

На правах рукописи



**Колесникова Ольга Дмитриевна**

**РАЗРУШАЕМЫЙ ПОЛИ-3-ГИДРОКСИБУТИРАТ В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ  
ДЛЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ ГЕРБИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ  
ДЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ**

1.5.6. Биотехнология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Красноярск – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский федеральный университет» (СФУ) и в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН) – обособленном подразделении Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук.

**Научный руководитель:** **Волова Татьяна Григорьевна**  
доктор биологических наук, профессор

**Официальные оппоненты:** **Градова Нина Борисовна**, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» (РХТУ им. Д.И. Менделеева), главный специалист кафедры биотехнологии факультета биотехнологии и промышленной экологии

**Берестецкий Александр Олегович**, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (ВИЗР), руководитель лаборатории фитотоксикологии и биотехнологии

**Ведущая организация:** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Южный федеральный университет" (ЮФУ), г. Ростов-на-Дону

Защита диссертации состоится «21» декабря 2022 года в 15:00 на заседании диссертационного совета 24.1.228.03 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ КНЦ СО РАН) по адресу: 660036, г. Красноярск, Академгородок, д. 50, стр. 50.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биофизики СО РАН и на сайте <http://www.ibp.ru>

Автореферат разослан «\_\_» октября 2022 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,



Дементьев Дмитрий Владимирович

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** Традиционное повсеместное применение продуктов химического синтеза, включая химические пестициды и синтетические не разрушаемые полимеры, получаемые из невозобновляемых природных ресурсов, приводит к чрезмерному росту количества не утилизируемых отходов. Это вступает в противоречие с мероприятиями, направленными на защиту окружающей среды и создает глобальные экологические проблемы, для решения которых, наряду с традиционными технологиями и средствами, все большее значение приобретают технологии, препараты и материалы, получаемые в процессах биотехнологии.

Масштабное применение химических средств защиты растений, без которых невозможно современное растениеводство, сопровождается экологическими проблемами. Химические пестициды неспецифичны, основная их масса аккумулируется в биологических объектах, нарушая равновесие в природных экосистемах, загрязняет почвы, водоемы, воздух (Davoren и Schiestl, 2018; Manfo et al. 2019; Smith et al., 2019). Это вызывает необходимость в разработке средств защиты растений нового поколения для снижения пестицидного пресса на природные экосистемы и окружающую среду в целом. Новейшее направление исследований ориентировано на разработку пестицидных препаратов с контролируемым выходом активного начала за счет использования биоразрушаемых материалов, которые разрушаются в почве под воздействием почвенной микрофлоры до безвредных продуктов и обеспечивают постепенный и длительный выход препаратов в почву (Teuova et al., 2020; Rakhimol et al., 2020; Fraceto et al., 2020). Ключевой проблемой для создания таких препаратов является поиск и применение адекватного биоразрушаемого полимерного материала.

Объемы выпуска синтетических пластиков превысили 380 млн. тонн в год; их основная часть (свыше 80 %) скапливается на свалках, загрязняет почвы, аккумулируется в Мировом океане, вызывая масштабное загрязнение окружающей среды, нарушение стабильности и структуры природных экосистем и угрожая здоровью человека (Geyer et al., 2017). Ценным продуктом биотехнологии являются полимеры гидроксипроизводных алкановых кислот (полигидроксиалканоаты, ПГА) – разрушаемые полимеры, синтезируемые прокариотами в специализированных условиях несбалансированного роста в качестве эндогенного депо энергии и углерода (Laycock et al., 2013; Zheng and Suh, 2019; Chen et al., 2016; Koller and Mukherjee, 2020; Volova et al., 2013; 2020). По физико-химическим свойствам ПГА сходны с синтетическими полиолефинами; устойчивость к УФ-лучам, отсутствие гидролиза в жидких средах, термопластичность позволяют перерабатывать ПГА в специализированные изделия доступными способами из различных фазовых состояний (Tarrahi et al., 2020). Эти полезные свойства в сочетании с разрушаемостью и высокой биологической совместимостью выдвигают ПГА в разряд наиболее перспективных материалов XXI века для применения в различных сферах – от фармакологии и биомедицины до коммунального и сельского хозяйства (Sudesh and Abe, 2010; Volova et al., 2014; 2020; Tarrahi et al., 2020). Несмотря на то, что использование ПГА для депонирования пестицидов начато сравнительно недавно, полученные результаты позволяют говорить о высоком потенциале этих

биополимеров для создания средств защиты растений нового поколения (Kwiesien et al., 2018; Zhu et al., 2018; Khan et al., 2020; Chen et al., 2021).

Однако широкое применение ПГА в сельском хозяйстве, а также в технических областях, наталкивается на экономические ограничения в связи со все еще высокой стоимостью. Поэтому в диссертационной работе формулируется инновационное направление применения ПГА для конструирования долговременных и адресных гербицидных препаратов не в чистом виде, а в композиции с доступными природными материалами, играющими роль наполнителя. Этот подход отвечает актуальной концепции индустриальной экологии и «зеленой» химии (Qaiss et al., 2015), направлен на получение композитных материалов с новыми свойствами и открывает возможности для повышения доступности ПГА.

### **Цель работы и задачи исследования.**

Цель работы - синтез биоразрушаемого поли-3-гидроксибутирата и исследование потенциала для конструирования и применения депонированных гербицидных препаратов длительного действия.

Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи:

1. Синтезировать и исследовать физико-химические свойства поли-3-гидроксибутирата [П(ЗГБ)] с использованием в качестве С-субстрата глицерина – крупнотоннажного отхода производства биодизеля.

2. Сформировать смеси П(ЗГБ) с природными материалами (торф, глина, древесные опилки) в качестве разрушаемой основы для депонирования гербицидов; сконструировать и исследовать экспериментальные долговременные формы препаратов гербицидного действия, предназначенные для довсходового грунтового применения.

3. Исследовать закономерности разрушаемости депонированных гербицидов в почве, выхода действующих веществ и влияния на структуру почвенного микробиоценоза и спектр первичных деструкторов.

4. Исследовать гербицидную активность и повреждающее действие депонированных гербицидов метрибузина и трибенурон-метила в лабораторных культурах сорных растений различных видов и посевах зерновых культур, зараженных сорняками, по результатам регистрации динамики гибели, функциональной активности фотосинтетического аппарата и хлорофилл-белковых комплексов сорных растений.

5. Исследовать эффективность применения долговременных форм гербицидных препаратов в полевых экспериментах и влияние на показатели роста и развития зерновых (пшеница, ячмень) и овощных культур (томаты, свекла столовая), структуру урожая и качество продукции.

**Научная новизна.** В культуре бактерий *Cupriavidus necator* В-10646 синтезированы и охарактеризованы партии разрушаемого поли-3-гидроксибутирата с использованием глицерина в качестве С-субстрата, повышающего доступность полимера; сформированы и исследованы смеси П(ЗГБ) с природными материалами - наполнителями (торф, глина, древесные опилки). Сконструированы и исследованы гербицидные препараты длительного действия депонированием в разрушаемую основу поли-3-гидроксибутират/природные материалы в виде гранул и

прессованных таблетированных форм. Смешивание полимера с природными материалами и депонирование в них гербицидов не снижало их биологической активности. Депонированные гербициды представляют собой долговременные формы с периодом полураспада в почве от 60 до 80 суток в зависимости от геометрии и состава формы и не оказывают негативного действия на структуру почвенного микробиоценоза. Результаты регистрации динамики гибели и подавления фотосинтетической активности сорняков показали, что депонированные гербициды обладают высокой биологической активностью (от 60 до 100 %) в зависимости от механизма действия гербицида и видовой специфики сорняков. В лабораторных и микрополевых экспериментах на примере зерновых и овощных культур показана высокая эффективность применения депонированных форм гербицидов и положительное влияние на рост, развитие и урожайность культур, а также качество получаемой продукции, оцениваемое по химическому составу зерна (белок, клейковина, натура), томатов и корнеплодов (сухие вещества, сахара, витамин С).

**Практическая значимость.** Долговременные формы гербицидных препаратов на основе П(ЗГБ) в композиции с природными материалами эффективны для подавления сорных растений в зерновых и овощных культурах при довсходовом грунтовом применении и внесении в почву одновременно с семенами; их применение сокращает количество технологических операций в период вегетации культивируемых растений. Депонированные формы гербицидов на основе разрушаемого П(ЗГБ) в сочетании с природными материалами обеспечивают их пролонгированную и адресную доставку растениям без негативного влияния на полезную биоту и окружающую среду, в отличие от традиционного опрыскивания растений растворами гербицидов в течение вегетации. Применение депонированных гербицидов позволяет снизить нормы их внесения и риск неконтролируемого распространения ксенобиотиков в биосфере. Сформирована научная основа применения биоразрушаемых ПГА для конструирования пролонгированных и адресных препаратов нового поколения для использования в сельском хозяйстве.

**На защиту выносятся следующие основные положения:**

1. Разрушаемый поли-3-гидроксibuтират в смеси с природными материалами наполнителями – основа для конструирования средств защиты культивируемых растений от сорняков.

2. Депонирование гербицидных препаратов на основе П(ЗГБ) обеспечивает их длительное функционирование в почве, постепенное, по мере разрушения полимерной основы, высвобождение действующих веществ и доставку сорным растениям без негативного влияния на почвенный микробиоценоз.

3. Депонированные формы метрибузина и трибенурон-метила обладают высокой биологической активностью, эффективно подавляют сорняки в течение вегетации, способствуя повышению урожайности зерновых и овощных культур.

**Апробация работы.** Основные положения и научные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на международных конференциях: XVIII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспектив свободный – 2022» (Красноярск, 25-30 апреля 2022 года); Международная научная конференция «Биотехнология новых материалов –

Окружающая среда – Качество жизни» (Красноярск, 10–13 октября 2021 года); Конкурс-конференция научных работ молодых ученых Института биофизики СО РАН (Красноярск, 30 марта 2022 года); XXVIII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва, 12-23 апреля 2021 года); VIII Международная научно-практическая конференция «Биотехнология: наука и практика» (Ялта, 22-26 сентября 2020 года). Исследования О.Д. Колесниковой отмечены наградами: победитель конкурса на премию профессора Сабу Томаса за лучшую научную работу «Prof. Sabu Thomas Best PG Thesis Award 2020»; победитель конкурса научных работ «БайСтади» 2021 г.

Работа выполнена в ходе реализации мега-гранта «Агропрепараты нового поколения: стратегия конструирования и реализация» по Постановлению Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных организациях высшего образования (VI очередь) № 220 от 09 апреля 2010 г. (соглашения №074-02-2018-328 от 12 мая 2019 г. и №075-15-2021-626 от 08 июня 2021 г.) и стипендии Корпорации Bayer CropScience (Научная инициатива «БайСтади»).

**Публикации.** По результатам исследований опубликовано 9 работ, включая 4 статьи и 5 тезисов в материалах международных конференций.

**Личный вклад.** Личный вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах выполнения диссертационной работы: формулирование цели и задач исследования, выбор методов исследования, проведение экспериментов с последующим обобщением и анализом полученных результатов, подготовка публикаций и презентаций докладов.

**Достоверность результатов** диссертационной работы подтверждается большим массивом экспериментальных данных, полученных с использованием современных методов исследования, их повторяемостью и воспроизводимостью в независимых экспериментах; соответствием теоретических предпосылок с данными, полученными в ходе исследований.

**Структура диссертационной работы.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 141 странице, содержит 52 рисунка и 28 таблиц. Библиография насчитывает 188 источников.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Введение.** Во введении обоснована актуальность работы, перспективы конструирования долговременных форм препаратов сельскохозяйственного назначения на основе биоразлагаемых материалов.

**Аналитический обзор.** Обзор посвящен анализу литературы по использованию различных биоразлагаемых материалов в качестве основы для депонирования гербицидных препаратов, синтезу и характеристике ПГА, а также использованию его в качестве матрицы для депонирования гербицидов.

**Материалы и методы исследования.** Образцы полимера П(ЗГБ) были синтезированы с использованием штамма *Cupriavidus necator* В-10646 по авторской технологии (Volova et al., 2001). В качестве наполнителей (филлеров) взяты природные материалы: торф, древесные опилки, глина. Для получения форм

гербицидов в виде гранул использовали гранулятор Fimar (Италия). Таблетированные формы изготавливали методом холодного прессования с использованием автоматического прессы (Carver Auto Pellet, США). Термический анализ исходных материалов и разработанных форм гербицидов проводили с использованием дифференциального сканирующего калориметра DSC-1 (METTLER TOLEDO, Швейцария). Молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение исследовали с использованием хроматографа для гельпроникающей хроматографии Agilent Technologies 1260 Infinity (США). Рентгеноструктурный анализ и определение степени кристалличности образцов выполнены на рентгеноспектрометре D8 ADVANCE «Bruker» (Германия). ИК-спектры образцов снимали в диапазоне 400-4000 см<sup>-1</sup> с помощью ИК-Фурье-спектрометра «NICOLET 6700» FT-IR (Thermo Scientific, США). Детекцию метрибузина проводили на газовом хроматографе с масс-спектрометром (7890/5975С, Agilent Technologies, США); трибенурон-метила – с использованием ВЭЖХ Agilent 1200 с диодной матрицей (Agilent Technologies, США). Деградацию депонированных гербицидов исследовали в лабораторных почвенных микрэкосистемах с охарактеризованной структурой микробиоценоза. Для анализа почвенных микроорганизмов использовали общепринятые микробиологические методы (Нетрусов, 2005). Выявление первичных микроорганизмов-деструкторов ПГА проводили с использованием метода прозрачных зон, высевом проб на минеральный агар, содержащий П(ЗГБ), а также с использованием современных молекулярно-генетических методов.

Гербицидная активность депонированных гербицидов метрибузина (МЕТ) и трибенурон-метила (ТРИБ) исследована в лабораторных культурах повсеместно распространенных сорных растений различных видов и в посевах яровой пшеницы «Новосибирская 15» и ячменя «Биом», зараженных сорняками. Биологическую эффективность депонированных гербицидов оценивали по модифицированной формуле Аббота (Abbot, 1925). Исследовали повреждающее действие гербицидов по результатам регистрации функциональной активности фотосинтетического аппарата сорных растений, регистрируемых методом индукции флуоресценции хлорофилла с использованием флуориметра JUNIOR-PAM фирмы Walz (Effeltrich, Germany). Количественное содержание хлорофилл-белковых комплексов оценивали спектрофотометрическим методом (Lichtenthaler, 2001).

Эффективность применения депонированных форм МЕТ и ТРИБ исследована в микрополевых экспериментах на полевом стационаре Красноярского государственного аграрного университета в овощных и зерновых культурах: свеклы столовой сорт «Цилиндра», томатов «Загадка», в посевах яровой пшеницы сорта «Новосибирская 15» и ячменя сорта «Биом». Оценивали динамику гибели сорных растений, биометрические и биохимические показатели зерновых и овощных культур; структуру урожая, натуру и клейковину зерновых; урожайность овощных и зерновых культур.

Статистический анализ результатов проводился общепринятыми методами с использованием стандартного программного пакета Microsoft Excel для Windows 10.

## Синтез и характеристика разрушаемых полимеров

С использованием высокопродуктивного штамма *Cupriavidus necator* В-10646 реализован синтез партий поли-3-гидроксибутирата с использованием в качестве С-субстрата глицерина («Duth glycerol refinery», Нидерланды). Для выращивания бактерий использованы ферментеры объемом 30 л и 150 л с коэффициентом массопереноса по кислороду, соответственно, 500 и 1000 кмоль/(м<sup>2</sup>·с). Показано, что производственные показатели культуры и экономический коэффициент по субстрату сопоставимы с результатами на индивидуальных сахарах. Урожай биомассы бактерий в зависимости от ферментационной техники достигал от 70 до 150 г/л; концентрация полимера в клетках – не ниже 75±5 % (рисунок 1). Экономический коэффициент по биомассе для глицерина определен на уровне 0,34±0,02, по полимеру  $Y_{\text{ПГА}}$  0,29±0,02.

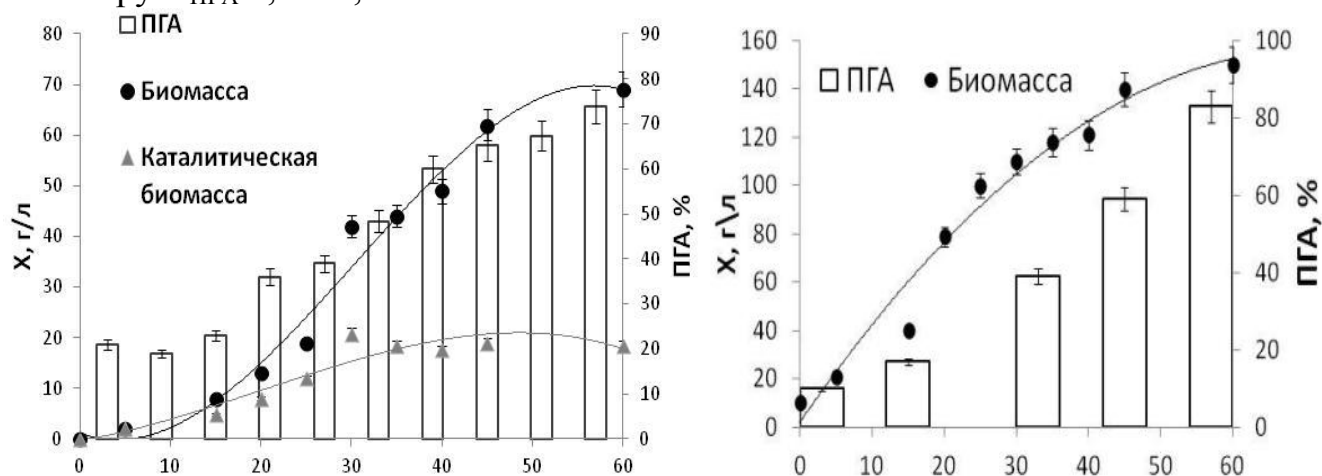


Рисунок 1 - Показатели процесса синтеза ПГА культурой *C. necator* В-10646 в ферментерах объемом 30 и 150 л на глицерине в качестве С-субстрата

Предварительные расчеты показали, что при одинаковых удельных затратах С-субстрата на синтез полимера (порядка 3,0 кг/кг) при использовании глицерина в зависимости от степени его очистки затраты на С-субстрат по сравнению с фруктозой могут быть снижены от 41,6 до 55,0 %; по сравнению с глюкозой – от 8,4 до 29,4 %.

Образцы ПГА, синтезированные на глицерине, представляют собой гомополимер 3-гидроксимасляной кислоты со значениями среднечисловой и средневесовой молекулярной массы, соответственно, 200-260 кДа и 640-780 кДа, полидисперсности ( $\bar{D}$ ) 3,0-3,2 и сниженной степенью кристалличности ( $C_x$ ) до 52±2 %, что позитивно влияет на технологические свойства полимера. Температуры плавления ( $T_{\text{пл}}$ ) и термической деградации ( $T_{\text{дегр}}$ ) находились в ранее выявленных пределах значений, полученных на образцах П(ЗГБ), синтезированных на других С-субстратах (СО<sub>2</sub> и сахарах). Для образцов, синтезированных на глицерине,  $T_{\text{пл}}$  составила 172-176,  $T_{\text{дегр}}$  – 295-296 °С.

Полученные образцы полимера использованы для формирования смесей с природными материалами-наполнителями и конструирования долговременных форм гербицидов.



### **Конструирование и характеристика гербицидных препаратов, депонированных в разрушаемую основу П(ЗГБ)/природные материалы**

Из П(ЗГБ) и природных материалов (глины, торфа, березовых опилок), существенно различающихся исходными свойствами, получено семейство смесей «П(ЗГБ)/филлер» в виде гомогенных мелкодисперсных порошков с различным соотношением компонентов.

Для определения характера взаимодействия компонентов в смесях полимер/природный материал привлечена ИК-спектроскопия. В ИК-спектрах сформированных смесей отдельно сохраняются характеристические полосы поглощения исходных компонентов (полимера и материалов наполнителей). Новых видимых значимых полос поглощения в смесях не выявлено, что свидетельствует об отсутствии образования новых химических связей между компонентами и позволяет сделать вывод о физическом характере смесей.

Сформированные и охарактеризованные смеси полимер/природный материал использованы для депонирования гербицидов. Для исследований выбраны системные препараты, пригодные для грунтового дождевого применения с различным механизмом действия: метрибузин (МЕТ) – гербицид из группы 1,2,4-триазинов ингибирует реакции Хилла; трибенурон-метил (ТРИБ) – гербицид из группы сульфонилмочевин, ингибирует реакции синтеза аминокислот. С применением сухих гомогенных порошков трехкомпонентных смесей полимер/природный материал/гербицид получены формы в виде прессованных таблеток. Формирование гранул выполнено с применением пасты. Для этого из порошков была получена паста с применением 40 % этанола.

### **Закономерности деградации депонированных форм гербицидов и выхода действующих веществ при экспонировании в лабораторных почвенных микроэкосистемах**

Исследована деградация депонированных гербицидов при экспонировании в лабораторных условиях. Почва представляла собой чернозем тяжелосуглинистого гранулометрического состава с высоким содержанием аммонийного (35 мг/кг) и нитратного (9,2 мг/кг) азота. Копиотрофы, прототрофы, олиготрофы, азотфиксаторы и микромицеты составляли в структуре микробиоценоза почвы, соответственно,  $19,0 \pm 3,4$ ;  $17,0 \pm 3,1$ ;  $14,5 \pm 2,9$ ;  $12,0 \pm 2,7$  и  $10^2$  КОЕ в 1 г почвы; коэффициенты минерализации и олиготрофности, соответственно, 0,89 и 0,86.

Анализ таксономического состава почвенной микробиоты выявил доминирование грамположительных бактерий (73,2 %), среди которых большую часть занимали актинобактерии (38,6 %), в том числе *Streptomyces* – 18,3 %, и спорообразующие палочки (34,6 %) из родов *Bacillus* – 24,8 % и *Paenibacillus* – 9,8 %. Грамотрицательные палочки были представлены в основном бактериями рода *Pseudomonas* – 9,4 %. В сообществе почвенных микромицетов доминировали представители рода *Penicillium*, составляющие 69,7 % от всех выделенных изолятов. Доля видов рода *Fusarium* составила 8,4 %, остальные представители микромицетов были малочисленны – от 1,2 до 3,8 %. В целом, доля микромицетов с фитопатогенным потенциалом (*Alternaria*, *Fusarium*, *Pythium*, *Verticillium*) была высокой – 15,3 %.

Показано, что депонированные формы гербицидов, независимо от состава компонентов, представляют собой средства доставки пестицидов длительного действия, на разрушаемость которых в почве в большей степени оказывает влияние способ изготовления и геометрия формы (гранулы или таблетированные формы). Период полураспада депонированных гербицидов в почве в виде гранул составляет 60 суток, что ниже таблетированных форм, период полураспада которых не менее 80 суток.

Различия разрушаемости в почве исследованных форм в виде таблеток и гранул отразились на выходе и накоплении в почве гербицидов, которые имели различную стабильность; среди них МЕТ - долгоживущий препарат; ТРИБ - быстро инактивируемый. Исследования остаточных содержаний гербицидов в формах и в почве позволили получить результаты по динамике выхода этих препаратов из форм и накоплению в почве.

Постепенный выход гербицидов более активен из форм в виде гранул с выходом на плато через  $15 \pm 5$  суток после внесения в почву; при выходе из таблетированных форм - на  $25 \pm 5$ -е сутки. Динамика накопления препаратов в почве также была различной в зависимости от типа препаратов и их стабильности в почве. Важно отметить, что в целом даже при различной стабильности препаратов их содержание в почве в динамике наблюдения по большей части показало соответствие рекомендованным нормам. Для кривых, отражающих динамику выхода веществ из форм, характерен более активный выход препаратов в начальный период, что связано, по всей видимости, с пассивным вымыванием гербицидов из форм и растворением во влажной почве. Далее динамика выхода и содержания препаратов в почве выходила на плато, длительность которого у разных форм была различной. На этом этапе выход препаратов в большей степени был связан с разрушением полимерной основы. Однако при исследовании форм с нестабильным и быстро инактивируемым ТРИБ зона насыщения на кривых отсутствовала; после достижения максимума содержания этого гербицида в почве зафиксировано снижение этой величины в результате разрушения. Важно отметить, что депонированием препаратов в сформированную полимерную основу удалось обеспечить их весьма длительный выход из форм, то есть наличие в почве в течение длительного периода (от 40 до 80 и более суток) даже для быстро инактивируемого трибенурон-метила.

Исследовано, как внесение депонированных препаратов влияло на структуру почвенного микробиоценоза. С одной стороны, внесение в почву П(ЗГБ) и появление в ней продуктов распада полимера – это дополнительный субстрат для роста и развития микроорганизмов, но, с другой стороны, высвобождающийся в процессе разрушения форм пестицид мог оказывать негативное влияние на микрофлору. Постепенное накопление гербицидов в почве в результате медленного выхода из форм не оказывало негативного влияния на структуру почвенного микробиоценоза.

Не принципиальное изменение качественного состава микрофлоры почвы при внесении разработанных форм гербицидов проявилось в усилении доминирования спорообразующих бактерий, в том числе рода *Bacillus* до 30 %, а также в увеличении доли бактерий *Streptomyces* и *Pseudomonas* до 25,6 % и 12,3 %

соответственно. Среди мицелиальных грибов преимущественно выделялись представители рода *Penicillium*, составившие в среднем 88,2 % от общей численности микромицетов.

Высев проб на плотные среды (метод прозрачных зон) из пленок обрастания, образующихся на поверхности образцов после экспонирования в почве, позволил выделить ключевые виды микроорганизмов-деструкторов исследуемых типов смесовых разрушаемых форм.

Выделены и идентифицированы общие и специфические деструкторы для исследуемого набора образцов, среди которых 6 штаммов бактерий (*Pseudomonas sp.*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus simplex*, *Pseudarthrobacter sp.*, *Streptomyces*) и три штамма грибов (*Talaromyces purpureogenus*, *Penicillium chrysogenum*, *Talaromyces funiculosus*). Последовательности нуклеотидов фрагментов генов, кодирующих 16S рРНК для бактерий и 28S рРНК для грибов депонированы в базе данных <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> под номерами МК300053-МК300061.

### ***Биологические эффекты депонированных гербицидов в лабораторных культурах сорных растений различных видов и посевах зерновых культур, зараженных сорняками***

Гербицидная активность депонированных гербицидов метрибузина (МЕТ) и трибенурон-метила (ТРИБ) исследована в лабораторных культурах повсеместно распространенных сорных растений различных видов: щирица запрокинутая (*Amaranthus retroflexus*), горчица полевая (*Sinapis arvensis*), щетинник-лисий хвост (*Setaria macrocheata*), гулявник Лезеля (*Sisymbrium loeselii*), нивяник (*Leucanthemum maximum*), овсюг обыкновенный (*Avena Fatula L*), эльсгольция реснитчатая (*Elsholtzia ciliata*) и в посевах яровой пшеницы «Новосибирская 15» и ячменя «Биом», зараженных сорняками.

Показано, что депонированные формы обоих гербицидов обладают выраженной гербицидной активностью по отношению ко всем исследованным сорным растениям, и их действие сопоставимо с гербицидной активностью МЕТ и ТРИБ в свободной форме, а в ряде случаев превосходила таковую (рисунок 2).

В эксперименте со щирицей, горчицей и нивяником показано, что оба гербицида подавляли все три сорняка; их гербицидная активность зафиксирована в сроки на 7-е сутки; выявлено более выраженное гербицидное действие МЕТ по отношению к трем сорнякам по сравнению с ТРИБ. Массовая гибель сорняков под действием МЕТ отмечена раньше в отличие от ТРИБ (на 14 сутки); численность щирицы, горчицы и нивяника под действием свободного и депонированного МЕТ не превышала 25–30 % от исходных количеств, а на 28-е сутки все растения погибли. Влияние ТРИБ, независимо от его формы, по отношению к горчице и нивянику было несколько слабее действия МЕТ – массовая гибель обоих сорняков наступила позднее. Количество обоих сорных растений сократилось до 50–60 % в сроки 21 сутки, а на 35-е сутки наступила полная гибель сорняков, в отличие от вариантов с МЕТ. Остаточное количество сорняков оставалось на достаточно высоком уровне – минимально 25–35 %, максимально порядка 40–50 %. Помимо этого, зафиксирована достоверная разница гербицидной активности ТРИБ в зависимости от формы

доставки. Более эффективной оказалась депонированная форма ТРИБ; при ее применении к 35-м суткам все сорные растения погибли. В эти же сроки под действием свободного ТРИБ остаточное количество растений горчицы и нивяника оставалось на уровне 5-10 % от исходного.

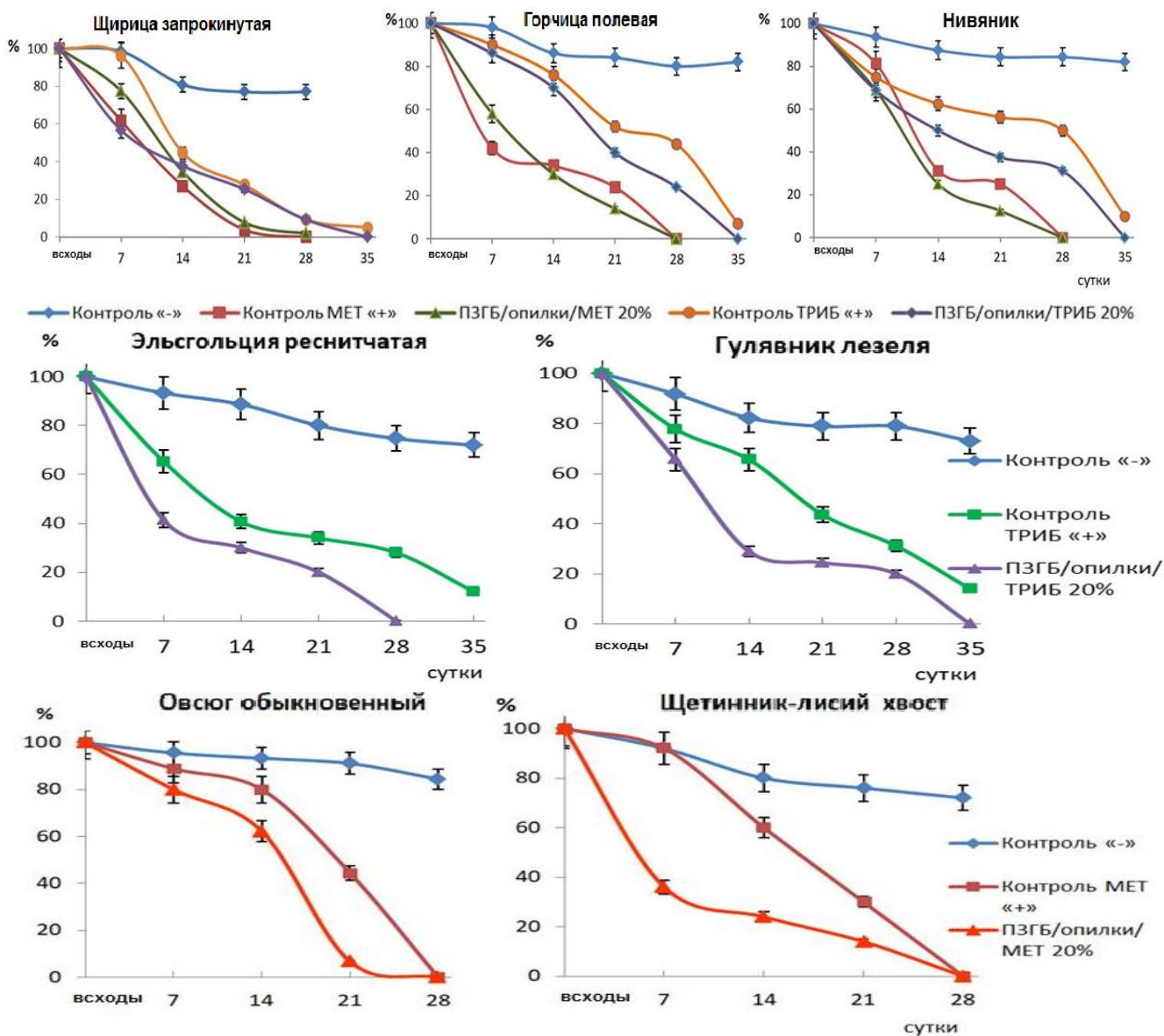


Рисунок 2 – Динамика гибели сорных растений: отрицательный контроль (интактные растения без внесения препаратов), положительный контроль (свободные метрибузин и трибенурон-метил; депонированные гербициды: П(ЗГБ)/опилки/MET и П(ЗГБ)/опилки/ТРИБ

Биологическая эффективность депонированного и свободного метрибузина составила на 28-е сутки 100 % в посевах 5-ти исследованных сорняков (щирица, горчица, нивяник, овсяг, щетинник). Биологическая эффективность депонированного ТРИБ в целом была несколько ниже депонированного MET и составила в сроки на 28-е сутки 100 % только по отношению к эльсгольции; немного ниже (97,1 и 74,6 %, соответственно) для щирицы и гулявника; 63 % для нивяника и

70 % для горчицы. Гербицидная активность свободной формы ТРИБ уступала депонированной; ее биологическая эффективность составила на 28-е сутки 88,0 % только для щирицы; 62,5 % для эльсгольции; 60,6 % для гулявника и чуть более 40 % для горчицы и нивяника.

Гербицидная активность депонированных метрибузина и трибенурон-метила исследована в лабораторных посевах яровой пшеницы «Новосибирская 15» и ярового ячменя «Биом», зараженных сорняками, семена которых вносили в почву одновременно с семенами пшеницы в равном соотношении, и выращиваемых в климатической камере при стабилизации параметров среды. Под действием обеих форм ТРИБ на 14-е сутки количество щирицы резко сократилось; на 21-е сутки под действием депонированного гербицида количество сорняков не превышало 10 %, что было в три раза меньше положительного контроля. В сроки 28–35 суток в экспериментальной группе отмечена массовая гибель сорного растения; при использовании свободной формы ТРИБ в конце наблюдения (на 42-е сутки) остаточное количество щирицы было на уровне 20 %. Биологическая эффективность свободной и депонированной форм ТРИБ, оцениваемая по остаточному количеству сорных растений относительно отрицательного контроля составила, соответственно, 80,3 и 99,5 %.

Высокая гербицидная активность депонированного метрибузина получена в условиях более «жесткого» эксперимента, в котором в качестве сорняка исследован овсюг, биомасса которого сопоставима с биомассой пшеницы, а количество семян сорняка превосходило количество семян пшеницы при засеве более чем в три раза (соотношение овсюг: пшеница по количеству семян составило 20:6). Обе формы метрибузина подавляли развитие овсюга, при этом депонированная форма - более активно. Резкая гибель сорняка зафиксирована в сроки на 28-е сутки, когда погибло свыше 50 % под действием свободного МЕТ и более 80 % в случае применения депонированного гербицида. Далее в течение длительного срока (до 84 суток) количество сорняков не изменялось при использовании свободного МЕТ. Напротив, при использовании депонированной формы гербицида количество растений сорняка не превышало 10 %, а к 70-м суткам – практически все растения погибли. Биологическая эффективность депонированного МЕТ по отношению к овсюгу составила 100 %; при его свободной форме результат был значительно слабее (64,7 %).

Положительный эффект применения депонированных гербицидов показан в посевах ячменя, зараженного одновременно двумя сорняками (щирица запрокинутая и горчица полевая) (рисунок 3).

Гербицидное действие двух форм МЕТ было сопоставимым и было более сильным по сравнению с ТРИБ. Гибель двух сорных растений (щирицы и горчицы) под действием свободного и депонированного МЕТ имела место уже на 7-е сутки; массовая гибель (половина и более растений погибли) зафиксирована на 14-е сутки; на 21-е и 25-е сутки, соответственно, отмечена гибель всех сорняков, то есть в эти сроки обе формы МЕТ проявили 100 % биологическую эффективность по отношению к двум исследованным сорнякам.

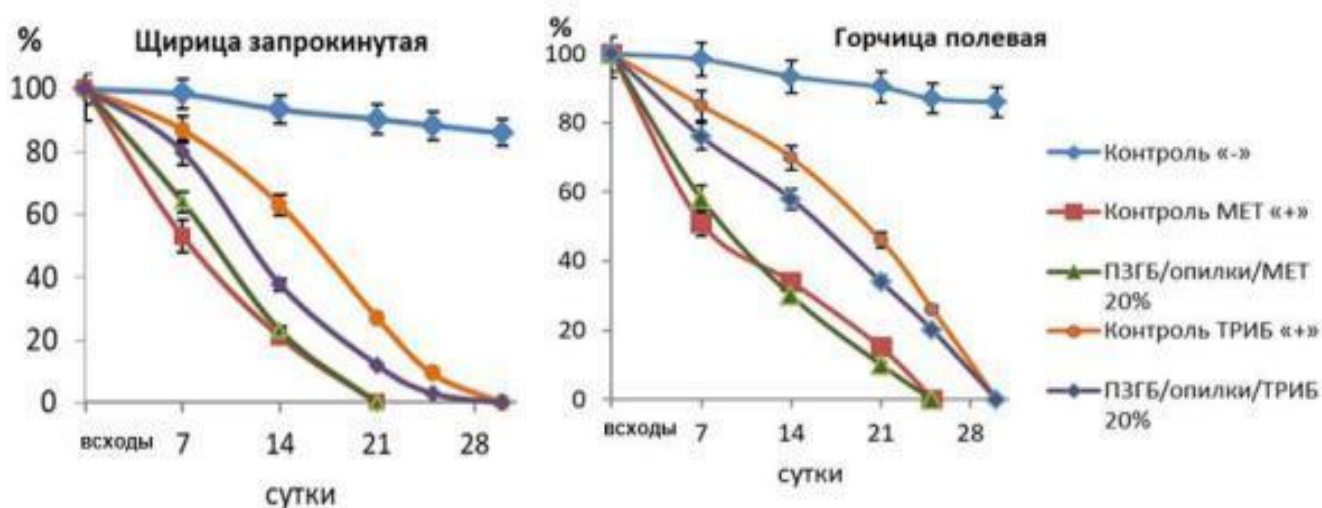


Рисунок 3 - Динамика гибели сорных растений щирица запрокинутая и горчица полевая в лабораторных посевах ячменя под действием свободных (метрибузина и трибенурон-метила) и депонированных форм гербицидов (П(ЗГБ)/опилки/MET и П(ЗГБ)/опилки/ТРИБ); отрицательный контроль – интактные растения, выращиваемые без гербицидов

Для оценки повреждающего действия гербицидов на фотосинтетическую активность растений использован метод индукции флуоресценции хлорофилла, регистрирующий функциональную активность фотосинтетического аппарата сорных растений ( $Y(II)_{max}$  - максимальный квантовый выход ФСII;  $Y(NPQ)_{max}$  - максимальный квантовый выход нефотохимического тушения;  $ETR_{max}$  – максимальная скорость нециклического транспорта электронов), а также содержание пигментов (хлорофилла *a* и *b*, и каротиноидов). Результаты свидетельствуют о мощном ингибирующем действии свободного и депонированного метрибузина (рисунок 4).

Выявлено влияние на фотосинтетическую активность растений типа и формы доставки гербицида, а также видовых отличий сорных растений. Свободный и депонированный метрибузин у всех исследуемых сорняков вызывал снижение параметров флуоресценции, характеризующих ключевые реакции фотосинтеза ( $Y(II)_{max}$  и  $ETR_{max}$ ) от 8–10 раз и более по сравнению с отрицательным контролем; ингибирование реакций транспорта электронов фотосистемы-2 (ФС2) блокировало фотохимическое использование растениями поглощенной энергии света и замедляло все процессы фотосинтеза, вплоть до полной их остановки. При исследовании влияния свободной и депонированных форм трибенурон-метила показано, что его свободная форма вызывает более выраженное ингибирование параметров флуоресценции у растений на ранних стадиях эксперимента, но в дальнейшем, как правило, снижается в отличие от депонированного гербицида, действие которого возрастает во времени, достигая более сильного эффекта, чем свободный гербицид. Выраженность подавления фотосинтетической активности сорняков депонированным трибенурон-метилом в значительной мере зависит от видовой специфики сорняков в отличие от универсального действия метрибузина.



В ходе исследования влияния гербицидов на содержание хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов в хлорофилл-белковых комплексах сорных растений показано в целом близкое снижение содержания всех пигментов в растениях при их обработке, как свободными, так и депонированными формами гербицидов. Действие свободных и депонированных форм метрибузина и трибенурон-метила по отношению к сорным растениям различных видов проявляется в однонаправленном и близком в количественном выражении снижении содержания хлорофилла *a* и *b*, а также каротиноидов.

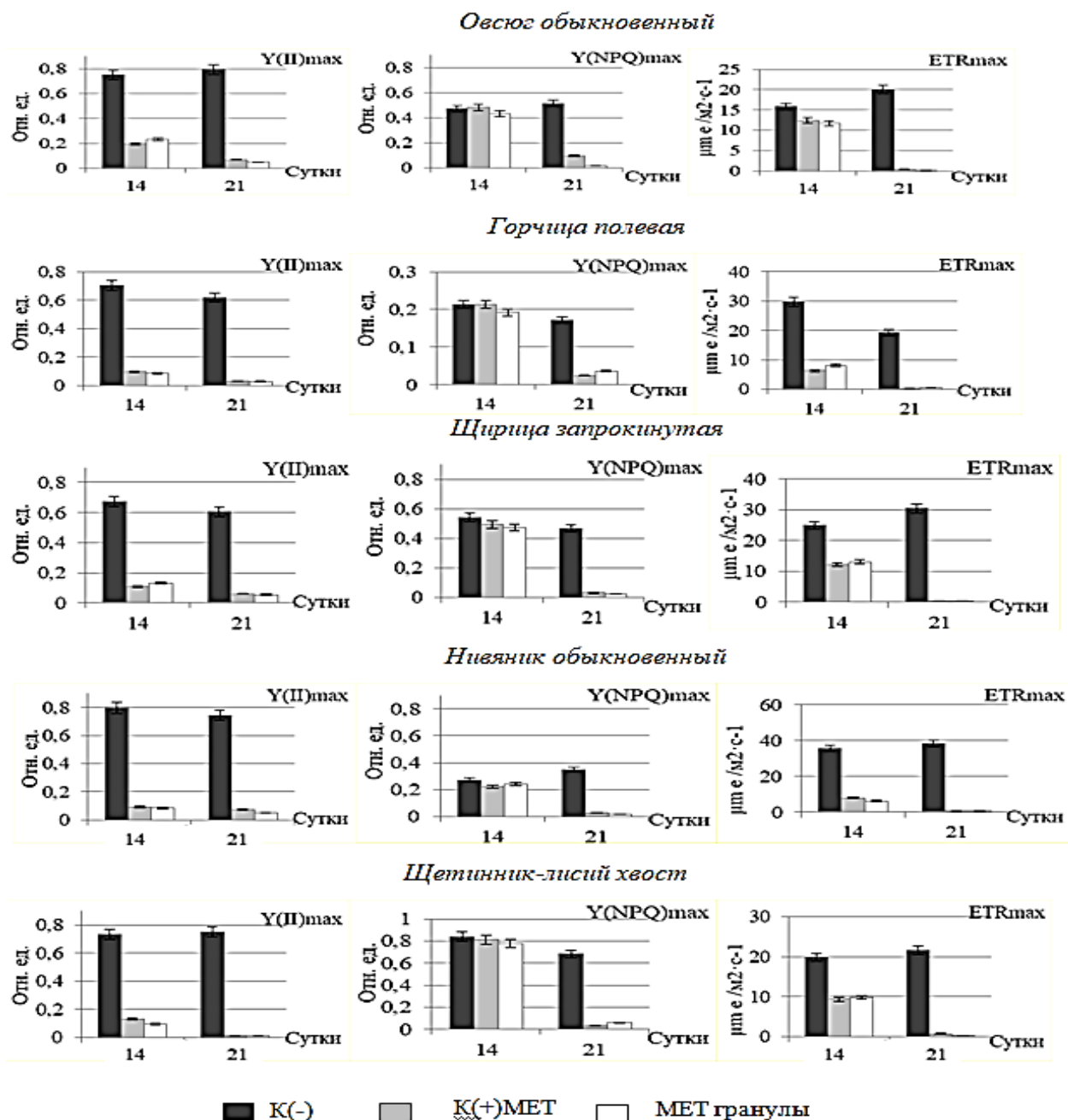


Рисунок 4 - Изменение показателей флуоресценции хлорофилла у сорных растений различных видов под воздействием различных форм метрибузина: (K(+)-MET) – положительный контроль (свободный MET); (MET гранулы) – экспериментальная форма депонированного гербицида П(ЗГБ)/отилки/MET; (K-) – отрицательный контроль (интактные растения)

## Эффективность применения депонированных гербицидов в зерновых культурах в полевых условиях

Положительные результаты оценки биологической эффективности разработанных депонированных гербицидов, полученные в лабораторных опытах, позволили начать исследования в полевых условиях. Микрополевые испытания проведены в вегетационном сезоне 2019 года на двух зерновых культурах - яровой пшенице сорта «Новосибирская 15» и яровом ячмене сорта «Биом». Динамика снижения общей засоренности посевов пшеницы сорными растениями под действием гербицидов представлена на рисунке 5.

Численность сорных растений в посевах пшеницы в положительном контроле после обработки гербицидами сократилась на 20-25 %. При использовании депонированных гербицидов в эти сроки подавление сорняков было более результативным, гибель сорняков составила 50 % в случае ТРИБ и несколько ниже (37 %) при внесении гранул МЕТ. Количество остаточных сорняков в случае депонированного МЕТ было ниже 10 %, в случае ТРИБ – на уровне 20 %. Биологическая эффективность депонированных гербицидов превосходила показатели в положительном контроле и составляла 82,6 % в группе растений с применением МЕТ и несколько ниже (56,5 %) в случае применения депонированного ТРИБ.

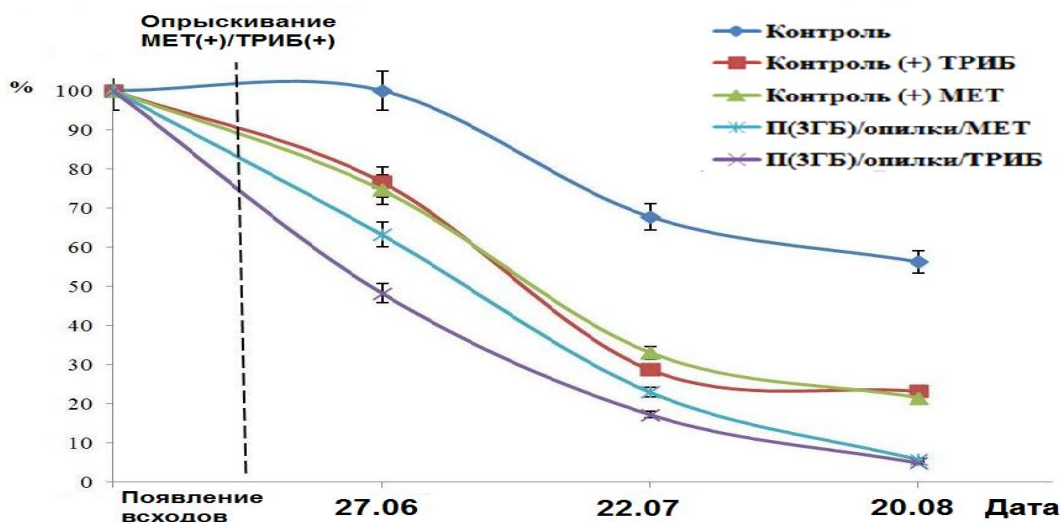


Рисунок 5 - Динамика гибели сорных растений в посевах яровой пшеницы «Новосибирская 15» при использовании свободных и депонированных гербицидов

Отличия засоренности посевов зерновых культур в полевых условиях оказывали влияние на структуру урожая (таблицы 1-2).

Высота растений и масса соломы были выше в случае применения депонированных гербицидов. Количество общих и продуктивных стеблей самым высоким было в экспериментальной группе с применением депонированного метрибузина. Количественно эти параметры оценивались на уровне массы соломы, равной 1499-1695 г/м<sup>2</sup> и длины растений 112-114 см. Максимальные фитометрические показатели характерны для экспериментальных групп, в которых



зафиксировано максимальное количество растений (367 шт./м<sup>2</sup>) с максимальным количеством стеблей, в т.ч. продуктивных (1042 и 1008 шт./м<sup>2</sup> соответственно) (таблица 1).

Таблица 1 – Структура урожая яровой пшеницы «Новосибирская 15» в полевых условиях при различных формах и способах применения гербицидов

Показатель	Контроль «-»	Контроль «+» (опрыскивание)		Эксперимент (гранулы)	
		Трибенурон	Метрибузин	П(ЗГБ)опилки/ТРИБ	П(ЗГБ)/опилки/МЕТ
Число растений, шт./м <sup>2</sup>	343,0±17,0	340,0 ±17,0	345,0±17,0	348,0 ±17,0	367,0 ±19,0
Высота растений перед уборкой, см	106,9 ±5,0	99,3 ±4,9	114,1±6,0	114,1 ± 6,0	112,4 ± 5,0
Число стеблей, шт./м <sup>2</sup> :					
-общих	97,0±50,0	986,0±49,0	994,0±50,0	973,0 ± 48,0	1042,0 ±50,0
-продуктивных	978,0±59,0	972,0±52,0	994,0±50,0	939,0 ± 46,0	1008,0 ± 49,0
Длина колоса, см	6,8 ±0,4	7,1 ±0,4	7,3 ±0,4	7,0 ±0,4	7,1 ±0,4
Число колосков в колосе	13,2 ±0,8	13,2 ±0,8	13,4 ±0,8	13,5 ±0,8	13,6 ±0,8
Масса соломы, г/м <sup>2</sup>	1145,0±57,3	915,0 ±45,8	1499,0 ±74,9	1695,0 ±84,7	1538,0 ±76,9

Результаты применения гербицидных препаратов в посевах ячменя в общем виде аналогичны полученным в посевах пшеницы (рисунок б).

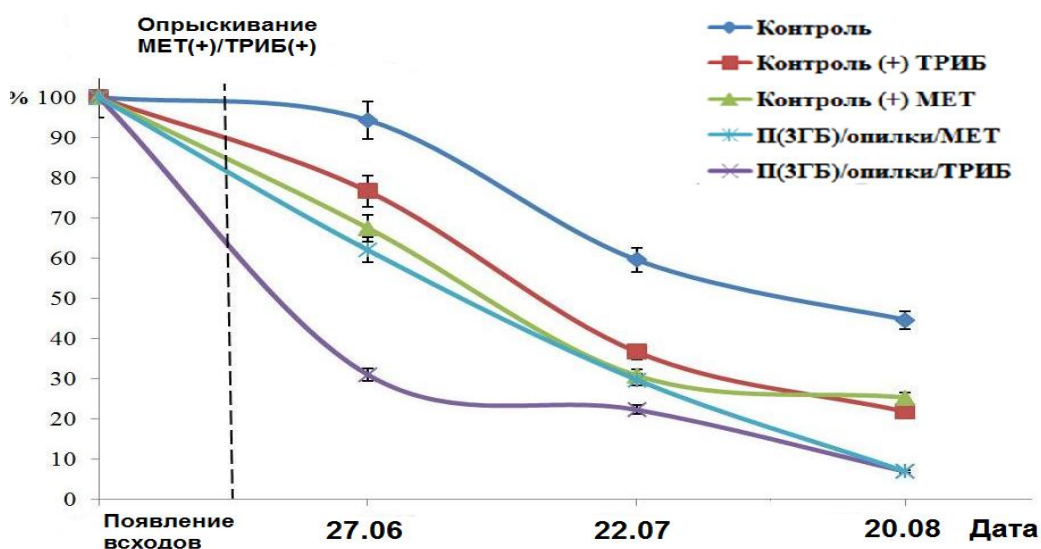


Рисунок б - Динамика гибели сорных растений в посевах ячменя «Биом» при использовании свободных и депонированных гербицидов

Гербицидное действие депонированных ТРИБ и МЕТ было более выраженным по сравнению с опрыскиванием свободными формами препаратов.

Несмотря на высокую засоренность опытного участка сорняками (уровень 5), биологическая эффективность депонированных гербицидных препаратов ТРИБ и МЕТ в посевах ячменя составила порядка 85 %, что превышает показатели, полученные при традиционном опрыскивании посевов растворами свободных гербицидов (44,3 и 34,2 %).

Форма доставки гербицидов также влияла на структуру урожая ярового ячменя (таблица 2). Высота растений была достоверно выше в группах применения обеих форм гербицидов; при этом достоверно самой высокой в группах с депонированными гербицидами (ТРИБ  $87,4 \pm 4,4$  и МЕТ  $85,9 \pm 4,3$ ). Также отмечено снижение количества растений, общего количества стеблей и продуктивных стеблей в экспериментальных группах, что способствовало формированию растений с максимальной высотой (86-87 см) и длиной колоса (7 см).

Таблица 2 – Структура урожая ярового ячменя «Биом» в полевых условиях при различных формах и способах применения гербицидов

Показатель	Контроль «-»	Контроль (опрыскивание) «+»		Эксперимент (гранулы)	
		ТРИБ	МЕТ	П(ЗГБ)/опил ки/ТРИБ	П(ЗГБ)/опи лки/МЕТ
Число растений, шт./м <sup>2</sup>	298,0±15,0	292,0±15,0	293,0±15,0	287,0±13,0	286,0±14,0
Высота растений перед уборкой, см	80,8±4,0	83,0±4,3	84,3±4,2	87,4±4,4	85,9±4,3
Число стеблей, шт./м <sup>2</sup> :					
-общих	2086,0±104,0	1840,0±92,0	1875,0±94,0	1682,0±101,0	1451,0±87,0
-продуктивных	1430,0±71,0	1372,0±67,0	1319,0±66,0	961,0±58,0	959,0±48,0
Длина колоса, см	6,3±0,3	6,6±0,3	6,6±0,3	6,9±0,3	6,9±0,3
Число колосков в колосе, шт.	18,0±1,0	19,4 ±1,0	19,1 ±1,0	19,8 ±1,0	19,9 ±1,0
Масса соломы, г/м <sup>2</sup>	1868,0 ±93,4	1935,0±94,2	2133,0±99,8	1972,0 ±97,2	2004,0±98,0

Самые высокие показатели урожая зерновых получены в экспериментальных группах, в которых подавление сорняков было наиболее активным (таблица 3).

Важным показателем при исследовании новых препаратов является качество урожая, оцениваемое через химический состав продукции. В вариантах с применением гербицидов количество сырой клейковины в зерне пшеницы было выше и составляло  $34,75 \pm 2,19$  % в положительном контроле и еще выше ( $39,25 \pm 1,91$ %) в экспериментальных группах. Полученное зерно относится к 1-му классу, «пшеница продовольственная». Показатели натуры зерна пшеницы «Новосибирская 15» и белка были выше в экспериментальных группах с применением депонированных гербицидов; зерно соответствует параметрам продовольственного зерна 1 класса по показателю натуры. Натура зерна ячменя, полученного без применения гербицидов, была самой низкой (579 г/л), что соответствует зерну 2 класса. Применение гербицидов обеспечило повышение качества зерна, соответствующего 1-му классу. Самые высокие показатели натуры

зерна и белкового компонента ячменя зафиксированы в вариантах с применением депонированных ТРИБ и МЕТ, соответственно, 634-642 г/л и 14,0-14,2 %.

Таблица 3 – Общая урожайность зерновых культур в полевых условиях при различных формах и способах применения гербицидов

Вариант	Урожайность, ц/га	
	Пшеница «Новосибирская 15»	Ячмень «Биом»
Контроль «-»	31,5±1,2	49,2±0,8
Контроль «+» (Трибенурон)	34,5±0,5	50,7±0,3
Контроль «+» (Метрибузин)	35,1±0,5	51,7±0,6
Эксперимент (гранулы) П(ЗГБ)/опилки/Трибенурон	36,6±0,5	53,8±0,3
Эксперимент (гранулы) П(ЗГБ)/опилки/Метрибузин	42,3±0,6	53,6±0,4

### ***Эффективность применения депонированных гербицидов в овощных культурах в полевых условиях***

Динамика гибели сорных растений в посадках овощных культур в течение вегетационного сезона 2019 года зависела от формы и способа применения гербицидов (рисунок 7). Опрыскивание посадок растворами метрибузина сократило количество сорняков в среднем до 40 %, а при применении трибенурон-метила - до 30 % (рисунок 7 А). В группах растений с применением депонированных гербицидов количество сорняков не превышало 10 %. Биологическая эффективность депонированного МЕТ в посадках свеклы сорта «Цилиндра» перед уборкой (20 августа) составила 88,9 %, что намного превосходит биологическую эффективность применения для опрыскивания посевов свободными формами МЕТ (биологическая эффективность 30 %) и ТРИБ (45,4 %). Биологическая эффективность депонированного ТРИБ была сопоставима с эффективностью депонированного МЕТ и составила 85,7 %.

Динамика численности сорных растений в посадках томатов сорта «Загадка» представлена на рисунке 7 Б. Остаточное количество сорняков перед уборкой при внесении свободных форм МЕТ и ТРИБ составляло от 30 до 40 %. Существенно низкое количество сорняков зафиксировано при внесении депонированных форм МЕТ и ТРИБ (10 %). Биологическая эффективность свободных МЕТ и ТРИБ зафиксирована на уровне 60-70 %; депонированных - порядка 88 %.

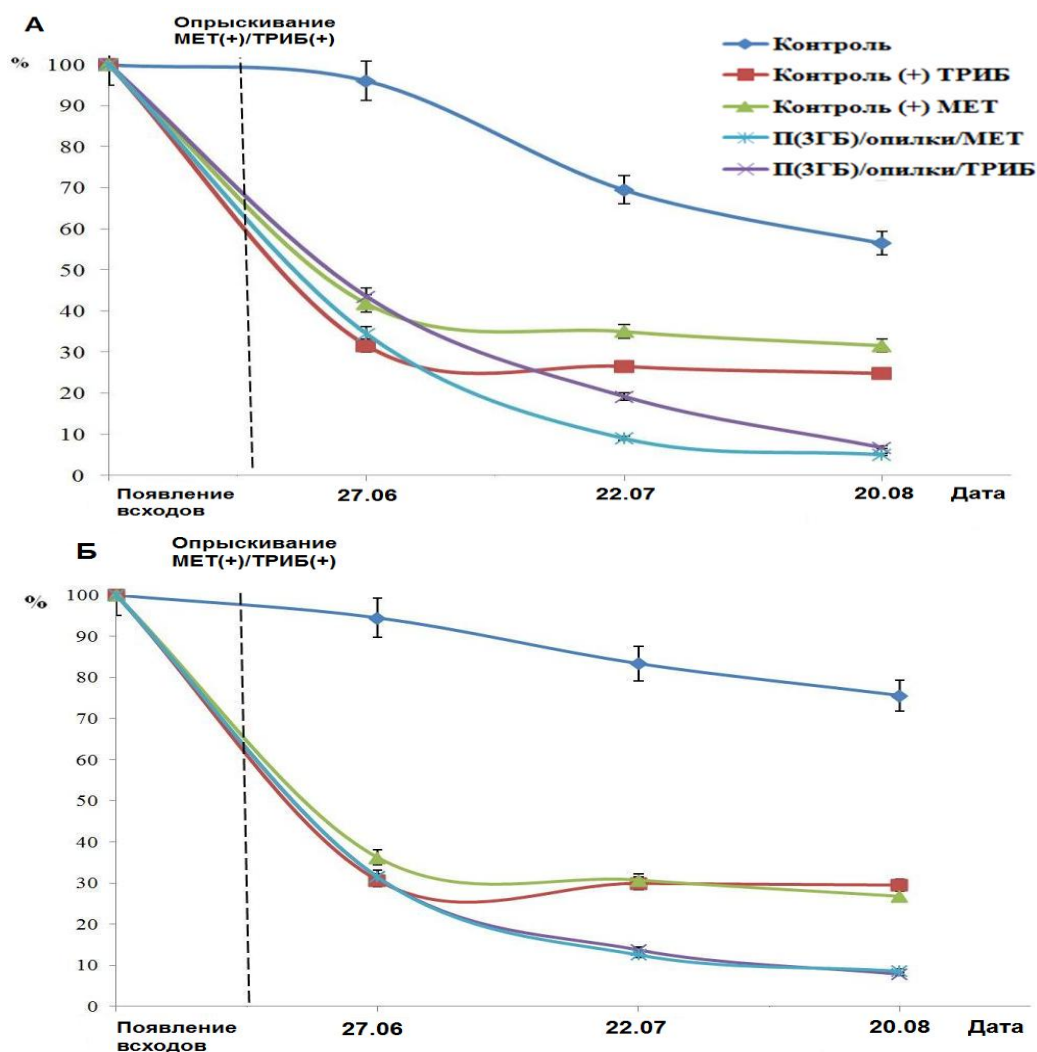


Рисунок 7 - Динамика гибели сорных растений в овощных полевых культурах в зависимости от формы и способа применения гербицидов: А - свеклы столовой «Цилиндра» и Б - томаты «Загадка»

Форма доставки гербицидов и динамика подавления сорняков влияли на рост и развитие овощных культур и качество урожая (таблица 4). Самые высокие показатели структуры урожая и общей урожайности томатов получены при использовании депонированной формы МЕТ: количество плодов на растении составило 11 шт., средняя масса плода -  $37,5 \pm 4,6$  г при самом низком количестве нестандартных плодов; общая урожайность культуры была максимальной (230 ц/га). Положительный эффект применения депонированных гербицидов зафиксирован и на столовой свекле. Самые высокие значения средней массы плода получены при использовании МЕТ в свободной и депонированной формах, соответственно, 99,3 и 107,8 г. Максимальный урожай столовой свеклы (337 ц/га) получен в варианте с депонированным МЕТ (таблица 5). Содержание нитратов в плодах томатов и корнеплодах было в 2-3 раза меньше предельно допустимого уровня (ПДК). Применение депонированной формы МЕТ способствует снижению нитратного азота в плодах томатов до 51 мг/кг. Установлено достоверное повышение доли сухого вещества в томатах до 5,98 % в случае применения депонированной форм МЕТ.

Таблица 4 – Биометрические показатели овощных культур при различных формах и способах доставки гербицидов в полевых условиях

Вариант	Высота растений, см	Количество плодов штук/растение	Средняя масса плода, г	Нестандартные плоды, %
Томаты сорт «Загадка»				
Контроль «-»	80,1±0,2	8	43,4±2,1	20
Контроль «+» ТРИБ (опрыскивание)	61,1±0,3	5	34,5±1,8	52
Контроль «+» МЕТ (опрыскивание)	77,1±0,5	7	38,6±2,0	45
Эксперимент П(ЗГБ)/опилки/ТРИБ (гранулы)	76,6±0,2	6	27,6±1,4	53
Эксперимент П(ЗГБ)/опилки/МЕТ(гранулы)	77,4±0,4	11	77,4±3,1	10
Свекла столовая сорт «Цилиндра»				
Контроль «-»		28	94,9±2,4	0
Контроль «+» ТРИБ (опрыскивание)		25	69,3±1,8	10
Контроль «+» МЕТ (опрыскивание)		30	99,3±2,7	0
Эксперимент П(ЗГБ)/опилки/ТРИБ (гранулы)		31	79,3±3,0	7
Эксперимент П(ЗГБ)/опилки/МЕТ(гранулы)		31	107,8±2,9	0

Таблица 5 - Урожайность овощных культур при различных формах доставки гербицидов

Вариант	Урожайность, ц/га	
	Томаты «Загадка»	Свекла столовая «Цилиндра»
Контроль «-»	139±26	297±16,3
Контроль «+» ТРИБ (опрыскивание)	69±5,4	300±16,4
Контроль «+» МЕТ (опрыскивание)	108±6,3	295±17,1
Эксперимент (гранулы) П(ЗГБ)/опилки/ТРИБ	66±5,2	250±23,1
Эксперимент (гранулы) П(ЗГБ)/опилки/МЕТ	230±13,3	337±26,1

Концентрация сахаров в плодах томатов зависела от условий выращивания и формы внесения гербицидов и достоверно была выше при применении депонированных ТРИБ и МЕТ. При использовании депонированных форм ТРИБ и МЕТ концентрация витамина С составила 13,03 и 14,40 мг/100 г, что выше в 1,6-1,7 раза относительно отрицательного и положительного контролей. Массовая доля сухих веществ в корнеплодах свеклы столовой по вариантам опыта была близкой, порядка 12,5–14,6 %.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Пионерные долговременные формы гербицидных препаратов, разработанные с применением разрушаемого микробного полимера П(ЗГБ) в смеси с природными материалами, эффективны для подавления сорных растений в зерновых и овощных культурах при дождевом грунтовом применении и внесении в почву одновременно с семенами. Депонированные гербициды, подавляя развитие сорных растений, положительно влияют на урожайность овощных и зерновых культур, улучшая структуру урожая и его качество. Применение депонированных гербицидов

призвано снизить нормы внесения и риск неконтролируемого распространения ксенобиотиков в биосфере.

## ВЫВОДЫ

1. В культуре бактерий *Cupriavidus necator* В-10646 реализован биотехнологический синтез поли-3-гидроксибутирата на глицерине в качестве единственного источника углерода в лабораторном ( $V=30$  л) и пилотном ( $V=150$  л) ферментерах при концентрации полимера в клетках  $75\pm 5$  % и урожае биомассы бактерий от 70 до 150 г/л в зависимости от массообменных характеристик. В условиях пилотного производства синтезированы партии полимера при продукционных ( $P_x=2,4\pm 0,1$  и  $P_{(ПЗГБ)}=2,0\pm 0,2$  г/(л·ч)) и субстратных показателях ( $Y_x=0,32\pm 0,02$  кг/кг и  $Y_{(ПЗГБ)}=0,28\pm 0,02$  кг/кг), сопоставимых с сахарами при сокращении удельных трат на углеродный субстрат.

2. С использованием охарактеризованных физико-механических смесей П(ЗГБ)/природный материал (торф, глина или березовые опилки) сконструированы гербицидные препараты с различным механизмом действия (метрибузин, трибенурон-метил) в виде гранул и таблетированных форм длительного действия с периодом полураспада в почве 60 и 80 суток соответственно, на разрушаемость которых оказывает влияние состав смесевой основы, способ изготовления и геометрия формы.

3. Депонированные гербициды по мере разрушения полимерной основы обеспечивают постепенный выход и накопление действующих веществ в почве в течение вегетации, не оказывая негативного влияния на структуру почвенного микробиоценоза, соотношение основных эколого-трофических групп бактериальной и грибной компонент; среди первичных деструкторов П(ЗГБ) идентифицированы бактерии: *Pseudomonas sp.*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus simplex*, *Pseudarthrobacter sp.*, *Streptomyces* и грибы: *Talaromyces purpureogenus*, *Penicillium chrysogenum*, *Talaromyces funiculosus*.

4. В лабораторных культурах сорных растений различных видов (*Amaranthus retroflexus*, *Sinapis arvensis*, *Leucanthemum maximum*, *Sisymbrium loeselii*, *Elsholtzia ciliata*, *Avena Fatula L.*, *Setaria macrocheata*) и посевах пшеницы и ячменя, зараженных сорняками, показано, что депонированный метрибузин обеспечивает 100 %-ю гибель всех видов сорных растений, превосходя действие трибенурон-метила, который на 100 % подавляет *E. ciliata* и *A. retroflexus* и 60-75 % остальных сорняков.

5. Исследование функциональной активности фотосинтетического аппарата сорных растений показало, что применение депонированных гербицидов вызывает длительный и нарастающий во времени ингибирующий эффект ключевых параметров флуоресценции хлорофилла (минимальный уровень флуоресценции, максимальный квантовый выход, скорость нециклического транспорта электронов), не уступающий действию свободных форм. Пролонгированное подавление фотосинтетической активности сорняков трибенурон-метилом в значительной мере зависело от видовой специфики сорняков, в отличие от универсального действия метрибузина, который снижал все исследуемые параметры флуоресценции в 8 –10

раз. Снижение содержания хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов под действием депонированных форм сопоставимо с действием свободных гербицидов.

6. Эффективность применения депонированных гербицидов подтверждена в полевых условиях в посевах зерновых (яровые пшеница «Новосибирская 15» и ячмень «Биом») и на овощных культурах (томаты «Загадка» и столовая свекла «Цилиндра»). Депонированные гербициды, вносимые в почву одновременно с семенами, подавляют развитие сорных растений в течение вегетации, положительно влияя на общую урожайность культур, улучшая структуру урожая и качество продукции, превосходя действие коммерческих аналогов, используемых в виде опрыскивающих растворов.

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи:

1. Volova, T. Biological effects of the free and embedded metribuzin and tribenuron-methyl herbicides on various cultivated weed species / T. Volova, S. Baranovsky, **O. Petrovskaya (Kolesnikova)**, A. Shumilova, A. Sukovatyi // Journal of Environmental Science and Health, Part B. – 2020. – Vol. 55. – №. 11. – P. 1009-1019. (IF WoS 2.118) Q2. DOI: <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1807835>.
2. Volova, T. Efficacy of embedded metribuzin and tribenuron-methyl herbicides in field-grown vegetable crops infested by weeds / T. Volova, A. Demidenko, N. Kurachenko, S. Baranovsky, **O. Petrovskaya (Kolesnikova)**, A. Shumilova // Environmental Science and Pollution Research. – 2021. – Vol. 28. – No 1. – P. 982-994. (IF WoS 4.223) Q1. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10359-1>.
3. **Петровская (Колесникова), О.Д.** Действие депонированных гербицидных препаратов на зерновые культуры / О. Д. Петровская (Колесникова), С. В. Барановский, А. В. Демиденко, Т. Г. Волова // Вестник российской сельскохозяйственной науки. – 2022. – № 1. – С. 47-51. DOI: <https://doi.org/10.30850/vrsn/2022/1/47-51>.
4. **Петровская (Колесникова), О. Д.** Конструирование и исследование гербицидных препаратов пролонгированного действия на основе поли-3-гидроксипутирата / О. Д. Петровская (Колесникова) // Актуальная биотехнология, 2020. - № 3 (34) – С. 140-144.

### Тезисы докладов и материалов конференций:

5. **Колесникова О.Д.** Конструирование и исследование долговременных гербицидных препаратов на основе поли-3-гидроксипутирата / природные материалы / О. Д. Петровская // "Перспектив Свободный – 2022": Материалы XVIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, электронное издание, Красноярск, 25–30 апреля 2022 года. – Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2022. – 3002 с.
6. **Петровская (Колесникова), О. Д.** Исследование эффективности долговременных форм гербицидных препаратов в лабораторных посевах зерновых культур, зараженных сорняками / О. Д. Петровская (Колесникова) // Биотехнология новых материалов - окружающая среда - качество жизни : Материалы IV Международной научной конференции, электронное издание,

Красноярск, 10–13 октября 2021 года. – Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2021. – С. 187-189.

7. **Петровская (Колесникова), О. Д.** Исследование функциональной активности фотосинтетического аппарата высших растений под воздействием свободной и депонированной форм метрибузина / О. Д. Петровская (Колесникова) // Биотехнология новых материалов - окружающая среда - качество жизни: Материалы IV Международной научной конференции, электронное издание, Красноярск, 10–13 октября 2021 года. – Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2021. – С. 184-186.
8. **Петровская (Колесникова), О. Д.** Разрушаемые микробные полигидроксиалканоаты в качестве основы для конструирования гербицидных препаратов для защиты культивируемых растений/ О. Д. Петровская (Колесникова) // Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2021», 20 апреля 2021.
9. **Петровская (Колесникова), О. Д.** Исследование деградации гербицидных препаратов пролонгированного действия на основе поли-3-гидроксибутирата в почвенных микрэкосистемах / О. Д. Петровская (Колесникова) // VII международная конференция молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов: в рамках площадки открытых коммуникаций OpenBio-2020. – Научград Кольцово: Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 2020. – С. 129-132.