

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

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии

Базовая кафедра биотехнологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

  
подпись

инициалы, фамилия

« 19 »

Иванова

2017 г

**БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА**

06.03.01 – Биология

Влияние депонированных форм гербицида трибенурон-метила на  
почвенную микрофлору при выращивании пшеницы с модельными  
сорными растениями

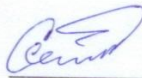
Руководитель



проф., д-р биол. наук

С.В. Прудникова

Выпускник



С.Ю. Семёнова

Красноярск 2017

## РЕФЕРАТ

Бакалаврская работа по теме «Влияние депонированных форм гербицида трибенурон-метила на почвенную микрофлору при выращивании пшеницы с модельными сорными растениями» содержит 36 страниц текстового документа, 9 рисунков, 43 использованных источника.

Ключевые слова: трибенурон-метил (ТБМ), поли(3-гидроксибутират) (ПЗГБ), депонирование гербицидов, почвенная микрофлора, пшеница, щирица запрокинутая.

Целью работы являлось исследование влияния гербицида трибенурон-метила (ТБМ) на почвенную микрофлору при разных способах доставки – в виде раствора и депонированного в биоразрушаемый полимер поли(3-гидроксибутират). В задачи исследования входило оценить влияние трибенурон-метила, а также трибенурон-метила, депонированного в пленки, микрочастицы и микрогранулы из поли(3-гидроксибутирата), на численность бактерий и микромицетов в ризосфере пшеницы (*Triticum aestivum*) и модельного сорного растения щирицы запрокинутой (*Amaranthus retroflexus*). Определить таксономическое разнообразие бактерий в ризосфере пшеницы и модельного сорняка, при внесении депонированных форм трибенурон-метила, а также оценить гербицидный эффект различных способов доставки трибенурон-метила на растения щирицы запрокинутой.

Изучение влияния гербицидов на ризосферную микрофлору является актуальным, так как именно почвенные микроорганизмы способны трансформировать молекулы гербицидов до безопасных соединений.

Исследования показали, что внесение в почву разработанных форм гербицида трибенурон-метила, депонированного в пленки, микрочастицы и микрогранулы не оказывали ингибирующего действия на микроорганизмы и с высокой эффективностью подавляли растения щирицы запрокинутой в посевах пшеницы.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1.1. Пестициды .....	6
1.1.1. Основные понятия, классификация .....	6
1.1.2. Влияние пестицидов на окружающую среду.....	6
1.1.3. Формы применения .....	7
1.2. Гербициды .....	9
1.2.1. Классификация гербицидов.....	9
1.2.2. Трибенурон-метил .....	10
1.3. Доставка пестицида в зону применения.....	11
1.3.1. Контролируемая доставка .....	11
1.3.2. Основа для депонирования .....	12
1.3.3. Характеристика полигидросиалканоатов .....	13
1.3.4. Примеры использования полимеров в сельском хозяйстве.....	15
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	17
2.1. Объекты исследования.....	17
2.2. План эксперимента.....	17
2.3. Анализ почвенной микрофлоры .....	18
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА.....	19
ВЫВОДЫ.....	22
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	23

## ВВЕДЕНИЕ

Растения являются основным источником пищи в мире, однако сорные растения наносят значительный ущерб сельскому хозяйству, конкурируя за свет, влагу, питательные вещества, подавляя их развитие и ослабляя устойчивость к неблагоприятным факторам [13]. Применение пестицидов для борьбы с болезнями растений стало обычной практикой в растениеводстве по всему миру. Современное сельское хозяйство использует широкий спектр синтетически производимых химических веществ, включая гербициды, фунгициды, инсектициды [26]. Гербициды подавляют действие сорных растений, способствуя росту культурных растений, что стало одним из важнейших направлений в растениеводстве.

Способность прогнозировать адресную доставку пестицидов помогает избежать опасности для окружающей среды. Препараты с контролируемым высвобождением осуществляют более экономичную защиту растений, являясь при этом более эффективными и безопасными для окружающей среды [28].

Однако, с увеличением концентрации гербицидов в почве и водоемах, могут проявляться токсичные действия по отношению к живым организмам.

В окружающей среде трансформацию молекул гербицидов до безопасных соединений осуществляют почвенные микроорганизмы, которые также могут быть подвержены их токсическому действию. Именно поэтому изучение влияния гербицидов на микрофлору почвы является актуальным научным направлением.

Целью данной работы являлось исследование влияния гербицида трибенурон-метила (ТБМ) на почвенную микрофлору при разных способах доставки – в виде раствора и депонированного в биоразрушаемый полимер поли(3-гидроксibuтират).

В ходе работы были поставлены следующие задачи:

- Оценить влияние трибенурон-метила на численность бактерий и микромицетов в ризосфере пшеницы (*Triticum aestivum*) и модельного сорного растения щирицы запрокинутой (*Amaranthus retroflexus*);

- Оценить влияние экспериментальных форм трибенурон-метила, депонированного в пленки, микрочастицы и микрогранулы из поли(3-гидроксibuтирата), на численность ризосферных бактерий и микромицетов в посевах пшеницы с модельным сорняком;
- Определить таксономическое разнообразие бактерий в ризосфере пшеницы и модельного сорняка, при внесении депонированных форм трибенурон-метила;
- Оценить гербицидный эффект различных способов доставки трибенурон-метила на растения щирицы запрокинутой.

# 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1. Пестициды

### *1.1.1. Основные понятия, классификация*

Из многочисленных современных средств и методов защиты растений наибольшее значение имеет химический метод - использование химических соединений или их смесей для борьбы с вредителями и болезнями растений и сорняками, вне зависимости от метода получения используемого химического соединения и механизма его действия.

Химические вещества, используемые для уничтожения различных видов вредных организмов или для предупреждения их развития, называются пестицидами. В настоящее время к пестицидам причисляют и регуляторы роста растений – вещества синтетического или естественного происхождения, которые вызывают стимуляцию или подавление роста и морфогенеза растений [9; 10; 13].

Наиболее широкое применение в различных сферах хозяйства получили гербициды, фунгициды, инсектициды, а также регуляторы роста растений.

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

Трудно сделать общий вывод о влиянии пестицидов. Для успешного применения пестицидов в сельском хозяйстве, наряду с высокой физиологической активностью по отношению к различным вредным организмам, необходимо, чтобы они обладали комплексом свойств, обеспечивающих не только эффективность действия, но и безопасность использования [10; 26].

Широкое распространение химически синтезированных веществ может привести к загрязнению окружающей среды: поступление в грунтовые и поверхностные воды, повреждение чувствительных культурных растений в севообороте, накопление связанных остатков в почве. Также были зарегистрированы различные типы воздействия пестицидов на почву. Многие из этих препаратов показали неблагоприятное влияние на число и функции

разнообразных микроорганизмов. Снижение бактериальной и грибковой биомассы изменили дыхательную активность, также снизили темпы круговоротов углерода и азота. Однако пестициды отличаются по их способности к биологическому разложению, таким образом, некоторые из них являются постоянными загрязнителями почвы [21; 26].

Особое требование предъявляется к персистентности пестицидного препарата. Персистентность<sup>1</sup> препарата зависит как от физических, так и от химических свойств вещества. Чем выше продолжительность действия препарата в объектах окружающей среды, тем выше его персистентность [9]. Персистентность одного и того же препарата может изменяться в зависимости от характера почвы, влажности, температуры, а также от активности живых организмов, которые обитают в данной экосистеме [10]. В то время как различные пестициды могут быть токсичными для некоторых важных бактериальных групп, другие микроорганизмы способны использовать некоторые пестициды как источник питательных веществ. Так же, некоторые метаболиты, которые образуются в процессе биodeградации пестицида, могут быть даже более неблагоприятными, чем исходное соединение [26].

Таким образом, выбор препарата с оптимальной персистентностью определяется его назначением и экологическими требованиями охраны природы [9].

### *1.1.3. Формы применения*

Успешное применение пестицидов для борьбы с различными вредными организмами в большой степени зависит от формы препарата и условий, при которых химическое соединение (действующее вещество) контактирует с вредителями растений, возбудителями заболеваний растений и сорными растениями, а также полезными растениями. Форма препарата также имеет большое значение для его безопасного использования в окружающей среде.

---

<sup>1</sup> Персистентность – продолжительность сохранения пестицидами биологической активности в окружающей среде или ее отдельных объектах, в том числе почве, атмосфере, гидросфере.

Различный характер химических соединений, используемых в качестве пестицидов, и многообразие объектов применения вызывают необходимость создания большого числа форм препаратов. В зависимости от физико-химических свойств препарата, его назначения и способа использования выбирается наиболее эффективная и экономичная в данных условиях форма его применения. На выбор формы применения большое влияние оказывает также токсичность препарата. Форма применения должна обеспечивать не только наиболее эффективное, но и наиболее безопасное использование того или иного препарата.

К настоящему времени нашли практическое применение следующие наиболее распространенные формы применения пестицидов. 1. Порошки (дусты) – для опыливания или опудривания. 2. Гранулированные препараты – для обработки растений и внесения в почву. В зависимости от назначения и способа применения размер гранул может колебаться от долей до нескольких миллиметров. 3. Микрокапсулированные препараты – для внесения в почву или для обработки растений. Эта форма препарата чаще всего используется для применения высокотоксичных веществ и в тех случаях, когда необходимо продлить срок действия препарата. В микрокапсулированных препаратах пестицид покрыт тонкой оболочкой какого-либо полимера, который, растворяясь в почвенном растворе, постепенно выделяет пестицид. 4. Растворы в воде и в органических растворителях. Такие препараты используются для опрыскивания растений и внесения в почву различными методами. 5. Смачивающиеся порошки, используемые в виде водной суспензии. 6. Концентраты эмульсии, при разбавлении водой образующие эмульсии для опрыскивания. 7. Аэрозоли и фумиганты. 8. Пенообразующие препараты. 9. Приманки с пищевыми наполнителями, чаще всего используемые для борьбы с грызунами. 10. Мази и мастики для обмазки растений [10].

Однако большинство пестицидов, при любом способе применения распределяется в почве неравномерно в виде отдельных частиц, капель и пленок.



## 1.2. Гербициды

### 1.2.1. Классификация гербицидов

Гербициды – вещества, которые используются для подавления сорной растительности в посевах сельскохозяйственных культур или на других объектах, где нежелательно произрастание сорной травянистой растительности [13].

В зависимости от свойств гербициды подразделяют на две группы: сплошного и избирательного (селективного) действия. Гербициды сплошного действия (раундап, баста) применяют для уничтожения любой травянистой растительности, например, в паре, в посадках многолетних культур, на обочинах дорог и т. д. Гербициды избирательного действия опасны только для одних видов растений и безопасны для других. Используются в посевах сельскохозяйственных культур. При их выборе учитывается, прежде всего, устойчивость защищаемой культуры к препарату.

Гербициды также подразделяются по характеру действия на растение на вещества контактного и системного действия. Контактные гербициды вызывают гибель надземной части сорняка (листья и стебли). Их доля в ассортименте гербицидов незначительна, из препаратов контактного действия широко используются базагран, аврора и некоторые другие. Обработывая растения контактными препаратами, необходимо добиваться равномерного покрытия каплями раствора всех листьев, так как они действуют только в точках соприкосновения, и от этого будет зависеть их эффективность. К системным гербицидам относятся вещества, которые способны передвигаться по сосудистой системе растений. Они могут применяться для внесения в почву и для обработки вегетирующих растений. Эти гербициды хорошо абсорбируются листьями и передвигаются по всему растению. При опрыскивании системными гербицидами, достаточно нескольких капель на листья, чтобы получить нужный эффект. Гербициды системного действия составляют основную долю ассортимента.

### 1.2.2. Трибенурон-метил

Сульфонилмочевины — класс системных гербицидов широкого спектра действия. Это достаточно неустойчивые соединения в окружающей среде, которые могут подвергаться деградации под действием физических (фотолиз), химических (гидролиз), а так же биологических (микробная деградация) факторов. Наиболее важной составляющей разложения гербицидов является деградация почвенной микробиотой, которая осуществляется благодаря способности микроорганизмов адаптироваться к определенным субстратам. Скорость деградации зависит от химической структуры препарата, а также от внешних условий – температуры, влажности, уровня кислотности и типа почв. Препараты обладают высокой биологической и избирательной активностью и высокоэффективны против однолетних двудольных и некоторых злаковых сорняков, в повышенных дозах подавляют многолетние виды, также обладают системным продолжительным действием и стойкостью в биологических средах, что обуславливает их широкую распространенность. Гербициды на их основе применяются на посевах злаковых, льна, кукурузы, хлопка, арахиса, риса, сои и других культур [7; 8; 13; 19].

Трибенурон-метил – производный гербицид сульфонилмочевины. Действующее вещество ингибирует в чувствительных сорняках ацетолактатсинтазу – ключевой фермент, который участвует в образовании аминокислот. Её подавление приводит к прекращению деления клеток, остановке роста, а затем и к гибели растений. Трибенурон-метил поглощается корнями и листьями, легко перемещается в растениях, быстро разлагается в почве. Гербицид малоопасен, не раздражает кожу и слизистые оболочки.

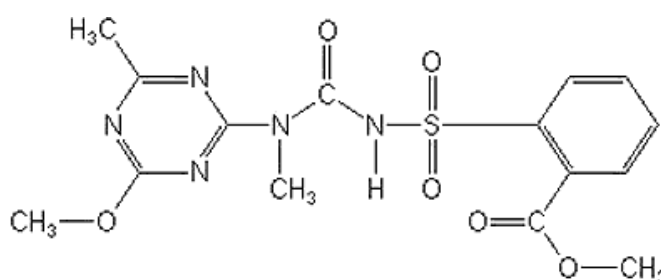


Рисунок 1 – Структурная формула трибенурон-метила

На основе трибенурон-метила в России применяются препараты гранстар, камео, экспресс.

Гранстар — системный послевсходовый гербицид, рекомендованный для уничтожения однолетних двудольных сорняков: ромашки, горца, крестоцветных и других растений. Гибель растений происходит в результате ингибирования фермента ацетолактатсинтазы. Препарат быстро разрушается в почве и не обладает последствием. В связи с этим его можно применять в любом севообороте [13; 21].

Экспресс (ExpressSun, СУМО) – производная система возделывания, представляющая собой комбинацию гербицида из группы сульфонилмочевин (трибенурон-метил) и генотипов подсолнечника, устойчивых к этому гербициду. Препарат рекомендован для борьбы с сорняками в посевах подсолнечника. Гербицид не теряет токсичности в течение всего вегетативного периода. Оказывает сильное токсическое действие на многолетние двудольные и однодольные сорняки [6; 18].

### **1.3. Доставка пестицида в зону применения**

#### *1.3.1. Контролируемая доставка*

Пестициды, в частности гербициды, применяются в течение длительного периода времени и в высоких концентрациях, что может представлять потенциальную опасность как для человека, так и для растений. Таким образом, инкапсуляция сельскохозяйственных средств может уменьшить повреждение растительных тканей и количество химических веществ, выделяемых в среду, обеспечивая более безопасный продукт [27].

На токсичность гербицидов, используемых в сельском хозяйстве, влияет их химическая стабильность, фоторазложение, растворимость, биодоступность и сорбция почвы. Существуют несколько возможных решений, которые направлены на минимизацию токсичности, в том числе и разработка систем носителей, способных модифицировать свойства соединения и осуществлять их контролируемое высвобождение [30; 31].

Контролируемое высвобождение пестицидов стало универсальным инструментом для уменьшения опасности их использования в природе. Контролируемое высвобождение – регулируемый перенос активного ингредиента из резервуара на поверхность для поддержания заранее заданного уровня концентрации в течение определенного периода времени.

Контролируемое высвобождение позволяет обеспечить более безопасные условия использования пестицидов и минимизировать потенциальную угрозу для окружающей среды. Одновременно с этим, уменьшая количество используемого пестицида, увеличивается его эффективность.

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

Свойства полимера можно регулировать путем изменения структуры и молекулярного веса, формы, размера и характера носителя активного агента. Контролируемые частицы высвобождения включают микрокапсулы, микросферы, гранулы с покрытием и гранулированные матрицы [37; 42].

### *1.3.2. Основа для депонирования*

Известно, что эффективность пестицидов зависит не только от природы их действующего вещества и его активности, но и определяется правильным выбором его препаративной формы. Это позволяет не только сохранить полезные свойства действующего вещества, но и увеличить стабильность рабочих растворов и биоактивных веществ, улучшить качество нанесения и адгезию препарата на обрабатываемую поверхность [22; 27].

Так, в работах Gomes et al (2011), в поли (лактид-со-гликолид) (PLGA) были эффективно инкапсулированы эфирные масла в качестве антимикробного носителя высвобождения. Антимикробная эффективность наночастиц была

показана против грамотрицательной бактерии *Salmonella spp.* и грамположительной бактерии *Listeria spp.*, что показывает, что наночастицы PLGA могут быть полезными антимикробными системами доставки [27; 29].

Среди перспективных полимерных материалов для депонирования пестицидов активно рассматриваются микробные полигидроксиалканоаты (ПГА) – полимеры гидроксипроизводных жирных кислот (так называемые биопластики), которые обладают спектром полезных свойств, включая биосовместимость и биоразрушаемость [14; 15].

### *1.3.3. Характеристика полигидроксиалканоатов*

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – это алифатические полиэфиры на основе гидроксикарбоновых кислот, которые создаются за счет бактериальной ферментации сахаров растительного происхождения (например, глюкоза). Полимеры накапливаются в бактериальных клетках, откуда их необходимо извлекать [1; 20].

ПГА термопластичны, обладают биоразрушаемостью и биосовместимостью, имеют высокие прочностные характеристики. ПГА не подвергаются быстрому химическому гидролизу в водных средах, а разлагаются по настоящему биологическому разложению, процессу ферментативной деполимерзации. Технология получения ПГА позволяет получать образцы полимеров разной химической структуры, различающихся степенью кристалличности, гибкости, механической прочности. Скорость деградации ПГА в различных средах также может контролироваться путем изменения в структуре мономерных композиций. Базовые свойства ПГА дают возможность применять различные способы переработки для получения широкого спектра изделий (пленок, мембран, волокон, различных матриксов). Основным компонентом ПГА – 3-гидроксимасляная кислота – естественный компонент обмена клеток и тканей, а конечный продукт биodeградации ПГА – диоксид углерода и вода. Исходя из этого, истинная биodeградация и возможность варьирования состава ПГА допускает задавать время и кинетику

разрушения. Для полной деградации ПГА требуются месяцы, а способность обрабатываться в разных фазовых состояниях делают их подходящими материалами для конструирования препаратов с медленным высвобождением. Такие препараты могут быть применены к почве. [2; 41; 43].

В число перспективных применений ПГА входят биоразлагаемые упаковочные материалы и формованные товары, нетканые материалы, предметы личной гигиены (памперсы, салфетки, постельные принадлежности), сельское (разрушаемое покрытие для семян и удобрений, инвентарь для теплиц) и коммунальное хозяйство, фармакологию (биоразрушаемая основа для депонирования и адресной доставки лекарственных препаратов), медицину (эндопротезы и импланты, пломбировочный материал). Экологически ориентированным направлением является разработка сельскохозяйственных препаратов с адресным и контролируемым выходом активного начала за счет специальных покрытий или матриц из биоразрушаемых материалов [2].

Наиболее применяемым и исследованным является высококристаллический гомополимер 3-гидроксимасляной кислоты (ПЗГБ), а также его сополимеры. ПЗГБ – это биоразлагаемый термопластичный полимер, может применяться как упаковочный материал или сельскохозяйственная пленка. Поли-3-гидроксibuтират разлагается на различных почвах, однако данных о деградации в других средах недостаточно.

Были выделены и идентифицированы более двухсот доминантных микробных штаммов, способных разрушить П(ЗГБ) *in vitro* в почвах и компостах. К ним относятся как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии, в том числе представители рода *Acidovorax*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, а также некоторые другие роды бактерий, грибы, в том числе представители рода *Penicillium*, и некоторые виды плесени. Большинство ПГА-деструкторов являются мезофильными микроорганизмами, только небольшое количество термофильных видов способно деградировать ПГА при повышенных температурах [16; 17; 34; 35; 43].

#### *1.3.4. Примеры использования полимеров в сельском хозяйстве*

В работе Grillo R. et al (2012) было показано, что нанокапсулы полимерного поли (ε-капролактона) (PCL), содержащие три триазиновых гербицида (аметрин, атразин, симазин) могут служить полезной модифицированной системой высвобождения гербицидов. Эффективность соединений гербицидов в нанокапсулах была выше 80%. Контролируемое высвобождение гербицидов из нанокапсул регулировалось главным образом релаксацией полимерных цепей. Составы нанокапсул, содержащих гербициды, были менее токсичны, чем свободные гербициды. Из результатов исследований можно заключить, что использование таких нанокапсул может улучшить использование гербицидов в экологических системах [31].

Разработаны и исследованы экспериментальные формы азотного удобрения (карбамида), депонированного в полимерный матрикс из разрушаемых полигидроксиалканоатов, в виде пленок и объемных образцов. Использование экспериментальной формы карбамида эффективно по сравнению со свободной, так как сокращает потери удобрения, и его дозы внесения могут быть уменьшены. Динамика разрушения полимерного матрикса экспериментальных форм карбамида обеспечивает адекватный потребностям культуры отток препарата, исключая возникновение лимита по азоту для растений. Такие долговременные формы препаратов обеспечивают контролируемый и адресный выход действующего вещества в течение вегетационного периода растений, что позволяет сократить нормы внесения химических веществ [14].

В работе А. В. Корсукова и др. (2015) были обработаны семена озимой и яровой пшеницы препаратом «Бункер» - фунгицидом триазольной природы, содержащим в качестве действующего вещества тебуконазол. Это привело к ингибированию роста побегов, синтезу в побегах специфических дегидринов и к повышению морозоустойчивости проростков. Из этого можно заключить, что тебуконазол-содержащий препарат «Бункер» повышает устойчивость растений

к низкой температуре, влияя на ростовые процессы и синтез стрессовых белков [33].

В работе Л. Савенковой и др. (2002) описаны новые формы пестицидов, включенных в полимерную основу ПГБ и изготовленных в виде пленок. Исследована биодegradация пленок и противогрибковая эффективность иммобилизованных пестицидов в подавлении *Botrytis cinerea*. Потеря массы испытанных пленок через 2 недели составила 40-50%, а после 4-х недель 92-96% от первоначальной массы. Фунгициды Ronilan и Sumilex, иммобилизованные в полимерных матрицах, не угнетают скорость деградации пленки. ПГБ на основе пленок вызвали изменение ассоциации микроорганизмов в почве и уменьшили количество фитопатогенного гриба *Botrytis cinerea* [38].

В работе Grillo et al (2011) гербицид аметрин был включен в микрочастицы, состоящие из двух полимеров, поли (гидроксibuтират) и поли (гидроксibuтират-валират), с эффективностью инкапсуляции 40%. Эти полимеры нетоксичны для окружающей среды и подвергаются биодegradации. Высвобождение аметрина в микрочастицах было более медленное и продолжительное по сравнению с кинетикой высвобождения свободного гербицида. Однако, механизм высвобождения был одинаков, для обоих типов полимерной основы. Исходя из этого можно заключить, что использование депонированного в микрочастицы гербицида будет не только снижать воздействие на экосистему, но и обеспечит более безопасную систему обработки сельскохозяйственных посевов [30].



## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Объекты исследования

Объектами исследования в данной работе были ризосферные бактерии растений пшеницы (*Triticum aestivum*) и щирицы запрокинутой (*Amaranthus retroflexus*). Щирица – это позднее однолетнее травянистое растение из класса двудольных. Распространена повсеместно. В значительной степени засоряет поля, луга, сады и огороды. Щирица запрокинутая особенно агрессивна и вредоносна в посевах пропашных культур и позднего срока сева.

### 2.2. План эксперимента

Для эксперимента были изготовлены долговременные формы гербицида трибенурон-метила (ТБМ), депонированные в основу из биоразрушаемого полимера - поли (3-гидроксibuтирата) [П(ЗГБ)], в виде пленок, микрочастиц и микрогранул. Содержание в ТБМ формах составляло 25%, что соответствовало 0,027 мкг на 1 г почвы. Эквивалентное количество трибенурон-метила вносили в почву свободном виде (положительный контроль).

Исследование действия разработанных форм трибенурон-метила проводили в почвенных микросистемах. В качестве тестовых растений использовали пшеницу (*Triticum aestivum*) и щирицу запрокинутую (*Amaranthus retroflexus*). Посевной материал пшеницы засевали в контейнеры объемом 500 см<sup>3</sup>, содержащие 500 г полевой почвы, из расчета 100 г семян на 1 м<sup>2</sup>; одновременно засевали семена модельного сорного растения – щирицы. Растения выращивали в лабораторных условиях в течение 50 суток, при комнатной температуре (20-25 °С) и естественном освещении.

Эксперимент включал следующие варианты:

- Отрицательный контроль – щирица (без внесения ТБМ)
- Отрицательный контроль – щирица+пшеница (без внесения ТБМ)
- Положительный контроль – щирица (трибенурон-метил 0,027 мкг на 1 г почвы)

- Депонированные формы – щирца+пшеница (пленки, микрочастицы и микрогранулы)

### 2.3. Анализ почвенной микрофлоры

Для анализа почвенных проб использовали общепринятые микробиологические методы [11]. Общую численность органотрофных бактерий определяли на мясопептонном агаре, численность микромицетов – на агаре Сабуро, актиномицетов – на крахмал-аммиачном агаре, азотфиксирующих бактерий – на среде Эшби.

Состав сред из расчета на 1 л воды:

- МПА: пептон – 10г, питательный бульон – 15г, агар – 20г.
- Агар Сабуро: глюкоза – 40г, пептон – 10г, агар – 18г.
- КАА: растворимый крахмал – 10г,  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$  – 2г,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1г,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 1г,  $\text{NaCl}$  – 1г,  $\text{CaCO}_3$  – 3г, агар – 15г.
- Среда Эшби: маннит – 20г,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0.2г,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0.2г,  $\text{NaCl}$  – 0.2г,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  – 0.1г,  $\text{CaCO}_3$  – 5г, агар – 20г.

Посев производили из почвенной суспензии (разведение  $10^2$ - $10^6$ ) в трехкратной повторности. Чашки инкубировали в течение 3-7 суток при температуре 30°C для учета бактерий, и при 25°C в течение 7-10 суток – для учета микромицетов.

Идентификацию органотрофных бактерий, доминирующих в почвенных образцах, проводили по микро- и макроморфологическим признакам, а также на основе некоторых биохимических свойств (каталаза, оксидаза, расщепление углеводов, липаза, лецитиназа и др.). Микроскопический анализ проводили с использованием микроскопа AxioStar (CarlZeiss).

### 2.4. Исследование эффективности последствия препаратов

Для исследования эффективности последствия препаратов была оценена плотность выросших посевов растений, также была измерена биомасса наземной части растений.

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТА

#### 3.1. Влияние различных форм трибенурон-метила на ризосферную микрофлору

Исследование микрофлоры исходной почвы показало, что общая численность микромицетов и актиномицетов составляла  $(6,37 \pm 0,82) \times 10^5$  и  $(35,4 \pm 5,46) \times 10^5$  КОЕ/г соответственно. В процессе роста пшеницы (через 50 суток) их количество уменьшилось в 3-6 раза, по сравнению с исходной, и составила  $(1,83 \pm 0,82) \times 10^5$  и  $(5,48 \pm 5,46) \times 10^5$  КОЕ/г. Это связано с изменениями в структуре микробного сообщества, происходившими в результате селективного действия пшеницы на ризосферную микрофлору.

Исследование отрицательных контролей (щерица и пшеница+щерица) показало, что при совместном выращивании пшеницы и щерицы количество микроорганизмов на всех средах снижается. Количество микромицетов уменьшилось в 3,5 раза, актиномицеты – в 6,5 раз, азотфиксаторы – в 2,2 раза, общая численность органотрофных бактерий уменьшилась в 1,4 раза (рис.2).

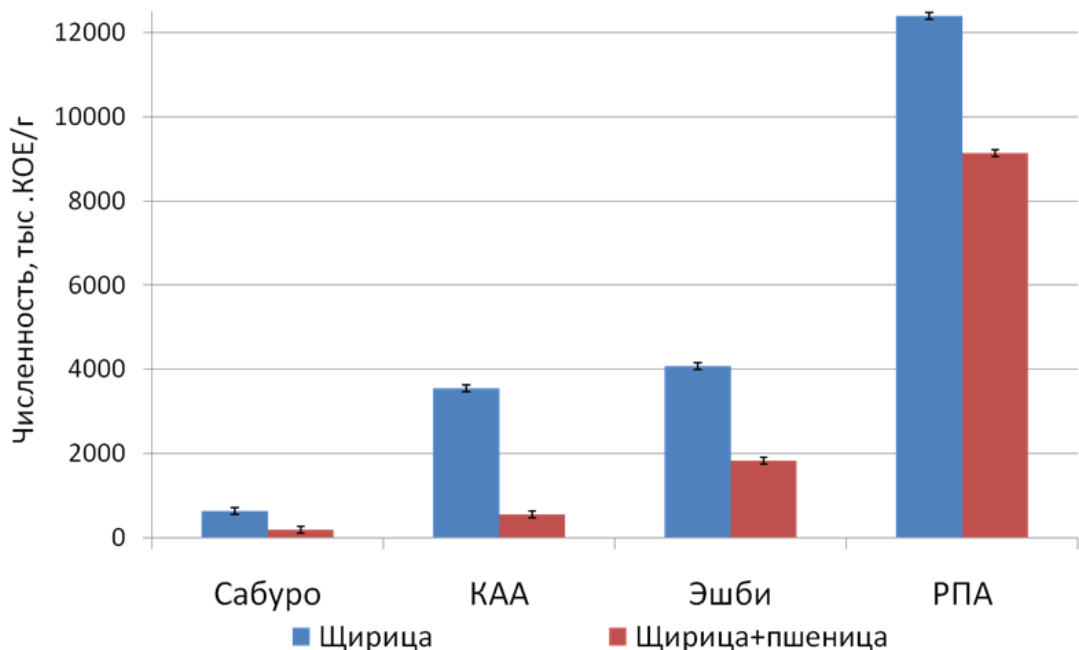


Рисунок 2 – Численность различных групп микроорганизмов в ризосфере растений

[изъято 3 страницы]

Пленочные формы гербицида трибенурон-метила, депонированные в П(ЗГБ), не оказывают ингибирующего действия на рост бактерий и могут быть перспективными для применения в сельском хозяйстве.

### 3.2. Таксономический состав ризосферной микрофлоры

Исследование таксономического состава микробного сообщества почвы, показало, что в контрольном варианте и варианте с экспериментальными формами препарата разнообразие представителей родов микроорганизмов было сходным. Однако по соотношению представителей того или иного рода сообщества различались. Вероятно, наличие в почве гербицида, депонированного в полимер, оказало селективное действие.

Тем не менее, доминирующими представителями, как в контрольном варианте, так и варианте с экспериментальными формами были бактерии рода *Bacillus*. Все выделенные микроорганизмы являются типичными почвенными представителями.

[изъято 3,5 страницы]

### 3.3. Гербицидное действие трибенурон-метила на примере щирицы запрокинутой

Были проведены эксперименты в лабораторных модельных почвенных экосистемах с высшими растениями, на примере гербицида ТБМ.

В посевах сорного растения - щирицы запрокинутой (*Amaranthus retroflexus*) было показано, что гербицидная активность экспериментальных форм ТБМ, с нагрузкой 25%, проявлялась даже в начальный период наблюдения через 10 суток, по сравнению к интактным растениям без обработки гербицидом (отрицательный контроль). К концу эксперимента

большая часть сорного растения щирицы погибла, что показывает эффективность разработанных экспериментальных форм П(ЗГБ)/ТБМ.

[изъято 3 страницы]

## ВЫВОДЫ

По результатам эксперимента, можно сделать следующие выводы:

1. Трибенурон-метил, депонированный в пленки, увеличивал общую численность органотрофных бактерий по сравнению с контрольной почвой; другие препаративные формы П(ЗГБ)/ТБМ – микрочастицы и микрогранулы, а также внесение ТБМ в почву в свободном виде достоверно не изменяло общую численность бактерий.
2. Экспериментальные формы трибенурон-метила, депонированного в П(ЗГБ) микрочастицы и микрогранулы, оказывали стимулирующее действие на развитие азотфиксирующих бактерий, в то время как на общее количество бактерий оказывало ингибирующее действие, по сравнению с отрицательным контролем. Внесение препарата в форме пленок приводило к росту общей численности актиномицетов и органотрофных бактерий в 4,2 и 2,9 раз, соответственно, по сравнению с отрицательным контролем.
3. Все экспериментальные формы П(ЗГБ)/ТБМ не подавляли развитие микромицетов, а препараты в виде микрогранул и пленок увеличивали их численность в 2-2,5 раза соответственно.
4. Таксономическое разнообразие ризосферной микрофлоры в контрольном варианте и в вариантах с депонированными формами ТБМ отличалось по процентному соотношению представителей, но доминирующими были бактерии рода *Bacillus*.
5. Все экспериментальные формы трибенурон-метила, депонированного в пленки, микрочастицы и микрогранулы из П(ЗГБ), с высокой эффективностью подавляли растения щиряцы запрокинутой в посевах пшеницы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вильданов, Ф. Ш. Биоразлагаемые полимеры – современное состояние и перспективы использования / Ф. Ш. Вильданов, Ф. Н. Латыпова, П. А. Красуцкий, Р. Р. Чанышев // Башкирский химический журнал. – 2012. – Т.19, № 1. – С. 135-139.
2. Волова, Т. Г. Современные биоматериалы: мировые тренды, место и роль микробных полигидроксиалканоатов / Т. Г. Волова // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2014. – С. 103-133.
3. Гаврилова, О. П. Влияние фунгицидов на рост и токсинообразование грибов *Fusarium* / О. П. Гаврилова, Т. Ю. Гагкаева // Успехи медицинской микологии – 2014. – С. 314-317.
4. Галиахметов, Р. Н. Ультрадисперсионные суспензии с наноразмерными частицами тебуконазола / Р. Н. Галиахметов, Г. М. Кузнецова // Вестник Башкирского Университета – 2010. – Т.15, № 1. С. 35-36.
5. Гришечкина, Л. Д. Современные фунгициды для интегрированных систем защиты зерновых культур от комплекса фитопатогенов / Л. Д. Гришечкина, В. И. Долженко // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2012. Т. 39, № 6. – С. 7-10.
6. Кириенко, С. О. Создание закрепителей стерильности подсолнечника, устойчивых гербициду Экспресс 75 в. г. / С. О. Кириенко // Вестник НГАУ. – 2015. – Т. 2, № 35. – С. 35.
7. Кудрявец, Ю. А. Биологически активные соединения в ряду сульфонилмочевины / Ю. А. Кудрявец, В. Н. Леонтьев, Т. И. Ахрамович, С. В. Сорока // Труды Белорусского государственного университета: научный журнал. – 2010. – № 5. – С. 236-242.
8. Леонтьев, В. Н. Естественные пути деградации гербицидов ряда сульфонилмочевины / В. Н. Леонтьев, Т. И. Ахрамович, О. С. Игнатовец,

- О. И. Лазовская // Труды Белорусского государственного университета: научный журнал. – 2013. – № 4. – С. 197-204.
9. Мельников, Н. Н. Пестициды. Химия, технология и применение / Н. Н. Мельников. – Москва : Химия, 1987. – Т. 710. – 711 с.
  10. Мельников, Н. Н. Химические средства защиты растений (пестициды) : справочник / Н. Н. Мельников, К. В. Новожилов, Т. Н. Пылова. – Москва: Химия, 1980. – 288 с.
  11. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии : учебное пособие для студ. высш. учеб. заведений / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук; под ред. А. И. Нетрусова. – Москва : Академия, 2005. – Т. 608.
  12. Определитель бактерий Берджи. В 2 томах / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. Пер. с англ. под ред. Г.А. Заварзина. – Москва : Мир, 1997. – 800 с.
  13. Попов, С. Я. Основы химической защиты растений / С. Я. Попов, Л. А. Дорожкина, В. А. Калинин. – Москва : Арт-Лион, 2003. – Т. 144. – 194 с.
  14. Прудникова, С. В. Долговременные системы доставки удобрений на основе полигидроксиалканоатов / С. В. Прудникова, В. Ц, Цыремпилов // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2012. – № 3. – С. 322-328.
  15. Прудникова, С. В. Закономерности биоразрушения полигидроксиалканоатов на территории Вьетнама и Центральной Сибири / С. В. Прудникова, К. И. Коробихина, А. Н. Бояндин, Т. Г. Волова // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2012. – № 3. – С. 311-321.
  16. Прудникова, С. В. Микробиологическая деградация полигидроксиалканоатов в модельных почвенных средах / С. В. Прудникова // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2012. – № 10. – С. 39-43.



17. Прудникова, С. В. Экологическая роль полигидроксиалканоатов–аналога синтетических пластмасс: закономерности биоразрушения в природной среде и взаимодействия с микроорганизмами : монография / С. В. Прудникова, Т. Г. Волова. – Красноярск : Красноярский писатель, 2012. – Т. 184.
18. Спиридонов, Ю. Я. Использование Экспресса на подсолнечнике / Ю. Я. Спиридонов, Н. И. Будынков, А. П. Бойко, Н. И. Стрижков, Р. А. Автаев, М. Н. Панасов, М. А. Даулетов, Б. З. Шагиев // Устойчивое развитие мирового сельского хозяйства: сборник материалов в авторской редакции. – Саратов, 2017. – С. 66-69.
19. Спиридонов, Ю. Я. Совершенствование мер ликвидации сорных растений в современных технологиях возделывания полевых культур / Ю.Я. Спиридонов // Известия ТСХА. – 2008. - № 1. – С. 31-43.
20. Тасекеев, М. С. Производство биополимеров как один из путей решения проблем экологии и АПК : аналит. обзор / М. С. Тасекеев, Л. М, Еремеева. – Алматы: НЦНТИ, 2009. – 200 с.
21. Тойгильдина, И. А. Экологическая оценка применения пестицидов на территории Ульяновской области / И. А. Тойгильдина, А. Л. Тойгильдин, С. А. Еремина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2014. – № 2 (26). – С. 37-44.
22. Халиков, С. С. Создание инновационных фунгицидных средств на основе тебуконазола с привлечением механохимических процессов / С. С. Халиков, А. В. Душкин, Р. Д. Давлетов, В. И. Евсеенко // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10-12. – С. 2695-2700.
23. Хижняк, С. В. Чувствительность фитопатогенных грибов pp. *Bipolaris* и *Fusarium* к фунгицидам разного химического состава / С. В. Хижняк // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2015. – № 12. – С. 3-10.

24. Boyandin, A. N. Biodegradation of polyhydroxyalkanoate films in natural environments / A. N. Boyandin, V. P. Rudnev, V. N. Ivonin, S. V. Prudnikova, K. I. Korobikhina, M. L. Filipenko, T. G. Volova, A. J. Sinskey // *Macromolecular Symposia*. – 2012. – T. 320. – № 1. – C. 38-42.
25. Boyandin, A. N. Microbial degradation of polyhydroxyalkanoates in tropical soils / A. N. Boyandin, S. V. Prudnikova, V. A. Karpov, V. N. Ivonin, N. L. Do, T. H. Nguyen, T. M. H. Le, L. Filichev, A. L. Levin, M. L. Filipenko, T. G. Volova, I. I. Gitelson // *International Biodeterioration & Biodegradation*. – 2013. – T. 83. – C. 77-84.
26. Cycoń, M. Microbiological characteristics of a sandy loam soil exposed to tebuconazole and  $\lambda$ -cyhalothrin under laboratory conditions / M. Cycon, Z. Piotrowska-Seget, A. Kaczyńska, J. Kozdrój // *Ecotoxicology*. – 2006. – T. 15. – № 8. – C. 639-646.
27. Duran, N. Nanobiotechnology perspectives. Role of nanotechnology in the food industry: a review / N. Duran, P. D. Marcato // *International Journal of Food Science & Technology*. – 2013. – T. 48. – № 6. – C. 1127-1134.
28. Gerstl, Z. Controlled release of pesticides into soils from clay-polymer formulations / Z. Gerstl, A. Nasser, U. Mingelgrin // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 1998. – T. 46. – № 9. – C. 3797-3802.
29. Gomes, C. Poly (DL- lactide- co- glycolide)(PLGA) nanoparticles with entrapped trans- cinnamaldehyde and eugenol for antimicrobial delivery applications / C. Gomes, R. G. Moreira, E. Castell- Perez // *Journal of Food Science*. – 2011. – T. 76. – № 2. – C. N16-N24.
30. Grillo, R. Controlled release system for ametryn using polymer microspheres: preparation, characterization and release kinetics in water / R. Grillo, A. E. Santo-Pereira, N. F. S. de Melo, R. M. Porto, L. O. Feitosa, P. S. Tonello, N. L. D. Filho, A. H. Rosa, R. Lima, L. F. Fraceto // *Journal of hazardous materials*. – 2011. – T. 186. – № 2. – C. 1645-1651.

31. Grillo, R. Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) nanocapsules as carrier systems for herbicides: Physico-chemical characterization and genotoxicity evaluation / R. Grillo, N. Z. P. dos Santos, C. R. Maruyama, A. H. Rosa, R. de Lima, L. F. Fraceto // *Journal of hazardous materials*. – 2012. – T. 231. – C. 1-9.
32. Komárek, M. Contamination of vineyard soils with fungicides: a review of environmental and toxicological aspects / M. Komárek, E. Cadcova, V. Chrastny, F. Bordas, J. C. Bollinger // *Environment international*. – 2010. – T. 36. – № 1. – C. 138-151.
33. Korsukova, A. V. The tebuconazole-based protectant of seeds “Bunker” induces the synthesis of dehydrins during cold hardening and increases the frost resistance of wheat seedlings / A. V. Korsukova, O. A. Borovik, O. I. Grabelnych, V. K. Voinikov // *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*. – 2015. – T. 11. – № 4. – C. 118-127.
34. Mergaert, J. Microbial degradation of poly (3-hydroxybutyrate) and poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in compost / J. Mergaert, C. Anderson, A. Wouters, J. Swings // *Journal of Polymers and the Environment*. – 1994. – T. 2. – № 3. – C. 177-183.
35. Mergaert, J. Microbial degradation of poly (3-hydroxybutyrate) and poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in soils / J. Mergaert, A. Webb, C. Anderson, A. Wouters, J. Swings // *Applied and environmental microbiology*. – 1993. – T. 59. – № 10. – C. 3233-3238.
36. Ricciardi, A. Progress toward understanding the ecological impacts of nonnative species / A. Ricciardi, M. F. Hoopes, M. P. Marchetti, J. L. Lockwood // *Ecological Monographs*. – 2013. – T. 83. – № 3. – C. 263-282.
37. Roy, A. Controlled pesticide release from biodegradable polymers / A. Roy, S. K. Singh, J. Bajpai, A. K. Bajpai // *Central European Journal of Chemistry*. – 2014. – T. 12. – № 4. – C. 453-469.

38. Savenkova, L. PHB-based films as matrices for pesticides / L. Savenkova, Z. Gercberga, O. Muter, V. Nikolaeva, A. Dzene, V. Tupureina // *Process Biochemistry*. – 2002. – T. 37. – № 7. – C. 719-722.
39. Simberloff, D. How risky is biological control? / D. Simberloff, P. Stiling // *Ecology*. – 1996. – T. 77. – № 7. – C. 1965-1974.
40. Sopeña, F. Controlled release formulations of herbicides based on micro-encapsulation / F. Sopeña, C. Maqueda, E. Morillo // *Ciencia e investigación agraria*. – 2009. – T. 36. – № 1. – C. 27-42.
41. Sudesh, K. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters / K. Sudesh, H. Abe, Y. Doi // *Progress in polymer science*. – 2000. – T. 25. – № 10. – C. 1503-1555.
42. Tan, D. Methoxy-modified kaolinite as a novel carrier for high-capacity loading and controlled-release of the herbicide amitrole / D. Tan, P. Yuan, F. Annabi-Bergaya, D. Liu, H. He // *Scientific reports*. – 2015. – T. 5.
43. Volova, T. Characterization of biodegradable poly-3-hydroxybutyrate films and pellets loaded with the fungicide tebuconazole / T. Volova, N. Zhila, O. Vinogradova, A. Shumilova, A. Prudnikova, E. Shishatskaya // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2016. – T. 23. – № 6. – C. 5243-5254.