффективности долговременных форм препаратов против сорной растительности

## Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Применение пестицидов в сельском хозяйстве

Деградация почвы относится к широкому спектру изменений характеристик почвы из-за естественных или антропогенных факторов, которые изменяют их структуру и качество, и включает в себя обезлесение и удаление естественной растительности, сельскохозяйственную деятельность, чрезмерный выпас и промышленную деятельность. Эффективное землепользование имеет экономическое и социальное значение и обеспечивает экономический рост, сохранение биоразнообразия и продовольственную безопасность.

Сельскохозяйственные земли стали одним из крупнейших наземных биомов на планете, занимая примерно 40% поверхности. Кроме того, на сельское хозяйство также приходится 70% всей воды, забираемой из водоносных горизонтов, ручьев и озер [26].

Сельскохозяйственное производство сталкивается со многими проблемами, такими как потеря питательных веществ, патогены и низкая урожайность, недостаток воды и удобрений. Для решения таких проблем фермеры используют большое количество пестицидов и других агрохимикатов (азотные, фосфорные, калийные удобрения и металлоорганические соединения), которые в конечном итоге приводят к экологическим проблемам, таким как загрязнение воздуха, токсичность почвы, деградация агроэкосистем, накопление остатков и пестицидов. Устойчивость к насекомым, патогенам, а также угрожает здоровью человека [38].

Многие из этих проблем могут быть решены с течением времени, но потребность в продовольствии у постоянно растущего населения, которое, по прогнозам, достигнет более 9 миллиардов человек в 2050 году, остается жизненно важной глобальной проблемой, которая требует интеграции различных технологий в современное сельское хозяйство, в том числе улучшение агрохимикатов [33].

Однако, пестициды необходимы для выращивания растений, особенно экономически важных сельскохозяйственных культур. Согласно прогнозным исследованиям, пестициды защищают около одной трети всех сельскохозяйственных продуктов во всем мире [17]. В настоящее время во всем мире используется около 2 миллионов тонн пестицидов, из которых 47,5% - гербициды, 29,5% - инсектициды, 17,5% - фунгициды и 5,5% приходится на долю других пестицидов [44].

Чтобы преодолеть описанные проблемы, связанные с неизбирательным использованием синтетических агрохимикатов, важно разработать новые стратегии для более безопасного и эффективного применения этих химикатов [38].

Пестициды определяются как биологически активные и токсичные вещества, которые могут прямо или косвенно влиять на продуктивность почвы и качество агроэкосистем. Их основная функция - подавление роста организмов-мишеней, даже если их действие может быть распространено на нецелевые микроорганизмы, вызывая тем самым изменение структуры микробного сообщества [49].

Пестициды представляют собой разнообразную группу неорганических и органических химикатов, таких как гербициды, инсектициды, нематоциды, фунгициды и почвенные фумиганты. В сельском хозяйстве эти пестициды применяются для повышения урожайности и качества сельскохозяйственных культур, а также для максимизации экономической отдачи за счет предотвращения нападения вредителей [48].

Еще одна классификация пестицидов основана на их способе действия: несистемные пестициды (где пестицид находится в прямом контакте с вредителями и остается только на внешней стороне растения), системные пестициды (где пестициды поглощаются растением через листву или листья и действует только после того, как часть растения будет съедена вредителями), пестицид широкого спектра действия (неселективный по своей природе и используемый для различных вредителей в целом), лечебный пестицид (применяется после нанесения урона вредителями) и профилактические пестициды (применяется, чтобы остановить потери до того, как они случатся) [46].

## **1.2 Методы борьбы с сорными растениями**

Сорняки - это растения со специфическими характеристиками, которые помогают им заражать и вторгаться в посевы и успешно развиваться в широком диапазоне экологических и климатических условий [20]. Сельскохозяйственные культуры конкурируют с нежелательной растительностью (сорняками) за свет, пространство, питательные вещества и воду [33].

Сорняки также являются средой обитания для насекомых и болезнетворных вредителей, которые могут снизить качество урожая и увеличить риск неурожая.

В интенсивных агротехнологиях возделывания сельскохозяйственных культур гербициды являются неотъемлемым элементом современных систем защиты растений от сорняков [9].

Это наиболее распространенный и, возможно, самый эффективный подход к борьбе с сорняками во всем мире. Гербицидами называют химические вещества, используемые для уничтожения, ослабления или подавления сорной растительности [20].

Подавление сорняков гербицидами основано на поражении определённых мишеней, являющихся общими для всех растительных организмов (СоА-карбоксилаза, ацетолактатсинтаза, фотосистемы I и II, биосинтез каротиноидов, клеточное деление и др.). По этой причине селективность действия гербицидов значительно ниже, чем у фунгицидов, и гербициды оказывают на основную культуру гораздо больший стресс, чем фунгициды [15].

В соответствии с система классификации гербицидов Комитета действий по устойчивости к гербицидам (HRAC) гербициды были разделены на 25 групп, на основе ингибированных белков, мишеней или схожести индуцированных. В 2020 году по этой системе был классифицирован 261 гербицид ([www.hracglobal.com](http://www.hracglobal.com)) [40].

Массовое использование гербицидов, как и других пестицидов, приводит к загрязнению сельскохозяйственных почв, речных систем и близлежащих грунтовых вод, изменяя структуру и функцию почвенных микробных сообществ. Гербициды прямо или косвенно воздействуют на организмы, не являющиеся их основными целями, включая человека [40].

При решении вопроса о целесообразности использования того или иного гербицида необходимо учитывать ряд параметров, специфичных для конкретных условий внесения. В качестве главных критериев при выборе гербицида нужно использовать степень засоренности поля и видовой состав сорняков. Кроме того, желательно учитывать уровень агротехники и погодные условия года [6].

### **1.2.1 Трибенурон-метил**

Гербициды на основе сульфонилмочевины были разработаны в конце 1970-х годов. Гербицидная активность сульфонилмочевины основана на ингибировании ацетолактатсинтазы [19].

Под воздействием этих гербицидов клетки прекращают делиться и растение погибает. У культурных растений, устойчивых к



сульфонилмочевинам, происходит их метаболизация. Ацетолактатсинтаза контролирует синтез алифатических аминокислот с разветвленным углеродным скелетом (валин, лейцин и изолейцин) у высших растений, бактерий и грибов, из-за дефицита которых нарушается синтез белка и замедляется деление клеток. В результате растение останавливается в росте и постепенно погибает. Существенным фактом является отсутствие фермента ацетолактатсинтазы у теплокровных, в частности у человека, что объясняет безопасность этих препаратов для нерастительных объектов. Типичными представителями соединений ряда сульфонилмочевины являются метсульфурон-метил и трибенурон-метил [7].

**Трибенурон-метил** [Метилловый эфир 2-[6-метил-4-метокси-1,3,5-триазин-2-ил(метил) карбонилсульфамид]бензойной кислоты] представляет собой послевсходовый селективный гербицид из группы сульфонилмочевин. Он активен в борьбе со многими широколиственными сорняками (включая мак, виды ромашки, многолетний бодяк полевой, крестоцветные, горец вьюнковый, звездчатку среднюю и прочие) на зерновых культурах. Это белое кристаллическое вещество с резким запахом, стабильное в растворах при pH 8-10 и быстро разлагающееся при уменьшении или увеличении pH. В большинстве органических растворителей трибенурон-метил относительно нестабилен. Трибенурон-метил поглощается корнями и листьями, легко перемещается в растениях [3].

- профессиональный и надежный контроль широкого спектра двудольных сорняков;
- высокая селективность к обрабатываемой культуре;
- широкий диапазон сроков применения;
- разрешен для наземных обработок и авиаприменения;
- безопасен для любых последующих культур севооборота.

Механизм действия трибенурон-метила заключается в следующем: блокирует в чувствительных растениях фермент ацетолактатсинтазу, участвующий в синтезе незаменимых аминокислот; подавление фермента приводит к быстрой остановке деления клеток, а затем и гибели растений. У чувствительных сорняков рост прекращается через несколько часов после обработки, а хлороз и некроз появляется через несколько дней и затем сорняки погибают [12].

Данные препараты имеют низкую норму расхода, активность при температуре 5-10 °С, широкий спектр действия и диапазон сроков внесения

(осенью, весной) благоприятные токсикологические, экологические и экономические данные, с успехом могут использоваться в интегрированных системах защиты озимых и яровых зерновых, кукурузы, льна, картофеля, свеклы и других культур. Использование сульфомочевинных гербицидов в посевах озимых может быть достаточно эффективным при условии четкого соблюдения регламентов их применения и объективной оценки засоренности [6].

Растущее использование гербицидов сульфонилмочевины привело к исследованиям их воздействия на окружающую среду, особенно на почву. Гербициды на основе сульфонилмочевины обладают низкой летучестью и не проявляют заметной фоторазлагаемости. Однако они действительно проявляют высокую подвижность в, а некоторые из них (хлорсульфурон и метсульфурон-метил) могут длительное время сохраняться в почве. Следовательно, их остаточные количества в следовых количествах могут значительно повлиять как на севооборотные культуры, так и на микробиоту почвы [19].

Широкомасштабное применение гербицидных препаратов нового поколения из производных сульфонилмочевины и имидазолинонов в сельскохозяйственном производстве РФ в южных районах ЦФО и Поволжья привело к ежегодной регистрации фактов отрицательного последствия через год после их применения в нейтральных черноземных и щелочных каштановых почвах на чувствительные культуры севооборотов (сахарную свеклу, картофель, подсолнечник, рапс, гречиху и даже кукурузу). По уровню опасности отрицательного фитотоксического последствия действующие вещества из производных этих химических классов ранжируются в следующем понижающем порядке: просульфурон >> хлорсульфурон метсульфурон-метил  $\geq$  амидосульфурон  $\geq$  имазапир > триасульфурон  $\geq$  микосульфурон  $\geq$  имазамокс > римсульфурон  $\geq$  трибенурон-метил > тифенсульфурон. При этом исследованиями показано, что метод биотестирования является наиболее объективным показателем уровня загрязнения почв остатками фитотоксикантов [13]. Остатки сульфонилмочевины при определенных условиях могут сохраняться в почве и повреждать картофель в течение длительного времени после применения [15].

### **1.2.2 Метрибузин**

*Метрибузин* [4-амино-6-трет-бутил-3-метилтио-1,2,4-триазин-5(4Н)-он] является избирательным гербицидом из группы 1,2,4-триазинонов. Гербициды этого класса отличаются широким спектром действия на ряд

двудольных и злаковых сорняков, обладая продолжительным эффектом и действуя как через листья, так и через почву. Представляет собой белое кристаллическое вещество, растворимое в органических растворителях, а также устойчивое к действию разбавленных щелочей и кислот, но подверженное быстрой деградациии на свету в воде. Метрибузин легко абсорбируется корнями и проростками растений, но может проникать и через надземную вегетативную массу. 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 [2].

В Российской Федерации препараты на основе метрибузина используют для борьбы с однолетними двудольными и злаковыми сорными растениями на таких культурах, как томат, картофель, соя и некоторых других. Вместе с тем, гербициды на его основе применяют для защиты зерновых культур в Индии, Пакистане, США, Беларуси и других странах

Ввиду сортовой чувствительности зерновых культур к метрибузину, препараты на его основе вносят, как правило, до появления их всходов. А поскольку спектр действия метрибузина включает как двудольные, так и злаковые сорняки, его применение может быть актуально на озимых культурах, засоренных зимующими видами сорных растений [4].

Метрибузин разлагается микроорганизмами, поэтому климатические условия влияют на его разложение: в холодных условиях он разлагается медленнее. Стойкость метрибузина определяется скоростью его адсорбции на почвенных частицах, которая увеличивается в почвах с высоким содержанием органического вещества [30].

После применения метрибузина сохраняются его остаточные количества, способствующие значительному и существенному снижению высоты и сырой надземной массы чувствительных растений. Засуха в сезон применения Лазурита также способствует его сохранению в почве и проявлению токсичности по отношению к чувствительным культурам [8].

### **1.3 Влияние пестицидов на нецелевые организмы и окружающую среду**

Биологическое разнообразие составляет основу структурной и функциональной организации живого вещества биосферы, определяет стабильность и устойчивость экосистем. Оно выполняет регулирующую функцию в осуществлении всех биогеохимических, климатических и других

процессов на Земле. Исчезновение какого-либо вида животных или растений может вызвать непредсказуемые последствия и даже разрушения всего биогеоценоза. Биоразнообразие можно отнести к объективным факторам оценки состояния окружающей среды и устойчивости экосистем. Поэтому актуальным направлением в сельском хозяйстве является мониторинг и оценка всех факторов способных влиять на состояние агросферы, определять факторы риска, а также выявлять связи между ними.

Использование пестицидов и агрохимикатов в сельском хозяйстве влияет не только на производительность возделываемых культур и качество урожая, но и на экологическое состояние почвы, а также, как следствие, на количество и разнообразие растительного покрова и почвенной биоты, что является индикатором безопасности использования веществ в сельском хозяйстве. Каждый вид организмов в биогеоценозе (даже незначительный) имеет множественные связи с численностью других видов [1].

Неконтролируемое использование пестицидов вызывает их биоаккумуляцию в пищевых цепях, что приводит к высокому риску для млекопитающих и других нецелевых организмов. Кроме того, прямое или косвенное воздействие пестицидов на нецелевые организмы приводит к дисбалансу окружающей экосистемы. Более того, остатки пестицидов остаются в частях растений, почве, воздухе и даже проникают в воду. Такие остатки считаются одной из самых разрушительных угроз, с которыми сталкивается экосистема: они могут существовать в окружающей среде в течение длительного времени и иметь канцерогенный эффект [17].

Поскольку пестициды существенно различаются по своим физико-химическим свойствам, процессы их разложения или накопления в окружающей среде также будут разными. В естественных средах некоторые бактерии, грибы и микроводоросли способны полностью разлагать пестициды, не вызывая вторичного загрязнения окружающей среды, которое часто возникает в результате химического и физического разложения, но микробное разложение может быть неэффективным [30].

Биологический метод позволяет количественно определить суммарное содержание фитотоксичных веществ в почве или суммарные воздействия на культуру не только используемого гербицида, но и всех продуктов его трансформации, многие из которых характеризуются зачастую большей фитотоксичностью, чем исходный препарат [8].

Формы с одним и тем же активным ингредиентом могут различаться по токсичности как для вредителей, так и для нецелевых видов. Пестицидные

продукты от разных производителей имеют разные пропорции активного ингредиента и рецептур. Существуют убедительные доказательства того, что некоторые составы потенциально способны независимо проявлять токсические свойства, что приводит к более высокой токсичности конечного пестицидного продукта, например, результаты, демонстрирующие, что токсичность коммерческих пестицидных составов выше, чем токсичность чистых активных ингредиентов, были получены в биоанализах *in vitro* [30].

Кроме того, вспомогательные ингредиенты увеличивают проникновение активного ингредиента не только в целевой организм, но и в кожу тех, кто их использует, то есть сельскохозяйственных рабочих и фермеров являются уязвимыми группами [30].

Современная борьба с сельскохозяйственными вредителями часто приводит к потере около 90% применяемых пестицидов из-за различных факторов, отрицательно влияющих как на финансовое положение фермеров, так и на экосистему [25]. Эта нежелательная потеря представляет большую угрозу для населения, и дети, в частности, подвергаются более высокому риску из-за их характера воздействия и слабой слаборазвитой иммунной системы, большого отношения поверхности кожи к массе тела и высокой чувствительности холинергических рецепторов к пестицидам. Более того, профессиональная подверженность воздействию пестицидов высока для тех, кто работает в сфере производства, разработки рецептур, упаковки и сельскохозяйственных рабочих [46].

Среди нецелевых организмов гербициды поражают насекомых напрямую в виде контактного повреждения и косвенно, влияя на запасы пищи. Врожденная восприимчивость, этапы жизни и режим питания насекомых могут влиять на взаимодействие гербицидов с насекомыми. Как правило, взаимодействие гербицидов с насекомыми-вредителями и полезными насекомыми в основном является косвенным, и отсутствие сорняков может либо уменьшить популяцию насекомых, либо вызвать смену растения-хозяина и, следовательно, может наоборот увеличить их популяцию [45].

Это основные причины сосредоточить внимание на чрезмерном использовании гербицидов в сельском хозяйстве: иногда они обладают токсическим действием, которое распространяется по всей пищевой цепочке. Многие пестициды токсичны не только для намеренных основных целей, но и для нецелевых организмов, что приводит к экологическому дисбалансу [40].

Важнейшими задачами остаются неукоснительное соблюдение установленных мер безопасности на всех этапах производства, поставки и использования пестицидов, повышение ответственности и профессиональной грамотности в этих вопросах пользователей всех уровней — как в сельскохозяйственном производстве, так и в лесном, коммунальном, фермерском и личных подсобных хозяйствах,

В числе мер, направленных на безопасное обращение с пестицидами, основными являются:

- совершенствование технологий производства и применения пестицидов, включая разработку и внедрение современного оборудования, машин
- расширение объемов применения пестицидов с низкими нормами расхода и нестойких в окружающей среде: пестицидов нового поколения, имеющих широкий спектр действия, высокую избирательность (токсичны только к целевым объектам и малоопасны для млекопитающих, флоры и фауны), высокую эффективность (например, производные сульфонилмочевины, стробилурины и др.);
- разработку и поставку наиболее оптимальных препаративных форм пестицидов (гранулированные и микрокапсулированные формуляции; препараты в специальной водорастворимой упаковке, снижающей риск для пользователя при применении пестицида); выпуск пестицидов в упаковке малого объема, исключающей необходимость их развешивания и перезатаривания перед использованием [11].

#### **1.4 Влияние пестицидов на почвенные микроорганизмы**

В последние годы неожиданное негативное воздействие остатков пестицидов на нецелевые организмы было обнаружено в разных экосистемах и при разных уровнях воздействия пестицидов, и предположения регулирующих органов часто противоречили. Внедрение надлежащих методологий для определения вредного воздействия пестицидов на почвенные живые организмы является решающим шагом для выявления нежелательных эффектов. Европейское агентство по безопасности продуктов питания (EFSA) опубликовало научное заключение об оценке риска средств защиты растений для почвенных организмов, в которое также включены микроорганизмы. Признавая ограничения анализов, основанных на одном виде микробов, EFSA рекомендует использовать молекулярные методологии для целых сообществ, но подчеркивает трудности интерпретации сложных результатов для нормативных целей [49].

Оценка воздействия пестицидов на нецелевые организмы в почвах, включая микроорганизмы, может быть полезным инструментом для мониторинга здоровья почвы [49].

Биологическая активность пестицидов не ограничивается только целевыми организмами, но также распространяется и на нецелевые организмы. Среди нецелевых организмов наибольшую озабоченность вызывают микроорганизмы, поскольку они более ответственны за окружающую среду, поскольку они участвуют во многих основных экосистемных процессах, таких как биогеохимический цикл, процессы разложения, деградация подстилки, производство энергии, преобразование энергии через трофические уровни, круговорот питательных веществ и разложение загрязняющих веществ и пестицидов

Все эти функции имеют большое значение как для сельского хозяйства, так и для общества, и поэтому очень важно установить, не препятствует ли добавление пестицидов какому-либо из этих почвенных экологических процессов [28].

Гербициды, как биологически активные вещества, попадая в почву, оказывают воздействие на микробиологические процессы, происходящие в ней. Почвенные микроорганизмы, с одной стороны, способны к активному разложению гербицидов и связыванию токсических соединений, образующихся в процессе обмена, с другой - уже однократное внесение в почву сравнительно невысоких производственных доз гербицидов способно вызывать отклонение некоторых показателей биологической активности почвы (интенсивности дыхания, общей численности микроорганизмов и др.)

Определение побочных действий химических средств защиты растений в почвенных экосистемах затруднено в связи с многообразием компонентов системы

Основной поток энергии идет через сапротрофов, главная сторона деятельности которых состоит в минерализации поступающего в почву органического материала. Поэтому определение их численности в почве может дать представление об изменении этого процесса под действием пестицидов [5].

В связи с этим необходимо учитывать остаточные количества действующих веществ гербицидов и их метаболитов. Химические и физико-химические методы не очень сложны, однако необходимо дорогостоящее

оборудование. Можно результативно использовать более доступный и простой метод - биотестирование [10, 14].

Простое обнаружение / количественная оценка ксенобиотиков в абиотических и биотических компартментах имеет ограниченное значение, особенно когда они встречаются в виде сложных смесей, если их биологические или экологические эффекты не оценены должным образом. Особого внимания заслуживает влияние агрохимикатов на компоненты почвенной экосистемы, представленные микроорганизмами.

Взаимосвязь между корневым аппаратом растений и микробными сообществами почвы строго связана с плодородием почвы на химическом, биохимическом и микробиологическом уровнях. Ризобактерии и грибы могут стимулировать рост растений за счет производства фитостимуляторов (ауксинов, гиббереллинов), увеличивать усвоение питательных веществ и вызывать у растений устойчивость к абиотическому стрессу или подавляя биотические стрессоры, такие как болезни растений или вредители: любые изменения и / или нарушение тонкого регулирования этих взаимодействий может, таким образом, привести к ухудшению плодородия почвы [49].

В некоторых случаях чрезмерное применение гербицидов отрицательно влияет на микробиоту почвы, влияя на динамику биогеохимических циклов и плодородие почвы [24], вероятно, из-за потери чувствительных микробных популяций, выполняющих определенные экологические функции. Тем не менее химическая структура гербицидов может обеспечить необходимые питательные компоненты для роста микроорганизмов. Дополнительным эффектом чрезмерного использования гербицидов является влияние, которое они оказывают на структуру и состав почвенного микробного сообщества, с вторичным влиянием на питание растений и чувствительность к гербицидам. Это в значительной степени связано с воздействием на функции микроорганизмов в мутуалистических взаимодействиях с растениями. Гербициды могут влиять на метаболизм растений, изменяя экссудаты, используемые для передачи сигналов при взаимодействии растений и ризосферных микроорганизмов [40].

Пестициды могут влиять на растительно-микробные взаимодействия через их воздействие на возбудителя или на другую почвенную биоту. Для почвенных микроорганизмов характерна определенная выборочная чувствительность к гербицидам и пестицидам в целом. Химические обработки в основном приводят к гибели чувствительных к определенным препаратам видов и родов микроорганизмов, активизации устойчивых



мутантов и, используемые гербициды как энергетический материал. Вследствие этого наблюдается нарушение состояния равновесия почвенной экосистемы и соответственно – условий самоочищения почвы, происходящие из-за деятельности последовательно сменяющих друг друга групп микроорганизмов, сужение спектра микробиологической активности вследствие как непосредственного микробоцидного действия гербицидов, так и через изменения экологической среды [1].

В исследованиях, подтверждающих влияние пестицидов на микробную биомассу почвы были получены противоречивые результаты, подчеркивающие пагубный эффект в большей части исследований, но в некоторых случаях также стимулирующий эффект из-за пестицидов, действующих как источник углерода [40].

Кроме того, антропогенное воздействие, такое как химическое загрязнение или методы ведения сельского хозяйства, сильно влияют на микробный состав почвы [23].

Структура и механизм действия активных ингредиентов, присутствующих в составах гербицидов, не являются специфическими для уничтожения сорняков, отчасти из-за большого количества электроотрицательных остатков в их молекулах, включая кислород, гидроксид, сульфонил, фосфорную кислоту, амин и хлор. Таким образом, эти гербициды обладают высоким окислительным потенциалом в отношении различных химических мишеней и организмов, а также микроорганизмов. Ксенобиотические соединения могут увеличивать производство активных форм кислорода (АФК). Эти соединения влияют на выживание микроорганизмов, которым впоследствии необходимо разработать стратегии адаптации к этим условиям для поддержания своей экологической функциональности. Без адаптации определенные популяции микроорганизмов, скорее всего, исчезнут [40].

Понимание влияния пестицидов на почвенную микрофлору и их полезной деятельности является важной частью оценки риска пестицидов. Непросто предсказать взаимосвязь между химической структурой пестицида и его воздействием на различные группы почвенных микроорганизмов. Так как некоторые пестициды стимулируют рост микроорганизмов, но другие пестициды оказывают депрессивное действие или не оказывают никакого воздействия на микроорганизмы при применении с нормальной скоростью. Микробиологические анализы микробных сообществ, основанные на стандартных методах подсчета пластин, недостаточно точны, поскольку

примерно 1% почвенных бактерий можно культивировать, а многие бактерии и грибы нельзя культивировать в лаборатории [35].

Однако идея тестирования влияния пестицидов на функциональное разнообразие почвенных микроорганизмов ставится под сомнение, что изменения в микробных сообществах имеют незначительное влияние, поскольку можно ожидать быстрой адаптации в микробных сообществах. Почвенная экосистема представляет собой сложную матрицу, в которой обычно обитают миллиарды бактерий, десять тысяч простейших, сложная сеть грибных гиф и множество других организмов, включая растения, нематод и микроартропод [39]. Взаимодействия внутри и между этими группами очень затрудняют установление прямого и / или косвенного воздействия добавок пестицидов на состав микробного сообщества. Кроме того, большинство видов микробов, обитающих в почве, еще предстоит изучить, и часто почти нет представления об их роли и функциях в экосистеме почвы.

Некоторые утверждали, что относительное уменьшение видового богатства мало влияет на функции почвы из-за огромного количества видов и временной функциональной избыточности, присутствующей в почвенной экосистеме. Экспериментальные исследования показали, что это верно для таких функций почвы, как минерализация углерода, денитрификация и нитрификация.

Большинство этих исследований проводилось с культивируемыми бактериями в лабораторных условиях, которые, вероятно, плохо отражают почвенную экосистему, поэтому эти исследования в лучшем случае наводят на размышления. Напротив, было показано, что другие функции, такие как устойчивость к инвазии патогенных бактерий, снижаются с уменьшением видового богатства. Это может иметь большое значение, поскольку патогенные бактерии из навоза могут загрязнять посеvy, грунтовые и поверхностные воды. Кроме того, было обнаружено положительное влияние бактериального разнообразия на многофункциональность экосистемы и деградацию более специфических соединений [28].

### **1.5 Контролируемая доставка пестицидов**

Ожидается, что спрос на продукты питания удвоится в следующие десятилетия. Однако ограничения в расширении пахотных земель означают, что будущие стратегии ведения сельского хозяйства, вероятно, будут сосредоточены на оптимизации агротехнических операций. Например, этого можно достичь, резко снизив потери урожая от вредителей

за счет эффективного и длительного воздействия безопасных агрохимикатов [36].

Появление новых действующих веществ в ассортименте происходит очень редко в первую очередь из-за высокой стоимости их поиска. Вследствие этого, совершенствование ассортимента пестицидов связано, как правило, с созданием комбинированных препаратов или новых препаративных форм [4].

Биоразлагаемые носители предпочтительны для средств защиты растений, производство которых может уравновесить разработки, связанные с получением более сложных пестицидов или активных молекул [36].

Основным недостатком обычных применений пестицидов в целом является потеря, зависящая от способа применения и погодных условий. Эпидемиологические и научные исследования показали, что большая часть этих химикатов не полностью утилизируется растениями. Вместо этого значительное количество остается неиспользованным из-за различных ограничивающих факторов: выщелачивания, минерализации, биоконверсии и т. д. Около <0,1% пестицидов, применяемых для борьбы с вредителями, достигают своих целевых вредителей из-за гидролиза, микробиологической деградации, фотолитического и непродолжительно стойкого действия [27].

В связи с этим требуется дополнительные повторные внесения препаратов для эффективной борьбы с вредителями. Как следствие, эти химические остатки отрицательно сказываются не только на благополучии здоровья человека, но и на различных элементах экосистемы [46].

Чтобы преодолеть это ограничение, методы инкапсулирования и замедленного высвобождения пестицидов, в частности, которые непрерывно высвобождают активные ингредиенты в течение более длительного периода времени, могут уменьшить разложение и потерю пестицидов в нецелевых средах [27].

Цель препаратов с контролируемой доставкой - поддерживать концентрацию между максимальным и минимальным уровнями при однократной дозировке, исключая многократное дозирование. Технология контролируемой или интеллектуальной доставки пестицидов - одна из наиболее быстро развивающихся областей, в которой химики, инженеры-химики, разработчики рецептур и другие ученые, путем междисциплинарного подхода, пытаются повысить урожайность

сельскохозяйственных культур с минимальным воздействием на окружающую среду.

Кроме того, это уменьшает проблемы, связанные с выносом и вымыванием, улетучиванием, разложением, и приводит к более эффективному взаимодействию с целевыми вредителями. Вышеупомянутые очевидные преимущества уменьшают количество действующего вещества на единицу площади применения, обеспечивая оптимальную концентрацию агрохимикатов в течение длительного времени. Следовательно, это устраняет необходимость в повторных приложениях, снижая финансовые расходы. Кроме того, благодаря присущим им свойствам, эти системы с контролируемым высвобождением сдерживают резкое высвобождение пестицидов, очевидно, сводя к минимуму уровень остаточных количеств пестицидов в почве и фитотоксичность [46].

Созданные в результате исследований, посвященных разработке систем доставки лекарств в биомедицинской области, составы с контролируемым высвобождением в последнее время привлекли интерес к защите сельскохозяйственных культур и древесных насаждений. Это связано с тем, что среда обитания и производство продуктов питания, не содержащих агрохимикатов, стали как никогда актуальной проблемой.

Интерес к составам с контролируемым высвобождением возникает потому, что традиционные методы защиты на основе биоцидов в сельском хозяйстве обычно предполагают применение больших объемов активных молекул в высоких начальных дозах (и часто требуют повторного использования). Кроме того, доставка часто бывает неконтролируемой, что приводит к кратковременной биоцидной защите и увеличению биоаккумуляции. В результате, чрезмерная концентрация токсинов в грунтовых и поверхностных водах приводит к проблемам со здоровьем и затратам на очистку воды [36].

Загрузка или инкапсуляция пестицидов в носители стала перспективной стратегией для эффективного контроля над агрохимикатами с точки зрения их концентрации и скорости доставки. Ожидается, что в ближайшем будущем контролируемая доставка пестицидов превратится в ключевые инструменты для повышения продуктивности и защиты пахотных земель с минимальным воздействием на окружающую среду. Благодаря эффективной борьбе с вредителями можно будет добиться более эффективной защиты культурных растений при использовании меньшего количества биоцидных молекул [36].

Материалы, используемые в качестве носителя, могут быть получены из природных материалов или созданы синтетическим путем. В качестве природных рассматриваются такие материалы, как целлюлоза, лигнин, хитин, альгинаты и крахмал, которые выделяются своей устойчивостью и биоразлагаемостью [36]. Применение различных биоматериалов в качестве систем доставки показало множество преимуществ, таких как биосовместимость, нетоксичность и сродство к биомолекулам, эффективная инкапсуляция, пролонгированное высвобождение и т. д. [38].

Одним из перспективных методов является инкапсулирование пестицидов в полимерные матрицы.

Кроме того, полимерная матрица играет важную роль в качестве компоста при разложении [32]. Для создания таких составов часто используются различные синтетические, полусинтетические и природные биополимеры. Однако природные полимеры предпочтительнее синтетических, поскольку они экологичны, экономичны и поддаются биологическому разложению [46].

### **1.5 Характеристика ПГА**

Являясь одним из трех типов полностью разлагаемых биопластиков (термопластичный крахмал, полилактиды и полигидроксиалканоаты), микробиологические полигидроксиалканоаты (ПГА) представляют собой уникальное семейство сложных полиэфиров, которые могут производиться более чем 300 бактериями и широким спектром архей [43]. Эти полиэфиры функционируют как запасные соединения при несбалансированном росте микробов, когда количество необходимых питательных веществ, таких как азот, фосфор и кислород ограничено, а углерод в избытке. ПГА откладываются внутри клеток в виде сферических внутриклеточных включений и у некоторых бактерий могут достигать концентрации 90% от сухой массы клеток [47]. ПГА не растворяются в воде, поэтому они накапливаются бактериями в виде цитоплазматических внутриклеточных гранул, образующих тельца включения [29]. В последние годы ПГА привлекли большое внимание как в исследованиях, так и в промышленности. Без сомнения, это ценные материалы с разносторонними свойствами [37]. Благодаря своей биосовместимости и биоразлагаемости, ПГА находят широкое применение в различных отраслях промышленности. Благодаря этим превосходным свойствам ПГА демонстрирует большой потенциал во многих областях, таких как

биоразлагаемые упаковочные материалы, материалы с медленным высвобождением, материалы для медицинской тканевой инженерии [34].

ПГА представляют собой природные полиэфиры 3-, 4-, 5- и 6-гидроксиалканоиновой кислоты, которые являются термопластами. На сегодняшний день более 90 родов грамположительных и грамотрицательных бактерий были идентифицированы как продуценты ПГА как в аэробных, так и в анаэробных условиях [31, 50].

Из-за структурных изменений мономеров, составляющих ПГА, они различаются по свойствам и химическому составу как гомо- или сополимеры. ПГА сравним с полипропиленом, демонстрирует хорошую устойчивость к влаге и обладает отличными барьерными свойствами для газов. ПГА нерастворимы в воде, обладают хорошей устойчивостью к гидролитическому воздействию, устойчивы к УФ-излучению, тонут в воде, что способствует анаэробному биоразложению в отложениях. Кроме того, они являются биосовместимыми и биоразлагаемыми (например, подвергаются разложению в почве) [22]. ПГА также имеют хиральные молекулы, и деградация ПГА зависит в основном от их типа и состава [21]. Следовательно, на биоразложение ПГА влияет тип и состав полимера, условия окружающей среды и тип микроорганизмов (разные микроорганизмы продуцируют разные ПГА-деполимеразы для разложения ПГА) [41].

Поскольку ПГБ является наиболее изученным полимером, свойства ПГА были объяснены с учетом этого. П(ЗГБ) очень кристаллический из-за своей стереорегулярности. П(ЗГБ) нерастворим в воде и относительно устойчив к гидролитическому разложению. П(ЗГБ) - очень хрупкий и жесткий материал. Было обнаружено, что физические свойства гомополимера П(ЗГБ) могут быть улучшены путем получения высокомолекулярных полимеров.

Эти биополиэфиры устойчивы на воздухе, инертны, устойчивы к влаге и нерастворимы в воде. Они могут полностью разлагаться до воды и углекислого газа в аэробных условиях и до метана и углекислого газа в анаэробных условиях под действием микроорганизмов в почве, море, воде озер и сточных вод. Разлагающие микроорганизмы продуцируют внеклеточные деполимеразы ПГА, которые превращают полиэфиры в водорастворимые олигомеры и мономеры, которые используются организмами в качестве источника углерода [42]. Эти внеклеточные деполимеразы достаточно хорошо изучены. Кроме того, большинство

бактерий, продуцирующих ПГА, способны разрушать полимер внутриклеточно. Во время внутриклеточной деградации деполимераза ПГА в клетке расщепляет П(ЗГБ) с образованием 3-гидроксимасляной кислоты. Дегидрогеназа действует на последний и окисляет его до ацетилацетата, а  $\beta$ -кетотиолаза действует на ацетилацетат, расщепляя его до ацетил-СоА. Фермент  $\beta$ -кетотиолаза играет важную роль как в биосинтетических, так и в биodeградационных путях. В аэробных условиях ацетил-СоА входит в цикл лимонной кислоты и окисляется до  $\text{CO}_2$ . Биodeградация ПГА зависит не только от их собственных свойств, таких как стереорегулярность, кристалличность, т.е. высококристаллические материалы имеют более низкую биоразлагаемость, химическую структуру (особенно функциональные группы и баланс гидрофильно-гидрофобность) и доступность их поверхности для ферментов, деполимеризующих ПГА, но и зависит от множества факторов, включая площадь поверхности, микробную активность среды захоронения, рН, температуру, влажность и присутствие других питательных веществ. Было обнаружено, что низкомолекулярные ПГА более подвержены биоразложению. Температура плавления - еще один важный фактор, который следует учитывать при изучении биоразложения. По мере увеличения температуры плавления способность к биологическому разложению снижается [18].

## Глава 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Исследование влияния экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору пшеницы в лабораторных условиях

Действие гербицидных препаратов, на ризосферную микрофлору растений исследовали в лабораторных почвенных экосистемах, включающих яровую пшеницу (*Triticum aestivum* L.) сорта «Новосибирская 15», а также сорные растения овсюг (*Avena fatua* L.) и щирицу (*Amaranthus retroflexus* L.).

Полевую почву помещали в пластиковые контейнеры объемом 500 см<sup>3</sup> (масса почвы 400 г/контейнер, влажность – 50%) и засевали семенами пшеницы из расчета 150 г семян на 1 м<sup>2</sup>. Также в контейнеры засевали сорняки в количестве 20 семян на контейнер. Одновременно в почву вносили гранулы [П(ЗГБ)/опилки/МЕТ] или [П(ЗГБ)/опилки/ТБМ], содержащие П(ЗГБ) 50 масс. %, опилки 40 масс. % и гербицид 10 масс. %, упакованные в чехлы из мелкоячеистой сетки (по 2 образца в каждом контейнере) на глубину 1,5-2 см. В качестве положительного контроля в почву вносили водные растворы свободных гербицидов в концентрации, рекомендованной для полевого применения: 46 мг/м<sup>2</sup> МЕТ и 1,5 мг/м<sup>2</sup> ТБМ. В отрицательном контроле гербицидные препараты не вносили.

Всего было 6 вариантов опыта:

1. Пшеница + щирица, контроль (-), без гербицидов;
2. Пшеница + щирица, ТБМ контроль (+);
3. Пшеница + щирица, гранулы П(ЗГБ)/опилки/ТБМ;
4. Пшеница + овсюг, контроль (-), без гербицидов;
5. Пшеница + овсюг, МЕТ контроль (+);
6. Пшеница + овсюг, гранулы П(ЗГБ)/опилки/МЕТ;

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 %.

Численность микроорганизмов в образцах почвы из контейнеров определяли на 14, 28, 42-е сутки эксперимента.



## 2.2 Исследование влияния экспериментальных долговременных форм препаратов на ризосферную микрофлору зерновых культур в полевых условиях

### 2.2.1 Характеристика района исследования

Полевые испытания разработанных препаратов проведены согласно нормативному документу Минсельхоза РФ (Руководство по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов в сельском хозяйстве, 2018 г.) в пригороде Красноярска на полях Красноярского агроуниверситета - учебное хозяйство Миндерлинское (пос. Борск, Сухобузимский р-н).

Почвенно-агрохимическое обследование участка перед посевом полевых культур показало, что тип почвы – выщелоченный чернозем, пахотный слой (0-20 см) характеризуется высоким содержанием гумуса (6,9 %), высокой суммой обменных оснований (57,5 ммоль/100г), нейтральной реакцией почвенного раствора ( $pH_{H_2O}$  - 7,2) (табл. 1). Почва отличалась низкой обеспеченностью нитратным азотом (4,74 мг/кг), очень низкой – аммонийным азотом (0,50 мг/кг), средней обеспеченностью подвижным фосфором (175,8 мг/кг) и очень высокой – обменным калием (291,0 мг/кг).

Таблица 1 – Химическая характеристика почвы (0-20 см)

№ п/п	Показатель	Результат
1	$pH_{водн}$	7,2±0,3
2	Гумус, %	6,9±0,3
3	Сумма поглощенных оснований, ммоль/100г	57,5±6,0
4	Азот нитратный, мг/кг	4,7±0,2
5	Азот аммонийный, мг/кг	<0,5
6	Подвижный фосфор, мг/кг	175,8±14,5
7	Обменный калий, мг/кг	291,0±20,7

Вегетационный сезон 2020 года характеризовался как теплый и избыточно влагообеспеченный. Начало вегетационного периода сопровождалось высокой среднесуточной температурой воздуха и количеством осадков, существенно превышающих среднемноголетние данные (табл. 2). Запасы продуктивной влаги в 0-20 см слое перед посевом культур оценивались как хорошие (43,8 мм), температура почвы варьировала в пределах 15-17 °С. Полученные результаты позволяют заключить о достаточно высоком потенциальном плодородии почвы данного опытного участка.

Таблица 2 – Показатели режимов температуры и осадков за вегетационный сезон 2020 года

Месяцы	Температура воздуха, °С				Осадки		Средне-многолетние показатели t воздуха, °С	Средне-многолетний уровень осадков, мм
	Декады			средняя за месяц	сумма за месяц, мм	% к норме		
	I	II	III					
Май	11,0	15,8	15,3	14,0±3,0	52,0	162,5	8,0	32,0
Июнь	11,8	17,6	19,6	16,3±4,6	103,0	234,1	15,2	44,0
Июль	22,2	18,3	18,2	19,6±2,6	58,0	84,1	18,4	69,0
Август	19,0	19,3	16,0	18,1±2,0	52,0	83,9	14,9	62,0

### 2.2.2 Микробиологический анализ почвенных образцов

Полевые испытания включали пестицидные средства в двух формах – коммерческий препарат Мортира (положительный контроль, обработка опрыскиванием в фазу кущения) и экспериментальные депонированные формы в виде гранул с гербицидом трибенурон-метилом (ПГБ/опилки/ТБМ).

В качестве тестовых культур на полях учебного хозяйства Миндерлинское использовали яровую пшеницу сорта «Новосибирская 15» и яровой ячмень сорта «Биом». Засев семян и внесение гранул с препаратами проводили в один и тот же день механизированным способом. В качестве положительного контроля использовали коммерческую форму препарата, обработка коммерческим препаратом гербицида «Мортира» проводилась методом опрыскивания в соответствии с полевыми рекомендациями. В отрицательном контроле растения не обрабатывали.

Анализ микрофлоры в образцах почвы поля проводили общепринятыми методами почвенной микробиологии в динамике: в фазу кущения (18 июня), колошения (3 июля), начала созревания (4 августа) и восковой спелости (26 августа). Статистическую обработку данных осуществляли с помощью пакета программ Microsoft Excel.

## **Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ**

Изъято 11 страниц

## ВЫВОДЫ

1. При использовании депонированных форм гербицидов метрибузина и трибенурон-метила в лабораторных экосистемах с растениями пшеницы и сорняками угнетение роста ризосферных бактерий по сравнению с отрицательным контролем не выявлено, кроме того наблюдалось постепенное увеличение численности ризосферных микромицетов в течение всего эксперимента.

2. Трибенурон-метил и метрибузин, депонированные в гранулы, с высокой эффективностью подавляли сорные растения щиряцы запрокинутой и овсюга в посевах пшеницы.

3. Так как гербицидные препараты, применяемые в разрешенных дозах, как правило, не оказывают негативного влияния на микробиологический статус почвы, и даже способны оказывать стимулирующее действие на рост отдельных видов бактерий и грибов, вызывая сдвиг в соотношении доминантных видов. Анализ численности микроорганизмов в динамике показал, что в большинстве случаев вариации не выходили за пределы достоверных различий, таким образом, численность бактерий и микромицетов на разных экспериментальных участках и в ризосфере разных видов растений существенно не отличалась.

4. Таксономический состав ризосферной микрофлоры не претерпел значительных изменений, по сравнению с исходной полевой почвой. В большинстве образцов происходило увеличение доли типичных доминирующих представителей почвенных микроорганизмов: бактерий рода *Bacillus* и микромицетов рода *Penicillium*.

5. При использовании экспериментальных долговременных форм препаратов на посевах пшеницы динамика гибели сорняков была более активной, пролонгирующее действие гранул проявлялось стабильно до периода уборки. В посевах ярового ячменя Биом динамика сокращения сорных растений в общем виде была аналогичной результатам, полученным на пшенице: наблюдалось более активное подавление сорняков в экспериментальных группах в результате применения депонированных пестицидов.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бровко И. С., Ящук В. У., Чабанюк Я. В. Влияние гербицидов на численность микроорганизмов и биологическую активность почвы в агроценозах сои //Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2017. – №. 2.
2. Галямова О. В. Действующие вещества гербицидов. Метрибузин [Электронный ресурс]: Пестициды.ру. Сельскохозяйственный онлайн справочник [сайт] – Москва, 2014. – Режим доступа: (дата обращения 03.06.2021).
3. Галямова О. В. Действующие вещества гербицидов. Трибенурон-метил [Электронный ресурс]: Пестициды.ру. Сельскохозяйственный онлайн справочник [сайт] – Москва, 2014. – Режим доступа: (дата обращения 03.06.2021).
4. Голубев А. С., Долженко В. И. Осеннее внесение метрибузина для защиты озимой пшеницы от двудольных и злаковых сорных растений //Земледелие. – 2020. – №. 6. 38-41.
5. Ким Т.В., Фомина Н.В., Злотникова О.В., Козлова Е.В. Воздействие гербицидов на микро-боценоз и ферментативную активность почвы // Вестник КрасГАУ. 2012. № 10. С. 85-90.
6. Лабынцев А., Гринько А., Медведева В. Эффективность гербицидов из класса сульфонилмочевин на озимой пшенице //Главный агроном. – 2014. – №. 8. – С. 20-24.
7. Леонтьев В. Н. и др. Естественные пути деградации гербицидов ряда сульфонилмочевины //Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология. – 2013. – №. 4. – С. 197-204.
8. Мороховец В. Н. и др. Изучение чувствительности сельскохозяйственных культур к почвенным остаткам гербицидов Пивот, Фабиан, Лазурит и Пропонит //Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 2019. – №. 3. – С. 73-78.
9. Наумов М. М. и др. Роль полифункциональных регуляторов роста растений в преодолении гербицидного стресса //Агрохимия. – 2019. – №. 5. – С. 21-28.
10. Попова Е.И. Определение фитотоксичности почв города Тобольска методом биотестирования // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 4. С. 16-20.
11. Ракитский В. Н. и др. Основы обеспечения безопасного применения пестицидов //Здравоохранение Российской Федерации. – 2020. – Т. 64. – №. 1. – С. 45-50.

12. Соколова И. А. и др. Содержание тяжелых металлов и остаточного количества пестицидов в растениеводческой продукции //Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2012. – №. 5. 44-46.
13. Спиридонов Ю. Я. и др. Современное состояние проблемы изучения и применения гербицидов (дайджест публикаций за 2014–2017 гг.) //Агрохимия. – 2019. – №. 6. – С. 81-91.
14. Спиридонов Ю.Я. Адаптивно-интегрированная защита растений: Методические требования к постановке и проведению полевых опытов с новыми гербицидами. М.: «Печатный город», 2019. С. 181-213.
15. Федотова Л. С., Тимошина Н. А., Князева Е. В. Влияние аминокислотных препаратов на преодоление гербицидного стресса картофеля //Международный сельскохозяйственный журнал. – 2020. – №. 6. pp. 90-93
16. Феоктистова Н. В. и др. Ризосферные бактерии //Ученые записки Казанского университета. Серия Естественные науки. – 2016. – Т. 158. – №. 2. С. 207-224.
17. Alengebawy A. et al. Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications //Toxics. – 2021. – Т. 9. – №. 3. – С. 42.
18. Anjum A. et al. Microbial production of polyhydroxyalkanoates (ПГАs) and its copolymers: a review of recent advancements //International journal of biological macromolecules. – 2016. – Т. 89. – С. 161-174.
19. Arabet D. et al. Effects of a sulfonylurea herbicide on the soil bacterial community //Environmental Science and Pollution Research. – 2014. – Т. 21. – №. 8. – С. 5619-5627.
20. Bajwa A. A. Sustainable weed management in conservation agriculture //Crop Protection. – 2014. – Т. 65. – С. 105-113.
21. Boyandin A. N. et al. Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates in tropical soils //International Biodeterioration & Biodegradation. – 2013. – Т. 83. – С. 77-84.
22. Bugnicourt E. et al. Polyhydroxyalkanoate (ПГА): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging. – 2014.
23. Delgado-Baquerizo M. et al. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems //Nature communications. – 2016. – Т. 7. – №. 1. – С. 1-8.
24. Elias D., Bernot M. J. Effects of atrazine, metolachlor, carbaryl and chlorothalonil on benthic microbes and their nutrient dynamics //PloS one. – 2014.

– T. 9. – №. 10. – C. e109190. Puglisi E. Response of microbial organisms (aquatic and terrestrial) to pesticides //EFSA Supporting Publications. – 2012. – T. 9. – №. 11. – C. 359E.

25. Ghormade V., Deshpande M. V., Paknikar K. M. Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants //Biotechnology advances. – 2011. – T. 29. – №. 6. – C. 792-803.

26. Gomiero T. Soil degradation, land scarcity and food security: Reviewing a complex challenge //Sustainability. – 2016. – T. 8. – №. 3. – C. 281.

27. Huang G. et al. A super long-acting and anti-photolysis pesticide release platform through self-assembled natural polymer-based polyelectrolyte //Reactive and Functional Polymers. – 2020. – T. 146. – C. 104429.

28. Jacobsen C. S., Hjelmsø M. H. Agricultural soils, pesticides and microbial diversity //Current Opinion in Biotechnology. – 2014. – T. 27. – C. 15-20.

29. Jendrossek D., Pfeiffer D. New insights in the formation of polyhydroxyalkanoate granules (carbonosomes) and novel functions of poly (3- hydroxybutyrate) //Environmental microbiology. – 2014. – T. 16. – №. 8. – C. 2357-2373.

30. Kalyabina V. P. et al. Pesticides: formulants, distribution pathways and effects on human health—a review //Toxicology Reports. – 2021. – T. 8. – C. 1179-1192.

31. Kim D. Y. et al. Biosynthesis, modification, and biodegradation of bacterial medium-chain-length polyhydroxyalkanoates //Journal of Microbiology. – 2007. – T. 45. – №. 2. – C. 87-97.

32. Kumar S. et al. Synthesis, characterization and on field evaluation of pesticide loaded sodium alginate nanoparticles //Carbohydrate polymers. – 2014. – T. 101. – C. 1061-1067.

33. Lamberth C. et al. Current challenges and trends in the discovery of agrochemicals //Science. – 2013. – T. 341. – №. 6147. – C. 742-746.

34. Li D., Yin F., Ma X. Towards biodegradable polyhydroxyalkanoate production from wood waste: Using volatile fatty acids as conversion medium //Bioresource technology. – 2020. – T. 299. – C. 122629.

35. Lo C. C. Effect of pesticides on soil microbial community //Journal of Environmental Science and Health Part B. – 2010. – T. 45. – №. 5. – C. 348-359.

36. Mattos B. D. et al. Controlled release for crop and wood protection: Recent progress toward sustainable and safe nanostructured biocidal systems //Journal of Controlled Release. – 2017. – T. 262. – C. 139-150.

37. Możejko-Ciesielska J., Kiewisz R. Bacterial polyhydroxyalkanoates: still fabulous? //Microbiological Research. – 2016. – T. 192. – C. 271-282.

38. Mujtaba M. et al. Chitosan-based delivery systems for plants: A brief overview of recent advances and future directions //International journal of biological macromolecules. – 2020. – T. 154. – C. 683-697.
39. Parker S. S. Buried treasure: soil biodiversity and conservation //Biodiversity and Conservation. – 2010. – T. 19. – №. 13. – C. 3743-3756.
40. Pileggi M., Pileggi S. A. V., Sadowsky M. J. Herbicide bioremediation: from strains to bacterial communities //Heliyon. – 2020. – T. 6. – №. 12. – C. e05767.
41. Raza Z. A., Abid S., Banat I. M. Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications //International Biodeterioration & Biodegradation. – 2018. – T. 126. – C. 45-56.
42. Reddy C. S. K. et al. Polyhydroxyalkanoates: an overview //Bioresource technology. – 2003. – T. 87. – №. 2. – C. 137-146.
43. Rehm B. H. A. Polyester synthases: natural catalysts for plastics //Biochemical Journal. – 2003. – T. 376. – №. 1. – C. 15-33.
44. Sharma A. et al. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem //SN Applied Sciences. – 2019. – T. 1. – №. 11. – C. 1-16.
45. Sharma A., Jha P., Reddy G. V. P. Multidimensional relationships of herbicides with insect-crop food webs //Science of the total environment. – 2018. – T. 643. – C. 1522-1532.
46. Singh A. et al. Advances in controlled release pesticide formulations: Prospects to safer integrated pest management and sustainable agriculture //Journal of hazardous materials. – 2020. – T. 385. – C. 121525.
47. Sudesh K., Abe H., Doi Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters //Progress in polymer science. – 2000. – T. 25. – №. 10. – C. 1503-1555.
48. Verma J. P., Jaiswal D. K., Sagar R. Pesticide relevance and their microbial degradation: a-state-of-art //Reviews in Environmental Science and Bio/Technology. – 2014. – T. 13. – №. 4. – C. 429-466.
49. Vischetti C. et al. Sub-Lethal Effects of Pesticides on the DNA of Soil Organisms as Early Ecotoxicological Biomarkers //Frontiers in Microbiology. – 2020. – T. 11.
50. Zinn M., Witholt B., Egli T. Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate //Advanced drug delivery reviews. – 2001. – T. 53. – №. 1. – C. 5-21.



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

Влияние систем контролируемой доставки пестицидов на  
основе поли(3-гидроксibuтирата) на ризосферную микрофлору  
пшеницы и ячменя

06.04.01 Биология

06.04.01.01 Микробиология и биотехнология

Научный руководитель

  
подпись, дата

проф., д-р биол. наук  
должность, ученая степень

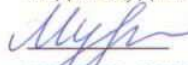
С.В. Прудникова  
инициалы, фамилия

Выпускник

  
подпись, дата

О.В. Иванова  
инициалы, фамилия

Рецензент

  
подпись, дата

н.с., канд. биол. наук

А.В. Муруева  
инициалы, фамилия

Красноярск 2021