

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
« ____ » _____ 2022 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Исследование выхода в почву фунгицидов,
депонированных в гранулы на основе разрушаемого биополимера
поли(3-гидроксибутирата)

тема

06.04.01 «Биология»

код и наименование направления

06.04.01.01 «Микробиология и биотехнология»

код и наименование магистерской программы

Научный
руководитель

подпись, дата

Доцент, к.б.н.
Н.О. Жила

Магистрант

подпись, дата

Е.И. Толстых

Рецензент

подпись, дата

н.с. ИБФ СО РАН,
к.б.н.
А.В. Муруева

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Исследование выхода в почву фунгицидов, депонированных в гранулы на основе разрушаемого биополимера поли(3-гидроксibuтирата)» представлена в объеме 51 страницы, включает в себя 13 иллюстраций, 3 таблицы, 45 использованных литературных источников.

Ключевые слова: ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТЫ, ПОЛИ(3-ГИДРОКСИБУТИРАТ), ФУНГИЦИДЫ, АЗОКСИСТРОБИН, ДИФЕНОКОНАЗОЛ, МЕФЕНОКСАМ, ВЫХОД ФУНГИЦИДОВ В ПОЧВУ.

Цель: исследовать и оценить возможности применения поли(3-гидроксibuтирата) [П(ЗГБ)] в качестве носителя для депонирования фунгицидов.

Задачи:

- 1) исследовать разрушение в почве депонированных форм фунгицидов (азоксистробин, мефеноксам, дифенокназол) в виде гранул на основе П(ЗГБ) и березовых опилок
- 2) исследовать содержание фунгицидов в почве при их выходе из гранул;
- 3) изучить влияние депонированных препаратов на численность и соотношение эколого-трофических групп микроорганизмов в почве.

Актуальность выбранной темы характеризуется неконтролируемым распространением ядохимикатов за пределы обрабатываемой территории и их накоплением в окружающей среде, также необходимостью повторного применения пестицидов из-за быстрого распада их активных веществ в почве, что также негативно влияет на микробиоту почвы. Биоразрушаемые полимеры, такие как полигидроксиалканоаты (ПГА), обладают подходящими свойствами и могут применяться в качестве основы для создания сельскохозяйственных препаратов с контролируемым выходом.

Основные выводы и результаты исследования:

- 1) В ходе эксперимента происходило снижение массы гранул, вызванное деградацией полимера, и постепенный выход активного вещества из гранул в почву.
- 2) Депонированием фунгицидов в основу, состоящую из смеси поли(3-гидроксибутирата) с берёзовыми опилками, удалось обеспечить их весьма длительный выход из форм и обеспечить их содержание в почве в течение 3-х месяцев.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	7
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	7
1.1 Общая характеристика фунгицидов	7
1.2 Характеристика исследуемых фунгицидов	9
1.3 Влияние фунгицидов на окружающую среду	16
1.4 Контролируемые системы доставки.....	18
1.5 ПГА в качестве основы доставки фунгицидов в почву.....	21
1.6 Биологическая деградация ПГА	22
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	24
2.1 Материалы.....	24
2.2 Метод изготовления полимерных гранул.....	25
2.2.1 Изготовление биоразрушаемого полимера поли(3- гидроксипропиридата).....	25
Эксперимент в почвенных микрэкосистемах	26
2.2.2 Выделение фунгицидов из почвы	27
2.2.3 Хроматографические методы исследования.....	28
2.3 Микробиологические методы исследования.....	31
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	33
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	44
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ	45

ВВЕДЕНИЕ

С увеличением роста численности населения, возросла потребность в большом количестве продуктов, в том числе и сельскохозяйственных. Основной задачей стало увеличение объёмов и темпов выращивания продуктов, что способствовало активному применению в большом количестве химических препаратов для борьбы с насекомыми-вредителями, сорняками и болезнями культивируемых видов растений. В настоящее время приходится задуматься и лучшим решением проблемы служит переход с экстенсивного на интенсивный метод ведения сельского хозяйства. Так как классическое использование химикатов в агропромышленности, как в жидком, так 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. Конечно, этот факт полностью не соответствует всемирной борьбе за охрану окружающей среды. А также мутационные, канцерогенные, токсические действия некоторых пестицидов явно негативно влияют на здоровье человека [1].

Хорошая плодородная земля зависит от многих факторов, это и от вида почвы, от содержания в ней гумуса, питательных и минерализующих веществ, но одним из важнейших показателей является микробиологический состав и ферментативная активность. Исходя из последних факторов, определяется биохимическая картина почвы. Микробное сообщество очень чувствительно, как к экологическим, так и к химическим воздействиям на почву. Следовательно, биота является важным показателем хорошей «работоспособности» почвы. При использовании ядохимикатов происходит перестройка экологической обстановки почвы, разбалансировка микробиоценоза – угнетение одних микроорганизмов и стимуляция роста других, давая возможность им продуцировать токсичные вещества [2].

В настоящее время ведутся работы с решением проблемы неконтролируемого выхода пестицида.

Одним из вариантов сокращения рисков беспорядочного распространения и аккумуляции поллютантов в биосфере являются разработки препаратов с адресным и контролируемым выходом действующего вещества.

Для этого используются различные матрицы, способные постепенно разрушаться в почве и обеспечивать плавный выход препаратов. Биоразрушаемые полимеры, такие как полигидроксиалканоаты (ПГА), обладают подходящими свойствами и могут применяться в качестве основы для создания сельскохозяйственных препаратов с контролируемым выходом [2].

Целью проделанной работы было исследование возможности применения поли(3-гидроксibuтирата) [П(ЗГБ)] в качестве носителя для депонирования фунгицидов.

В задачи исследования входило:

- 1) исследовать разрушение в почве депонированных форм фунгицидов (азоксистробин, мефеноксам, дифеноконазол) в виде гранул на основе П(ЗГБ) и березовых опилок
- 2) исследовать содержание фунгицидов в почве при их выходе из гранул;
- 3) изучить влияние депонированных препаратов на численность и соотношение эколого-трофических групп микроорганизмов в почве.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общая характеристика фунгицидов

К пестицидам относят химические вещества, а также биологические средства, применяемые для борьбы с различными вредными организмами: насекомыми (инсектициды), бактериями (бактерициды), грибами (фунгициды), высшими растениями (гербициды), растительноядными клещами (акарициды), моллюсками (лимациды), круглыми червями (нематоциды), тлями (афициды), личинками и гусеницами (ларвициды), с грызунами (зооциды), для уничтожения водорослей и другой сорной растительности в водоемах (альгициды) и др. [3].

Фунгициды (от лат. *fungus* «гриб» + лат. *caedo* «убивать») – вещества химического или биологического происхождения, применяемые для борьбы с заболеваниями растений [4].

Фунгициды классифицируют на различные группы в зависимости от их действия, характера происхождения и т.п. Все это разделение является условным, так как зависит от концентрации введенного препарата, от культуры, к которой применен пестицид [5].

По характеру действия фунгициды разделяют на три группы:

1. Защитные (профилактические). Обработываются еще не зараженные, внешне здоровые растения. Идет подавление патогенов, до их возможного нанесения ущерба культуре, так сказать «игра на опережение».
2. Лечебные. Их применяют, когда растение уже подверглось патогенными организмами. Простыми словами, лечат растение при явно проявившихся симптомах заражения, подавляя развитие патогена, растение выздоравливает.

3. Иммунизирующие. Препараты, действующие внутри растения, попадая в его ткани, изменяют картину метаболизма, тем самым препятствуя бактериальным и грибным заражениям [4, 5, 6].

По избирательности действия на возбудителя:

1. Препараты против ложномучнисто-росяных грибов (класс *Oomycetes*, порядок *Peronosporales*)
2. Препараты против мучнисто-росяных грибов (класс *Ascomycetes*, порядок *Erysiphales*)

Фунгициды, относящиеся к этим группам, являются весьма токсичными и для других возбудителей. И не так много препаратов, способных проявлять активность одновременно к двум группам грибов (мучнисто-росяных и ложномучнисто-росяных). Ими являются стробилурины (например, азоксистробин) и производные фосфорной кислоты [4].

По цели применения разделяют фунгициды на следующие группы:

1. Протравители семян. Обработка семян перед посевом. Ведущими процессами служат «подкормка» микроэлементами и обработка пестицидами. Заблаговременная обработка имеет высокую эффективность и уменьшает количество повторяемых обработок ядохимикатами уже вегетирующих растений [7].
2. Препараты для обеззараживания теплично-парниковой почвы. Обычно обрабатывают однолетние культуры, высаженные рассадой. Группа таких пестицидов имеет довольно летучие соединения и действуют в виде паров и газов.
3. Препараты для обработки многолетних растений в период покоя. Воздействие данных препаратов идет на зимующие надземные части растения, где накапливаются болезнетворные возбудители.
4. Препараты для обработки растений в период вегетации. Применяют во время роста и самого развития растений [4, 6].

По характеру распределения токсического вещества в растениях фунгициды бывают:

1. Контактные (внешнерастительные). Вещества, действующие на патогены прямым воздействием, не проникая внутрь самого растения. Передвижение препарата, как по листовым пластинкам и стеблю, так и спомощью воскового слоя. Большая часть фунгицидов имеют контактный характер действия. В состав входят производные дитиокарбаминовой кислоты, средства на основе серы, меди и др. К таким препаратам не быстро развивается резистентность, идет быстрая блокировка метаболизма вредителя. Но так как они контактные, их время действия прямо зависит от погодных условий (ветер, осадки).
2. Системные (внутрирастительные). Обеспечивают защиту растения изнутри, проходя по сосудистой системе и находя патогенных возбудителей. Также имеют одновременно и профилактический эффект. Возбуждают выработку защитных факторов в органах растения. Время действия таких фунгицидов зависит от скорости обмена веществ самого растения [4, 6].

1.2 Характеристика исследуемых фунгицидов

Для исследования было выбрано три фунгицида различного действия и относящихся к разным группам. Взяли такие фунгициды как дифеноконазол, мефеноксам, азоксистробин.

Азоксистробин (метил (Е)-2-{2-[6-(2-циано-фенокси)пиримидин-4-илокси]фенил}-3-метоксиакрилат) – это фунгицид представляет собой бесцветное кристаллическое вещество без запаха, относится к группе стробилуринов системного и контактного действия с длительным защитным эффектом. Его температура плавления составляет 166 °С. Растворимость в воде зависит от кислотности среды при температуре 25 °С: 6,2 (рН 5,2), 6,7

(рН 7,0), 5,9 (рН 9,2) мг/л. Растворимость в органических растворителях (г/л при 20 °С): ацетон - 86, ацетонитрил - 340, гексан - 0,057, дихлорметан - 400, метанол - 20, толуол - 55, этилацетат - 130, н-октанол - 1,40 г/л. Азоксистробин стабилен в водных растворах при рН 3— 10 при комнатной температуре, в т. ч. при концентрациях менее 1 мкг/кг [8].

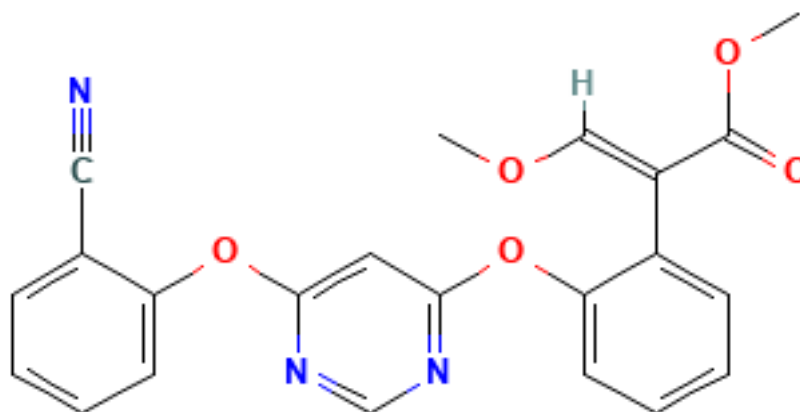


Рисунок 1 – Структурная формула фунгицида – азоксистробин [9].

Период полураспада в почве в полевых условиях от 3 до 39 дней. Основным путем разложения вещества в почве является фотолиз с образованием геометрического Z-изомера.

С химической стороны пестицид представляет собой арилоксипиримидин, имеющий 4,6-дифеноксипиримидиновый скелет, в котором одно из фенильных колец цианозамещено по С-2, а другое несет 2-метокси-1-(метоксикарбонил)виниловый заместитель, также по С-2 (Рис.1.). Ингибитор митохондриального дыхания, блокирует перенос электронов между цитохромами b и c1. Также играет роль ксенобиотика, загрязняющего окружающую среду, противогрибкового агрохимиката и внешнего ингибитора хинона [9].

Краткая гигиеническая характеристика азоксистробина:

Азоксистробин относится к мало опасным веществам по острой оральной (ЛД₅₀ /крысы/ свыше 5000 мг/кг) и дермальной (ЛД₅₀ /крысы/ свыше 2000 мг/кг) токсичности, но умеренно опасным по ингаляционной (ЛД₅₀ /крысы/ 0,698— 0,962 мг/кг) токсичности. Побочных

токсикологических эффектов не наблюдалось, при контакте с эпидермисом может вызвать небольшое раздражение на коже и слизистой оболочке глаз.

Высокоэффективен против возбудителей ложной и мучнистой настоящей росы, в т. ч. против рас возбудителя, устойчивых к металаксилу и производным триазола. Зарегистрирован в России и странах СНГ в качестве фунгицида на томатах и огурцах открытого и защищенного грунта с нормой расхода 25%-ного суспензионного концентрата при норме внесения 0,4—0,6 л/га, а также на виноградниках с нормой расхода 0,6—0,8 л/га при 1—2-х кратной обработке. Проходит регистрационные испытания на зерновых колосовых культурах с нормой расхода при двукратной обработке посевов с нормой расхода до 1,0 л препарата на гектар [8].

МДУ /ВМДУ в продукции (мг/кг) действующего вещества азоксистробин: артишок, капуста (все виды), сельдерей, ягоды (кроме клюквы, винограда и клубники) - 5,0; др. мелкие фрукты - 5,0; спаржа, древесные орехи (кроме фисташек) - 0,01; фисташки - 1,0; миндаль в шелухе - 7,0; бананы - 2,0; плодовые косточковые - 2,0; виноград - 2,0; зерно хлебных злаков - 0,5; клюква - 0,5; овощи со съедобными луковичками (кроме лука), клубника - 10,0; лук - 10,0; цитрусовые - 9,0; хлопок (семена), манго - 0,7; плодоносящие овощи (кроме тыквы, томатов, огурцов), бобовые, салат (кочанный, листовой) - 3,0; томаты, огурцы - 3,0; тыква, овощи со съедобными клубнями и корнями (кроме картофеля) - 1,0; картофель - 1,0; хмель (сухой), перец Чили (сухой) - 30,0; кукуруза (зерно) - 0,02; кукуруза (масло) - 0,1; папайя, цикорий - 0,3; арахис - 0,2; молоко, яйца, мясо птицы, субпродукты птицы - 0,01; мясо млекопитающих (кроме морских животных) - 0,05; молочный жир - 0,03; субпродукты млекопитающих - 0,07; соя (бобы, масло), подсолнечник (семена, масло), рапс (зерно, масло) - 0,5; арбуз - 0,4; свекла сахарная - 1,0; рис - 5,0; кофе (бобы) - 0,03; горох, нут - 3,0; лен масличный - 0,4 [10].

МДУ – максимально допустимый уровень;

ВМДУ – временный максимально допустимый уровень.

Дифеноконазол (Цис-транс-3-хлор-4- [4-метил-2- (1H-1,2,4- триазол-1-ил-метил) -1,3- диоксолан- 2-ил-] фенил 4-хлорфениловый эфир) – кристаллическое вещество белого или бледно-бежевого цвета, относится к системным фунгицидам. Температура плавления 78,6 °С. Давление паров при 25°С: $3,3 \times 10^5$ мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: К, $w \log P = 4,2$. Растворимость в органических растворителях при 25 °С (г/дм³): ацетон - 610; этанол - 330; толуол - 490; н-октанол - 95; н-гексан - 3,4. Растворимость в воде при 25 °С (г/дм³): 0,015. Дифеноконазол стабилен на воздухе при температуре до 150 °С, а также в водных растворах [11].

С химической стороны пестицид относится к классу диоксоланов (Рис.2.). Фунгицид широкого спектра действия. Он играет роль загрязнителя окружающей среды, ксенобиотика и противогрибкового агрохимиката [12].

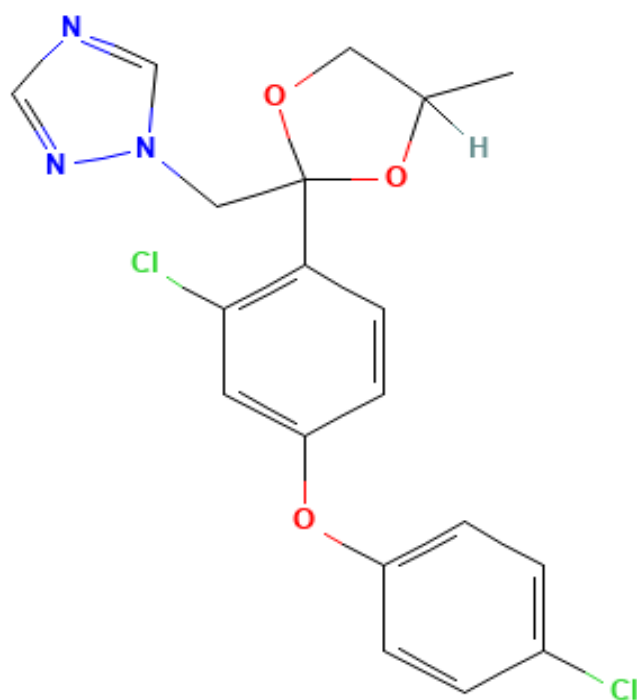


Рисунок 2 – Структурная формула фунгицида – дифеноконазол [12].

Краткая токсикологическая характеристика дифеноконазола:

Острая пероральная токсичность (LD50) для крыс - 1453 мг/кг, для мышей > 2000 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD50) для кроликов > 2010 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LD50) для крыс > 3300 мг/м³.

Рекомендуемый к применению для борьбы с болезнями яблони, груши, свеклы и зерновых культур. ПДК в воде водоемов - 0,001 мг/дм³ [11].

МДУ/ВМДУ в продукции (мг/кг) действующего вещества дифеноконазол: плодовые семечковые - 1,0; свекла сахарная, столовая - 0,2; зерно хлебных злаков - 0,08; плодовые косточковые (кроме нектаринов, персиков) - 0,2; нектарины, персики - 0,5; томаты - 0,6; морковь - 0,3; картофель - 0,02; сельдерей - 5,0; виноград - 0,5; спаржа - 0,03; бананы - 0,5; цитрусовые - 0,6; рис - 1,0; капуста все виды - 0,5; субпродукты млекопитающих, папайя - 0,2; манго - 0,07; яйца, мясо птицы и ее субпродукты - 0,01; чеснок - 0,02; лук-порей - 0,3; салат кочанный и листовой, оливки - 2,0; мясо млекопитающих (кроме морских животных) - 0,05; молоко - 0,005; соя (бобы, масло) - 0,02; подсолнечник (семена, масло) - 0,02; горох, нут - 0,1; рапс (зерно, масло) - 0,05; кукуруза (зерно, масло) - 0,01; огурцы - 0,2; лен масличный - 0,2 [10].

Мефеноксам (Метил М-(метоксиацетил)-N-(2,6-ксилил)-D – аланинат) – вязкая жидкость от бледно-желтого до светло-коричневого цвета, относится к системным фунгицидам защитного и лечающего действия из класса фениламидов. Температура плавления -38,7 °С. Температура кипения: разлагается при 270 °С. Давление паров при 25 °С: 3,3 мПа. Коэффициент распределения н-октанол/вода: Kow log P - 1,71. Растворимость (г/дм³) при 25 °С: вода - 26, н-гексан - 59, смешивается с ацетоном, этилацетатом, метанолом, дихлорметаном, толуолом и н-октанолом [5, 13].

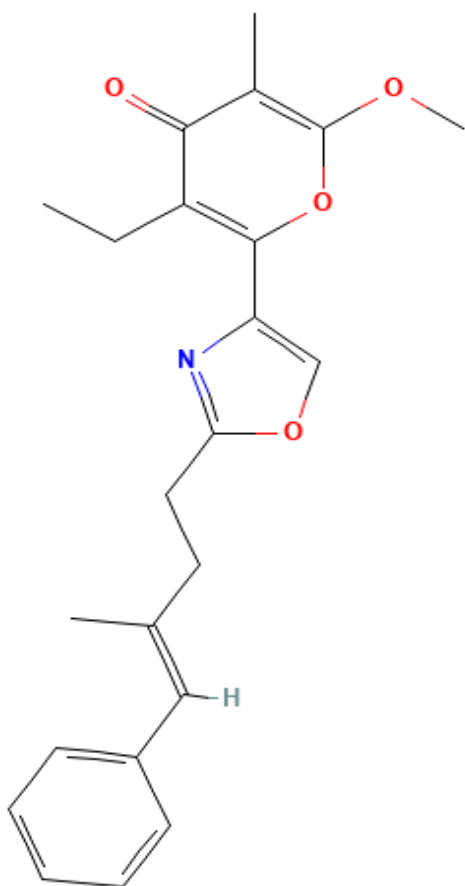


Рисунок 3 – Структурная формула фунгицида - мефеноксам [14].

В биологически активных почвах в аэробных условиях мефеноксам разлагается со средним значением DT50=21 день.

С химической стороны мефеноксам представляет собой метиловый N-(2,6-диметилфенил)-N-(метоксиацетил) аланинат (Рис.3). Он активен против фитопатогенов порядка *Peronosporales* и используется для контроля *Pythium* в ряде овощных культур [14].

Краткая токсикологическая характеристика мефеноксама:

Острая пероральная токсичность (LD50) для крыс - 667 мг/кг; острая дермальная токсичность (LD50) для крыс - >2000 мг/кг; острая ингаляционная токсичность (LC50) для крыс - > 2290 мг/м³ воздуха. LC50 для рыб -

>100 мг/дм³ (96 час.). Фунгицид не имеет токсического воздействия на птиц, перепончатокрылых и дождевых червей [5, 13].

Рекомендуемый гигиенический норматив для мефеноксама в зерне хлебных злаков, семенах и масле рапса - 0,1 мг/кг.

Ингибирует образование белков в грибах, подавляя синтез рибосомальной РНК. Высокоэффективен против возбудителей фитофтороза картофеля и томатов, мильдыю винограда, ложной мучнистой росы и корнееда овощных культур, сахарной свеклы и подсолнечника, увядания растений кукурузы [15].

На территории России мефеноксам применяют в качестве протравителя семян сахарной свёклы и подсолнечника с нормой расхода 0,17-1,0 кг д.в./т. Помимо, пестицид в комплексе с другими фунгицидами защитного действия

используется для 2-3-х кратной обработки посевов овощных культур, картофеля и винограда в течение вегетационного периода с нормой расхода 0, 1-0,2 кг д.в. /га.

МДУ/ВМДУ в продукции (мг/кг) действующего вещества мефеноксам: картофель, свекла сахарная, столовая - 0,05; китайская капуста - 0,05; огурцы (включая корнишоны), томаты, капуста (все виды) - 0,5; хмель сухой - 10,0; подсолнечник (семена, масло), рапс (зерно, масло), зерно хлебных злаков - 0,1; лук-репка - 2,0; виноград - 2,0; табак - 1,0; шпинат - 2,0; авокадо, какао бобы, тыква, дыня, арбуз, смородина (красная, черная) - 0,2; цитрусовые - 5,0; хлопчатник (семена), горох свежий отшелушенный, соя бобы (сухие) - 0,05; соя (бобы, масло) - 0,1; салат кочанный - 2,0; арахис, перец, плодовые семечковые - 1,0; перец Чили (сухой) - 10,0; кукуруза (зерно, масло) - 0,05; морковь - 0,05; горох (нут) - 0,05; арбуз - 0,2 [10].

Нормативы содержания фунгицидов в организме человека, в почве и в воде водоемов представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Гигиенические нормативы содержания пестицидов (азоксистробин, дифеноконазол, мефеноксам) в объектах окружающей среды (организме человека, в почве, в воде водоемов) [10].

Наименование действующего вещества	Регистр. номер CAS	ДСД /ВДСД (мг/кг массы тела человека)	ПДК /ОДК в почве (мг/кг)	ПДК/ОДУ в воде водоемов (мг/дм ³)
Азоксистробин метил (2E)-2-{2-[6-(2-цианофенокси)пиримидин-4-илокси]фенил}-3-метоксиакрилат	131860-33-8	0,2/	/0,4	0,01/ (общ.)
Дифеноконазол 3-хлор-4-[(2RS,4RS;2RS,4SR)-4-метил-2-(1H-1,2,4-триазол-1-илметил)-1,3-диоксалан-2-ил]фенил 4-хлорфенил эфир	119446-68-3	0,01/	/0,1	0,001/ (с.-т.)
Мефеноксам (металаксил, металаксил М) метил N-(метоксиацетил)-N-(2,6-ксилил)-D-аланинат	70630-17-0	0,08/	0,05/ (тр.)	0,001/ (с.-т.)

1.3 Влияние фунгицидов на окружающую среду

Пестициды – это химические препараты, применяемые в сельском хозяйстве, имеющие обширный спектр многозадачности. Но также имеют

ДСД – допустимая суточная доза;
ВДСД – временная допустимая суточная доза;
ПДК – предельная допустимая концентрация;
ОДК – ориентировочная допустимая концентрация (для почвы);
ОДУ – ориентировочный допустимый уровень (для воды):
(общ.) – общесанитарный;
(тр.) – транс локационный;
(с.-т.) – санитарно-токсикологический.

негативное воздействие на объекты окружающей среды. К объектам окружающей среды можем отнести: микроорганизмы, составляющие биоту почвы; «полезных» насекомых, регулирующих численность вредителей (против которых и был применен ядохимикат); рыб, накапливающие препараты в своих тканях, в дальнейшем попадая в пищевые цепи; птиц (особенно опасны для птенцов); млекопитающих и человека. Распространение действующего вещества за пределы обрабатываемой территории происходит за счет: вымывания из почвы по грунтовым водам, в дальнейшем попадая в водные объекты; воздушных потоков (большой процент разгрязнения воздушной атмосферы, в случаях применения наземной и авиационной техники (контактные пестициды), а также в результате испарения с поверхности растений, почв и водоемов).

Пестициды, попадая в почву, могут негативно воздействовать на жизнедеятельность микробов и их внутри биологические процессы, что способствует снижению продуктивности почвы и приводит к нарушению метаболизма растений. Микроорганизмы являются трансформаторами органических соединений в почвообразующем бактерио- и фунгистазисе, повышают уровень плодородия и оптимизируют питания растений в легкоусвояемые для них формы. Такая группа микроорганизмов определяет биологическую активность почвы.

Биологическая активность имеет разный характер реагирования при применении пестицидов, в зависимости от множества свойств используемых препаратов химической природы, персистентности препаратов, почвенно-климатических характеристик и пр [16].

Одними из важных отрицательных факторов применения пестицидов, является их последствие. Этим показателем является скорость разрушения (период полураспада T50) первичного количества введенного препарата или его накопление в почве. Также параллельно наблюдается экотоксическое воздействие на микробиоту [17].

Чрезмерное использование химических удобрений наносит непоправимый ущерб структуре почвы, минеральным циклам, почвенной микробной флоре, растениям и даже более того – пищевым цепочкам в экосистемах, приводя к наследуемым мутациям в будущих поколениях потребителей. Поэтому всё сводится к тому, что возрастает необходимость изобретения контролируемых систем доставки пестицидов и скорый их вывод на масштабное производство. Тем самым это поможет нам отодвинуть в сторону классическое применение ядохимикатов и встать на новую ступень, приближающую нас хотя бы на немного к биоэкологичному будущему.

1.4 Контролируемые системы доставки

Системы с контролируемой доставкой представляют из себя скомпонованный в форму препарат, состоящий из инертного и активного вещества. Активное вещество повышает свою эффективность (процент попадания в нужную цель активного вещества становится больше), благодаря «точечному» внесению таких систем, а также уменьшает воздействие препарата на окружающую среду, не давая распространиться ему за пределы обрабатываемой территории. Такая контролируемая доставка вполне может применяться в сельском хозяйстве для доставки пестицидов и удобрений [18].

Материалами депонирования могут быть соединения различного происхождения, как природного, так и синтетического. К природным соединениям будут относиться полисахариды (целлюлоза, крахмал, агарозы, альгинаты, хитозан, каррагинаты, декстран) и белки (альбумин, желатин и др.). А в качестве синтетической базы для системы могут использовать полиакриламид, полиамиды, полистирол, полиэфиры, полиуретаны, аминокальдегидные смолы. Неорганические материалы также могут быть использованы, как подложка для депонирования, это могут быть: цеолиты,

кремнезем, неорганические оксиды, керамика и стекло. Контроль времени выхода активного вещества зависит как от свойств основ для депонирования, так и от различных размеров и форм препаратов [19, 20].

Препараты могут иметь различную форму в виде частиц, сфер или микроскопических капсул. Различаются они в техническом процессе производства и в расположении активного вещества. Например, в микрокапсулы активное вещество погружают в виде ядра, погружая в полимерную основу. В микросфере находится несколько таких ядер. А также в исследованиях применяют микрочастицы размером менее 1 мкм, их называют – наносферы и нанокapsулы [21, 22, 23].

Системы контролируемой доставки различают в зависимости от свойств основ для депонирования: системы на основе химических взаимодействий и системы физической комбинации.

Рассмотрим химические системы. Благодаря химическим взаимодействиям между материалом и активным веществом образуются новые соединения с новыми свойствами. Для образования химических связей, вещества подвергают дополнительным обработкам, формируются свободные функциональные группы. Разрушение химических связей служит активатором выхода активного вещества из депонированных форм под воздействием различных факторов.

В физических системах активное вещество не меняет своих свойств, так как не происходит химического взаимодействия с материалом для депонирования. Такие системы нашли более широкое применение на практике [24].

Исследованиями ряда авторов показано, что применение систем контролируемой доставки пестицидов в почву дает преимущества, это:

- повышение стойкости препарата, а также дальнейшее снижение частоты его применения;

- предотвращение потери действующего вещества в результате химического, фотолитического или биологического разложения;
- безопасное использование гербицидов для работников сельскохозяйственной сферы [34];
- возможно, уменьшение загрязнения грунтовых вод из-за быстрого вымывания хорошо растворимых пестицидов путем применения препаратов, адсорбированных на носителе, который ограничивает немедленное высвобождение препарата [35].

Причиной создания экологически безопасных препаратов с контролируемым и адресным выходом вещества послужило бесконтрольное, хаотичное распространение ядохимикатов в окружающей среде. За основу таких препаратов были предложены биоразрушаемые полимеры. Полигидроксиалканоаты (ПГА) – полиэфиры микробного происхождения, резервные внутриклеточные соединения прокариот, послужили прекрасным экологически чистым материалом для перехода к более безопасным препаратам [25].

Одной из главных причин выбора полигидроксиалканоатов, как доставщиков пестицидов, послужило то, что они не подвергаются быстрому химическому гидролизу в водных средах, но прекрасно разлагаются при естественной биологической деградации. Для их полного разложения требуются всего лишь месяцы, а не годы [26, 27]. Бактериальная биodeградация является естественным разрушением бактериями-деструкторами ПГА [28, 29].

На сегодняшний день разрабатываются и исследуются способы депонирования пестицидов с различными видами систем контролируемой доставки препаратов.

1.5 ПГА в качестве основы доставки фунгицидов в почву

Полигидроксиалканоаты (ПГА) - являются группой полимеров, сложных полиэфиров гидроксикарбоновых кислот. ПГА синтезируются различными видами микроорганизмов при дефиците некоторых веществ, например соединений, содержащих азот или фосфор. Накопление ПГА происходит в клеточной цитоплазме в виде включений (гранул). ПГА могут разрушаться различными микроорганизмами, имеющими внеклеточные деполимеразы. По ряду физико-химических свойств, ПГА схожи с синтетическими полимерами (ПП - полипропилен, ПЭ - полиэтилен) [30].

На сегодняшний день в литературе упоминается не менее 10 видов бактерий-продуцентов, которые способны синтезировать ПГА. От штамма бактерии, ее таксономической принадлежности зависит химическая структура ПГА. Это имеет значимое преимущество в биотехнологическом процессе, поскольку, замена ростового субстрата на другой, приводит к смене вида ПГА, но существенного расхождения в самом технологическом процессе и оборудовании не происходит. [31].

Для промышленного производства ПГА используются различные штаммы-продуценты – это природные штаммы *Ralstonia eutropha* (они же *Alcaligenes eutrophus*); *Alcaligenes latus*, *Aeromonas hydrophila*; *Pseudomonas oleovorans* и др.

В качестве ростового субстрата могут использоваться:

- < кристаллические сахара;
- < гидролизаты растительных биомасс (кукурузные и соевые гидролизаты, гидролизаты вегетативной биомассы хлопчатника);
- < органические кислоты;
- < газовые смеси $H_2 + CO_2 + O_2$ (источником водорода может быть электролиз воды, при этом одновременно процесс обеспечивается кислородом, а источником углерода служит экспанзерная углекислота биохимических производств);

◁ продукты переработки углей – смеси гуминовых кислот.

Выявлено, что наиболее эффективными субстратами для полимерного производства служат меласса и тростниковый сахар. В основном дороговизна данного процесса варьирует из-за выбранного субстрата [32, 33].

1.6 Биологическая деградация ПГА

Самым важным свойством полигидроксиалканоатов (ПГА) является их способность подвергаться деградации, которая реализуется в естественных условиях через гуморальные и клеточные пути с образованием безвредных для окружающей среды продуктов: диоксида углерода и воды в аэробных условиях, метана и воды в анаэробных условиях [36].

Биодеградация ПГА – это сложный многостадийный процесс, на который оказывает влияние целый ряд факторов, в том числе химический состав и свойства ПГА, тип полимерного продукта и применяемая для его изготовления техника, климат и погода, а также структура микробного сообщества.

Разрушаемость ПГА исследовалось в различных средах (буферные растворы, растворы ферментов, кровь, сыворотка, культуры клеток, микрокосмы), чтобы выявить сам механизм деградации, при этом изменяя значения pH, соленость, температуру. Основными показателями деструкции ПГА являются уменьшение молекулярной массы, изменение самого веса полимерных препаратов и их прочности, а также степень кристалличности полимера [37].

Данные о влиянии состава полигидроксиалканоатов (ПГА) (сополимер / гомополимер) на скорость деградации противоречивы.

Но скорее всего возможными причинами противоречивых результатов могли послужить различные методы выделения и обработки полимеров, различие самих образцов с отличающимся количеством остаточных

примесей, в принципе, протекание всех исследований могло быть в разное время и при неодинаковых условиях разложения полимера [39].

Таким образом, анализ литературы показывает, что ПГА являются перспективным материалом для депонирования сельскохозяйственных препаратов, так как подвержены биодegradации в почве, а скорость биодegradации можно контролировать в зависимости от физико-химических свойств ПГА, способа изготовления и геометрии изделий.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы

Для исследования было выбрано три фунгицида различного действия и относящихся к разным группам. Взяли такие фунгициды как дифеноконазол, мефеноксам, азоксистробин. Сравнительная таблица характеристик фунгицидов показаны в Таблице 2 .

Таблица 2 – Сравнительная таблица общей характеристики фунгицидов: дифеноконазол, мефеноксам, азоксистробин.

	Дифеноконазол	Мефеноксам	Азоксистробин
Способ проникновения	Контактный Системный	Системный	Контактный Системный
Характер действия	Защитный Иммунизирующий Лечащий	Защитный Лечащий	Защитный
Способ применения	Обработка семенного материала Опрыскивание	Обработка семенного материала	Опрыскивание
Температура плавления	78,6 °С	-38,7°С	166 °С
Растворимость в воде (мг/л); при 25 °С	5 - 15	26	6 - 7
Период полураспада	12 - 21 день	5 - 13 день	3 - 39 день

Поли(3-гидроксибутират) П(ЗГБ)) – представитель полигидроксиалканоатов, стереорегулярный изотактический гомополимер D(-)-3-гидроксимасляной кислоты (C₄H₈O₂). Представляет собой бесцветное полукристаллическое гидрофобное вещество. Плотность аморфной фазы П(ЗГБ) составляет 1,177 г/см³, кристаллической – 1,23–1,26 г/см³

Химическая структура мономерного звена, остатка D-3-гидроксимасляной кислоты, представлена на Рисунке 4. Изотактический полигидроксибутират по строению сходен с изотактическим полипропиленом и имеет тип присоединения элементарных звеньев «голова к хвосту». Бактерии, используемые для синтеза PHB, продуцируют исключительно D-форму [41].

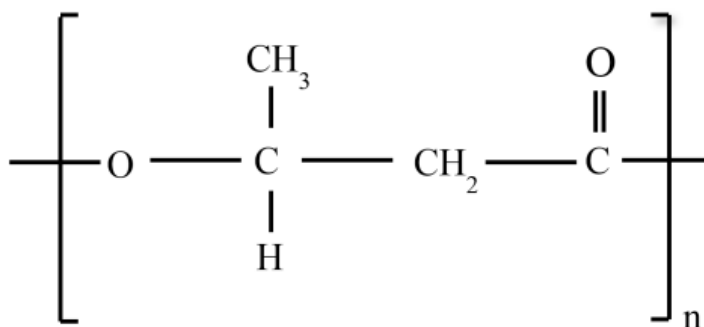


Рисунок 4 – Химическая структура мономерного звена поли-D-гидроксибутирата, n – степень полимеризации [41].

2.2 Метод изготовления полимерных гранул

2.2.1 Изготовление биоразрушаемого полимера поли(3-гидроксибутирата)

Для наработки биоразрушаемого полимера применяли метод ферментации с использованием продуцирующего штамма *Cupriavidus glutinis* В-10646, за основной C-субстрат был взят глицерин (снижает затраты на данный процесс). Далее производилась очистка до гомогенных полимерных образцов.

Изготовление полимерных основ в виде гранул

Гранулы изготавливали из полимера поли(3-гидроксибутирата), природного материала – березовые опилки и пестицида (азоксистробин, дифеноконазол, мефеноксам или двойного препарата азоксистробин с мефеноксамом). Березовые опилки дополнительно измельчались. Затем их смешивали с полимером на ультрацентрифужной мельнице (прибор: настольный планетарный миксер – SpeedMixer DAC 250 SP), 1 мин при скорости 1000 об/мин. Далее получившуюся смесь просеивали (прибор: просеивающая машина AS 200 control (Германия)). Получили смесь в виде порошка из ПЗГБ, березовых опилок и пестицида. Был применен метод окатывания с применением гранулятора «Formag». Получившиеся гранулы имели следующее компонентное соотношение:

- П(ЗГБ)/опилки/фунгицид = 60:30:10 (в случае депонирования одного фунгицида);
- П(ЗГБ)/опилки/фунгицид¹/ фунгицид² = 60:30:5:5 (вес%) (в случае депонирования двух фунгицидов).

Полученные препараты в виде гранул имели двух видов:

- ◁ Большие гранулы (диаметр 3 мм, масса 8-10 мг);
- ◁ Малые гранулы (диаметр 1,5 мм, масса 4-5 мг).

Эксперимент в почвенных микрэкосистемах

Сравнительное исследование влияния гранул депонированных форм фунгицидов на почвенную микрофлору проводили в лабораторных условиях в почвенных микрэкосистемах. Почва была взята с экспериментальных полей учебного хозяйства Красноярского государственного аграрного университета «Миндерлинское» (56° северной широты, 92° восточной долготы). Исследуемая почва представляла собой выщелоченный чернозем с высоким содержанием гумуса и низкой обеспеченностью нитратным и аммонийным азотом.

Почву в количестве 100 г помещали в пластиковые контейнеры объемом 48 см², которые размещали в термостате при постоянной температуре 25±0,1°С и поддерживали при стабилизированной влажности 50%. Для исследования влияния пестицидов на микрофлору в контейнеры с почвой вносили гранулы исследуемых пестицидов, депонированные в разрушаемую основу, а также для сравнения отдельно вносили чистый коммерческий пестицид. Гранулы помещали в сетчатые мешочки и погружали в почву на глубину 2–2,5 см. Эксперимент длился 90 дней, после чего делали отбор почвенных образцов из контейнеров и анализировали численность микробного сообщества (Рис.5)

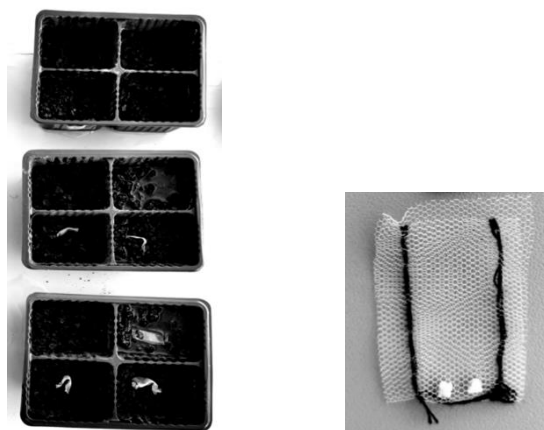


Рисунок 5 – Слева: фото контейнеров с почвой с размещенными в них мешочками с гранулами; справа: фото мешочка с гранулами.

2.2.2 Выделение фунгицидов из почвы

Выделение фунгицидов из почвы проводили следующим образом: почву в количестве 100 г, содержащуюся в контейнерах, помещали в термостат для получения сухой массы. Далее плотную массу следовало растереть в ступке до более мелких частиц. В пробирки объемом на 50 мл (Eppendorf) добавляли 10-20 мг сухой почвы, затем 5-10 мл воды, 20-40 мл ацетонитрила и перемешивали с использованием мешалки Vortex в течение 3-5 мин. Затем добавляли 2-4 г хлорида натрия и 1-2 г безводного сульфата

магния, и перемешивали еще в течение 1-3 мин. Центрифугировали в течение 5 минут при 3000 g. Затем ацетонитрил переносили в колбу, и с использованием ротационного испарителя под вакуумом удаляли ацетонитрил при температуре 40 °С. Для измерения содержания азоксистробина и мефеноксама добавляли 1 мл ацетонитрила, для измерения дифеноконазола – 1 мл метанола.

2.2.3 Хроматографические методы исследования

Детектирование производилось на длинах волн, расположенных в области поглощения максимумы фунгицидов. Содержание пестицидов детектировали в разработанных депонированных формах, а также кинетику выхода из форм и текущую концентрации в почве. Разработку методов детекции фунгицидов проводили, опираясь на методические указания (МУК 4.1.1213-03 для азоксистробина, МУК 4.1.1961-05 для дифеноконазола, МУК 4.1.2335-08 для мефеноксама). Для построения калибровочных графиков использовали СОП 119-13 (азоксистробин), ГСО 7656-99 (дифеноконазол), аналитический стандарт (мефеноксам). Использовали градуировочные растворы действующих веществ с концентрациями 0.001, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 и 1 г/л.

Анализ концентраций пестицидов проводился с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с помощью хроматографической системы Agilent 1200 Infinity (Agilent Technologies, США), оснащенной градиентным насосом, автосэмплером, термостатом для колонок и детектором на основе диодной матрицы. Использовалась колонка Eclipse XDB-C18. Для каждого пестицида были подобраны свои характеристики определения:

- *Азоксистробин* определяли в подкисленной воде 0,1%-ой уксусной кислотой и ацетонитриле. Подвижная фаза ацетонитрил-вода (50 : 50) по объему. Общее время метода длилось 12 минут. Элюенты подавались следующим образом: первые 5 минут после введения образца градиент

ацетонитрила составлял от 45% до 53% (вода от 55% до 47%); от 5 до 8 минут – от 53 до 60% ацетонитрила; после 8 минут – 60% ацетонитрила. Рабочая длина волны – 230 нм, температура колонки – 35 °С, скорость потока элюента 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 20 мкл. Время удерживания азоксистробина – 8.5 мин. Метод чувствителен для концентраций азоксистробина в пределах 0,001 – 1 г/л. Растворы для построения калибровочного графика готовили путем растворения СОП 119-13 (азоксистробин) в чистом ацетонитриле (Рис.6).

- *Дифеноконазол* определяли в подкисленной воде 0,1%-ой муравьиной кислотой и подкисленным метанолом 0,1%-ой муравьиной кислотой. Подвижная фаза ацетонитрил-вода (50 : 50) по объему. Общее время метода длилось 6.5 минут. Элюенты подавались следующим образом: первые 0,5 минут после введения образца метанола составлял 20%; далее от 0,51 до 3,00 минут – 90% подкисленного метанола; от 3,01 до 5,0 минут – 90% метанола; и от 5,01 до 6,0 – 20% метанола. Рабочая длина волны – 220 нм, температура колонки – 35 °С, скорость потока элюента 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 20 мкл. Время удерживания дифеноконазола – 4,472 – 4,535 мин. Метод чувствителен для концентраций дифеноконазола в пределах 0,001 – 1 г/л. Растворы для построения калибровочного графика готовили путем растворения ГСО 7656-99 (дифеноконазол) в чистом метаноле (Рис.6) [42].

- *Мефеноксам* определяли в подкисленной воде 0,1%-ой уксусной кислотой и ацетонитриле. Подвижная фаза ацетонитрил-вода (50 : 50) по объему. Общее время метода длилось 30 минут. Элюенты подавались в следующем порядке: первые 2 минут после введения образца ацетонитрил составлял 25%; далее 7 минут – 50% ацетонитрила; 15 минут – 90% ацетонитрила; 25 минут – 25% ацетонитрила. Рабочая длина волны – 210 нм, температура колонки – 35 °С, скорость потока элюента 1 мл/мин. Объем вводимой пробы 20 мкл. Время выхода мефеноксама зафиксировано на 9,6 мин. Растворы для построения калибровочного графика готовили путем растворения аналитического стандарта (мефеноксам) в чистом ацетонитриле (Рис.6) [43].

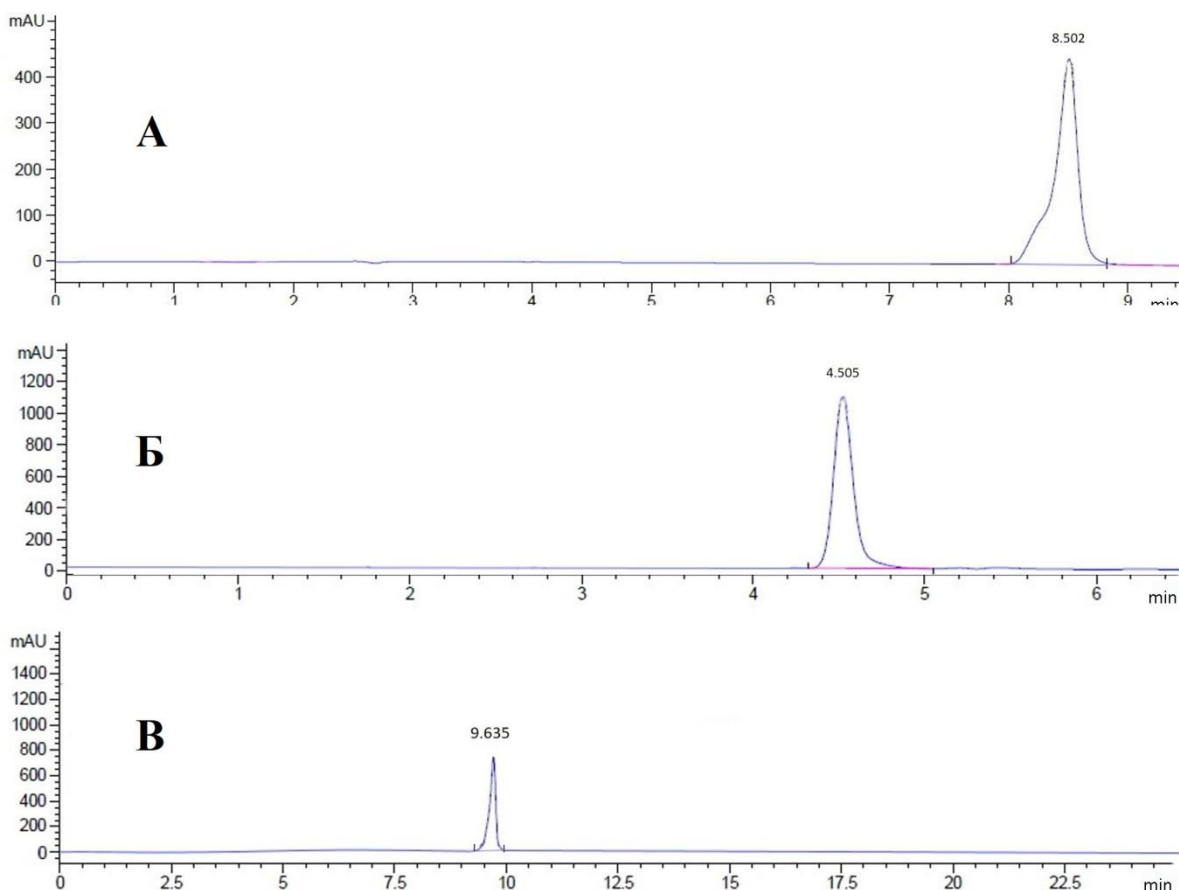


Рисунок 6 – Хроматограммы фунгицидов: А – азоксистробин; Б – дифеноконазол; В – мефеноксам, методом ВЭЖХ с использованием детектора на основе диодной матрицы

2.3 Микробиологические методы исследования

Для выделения и учета бактерий применяли следующие среды [44]:

- Мясопептонный агар (Nutrient agar, HiMedia) для подсчета копиотрофных бактерий, усваивающих органические формы азота.
- Крахмало-аммиачный агар (КАА) для подсчета прототрофных бактерий, усваивающих минеральные формы азота, (г/л): растворимый крахмал – 10.0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 2.0; K_2HPO_4 – 1.0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1.0; CaCO_3 – 3.0; агар – 15.0; вода водопроводная.
- Почвенный агар (ПА) для подсчета олиготрофных бактерий, усваивающих питательные вещества в низких концентрациях. 500 г плодородной почвы заливали 1,5 л водопроводной воды и автоклавировали 30 мин. при 1 атм. Полученный экстракт фильтровали через бумажный фильтр, добавляли к горячему фильтрату 0.5 г CaCO_3 , тщательно перемешивали и через 5-7 мин. фильтровали вновь. К экстракту добавляли 0,2 г K_2HPO_4 и доводили объем до 1 л, pH устанавливали 6,8-7,0. Среду стерилизовали при 1 атм. 30 мин.
- Среду Эшби для подсчета азотфиксаторов и олигонитрофилов, (г/л): маннит – 20.0; K_2HPO_4 – 0.2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.2; NaCl – 0.2; K_2SO_4 – 0.1; CaCO_3 – 5.0; вода водопроводная.
- Среду Сабуро для подсчета микромицетов, (г/л): глюкоза – 40, пептон – 10, агар – 18, антибиотик для подавления роста бактерий [44].

Образец почвы (10 г) вносили в 100 мл стерильной водопроводной воды, выдерживали на шейкере в течение 15 минут, затем делали серию десятикратных разведений в стерильной воде. Посев производили параллельно в трёхкратной повторности из разведений 10^4 – 10^6 (Сусло 10^2 – 10^3) на чашки Петри в количестве 50 мкл почвенной суспензии. Этот объем распределяли по поверхностям сред стерильным шпателем. Чашки с посевами выдерживали в термостате при температуре 30°C (Сусло в

термостате комнатной температуры). Количественный учёт микроорганизмов проводили на 3 – 7 сутки культивирования.

Количество микроорганизмов в исследуемых образцах (X) определяли по формуле: $X = \frac{a \times b}{c \times d}$, где a – среднее количество колоний на чаше; b – разведение, из которого сделан высеv; c – количество, выносимой суспензии, мл; d – масса исследуемой почвы, г.

Коэффициент минерализации определяли как соотношение прототрофных микроорганизмов и аммонификаторов, коэффициент олиготрофности – как соотношение олиготрофных и аммонифицирующих бактерий.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изъяты страницы 33-43 в связи с авторскими правами

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Исследовано разрушение в почве депонированных форм фунгицидов в виде гранул на основе П(ЗГБ) и березовых опилок. Показано постепенное (до трех месяцев) разрушение гранул в почве в зависимости от размера: гранулы диаметром 1.5 мм разрушались активнее гранул диаметром 3.0 мм (до остаточной массы 50-58 % и 60-65 % соответственно), а также от типа депонированного фунгицида – большему разрушению подвергались гранулы, содержащие более растворимый в воде препарат – мефеноксам.

2. Показано, что сконструированные формы способствуют длительному и постепенному высвобождению фунгицидов, тем самым поддерживая постоянное нахождение препаратов в почве до 3-х месяцев. Установлено, что высвобождение препаратов из форм зависит от растворимости активного вещества.

3. Произведена оценка влияния депонированных препаратов на численность и соотношение эколого-трофических групп микроорганизмов. Установлено, что внесение сконструированных форм, нагруженных фунгицидами, приводило к снижению численности микромицетов (в 2,5 раза), а постепенное разрушение основы гранул в виде П(ЗГБ), поставляя дополнительный субстрат для почвенной микрофлоры, способствовало увеличению численности таких групп как прототрофы и азотфиксаторы.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Damalas C. A., Eleftherohorinos I. G. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators //International journal of environmental research and public health. – 2011. – Т. 8. – №. 5. – С. 1402-1419.
2. Иванцова Е. А. Влияние пестицидов на микрофлору почвы и полезную биоту //Природные системы и ресурсы. – 2013. – №. 1 (5). – С. 35-40.
3. Медведь Л. И. Справочник по пестицидам (гигиена применения и токсикология) //Киев: Урожай. – 1974.
4. Зинченко В. А. Химическая защита растений: средства, технология и экологическая безопасность. – 2012.
5. Гольшин, Н.М. Фунгициды. – Москва: КолосС, 1993. – 319 с.
6. Груздев, Г.С. Химическая защита растений / Г.С. Груздев. – Москва: 1987 – 415с.
7. Большая советская энциклопедия (БСЭ): «Советская энциклопедия», - Москва, 1926 – 1990гг.
8. Пестициды.ру: [Электронный ресурс] // Действующие вещества фунгицидов, азоксистробин, 2014. URL: https://www.pesticidy.ru/active_substance/azoxystrobin. (Дата обращения: 10.05.2022).
9. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 3034285, Azoxystrobin. Retrieved June 9, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Azoxystrobin>.
10. Система ГАРАНТ: [Электронный ресурс] // Онищенко Г. Г. и др. Гигиенические нормативы содержания пестицидов в объектах окружающей среды (перечень). – 2021. URL: <http://ivo.garant.ru/#/startpage:1> . (Дата обращения: 19-21.06.2022).
11. Пестициды.ру: [Электронный ресурс] // Действующие вещества фунгицидов, азоксистробин, 2014. URL:

- https://www.pesticity.ru/active_substance/difenoconazole. (Дата обращения: 16.05.2022).
12. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 86173, Difenoconazole. Retrieved June 11, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Difenoconazole>.
13. Долженко В. И. и др. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ. Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды. – 2015.
14. National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 11150163, Metalaxyl-M. Retrieved June 12, 2022 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Metalaxyl-M>.
15. Пестициды.ру: [Электронный ресурс] // Действующие вещества фунгицидов, азоксистробин, 2014. URL: https://www.pesticity.ru/active_substance/mefenoxam. (Дата обращения: 28.05.2022).
16. Ксенофонтова О. Ю., Чиров П. А. Экспериментальные данные о взаимодействии микроорганизмов и пестицидов в почве // Поволжский экологический журнал. – 2005. – №. 1. – С. 29-35.
17. Симонов В. Ю., Андросов Г. К. Влияние фунгицидов различных химических групп на микробную популяцию и биохимическую активность почвы // Агро XXI. – 2009. – №. 4-6. – С. 5.
18. Березненко Н. М., Лепешкина М. И. Перспективы использования пестицидных формуляций с контролируемым высвобождением действующего вещества // SWorld. – 2015.
19. Muñoz-Leoz B. et al. Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity // Soil Biology and Biochemistry. – 2011. – Т. 43. – №. 10. – С. 2176-2183.

20. Wang C. et al. Individual and combined effects of tebuconazole and carbendazim on soil microbial activity //European Journal of Soil Biology. – 2016. – Т. 72. – С. 6-13.
21. Dave A. M. et al. A review on controlled release of nitrogen fertilizers through polymeric membrane devices //Polymer-Plastics Technology and Engineering. – 1999. – Т. 38. – №. 4. – С. 675-711.
22. Dubey S., Jhelum V., Patanjali P. K. Controlled release agrochemicals formulations: a review. – 2011.
23. Roy A. et al. Controlled pesticide release from biodegradable polymers //Central European Journal of Chemistry. – 2014. – Т. 12. – №. 4. – С. 453-469.
24. Бояндин А. Н. и др. Биодegradация полигидроксиалканоатов почвенными микробиоценозами различной структуры и выявление микроорганизмов-деструкторов //Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48. – №. 1. – С. 35-35.
25. Прудникова С. В., Виноградова О. Н., Трусова М. Ю. Особенности бактериальной биодegradации полигидроксиалканоатов разной химической структуры в почве //Доклады Академии наук. – Федеральное государственное бюджетное учреждение" Российская академия наук", 2017. – Т. 473. – №. 2. – С. 229-232.
26. Sudesh K., Abe H., Doi Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters //Progress in polymer science. – 2000. – Т. 25. – №. 10. – С. 1503-1555.
27. Jendrossek D. Microbial degradation of polyesters / D. Jendrossek // Adv Biochem Eng Biotechnol, 2001. – 71, С.293–325.
28. Прудникова С. В., Виноградова О. Н., Трусова М. Ю. Особенности бактериальной биодegradации полигидроксиалканоатов разной химической структуры в почве //Доклады Академии наук. – Федеральное государственное бюджетное учреждение" Российская академия наук", 2017. – Т. 473. – №. 2. – С. 229-232.

29. Войнова О. Н. и др. Микробные полимеры в качестве разрушаемой основы для доставки пестицидов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45. – №. 4. – С. 427-431.
30. Волова Т. Г. и др. Физико-химические свойства полигидроксиалканоатов различного химического строения // Высокмолекулярные соединения. Серия А. – 2013. – Т. 55. – №. 7. – С. 775-775.
31. Волова Т. Г., Севастьянов В. И., Шишацкая Е. И. Полиоксиалканоаты (ПОА)–биоразрушаемые полимеры для медицины. – 2003.
32. Киселев Е. Г. и др. Масштабирование технологии синтеза биodeградируемых полигидроксиалканоатов в условиях опытного производства // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2014. – Т. 7. – №. 2. – С. 134-147.
33. Киселев Е. Г., Шишацкий О. Н., Дж С. Э. Техничко-технологические основы производства разрушаемых полигидроксиалканоатов // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2012. – Т. 5. – №. 3. – С. 300-310.
34. Grillo R. et al. Poly (ϵ -caprolactone) nanocapsules as carrier systems for herbicides: physico-chemical characterization and genotoxicity evaluation // Journal of hazardous materials. – 2012. – Т. 231. – С. 1-9.
35. Chanprateep S. Current trends in biodegradable polyhydroxyalkanoates // Journal of bioscience and bioengineering. – 2010. – Т. 110. – №. 6. – С. 621-632.
36. Jendrossek D., Handrick R. Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates // Annual Review of Microbiology. – 2002. – Т. 56. – С. 403. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160838>).

37. Волова Т. Г., Шишацкая Е. И. Разрушаемые биополимеры: получение, свойства, применение. – 2011.
38. Prudnikova S. V., Vinogradova O. N., Trusova M. Y. Specific character of bacterial biodegradation of polyhydroxyalkanoates with different chemical structure in soil //Doklady Biochemistry and Biophysics. – Pleiades Publishing, 2017. – Т. 473. – №. 1. – С. 94-97.
39. Volova T. G. et al. Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates with different chemical compositions and their biodegradability //Microbial ecology. – 2017. – Т. 73. – №. 2. – С. 353-367.
40. Виноградова О. Н. и др. Микробиологическая деградация поли-3-гидроксibuтирата в образцах агрогеннопреобразованных почв //Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2015. – Т. 8. – №. 2. – С. 199-209.
41. Anderson A. J., Dawes E. A. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates //Microbiological reviews. – 1990. – Т. 54. – №. 4. – С. 450-472.
42. Zhang Z. et al. Residues and dissipation kinetics of triazole fungicides difenoconazole and propiconazole in wheat and soil in Chinese fields //Food chemistry. – 2015. – Т. 168. – С. 396-403.
43. Triantafyllidis V. et al. Evaluation of mobility and dissipation of mefenoxam and pendimethalin by application of CSTR model and field experiments using bare and tobacco tilled soil columns //Water, Air, & Soil Pollution. – 2012. – Т. 223. – №. 4. – С. 1625-1637.
44. Нетрусов А. И. и др. Практикум по микробиологии. – 2005.
45. Volova T. et al. Constructing slow-release fungicide formulations based on poly (3-hydroxybutyrate) and natural materials as a degradable matrix //Journal of agricultural and food chemistry. – 2019. – Т. 67. – №. 33. – С. 9220-9231.

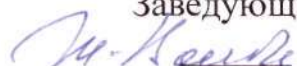
46.Jendrossek D., Schirmer A., Schlegel H. G. Biodegradation of polyhydroxyalkanoic acids //Applied microbiology and biotechnology. – 1996. – T. 46. – №. 5. – C. 451-463.

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

«24» июня 2022 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Исследование выхода в почву фунгицидов,
депонированных в гранулы на основе разрушаемого биополимера
поли(3-гидроксibuтирата)

тема

06.04.01 «Биология»

код и наименование направления

06.04.01.01 «Микробиология и биотехнология»

код и наименование магистерской программы

Научный
руководитель


подпись, дата

Доцент, к.б.н.
Н.О. Жила

Магистрант


подпись, дата

Е.И. Толстых

Рецензент


подпись, дата

н.с. ИБФ СО РАН,
к.б.н.
А.В. Муруева