

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение  
высшего образования  
"СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"

На правах рукописи

Стрельцова Надежда Владимировна

**ЭКОЛОГО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ФУНГИЦИДНЫХ  
ПРЕПАРАТОВ, ДЕПОНИРОВАННЫХ В БИОРАЗРУШАЕМУЮ ОСНОВУ  
ИЗ ПОЛИ(3-ГИДРОКСИБУТИРАТА)**

1.5.15. Экология

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель –  
доктор биологических наук, доцент  
Прудникова Светлана Владиславна

Красноярск - 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|   |    |
|---|----|
| ВВЕДЕНИЕ .....  | 6  |
| Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....   | 13 |
| 1.1 Влияние пестицидов на окружающую среду.....   | 13 |
| 1.1.1 Негативные последствия применения пестицидов .....  | 13 |
| 1.1.2 Влияние пестицидов на почвенные микроорганизмы .....  | 14 |
| 1.1.3 Влияние фунгицидных препаратов на растения.....   | 17 |
| 1.2 Новые подходы в защите растений от фитопатогенных грибов .....  | 19 |
| 1.2.1 Грибные болезни сельскохозяйственных культур .....  | 19 |
| 1.2.2 Системы контролируемой доставки пестицидов .....  | 26 |
| 1.3 ПГА как основа для депонирования пестицидов .....   | 32 |
| 1.3.1 Характеристика свойств ПГА.....   | 32 |
| 1.3.2 Применение ПГА в сельском хозяйстве .....   | 34 |
| Глава 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ .....   | 38 |
| 2.1 Объекты исследований .....  | 38 |
| 2.1.1 Фунгициды .....   | 38 |
| 2.1.2 Сорты зерновых культур .....  | 41 |
| 2.1.3 Сорты картофеля.....  | 42 |
| 2.2 Методы исследования .....   | 43 |
| 2.2.1 Физико-химические методы анализа фунгицидов .....   | 43 |
| 2.2.2 Исследование деградации разработанных форм препаратов в лабораторных почвенных микроэкосистемах ..... | 44 |
| 2.2.3 Агрохимический и микробиологический анализ почвы .....  | 44 |
| 2.2.4 Оценка влияния фунгицидных препаратов на почвенные микроорганизмы .....                               | 46 |
| 2.2.5 Исследование фунгицидной активности депонированных препаратов <i>in vitro</i> .....                   | 47 |
| 2.2.6 Оценка биологической эффективности депонированных фунгицидных препаратов в лабораторных условиях..... | 49 |
| 2.2.7 Оценка эффективности фунгицидных препаратов на основе П(ЗГБ) в полевых условиях .....                 | 51 |

|   |     |
|---|-----|
| 2.2.8 Статистическая обработка данных.....  | 55  |
| Глава 3 БИОДЕГРАДАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ФОРМ  |     |
| ДЕПОНИРОВАННЫХ ФУНГИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА   |     |
| ПОЧВЕННУЮ МИКРОБИОТУ.....   |     |
| 3.1 Изготовление экспериментальных форм фунгицидных препаратов,<br>депонированных в биоразрушаемую основу.....                            | 56  |
| 3.2 Динамика биодegradации экспериментальных фунгицидных гранул и выход<br>действующего вещества в почву.....                             | 56  |
| 3.3 Почвенные микроорганизмы, осуществляющие деструкцию полимерной<br>основы депонированных форм фунгицидов.....                          | 62  |
| 3.4 Влияние депонированных форм фунгицидных препаратов на структуру<br>микробиоценоза почвенных микрoэкоcистем.....                       | 64  |
| Глава 4 ФУНГИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ  |     |
| ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕПОНИРОВАННЫХ ФУНГИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ В   |     |
| ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ.....  |     |
| 4.1 Фунгицидное действие депонированных препаратов <i>in vitro</i> в отношении<br>возбудителей болезней зерновых культур и картофеля..... | 74  |
| 4.2 Эффективность применения пролонгированных препаратов фунгицидного<br>действия в лабораторных условиях в посевах зерновых культур..... | 80  |
| 4.2.1 Фитосанитарный анализ семян и почвы.....  | 80  |
| 4.2.2 Влияние депонированных форм фунгицидных препаратов на сообщество<br>микрoмицетов ризосферной почвы пшеницы и ячменя.....            | 83  |
| 4.2.3 Биологическая эффективность депонированных форм фунгицидных<br>препаратов и их влияние на ростовые показатели пшеницы и ячменя..... | 88  |
| 4.3 Оценка эффективности депонированных форм фунгицидов в подавлении<br>возбудителей болезней картофеля в лабораторном эксперименте.....  | 92  |
| Глава 5 ФУНГИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ  |     |
| ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕПОНИРОВАННЫХ ФУНГИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ В   |     |
| ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ.....   |     |
| 5.1 Эффективность депонированной формы фунгицида в подавлении<br>возбудителей корневых гнилей пшеницы и ячменя в полевых условиях.....    | 103 |
| 5.1.1 Влияние фунгицидных препаратов на численность и разнообразие<br>почвенных микрoмицетов в ризосфере пшеницы и ячменя.....            | 106 |

|  |     |
|--|-----|
| 5.1.2 Влияние фунгицидных препаратов на зараженность пшеницы и ячменя корневыми гнилями (биологическая эффективность) .....    | 110 |
| 5.1.3 Влияние фунгицидных препаратов на структуру урожая и урожайность пшеницы и ячменя .....                                  | 112 |
| 5.2 Эффективность депонированных форм фунгицидов в подавлении возбудителей болезней картофеля в полевых условиях .....         | 115 |
| 5.2.1 Влияние фунгицидных препаратов на численность и таксономический состав почвенных микромицетов в ризосфере картофеля..... | 118 |
| 5.2.2 Влияние фунгицидных препаратов на зараженность картофеля фитопатогенными грибами (биологическая эффективность).....      | 121 |
| 5.2.3 Влияние фунгицидных препаратов на структуру урожая и урожайность картофеля.....  | 125 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....   | 130 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....   | 132 |
| ПРИЛОЖЕНИЯ.....  | 151 |
| Приложение А Акт о внедрении результатов диссертационной работы .....  | 152 |
| Приложение Б Фотографии грибов – возбудителей заболеваний картофеля и зерновых культур в Красноярском крае .....               | 153 |
| Приложение В Чувствительность гриба <i>Fusarium fujikuroi</i> к долговременным формам фунгицидов.....                          | 154 |
| Приложение Г Рост мицелия грибов под действием депонированных, свободных и коммерческих форм фунгицидных препаратов.....       | 155 |
| Приложение Д Фотографии лабораторных посевов пшеницы при различных способах доставки тебуконазола .....                        | 156 |
| Приложение Е Фотографии лабораторных посевов ячменя при различных способах доставки тебуконазола .....                         | 157 |
| Приложение Ж Фото лабораторных посадок картофеля при различных формах доставки фунгицидов (13 августа) .....                   | 158 |
| Приложение И Фото лабораторных посадок картофеля при различных формах доставки фунгицидов (26 октября) .....                   | 159 |

|   |     |
|---|-----|
| Приложение К Анализ зараженности корней ячменя возбудителями корневых гнилей во влажных камерах .....                                       | 160 |
| Приложение Л Анализ зараженности корней пшеницы возбудителями корневых гнилей во влажных камерах .....                                      | 161 |
| Приложение М Фото картофеля сорта Красноярский ранний в фазу цветения при различных способах доставки фунгицидов (01 августа 2021 г.) ..... | 162 |
| Приложение Н Фото картофеля сорта Леди Клэр в фазу цветения при различных способах доставки фунгицидов (01 августа 2021 г.) .....           | 163 |

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность исследования.** Применение пестицидов – химических средств защиты растений от болезней и вредителей – стало насущной необходимостью в сельском хозяйстве для получения стабильных урожаев. Мировое потребление пестицидов стабильно растет и составляет до 3,54 миллионов тонн в год (<https://www.statista.com>). Обратной стороной этого процесса является распространение токсикантов различных химических классов в экосистемах, кумулятивное и хроническое воздействие пестицидов на окружающую среду, их биоаккумуляция, что оказывает негативное влияние на микро- и макроорганизмы и ставит под угрозу здоровье человека (Долженко и др., 2023; Carvalho, 2017; Brhich et al., 2022). Низкая селективность химических препаратов приводит к снижению численности и изменению видового состава полезных организмов и нарушает равновесие природных экосистем. Кроме того, среди фитопатогенов и организмов-вредителей развивается резистентность к применяемым препаратам, поэтому их эффективность снижается (Гришечкина, Долженко, 2012; Tsolomyti et al., 2021). Несмотря на научно обоснованный подход к выбору пестицидов и государственный контроль в области безопасного обращения пестицидов и агрохимикатов (№109-ФЗ от 19.07.1997), проблема рационального использования пестицидов до сих пор остается актуальной.

Согласно оценкам Food and Agriculture Organization (FAO), к 2050 году численность населения достигнет 9,8 миллиардов человек, что несомненно будет сопровождаться повышением спроса на сельскохозяйственную продукцию (Nishimoto, 2019). В таких условиях производительность агроэкосистем должна быть увеличена, в том числе за счет повышения эффективности агрохимикатов и применения инновационных технологий для решения проблем продовольственной безопасности (Малюга и др. 2020).

Одна из передовых технологий, направленная на повышение эффективности агрохимикатов, основана на депонировании действующего вещества пестицида в основу из биоразлагаемых полимерных материалов (целлюлоза, крахмал, хитозан,

альгинат натрия, полилактид, полигидроксиалканоаты и др.). Благодаря постепенному разрушению основы обеспечивается контролируемый выход пестицида и его пролонгированное действие (Tleuova et al., 2020; Volova et al., 2018). Депонированные препараты защищены от быстрой инактивации УФ-излучением или ферментами почвенных микроорганизмов; кроме того, они имеют ограниченную подвижность в почве, что снижает риск загрязнения окружающей среды и уменьшает токсичность для биоты (Fraceto et al., 2020). Пролонгированное действие уменьшает количество обработок растений за вегетационных период и снижает объемы применения химикатов (Volova et al., 2021).

При разработке новых форм агропрепаратов решающее значение имеет выбор материалов, которые будут использоваться в качестве основы для пестицидов (Yusoff et al., 2016). Они должны быть совместимы с пестицидами, нетоксичны, биоразлагаемы, но при этом способны сохраняться в почве достаточное время для обеспечения контролируемого выхода действующего вещества. Этим требованиям полностью соответствуют полигидроксиалканоаты (ПГА) – полимеры, синтезируемые некоторыми видами бактерий в качестве резервных макромолекул. В окружающей среде они разлагаются под действием микробных ферментов до углекислого газа и воды. ПГА легко перерабатываются в изделия разной формы – пленки, гранулы, пеллеты, микрокапсулы, а пониженная скорость биodeградации позволяет длительно и постепенно осуществлять выход пестицида в почву (Grillo et al., 2011; Volova et al., 2018; Koller, 2020; Chen et al., 2021).

**Степень разработанности темы.** Принципы контролируемой доставки пестицидов были сформулированы D. H. Lewis и D. R. Cowsar (1977). С тех пор многие исследователи проводили исследования по созданию систем контролируемого высвобождения пестицидов, в том числе фунгицидов, депонированных в основу из полимерных материалов и их композитов (L.F. Fraceto, R. Kumar, F. Flores-Céspedes, M. Fernández-Pérez, E.V.R. Campos, N. Chauhan, Y. Liu, J. Kumar, C. Xu и др.). Преимущественно такие работы

описывают методы получения препаратов, их физико-химические свойства, параметры выхода действующего вещества из основы, эффективность в лабораторных условиях. Описаны примеры использования ПГА в качестве основы для доставки агропрепаратов (R. Grillo, G. Chen, L. Savenkova, F.A. Lobo, L. Сао и др.); в России научным коллективом под руководством Т.Г. Воловой достигнут значительный прогресс в этом направлении. Несмотря на высокий потенциал ПГА в качестве основы для депонирования агропрепаратов, остаются пробелы в понимании таких аспектов, как влияние депонированных препаратов на растения и почвенную микрофлору, кинетика высвобождения действующего вещества из основы в природных условиях в агроэкосистемах, а также продолжительность действия депонированных препаратов в течение вегетационного периода. Решение этих вопросов открывает новые направления экологизации сельского хозяйства и снижения пестицидной нагрузки на агроэкосистемы.

**Цель работы:** оценка эффективности и экологической безопасности фунгицидных препаратов, депонированных в биоразрушаемую основу из поли(3-гидроксibuтирата), для борьбы с почвенными фитопатогенными грибами – возбудителями болезней зерновых культур и картофеля.

**Задачи:**

1. Разработать депонированные формы фунгицидных препаратов длительного действия с использованием биоразрушаемой основы из поли(3-гидроксibuтирата) и природных материалов (торф, опилки, глина).
2. Исследовать динамику биодegradации депонированных форм фунгицидов и кинетику выхода действующего вещества из биоразрушаемой основы в почву.
3. Исследовать влияние депонированных фунгицидных препаратов на структуру и таксономический состав почвенного микробиоценоза, в том числе фитопатогенных и сапротрофных микроорганизмов.
4. Оценить эффективность применения депонированных фунгицидных препаратов для подавления фитопатогенных грибов в ризосферной почве и корневой системе зерновых культур (пшеница, ячмень) и картофеля.



5. Исследовать влияние депонированных фунгицидов на ростовые показатели, структуру и качество урожая при выращивании растений в лабораторных и полевых условиях.

**Научная новизна.** В рамках настоящей работы разработано пионерное семейство фунгицидных препаратов, депонированных в биоразрушаемую основу из поли(3-гидроксibuтирата) и природных материалов (торф, опилки, глина). Исследованы свойства препаратов и кинетика их разрушения в почве. Показано пролонгированное фунгицидное действие депонированных препаратов в течение вегетационного периода при однократном внесении их в почву одновременно с посевным материалом. Разработанные формы препаратов ингибируют развитие фитопатогенных микромицетов в ризосферной почве, снижают распространение болезней на растениях и обладают высокой биологической эффективностью – от 60 до 100% для зерновых культур и от 45 до 94% для картофеля. Выявлено, что депонирование в биоразрушаемую основу нивелирует негативное действие фунгицидов на нецелевые объекты – почвенные бактерии.

**Теоретическая значимость работы.** Результаты исследований вносят вклад в развитие представлений о возможности использования ПГА для разработки долговременных средств защиты растений от фитопатогенов, расширяют знания о разнообразии фитопатогенных грибов – возбудителей болезней зерновых культур и картофеля в Красноярском крае, дополняют сведения о влиянии депонированных фунгицидных препаратов на почвенные бактерии.

**Практическая значимость.** Выделен комплекс фитопатогенных микромицетов, распространенных в Красноярском крае, включающий виды родов *Alternaria* Nees, *Boeremia* Aveskamp, Gruyter & Verkley, *Fusarium* Link, *Phytophthora* de Bary, *Rhizoctonia* DC., и показана высокая эффективность депонированных фунгицидных препаратов в подавлении роста выделенных фитопатогенов. Выявлено, что депонированные фунгицидные препараты обладают пролонгированным действием, обеспечивающим защитный эффект для корневой системы растений в течение вегетационного периода при однократном

внесении в почву с посевным материалом, что позволяет уменьшить количество обработок растений фунгицидами в процессе выращивания, иммобилизовать действующее вещество фунгицида в прикорневой зоне и снизить распространение в окружающей среде. Оздоровляющее действие депонированных форм фунгицидов на корневую систему растений способствует повышению урожайности, а также улучшению качества клубней картофеля и зерна пшеницы и ячменя. Результаты исследований используются в учебном процессе ФГАОУ ВО СФУ; в учебный план подготовки магистров по программе 06.04.01.01 Микробиология и биотехнология (направление 06.04.01 Биология) включена дисциплина «Микология с основами фитопатологии» (протокол ученого совета № 5 от 25.05.2021) (приложение А).

#### **Методология и методы исследований.**

Методологической основой послужил анализ научной литературы отечественных и зарубежных авторов, комплексный подход к планированию и реализации исследования. В работе использованы общепринятые лабораторные и полевые методы исследования, стандартные статистические методы обработки данных.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Разработанные формы фунгицидных препаратов, депонированные в биоразрушаемую основу из поли(3-гидроксипропаната) и природных материалов, обладают пролонгированным действием в почве, которое обеспечивается за счет постепенной деградации полимерной основы и поступления действующего вещества в прикорневую зону в течение вегетационного периода
2. Депонированные фунгицидные препараты обладают выраженным фунгицидным действием, снижают численность почвенных микромицетов, не оказывают ингибирующего действия на развитие почвенных бактерий, но оказывают селективное влияние на их таксономический состав.
3. Депонированные фунгицидные препараты обладают высокой биологической эффективностью в подавлении возбудителей грибных болезней зерновых культур и картофеля и улучшают качество урожая.

**Апробация работы.** Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на международных конференциях: V Всероссийский конгресс по защите растений (Санкт-Петербург, 16-19 апреля 2024); XIX Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспектива свободный – 2023» (Красноярск, 24-29 апреля 2023), XVIII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспектива свободный – 2022» (Красноярск, 25-30 апреля 2022), 5-й Съезд микологов России (Москва, 12-14 октября 2022); IV Международная научная конференция «Наука будущего – наука молодых» (Новосибирск, 23-26 августа 2022); Международная научная конференция «Биотехнология новых материалов – Окружающая среда – Качество жизни» (Красноярск, 10-13 октября 2021); XXVIII Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 12-23 апреля 2021); VIII Международная научно-практическая конференция «Биотехнология: наука и практика» (Ялта, 22-26 сентября 2020); 58-я Международная научная студенческая конференция МНСК-2020 (Новосибирск, 10-13 апреля 2020); 19th International Multidisciplinary Scientific Geosconference SGEM 2019 (Вена, 9-11 декабря 2019). Исследования Н.В. Стрельцовой отмечены наградой победитель конкурса научных работ «БайСтади» 2021 г.

Работа выполнена при 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 теме диссертационной работы опубликовано 15 работ, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в международные реферативные базы и системы цитирования (Scopus), 2 статьи в научных журналах, глава в монографии,

а также материалы конференций (в том числе 1 – в сборнике материалов, индексируемом в базе Scopus).

**Личный вклад.** Автор принимала непосредственное участие в постановке цели и задач исследования, выборе методов исследования, проведении экспериментов, анализе и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций и докладов на конференциях. Результаты, представленные в разделе 4.2, получены коллективом авторов в рамках мега-гранта «Агропрепараты нового поколения: стратегия конструирования и реализация» (С. Томас, Т.Г. Волова, М.Д. Косенок, К.В. Ноздрин, Е.Д. Посохина, С.В. Прудникова, С.А. Пятин, К.Ю. Сапожникова, В.А. Сапожников, Н.В. Стрельцова, А.Г. Суковатый, Е.И. Шишацкая, О.Н. Шишацкий, С.П. Шулелина, А.А. Шумилова). Фунгицидные гранулы были изготовлены в лаборатории Инновационных препаратов и материалов СФУ (канд. техн. наук, н.с. Е.Г. Киселев, д-р биол. наук, г.н.с. Т.Г. Волова). Агрохимический анализ почвы, оценка структуры урожая зерновых культур и картофеля проводилась на базе ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет» (д-р биол. наук, профессор Н.Л. Кураченко, канд. биол. наук, доцент В.Л. Бопп, д-р с.-х. наук, г.н.с. В.Н. Романов). Детектирование фунгицидов в почве выполнено в Институте биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН (канд. биол. наук, с.н.с. Н.О. Жила).

**Достоверность результатов** диссертационной работы обеспечивается большим объемом полученных данных, их воспроизводимостью, использованием современных методов экспериментального исследования и статистической обработки при проведении работы.

**Структура диссертационной работы.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 163 страницах, содержит 37 рисунков и 21 таблицу, 12 приложений (А-Н). Библиография насчитывает 216 источников.

## Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Влияние пестицидов на окружающую среду

#### 1.1.1 Негативные последствия применения пестицидов

Пестициды широко используются в сельском хозяйстве для получения высоких урожаев культурных растений. Существует большое разнообразие пестицидов, которые позволяют защитить растения от различных вредителей: насекомых – инсектициды, сорных растений – гербициды, фитопатогенных грибов – фунгициды и т.д. Пестициды также делятся на группы в зависимости от их химического состава и механизма действия. На данный момент количество наименований пестицидов исчисляется сотнями, а объемы их производства постоянно увеличиваются (Мельников, 1987; Grube et al. 2011; Khan, 2016). Далеко не все из них применяются на практике из-за высокой токсичности не только для организмов-мишеней, но и для других живых организмов, в том числе и для человека. Но даже те пестициды, которые разрешены к применению и активно используются, в той или иной степени оказывают отрицательное воздействие на окружающую среду (Carvalho, 2017; Aktar et al., 2009).

В первую очередь от загрязнения пестицидами страдают обитатели территорий, непосредственно подвергшихся обработке пестицидами. На этих территориях живые организмы находятся в постоянном контакте с ними, постепенно химикаты накапливаются в их организме, что не может не сказаться на его состоянии. В итоге это приводит к гибели животных, обитающих на загрязненных территориях, что в свою очередь ведет к нарушению нормального функционирования экосистемы (Долженко и др., 2023; Mahmood et al., 2016). Немаловажной группой животного мира, на которую пестициды оказывают отрицательное влияние, являются насекомые-опылители, в первую очередь – пчелы. В последние годы все чаще фиксируется массовая гибель пчел и снижение численности их популяции. Данное явление связывают с возрастающими

объемами использования пестицидов (Калинникова и др., 2021; Hashimi et al., 2020; Xu et al., 2021).

Пестициды загрязняют не только сельскохозяйственные почвы, которые непосредственно подверглись обработке. Они вымываются из почвы, и вместе с грунтовыми водами распространяются на большие территории. Кроме того, они также попадают и в различные водоемы, загрязняя их. Попадание пестицидов в воду является даже более серьезной проблемой, чем загрязнение почв. Водные экосистемы более чувствительны к загрязнениям химикатами (Zhang et al., 2020; Lu et al., 2019; Carvalho, 2017; Zubrod et al., 2019; Круглов, 1991). Пестициды могут накапливаться в фито- и зоопланктоне и далее, передаваясь по пищевым цепям, попадать в организм человека, что может быть причиной, как острых отравлений, так и развития хронических заболеваний. Также пестициды могут накапливаться и растениями что приводит к загрязнению пищи химикатами (Федоров, Яблоков, 1999; Carvalho, 2017).

Еще одна проблема, связанная с применением пестицидов, это развитие устойчивости организмов-мишеней к химикатам. Для достижения нужного эффекта приходится использовать все большие дозы пестицидов, что только ухудшает состояние окружающей среды (Ishii et al., 2015).

### **1.1.2 Влияние пестицидов на почвенные микроорганизмы**

Важную роль в формировании и функционировании почвенных экосистем играют микроорганизмы. Именно они играют ключевую роль в круговороте веществ в природе. Чем выше численность и разнообразие видового состава почвенных микроорганизмов, тем выше плодородие почвы (Dobrovolskaya et al., 2015; Kaviya et al., 2019). Пестициды, которые применяются для борьбы с различными вредителями, наносят ущерб не только целевым объектам, но и почвенным микроорганизмам, которые участвуют в почвообразовательных процессах. Нарушается баланс между эколого-трофическими группами микроорганизмов, снижается численность и видовое разнообразие, почвы

беднеют, что в итоге приводит к снижению урожайности (Santísima-Trinidad et al., 2018; Mandal et al., 2020).

Современные пестициды обладают высокой специфичностью, однако спектр их действия не ограничивается только патогенными микроорганизмами. По механизму действия различают фунгициды, которые могут подавлять следующие процессы в клетке: синтез липидов, стеролов и других компонентов мембраны; синтез аминокислот и белков; передачу сигналов внутри клетки; митоз и клеточное деление; дыхание; синтез нуклеиновых кислот. Многие из этих процессов протекают и в клетках других микроорганизмов, что делает их чувствительными к компонентам данных фунгицидов. Но даже те препараты, которые не могут подействовать напрямую, также оказывают влияние на другие микроорганизмы. Например, фунгициды из класса триазолов, которые подавляют синтез стеролов в грибной клетке, не могут ингибировать рост бактерий, так как в клетках бактерий стеролы отсутствуют. Однако применение триазолов приводит к изменению численности бактерий, причем в одних случаях численность может возрастать, а в других – снижаться. Это можно объяснить нарушением установившегося баланса в микробиоценозе (Karas et al., 2018; Meena et al., 2020; Yang et al., 2011). Кроме того, микроорганизмы играют важную роль в утилизации пестицидов и других химических агентов в почве. Скорость деградации пестицидов напрямую зависит от численности микроорганизмов в почве и их биохимической активности, а значит, снижение данных показателей отразится на самоочищении почвы от загрязнителя (Ye et al., 2018).

Основные показатели, по которым можно оценить состояние почвенного микробиома, изменения в нем – это дыхание почвы, нитрификация, азотфиксация, аммонификация, активность уреазы, протеазы, фосфатазы. Также большое значение имеет общая численность микроорганизмов в почве, их видовой состав и разнообразие. Чем ниже данные показатели, тем ниже биохимическая активность почвы, а значит и ее качество (Круглов, 1991; Wang et al., 2018; Wołejko et al., 2020).

В исследовании R. Nettles и соавт. (2016) было показано, что предпосевная обработка семян пестицидами оказывает значительный эффект на сообщество ризосферных грибов и бактерий, а также сказывается на эндофитных грибах. Механизм действия на микромицеты понятен, так как используемые препараты относились, в том числе и к фунгицидам. Однако, применение данных препаратов, привело к снижению численности бактерий, что нельзя объяснить прямым воздействием пестицидов на бактерии, так как в исследовании не применялись антибактериальные препараты. Изменение численности бактерий можно объяснить нарушением трофических связей в сообществе, вызванном гибелью микромицетов. Кроме того, было установлено, что такой эффект сохранялся в течение довольно продолжительного периода – более месяца.

Накопление высоких концентраций инсектицидов и гербицидов в почве также снижает численность разных групп микроорганизмов (бактерий, грибов, актиномицетов) и их биохимическую активность несмотря на то, что они не влияют на них напрямую (Al-Ani et al., 2019).

В работе W. Edrees (2019) исследованы почвы, длительное время (более 20 лет) подвергавшиеся обработке пестицидами с различным механизмом действия. Показано, что активное применение 88 различных пестицидов на основе 27 активных ингредиентов привело к значительному снижению численности бактерий в почве, а также отразилось на ее плодородии. Негативное влияние азоксистробин оказывал на активность уреазы, протеазы, дегидрогеназы и почвенного дыхания при инкубации в почве в течение 14, 21 и 28 суток; уровень ингибирования зависел от дозы азоксистробина и продолжительности его воздействия (Guo et al., 2015).

С другой стороны, многие работы показывают, что применение фунгицидов в дозах, рекомендованных производителем, не приводит к снижению численности микроорганизмов в почве, а наоборот стимулирует их рост, так как активное вещество фунгицидов в этом случае является дополнительным источником питательных веществ (Baćmaga, 2019b; Torres et al., 2018; Alexandrino et al., 2020). Но в случае превышения рекомендованных доз, наблюдается снижение



численности микроорганизмов и их биохимической активности, а кроме того, изменяется видовой состав (Wang et al., 2018; Wang et al., 2020; Baćmaga, 2016; 2015; 2019b).

Стоит отметить, что восприимчивость микроорганизмов к пестицидам зависит не только от дозы активного вещества, но и от истории обработок почвы. В почвах сельскохозяйственного назначения, которые уже ранее обрабатывались пестицидами, снижение показателей менее выражено по сравнению с почвами, которые обрабатываются пестицидами впервые. Это связано с адаптацией почвенных микроорганизмов к используемым препаратам (Bending, 2007; Sułowicz, 2016; Shi et al., 2019).

Несмотря на негативный эффект от применения, внесение в почву дополнительных органических материалов может снизить отрицательное воздействие фунгицидов на почвенные микроорганизмы. Это было продемонстрировано в ряде работ М. Baćmaga и соавторов (Baćmaga et al., 2018, 2019a). Внесение в почву птичьего помета или компоста положительно сказалось на микробном сообществе, биохимическая активность почвы также возросла, это в свою очередь повысило скорость биodeградации тебуконазола в почве.

### **1.1.3 Влияние фунгицидных препаратов на растения**

Химические препараты для защиты растений, обладая системным действием, не только напрямую уничтожают патогенов или ограничивают их развитие, но также могут оказывать влияние на физиологические процессы в растениях, вызывая как ретардантное действие, так и стимулирующее. В некоторых исследованиях отмечается, что при обработке растений фунгицидами замедляется старение листьев и увеличивается продолжительность фотосинтеза, что способствует повышению урожайности. Описаны разные механизмы активного действия фунгицидов из разных классов. Например, фунгициды из класса стробилуринов (в т.ч. азоксистробин) снижают образование активных форм кислорода и ингибируют биосинтез этилена в меристемах, который ускоряет старение листьев пшеницы, а также активизируют нитратредуктазу,

улучшая азотное питание (Зубко, Долженко, 2023; Асхадуллин и др., 2020). Кроме того, предполагается наличие иммуностимулирующего действия азоксистробина, которое проявлялось в снижении восприимчивости растений картофеля к возбудителям альтернариоза и фитофтороза в течение 80 дней после обработки (Kuznetsova et al., 2009).

Триазолы могут повышать содержание фотосинтетических пигментов в растениях и концентрацию углекислого газа в клетках, ускоряют дифференциацию хлоропластов, способствуют накоплению крахмала. Обнаружено, что препараты тебуконазола способны повышать адаптацию яровой и озимой пшеницы к низким температурам за счет таких механизмов, как увеличение содержания абсцизовой кислоты или изменения окислительной активности митохондрий (Бурлакова и др., 2019; Побежимова и др., 2019; 2020). Обработка яровой пшеницы сорта Иволга фунгицидом Амистар Трио, содержащим комплекс пропиконазола, ципроконазола и азоксистробина, оказывала положительное действие на биохимическую активность растений: активизировала фотосинтез, нитратредукцию и скорость транспирации (Иванов и др., 2013). Протравливание семян пшеницы протиоконазолом стимулировало рост листовой пластинки, а в сочетании с тебуконазолом - увеличивалась длина корней (Бурлакова и др., 2019).

Итак, несмотря на обилие фактов, свидетельствующих о негативном воздействии пестицидов на окружающую среду, положительные эффекты от их применения весьма значительны, а значит нельзя от них полностью отказаться. Соблюдение норм и сроков внесения препаратов – обязательные меры, которые помогают снизить пестицидную нагрузку на агроэкосистемы. Кроме того, разрабатываются и внедряются новые технологии, позволяющие не только повысить эффективность применения пестицидов, но и снизить их токсическое действие.

## **1.2 Новые подходы в защите растений от фитопатогенных грибов**

### **1.2.1 Грибные болезни сельскохозяйственных культур**

Грибные инфекции являются серьезной проблемой для сельского хозяйства. В настоящее время известно около 8 000 видов микромицетов, которые способны инфицировать растения (Fisher et al., 2020). Заболевания, вызываемые микромицетами, приводят к снижению урожайности культурных растений, снижению качества продукции, многие микромицеты продуцируют микотоксины, опасные для здоровья человека (Panth et al., 2020).

Культурные растения являются благоприятным субстратом для развития различных фитопатогенных микроорганизмов, благодаря повышенному содержанию питательных веществ в них. Болезни могут развиваться на любой стадии роста растений, что требует постоянного контроля состояния посевов. Кроме того, заболевание может проявиться уже после уборки урожая, во время хранения. Потери урожая в период хранения могут даже превышать таковые в период роста.

Споры микромицетов могут длительное время сохраняться в жизнеспособном состоянии. Источниками распространения заболеваний являются зараженный семенной материал, растительные остатки на полях, зараженная почва, насекомые-переносчики и т.д. Отсутствие севооборота также способствует накоплению фитопатогенов в почве.

Для развития грибных инфекций требуются определенные условия окружающей среды. Обычно, это прохладная или теплая погода и высокая влажность. Микромицеты предпочитают низкие значения pH в почве. Растения, культивируемые в почвах с низким содержанием органических веществ, более подвержены грибным инфекциям. Внесение дополнительных органических удобрений позволяет снизить зараженность растений.

Для защиты растений от фитопатогенных микромицетов применяются различные методы, в том числе контроль качества семенного материала, подбор устойчивых к инфекциям сортов, севооборот, использование биологических

агентов и химических пестицидов для борьбы с возбудителями болезней и другие (Кузнецова и др., 2010). Однако, универсального метода, который бы обеспечил необходимый уровень защиты растений, был безопасен для окружающей среды и людей, которые потребляют конечный продукт, на данный момент, нет. Для достижения необходимого результата требуется сочетание нескольких подходов (Назаров, 2020; Павлюшин, Постовалов, 2022; Наq, 2020; Mihajlović et al., 2017; Fiers et al., 2012; Kapsa, 2008; Secor, 1999).

Применение химических средств – фунгицидов – наиболее эффективный метод защиты растений. Обработка растений фунгицидами для защиты от фитопатогенов включает в себя целый комплекс мероприятий. Большая часть из них направлена на профилактику развития заболевания. Обработка начинается еще до посева – предпосевная обработка семенного материала. Во время вегетационного периода также проводятся обработки фунгицидами, обрабатывают и почву, и сами растения. Для каждого заболевания подбираются свои препараты, методы обработки, схемы внесения и др. Только в этом случае возможна эффективная защита растений (Белов, 2022; Кекало, 2020; Щеголихина, 2020).

Главное условие эффективной защиты растений от фитопатогенов – это поддержание необходимой концентрации фунгицида в течение всего вегетационного периода. В связи с этим обработка фунгицидами проводится в течение сезона несколько раз, даже в случае использования технологий, направленных на снижение объемов использования химических пестицидов.

### ***Болезни зерновых культур***

Пшеница является самой возделываемой сельскохозяйственной культурой в России, второе место занимает ячмень. Так, в 2019 г. посевы пшеницы и ячменя занимали 35,2 % и 11,0 % в структуре всех посевных площадей страны (Золкин и др., 2021; Шалаева, 2023). Наиболее значимые и распространенные фитопатогены зерновых культур относятся к возбудителям корневых гнилей – это представители родов *Fusarium*, *Bipolaris* и *Alternaria* (Шабатуков, 2022; Торопова, 2021; Келер и др., 2022; Дорофеева, Шкаликов, 2007). В работе К.В. Кукушкиной и соавт. (2021)

было показано, что на территории Красноярского края среди перечисленных фитопатогенов преобладали *Bipolaris sorokiniana*, далее следовали *Fusarium*, на третьем месте – *Alternaria*. Потери урожая вследствие развития грибных инфекций могут составлять 15-20 %, а в некоторых случаях достигать до 50 % (Figueroa et al., 2018; Желтова, Долженко, 2017; Жилияков и др., 2020).

К роду *Fusarium* относится большое количество видов, различающихся по биологическим признакам. Среди представителей рода встречаются как фитопатогенные виды, так и виды, относящиеся к постоянным представителям микрофлоры почвы и растений (Гагкаева, Гаврилова, 2009; Мехдиев, 2013; Павлюшин, 2017; Торопова и др., 2019а, б). Фузариоз поражает вегетативные и генеративные органы растения. Симптомами фузариозной болезни являются бурые удлиненные пятна, расплывчато переходящие в здоровую ткань. Сначала пятна появляются на листовом влагалище, у основания побегов, а затем переходят и на стебель. Пятна могут разрастаться и окольцовывать стебель, что приводит к загниванию корней. На пораженных стеблях образуется колос со щуплым зерном или без зерна. Симптомы могут отличаться в зависимости от вида гриба, вызвавшего заболевание. Грибы рода *Fusarium* способны долгое время сохранять жизнеспособность и заражать большое количество семян благодаря образованию большого количества спор. Фузариевые грибы проникают в ткани зерновки и могут локализоваться как в оболочке, так и в эндосперме. Зараженное зерно характеризуется низкой всхожестью (Гагкаева, Гаврилова, 2009).

Также многие виды грибов рода *Fusarium* способны продуцировать микотоксины – токсичные метаболиты, относящиеся к различным видам химических соединений. Токсины грибов данного рода довольно стойкие соединения, способные долгое время сохраняться в продуктах питания. Постоянное потребление их в пищу приводит к ухудшению здоровья, особенно у детей (Мехдиев, 2013). По данным Е. Ю. Тороповой и соавт. (2019) на территории Западной Сибири распространение фузариевых грибов рода близко к 100 %, а зараженность зерна достигала 70%. Кроме того, партии зерна были загрязнены микотоксинами, в некоторых случаях выявлены превышения их ПДК.

Альтернариозы – заболевания растений, вызываемые фитопатогенными грибами рода *Alternaria* (Аубакирова, 2013; Ганнибал, 2010). Грибы рода *Alternaria* (преимущественно сапрофиты или факультативные паразиты) широко распространены в природе. Альтернариозы поражают многие сельскохозяйственные культуры и проявляются в виде пятнистостей, гнилей, налетов и т. д. На злаках они вызывают черный зародыш зерна. Заболевание практически повсеместно распространено в районах с теплым и засушливым климатом. Вредоносность данного заболевания обусловлена снижением фотосинтетической поверхности листьев, плесневением плодов и семян, уменьшением урожая и загрязнением сельскохозяйственной продукции микотоксинами и аллергенами (Торопова и др., 2015, 2021). Исследованиями ряда авторов показана высокая зараженность зерна альтернариозом (более 70 %) и микотоксинами (Орина и др., 2020; Гаврилова и др., 2021).

Возбудителем гельминтоспориозной корневой гнили является *Bipolaris sorokiniana* (Желтова, 2017). Болезнь характерна для злаковых культур. Возбудители в почве сохраняются на инфицированных растительных остатках, на поверхности и внутри семян. В течение вегетационного сезона инфекция распространяется при помощи конидий воздушно-капельным путем. Гельминтоспориоз характеризуется следующими симптомами: побурение coleoptilya на проростках и всходах, пожелтение и деформация листьев, общим угнетением растений; у взрослых растений – загнивание, побурение и почернение корней, узла кущения и приземной части стебля. На листьях образуются светло-бурые пятна, вытянутые вдоль пластинки. Растения отстают в росте, наблюдается гибель продуктивных стеблей, иногда зерна в колосе буреют, сморщиваются (Орина и др., 2020; Гаврилова и др., 2021). Грибы *B. sorokiniana* являются одним из основных возбудителей корневых гнилей на территории Сибири (Торопова и др., 2022; Кукушкина и др., 2021).

Для защиты зерновых от фитопатогенных грибов применяется широкий спектр фунгицидных препаратов. В Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской

Федерации, включено более 100 наименований фунгицидов с различными действующими веществами. Наиболее широко представлены фунгициды на основе азолов, такие как тебуконазол, дифеноконазол, пропиконазол, тетраконазол, эпоксиконазол, а также такие фунгициды как карбендазим, азоксистробин и др. (Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, 2022; Крупенько, 2023).

### ***Болезни картофеля***

Картофель является важной сельскохозяйственной культурой. По объемам производства в мире он находится на 4-м месте после пшеницы, риса и кукурузы (Devaux et al., 2014). В России в 2021 г. валовой сбор картофеля составил 18,0 млн тонн (Кузьмицкая и др. 2023). Картофель подвержен заболеваниям как в течение вегетации, так и при хранении. Из 160 различных заболеваний картофеля, около 50 вызываются фитопатогенными грибами (Кузнецова, 2007; Singh, Singh, 2018).

*Phytophthora infestans* – наиболее распространенный и опасный из возбудителей болезней картофеля; вызывает фитофтороз. Болезнь проявляется в виде светло-зеленых водянистых пятен по краям листьев, которые в дальнейшем переходят в некротические пятна. На нижней стороне листа на границе некротических пятен наблюдается появление белого налета – спороношения. Фитофтороз поражает листья, стебли и клубни картофеля. Заражение клубней происходит как на этапе формирования, так и в течение всего периода развития и созревания клубней (Кузнецова и др., 2020). Заболевание развивается при высокой влажности, оптимальная температура 16-24 °С. Растения наиболее восприимчивы к фитофторозу через 1-2 недели после цветения. Основным источником инфекции является зараженный семенной материал, но споры фитопатогена могут попасть на картофель с сорных растений, зараженных фитофторозом, из зараженной почвы, сельскохозяйственного инструмента и др.

Потери урожая вследствие развития фитофтороза могут достигать 100 %. Для защиты растений от фитофтороза используются различные методы – отбор качественного семенного материала, использование устойчивых сортов,

применение фунгицидов и биоконтрольных агентов. Однако, наиболее эффективным и распространенным методом остается химическая защита (Adolf et al. 2020; Berhan, 2021; Lal et al., 2018; Singh, Singh; 2018).

*Alternaria solani* – возбудитель альтернариоза картофеля – вторая по значимости причина потерь урожая картофеля после фитофторы. Потери урожая вследствие развития альтернариоза в разных странах варьируют от 2 до 58 %. Болезнь развивается при высокой влажности и температуре (26,6-29,4 °C). В первую очередь поражаются более старые ослабленные листья. На листьях появляются темные пятна, окруженные светлым ореолом. Далее наблюдается распространение инфекции, которое приводит к гибели листа, черешка и стебля. Поражение клубней приводит к их загниванию (Jain et al., 2019). Патоген зимует в загрязненных тканях растений и распространяется с дождем, поливом, насекомыми и садовыми инструментами. Основным способ передачи – зараженные клубни (Adolf et al., 2020). Основным возбудителем болезней картофеля является *A. solani*, однако и другие виды вызывают развитие болезни, например, *A. alternata* (Zhao et al., 2018). На разных территориях могут преобладать разные виды-возбудители, кроме того, многие виды данного рода могут вызывать развитие вторичной инфекции, поражая уже зараженные другими заболеваниями и ослабленные растения (Orina et al., 2010). Кроме прямых потерь урожая патоген влияет на всхожесть семенного материала (скрытая инфекция), а также приводит к загрязнению сельскохозяйственной продукции микотоксинами, которые могут быть опасны для человека.

*Rhizoctonia solani* патоген представителей различных семейств сельскохозяйственных растений, в том числе пасленовых (табак, картофель). Симптомы у различных хозяев включают гниль семян, корневую гниль, гипокотильную гниль, корончатую гниль, гниль стеблей, стручковую гниль, язву стеблей, черную паршу, гниль рассады, а также затухание до и после появления всходов (Ajayi-Oyetunde et al., 2018).

*R. solani* – возбудитель черной парши картофеля. Ризоктониоз распространен во всех районах картофелеводства. Болезнь наносит наибольший



вред в регионах с холодной длинной весной. Гриб хорошо сохраняется в почве в виде мицелия или склероциев. Для развития гриба благоприятна почва с высоким содержанием гумуса, высокая влажность и прохладная погода (Кузнецова и др., 2017; Singh, Singh, 2018). Ризоктониоз, связанный с развитием вида *R. solani*, является одним из доминирующих на территории Сибири (Пилипова, 2019).

Представители рода *Fusarium* являются возбудителями таких заболеваний картофеля как фузариозное увядание и сухая гниль картофеля. Фузариозное увядание поражает картофель, помидоры и другие пасленовые. Листья и стебли зараженных растений теряют упругость, становятся светло-зелеными, зеленовато-желтыми, коричневыми и, наконец, разрушаются и отмирают. Повреждение клубней приводит к развитию сухой гнили картофеля при хранении. Очень часто фузариозные инфекции не проявляют симптомов и развиваются уже после закладки картофеля на хранение, что приводит к потере урожая. Также скрытая инфекция влияет на всхожесть семенных клубней. Споры распространяются через почву, растительный мусор и семена, и их трудно удалить с зараженных полей и растений (Пересыпкин, 1989).

К возбудителям заболеваний картофеля относятся следующие виды: *F. oxysporum*, *F. graminearum*, *F. solani*, *F. redolens*, *F. sambucinum* и др. Очень часто их бывает трудно отличить друг от друга, основываясь только на симптомах заболевания и морфологических особенностях возбудителя. Для каждой территории и вида растения-хозяина характерен один основной возбудитель заболевания, остальные виды выделяются в незначительных количествах и являются возбудителями вторичной инфекции уже пораженных или ослабленных растений. Чаще всего возбудителями заболеваний картофеля являются *F. oxysporum* и *F. solani* (Соколова, 2019; Хадиева и др., 2018).

Также стоит отметить, что представители рода *Fusarium* являются продуцентами микотоксинов. Употребление в пищу зараженного картофеля может привести к различным проблемам со здоровьем (Левитин, Джавахия, 2020; Fraeyman et al., 2017).

В Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории РФ, против грибных болезней картофеля входят 53 фунгицида, из них для предпосадочной обработки клубней – 12; для обработки почвы перед посадкой – 3; для обработки вегетирующих растений – 37; для обработки клубней перед закладкой на хранение – 1 (данные на 2022 год). Список коммерческих препаратов включает более 100 наименований фунгицидов от различных производителей. Большая часть предназначена для борьбы с такими заболеваниями, как фитофтороз, альтернариоз и ризоктониоз. В состав фунгицидов для защиты картофеля чаще всего входят следующие активные вещества: азоксистробин, дифеноконазол, мандипропамид, манкоцеб, пропинеб, тиабендазол, тирам, фамоксадон, флуазинам, флудиоксонил, хлороталонил, имидаклоприд (Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, 2022).

### **1.2.2 Системы контролируемой доставки пестицидов**

Интенсивное развитие сельского хозяйства требует разработки новых способов защиты растений от патогенных микроорганизмов, сорных растений и других вредителей. Это связано с появлением резистентности у организмов мишеней, необходимостью использования безопасных для окружающей среды веществ, поиском более эффективных субстанций и новых способов их доставки (Thind, 2021).

Системы контролируемой доставки препаратов, или системы адресной доставки, – это препаративная форма, которая содержит активное вещество препарата, депонированное каким-либо образом в инертную основу, или матрикс. Такие системы обеспечивают контролируемый выход активного вещества в окружающую среду за счет постепенного высвобождения из матрикса и способствуют пролонгированному действию, что повышает эффективность системы (Березненко и др., 2015; Li et al., 2021). Основа препарата защищает активное вещество от влияния внешних факторов, которые могут привести к его быстрой инактивации или деградации. Увеличенная длительность действия

препаратов позволяет уменьшить количество обработок, что снижает пестицидную нагрузку на окружающую среду (Волова и др., 2016; Campos, 2014; Kumar et al., 2019; Ashitha, 2020).

Пролонгированные формы препаратов находят применение в сельском хозяйстве для доставки минеральных удобрений и пестицидов. В зависимости от формы препаратов выделяют гранулы, таблетки (пеллеты), пленки, микроразмерные формы (микрокапсулы, микрочастицы, микросферы), а также наноразмерные (нанокапсулы и наносферы, не превышающими 1 мкм). Эти препараты отличаются техникой производства, что отражается на характере распределения активного вещества в форме и скорости его выхода (Roy, 2014; Волова и др., 2016; Rakhimol et al., 2020).

Основой для конструирования систем контролируемой доставки препаратов могут быть вещества различной природы:

- неорганические соединения (кремнезем, цеолиты, оксиды металлов и т.д.);
- сложные полимеры природного происхождения - полисахариды (целлюлоза, агароза, альгинат, крахмал, хитозан и др.), белки (желатин, альбумин), липиды;
- синтетические полимеры (полистирол, полиакриламид, полиамиды, полиэфиры, полиуретаны, amino-альдегидные смолы) (Kumar et al., 2019; Li et al., 2021).

Важными свойствами для веществ, используемых в качестве основы для депонирования, является их совместимость с действующим веществом препарата, способность к деградации, нетоксичность самих материалов и продуктов их распада. В зависимости от скорости деградации основы будет варьироваться и скорость выхода активного вещества.

Активное вещество и материал, используемый для депонирования, могут быть связаны посредством химических связей или же могут не иметь между собой таких связей, представляя собой физическую смесь. Образование химических связей между активным веществом и матриксом приводит к появлению нового вещества, которое может приобретать совершенно иные свойства, обладать более высокой эффективностью или, наоборот, терять свои полезные качества. Высвобождение активного вещества из таких препаратов

происходит за счет разрушения химических связей под действием различных внешних факторов, в том числе УФ-излучения, температуры, pH-среды, влажности и др. Все это требует проведения дополнительного исследования полученных форм препаратов (Dubey, 2011; Волова и др., 2016; Huang et al., 2018; Rakhimol et al., 2020).

Физическая комбинация компонентов в смесях делает их более простыми для конструирования и применения. Выход активного вещества осуществляется за счет его диффузии из основы для депонирования. Контроль выхода можно осуществлять, варьируя дозировку активного вещества в препарате, а также путем подбора соответствующего материала для основы с учетом скорости его деградации. Благодаря простоте создания таких систем и возможности варьирования скоростью выхода активного вещества в широких пределах системы доставки препаратов на основе физической комбинации находят широкое применение на практике (Волова и др., 2016).

Ключевым фактором в создании пролонгированных пестицидов является материал для депонирования активного вещества. Наиболее подходящими материалами являются биоразрушаемые полимеры, основное преимущество которых – это способность к постепенной деградации в окружающей среде под действием разных факторов, в том числе ферментов микроорганизмов. Биоразрушаемые полимеры могут быть как синтетическими (полигликолид, поликапролактон, полиуретан), так и природного происхождения (хитозан, крахмал, альгинат, целлюлоза, лигнин, полилактид, полигидроксиалканоаты) (Campos, 2014; Kashyap, 2015; Mujtaba et al., 2020; Pang et al., 2019; Singh et al., 2013; Volova et al., 2018; Yusoff et al., 2016).

Скорость высвобождения активного вещества можно регулировать благодаря вариабельности свойств полимеров, а также за счет применения различных техник изготовления, препаративных форм и комбинаций полимеров (Puosi et al., 2008). Лигнин часто используется в комбинации с другими полимерами, что позволяет регулировать скорость деградации препаратов и выход активного вещества (Chowdhury, 2014; Sipponen et al., 2019).

Системы контролируемой доставки применяются для депонирования разных типов пестицидов – инсектицидов, гербицидов, фунгицидов. Разработан наноэмульсионный препарат инсектицида лямбда-цигалотрина, депонированного в основу из полиуретана (Qin et al., 2017), наночастицы и микрокапсулы лямбда-цигалотрина на основе полилактида в качестве носителя (Shen et al., 2018), которые показали хорошие адгезивные свойства, стабильный выход действующего вещества и продолжительный инсектицидный эффект в отношении личинок капустной моли (Liu et al., 2016). Инсектицидные микрокапсулы на основе крахмала с авермектином обеспечивали контролируемое высвобождение авермектина в течение 2 недель (Li et al., 2016); стабильные микрокапсулы инсектицидного препарата ацетамиприда были сконструированы на основе альгината и хитозана (Kumar, 2015); имидаклоприд, депонированный в основу из лигнина с полиэтиленгликолем в оболочке из этилцеллюлозы, обладал пролонгированным инсектицидным эффектом и не уступал по эффективности препаратам в свободной форме (Flores-Céspedes et al., 2012).

Для контроля сорных растений были изготовлены наночастицы на основе сополимера полилактид-*ко*-гликолид, нагруженные атразином, которые обеспечивали постепенный выход активного вещества из препаративной формы (Chen et al., 2019). В качестве основы для депонирования гербицида метрибузина был использован поли( $\epsilon$ -капролактон); показано, что скорость деградации полимерной основы и высвобождения метрибузина зависели от концентрации активного вещества в форме (Boyandin et al., 2021). Системы с контролируемым высвобождением гербицидов хлоридозона и метрибузина были сконструированы на основе лигнина в комбинации с полиэтиленгликолем и покрыты этилцеллюлозой или дибутилсизабацинатов. Полученные препаративные формы поддерживали концентрацию гербицидов на необходимом для их работы уровне более продолжительное время и оказывали на почвы меньший выщелачивающий эффект по сравнению с гербицидами в свободной форме (Flores-Céspedes et al., 2018).

Что касается фунгицидных препаратов, исследованиями ряда авторов показана перспектива разработки и внедрения депонированных форм фунгицидов с использованием разных типов полимеров в качестве основы.

В работе С. Ху и соавт. (2021) было показано, что гидрогель на основе карбоксиметилхитозана, нагруженного фунгицидом протиоконазолом (22,17 %), снижает скорость роста фитопатогенного гриба *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* в условиях *in vitro*. В другом исследовании были разработаны нанокapsулы хитозана и триполифосфата, содержащие фунгицид гексаконазол; препарат в нанокapsулах эффективно замедлял высвобождение гексаконазола в сравнении с его коммерческой формой, а также проявлял фунгицидную активность против *R. solani*. Цитотоксичность нанокapsул оказалась ниже, чем у коммерческого препарата (Chauhan et al., 2017). Наночастицы на основе хитозана, нагруженные гексаконазолом, были получены в работе F.N. Maluin и соавт. (2019). Ингибирующее действие наночастиц на рост гриба *Ganoderma boninense* было на одном уровне с чистым гексоконазолом и усиливалось с уменьшением радиуса наночастиц.

Полученные в работе R. Kumar и соавт. (2022) наночастицы на основе хитозана и карагинана, содержащие манкоцеб, также эффективно подавляли развитие фитопатогенных грибов *Alternaria alternata*, *A. solani*, *Sclerotinia lycopersici* и *S. sclerotiorum* в экспериментах *in vitro*. В лабораторном эксперименте всхожесть и биомасса растений томата и картофеля после обработки наночастицами были выше, чем при обработке коммерческим препаратом манкоцеба. Кроме того, цитотоксичность наночастиц манкоцеба была ниже на клеточных линиях Vero, чем коммерческая форма фунгицида.

Фунгицидные микросферы дифеноконазола и азоксистробина (7,2 мкм) были получены с использованием смеси полимеров полилактида с полибутиленсукцинатом. Депонированная форма фунгицидов показала более длительный период высвобождения, чем соответствующий суспензионный концентрат дифеноконазол-азоксистробин. Также микросферы были менее токсичны в отношении рыбок данио (Wang et al., 2018).

В работе Т.О. Machado и соавт. (2020) были получены наночастицы (200-300 нм) на основе лигнина с четырьмя различными фунгицидами: азоксистробином, тебуконазолом, пираклостробином и боскалидом. Полученные наночастицы были протестированы в отношении дереворазрушающих грибов *Phaeomoniella chlamydospora* и *Phaeoacremonium minimum*, вызывающих болезнь ствола виноградной лозы. Однократная инъекция фунгицидных наночастиц в ствол тестового растения винограда показала эффективность в течение 4 лет.

В работе J. Feng и соавт. (2019) были сконструированы микрочастицы на основе крахмала и альгината с использованием хлорида кальция в качестве сшивающего агента. Активные ингредиенты – фунгицид металаксил и биоконтрольный агент, споры нетоксигенного штамма гриба *Aspergillus flavus*. Микрокапсулы обеспечивали пролонгированное высвобождение фунгицида и спор из полимерной основы. Добавление в препаративную форму каолина или порошка рисовой шелухи увеличивало продолжительность высвобождения активных компонентов в фосфатном буфере.

При разработке депонированных форм пестицидов часто используются комбинации полимеров и композитные составы для улучшения физико-химических свойств полученных препаративных форм и лучшего контроля биodeградации. Кроме того, приходится использовать довольно сложные методы инкапсулирования. Это связано с малой вариабельностью свойств таких полимеров, что мешает регулировать скорость их деградации, а значит и скорость высвобождения активного вещества. В качестве альтернативных материалов основы для депонирования и создания агропрепаратов с контролируемым выходом, могут быть использованы полигидроксиалканоаты (ПГА). Они обладают различными физико-механическими свойствами в зависимости от химического состава и способа переработки в изделия. ПГА – это полимеры природного происхождения, которые могут полностью разлагаться в окружающей среде под действием ферментов микроорганизмов, не нанося вред окружающей среде (Волова, 2014; Волова и др., 2016).

## 1.3 ПГА как основа для депонирования пестицидов

### 1.3.1 Характеристика свойств ПГА

Полигидроксиалканоаты (ПГА) – это линейные полиэфиры, синтезируемые микроорганизмами в условиях несбалансированного роста. ПГА – резервные макромолекулы клетки, синтезирующиеся при недостатке биогенных веществ, например, азота или фосфора. Синтезировать полигидроксиалканоаты, способны различные виды бактерий из родов *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Cupriavidus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodospirillum* и др. ПГА накапливаются в клетках бактерий в виде гранул. В зависимости от условий культивирования, субстрата и вида продуцента в клетке может накапливаться различное количество полимера, до 90 % от массы клетки (Vaishnav, Choudhary, 2021).

Наиболее изученным и доступным полимером среди ПГА является поли(3-гидроксibuтират), или П(ЗГБ). По своим свойствам полимер близок к таким термопластичным материалам, как полипропилен или полиэтилен. Он обладает высокой температурой плавления (160-180 °С), высокой кристалличностью (около 60 %), температура стеклования от -4 до 15 °С, предел прочности при растяжении 35 МПа, модуль упругости Юнга 3,5 ГПа, плотность 1,25 г/см<sup>3</sup> и относительное удлинение при разрыве 10 %. В то же время, П(ЗГБ) обладает такими свойствами как биodeградируемость и биосовместимость (Sreedevi et al., 2014; Koller, 2020).

П(ЗГБ) используется микроорганизмами в качестве экзогенного источника углерода и энергии. Деструкция П(ЗГБ) осуществляется экзodeполимеразами, синтезируемыми бактериями и грибами. Дeполимеразы стабильны по отношению к рН (7,5-9,8), температуре и ионной силе среды; они состоят из одного полипептида, молекулярная масса менее 100 кДа. Активность дeполимераз подавляется при наличии в среде доступных источников углерода (Гоготов, 2012; Bugnicourt et al., 2014).

Среди микроорганизмов-деструкторов П(ЗГБ) есть как бактерии, так и грибы. Распространены они повсеместно: в почве, морской и речной воде, активном иле, могут осуществлять данный процесс, как в аэробных, так и



анаэробных условиях. Наиболее часто встречаются среди бактерий-деструкторов представители следующих родов: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Comamonas*, *Rhodococcus*, *Rhodocyclus*, *Syntrophomonas*. Среди грибов способность к деградации П(ЗГБ) проявляют виды родов *Penicillium*, *Purpureocillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Gongronella*, *Acremonium*, *Verticillium*, *Zygosporium* и другие. В окружающей среде (почвы, водоемы) способностью к деструкции П(ЗГБ) обладает от 0,5 до 9,6 % микроорганизмов, что определяется наличием ферментов гидролаз и деполимераз. В то же время, в присутствии П(ЗГБ) повышается численность микроорганизмов в почве, так как данный полимер является субстратом для роста многих микроорганизмов, в том числе ассимилирующих мономеры и производные П(ЗГБ) (Altaee et al., 2016). Таким образом, продукты распада полимера не загрязняют окружающую среду, а полностью утилизируются почвенными микроорганизмами до углекислого газа и воды. Скорость деградации П(ЗГБ) зависит от многих факторов:

- физико-химические свойства (молекулярная масса, кристалличность),
- способ переработки в изделия (расплав, испарение растворителя, прессование),
- геометрия образцов (пленки, гранулы, таблетки, филаменты, микрочастицы),
- условия внешней среды (температура, влажность, pH),
- микробиологические показатели (численность микробиоты, набор и разнообразие микроорганизмов-деструкторов) (Бояндин и др., 2012; Dey et al., 2018; Saini, 2017; Sudesh et al., 2000).

С учетом этих факторов можно регулировать скорость деградации изделий из П(ЗГБ), изменяя свойства полимера за счет варьирования условий синтеза, подбирая форму, размер изделия и способ его изготовления, создавая благоприятные условия для развития микроорганизмов-деструкторов.

Скорость деградации также можно регулировать и путем добавления к полимеру других биodeградируемых материалов – наполнителей (филлеров). В работе S. A. Casarin и соавт. (2017) установлено, что образцы П(ЗГБ) в смеси с древесными опилками или сизалевым волокном разрушались быстрее, чем чистого П(ЗГБ). Так, через 60 дней эксперимента масса трубок из чистого П(ЗГБ)

уменьшилась на 4%, а через 90 дней – на 11 %, тогда как масса трубок из смеси П(ЗГБ) с другими материалами уменьшилась на 25 % за 60 дней, а через 90 дней трубки полностью разрушились.

В работе Н. Oliver-Ortega и соавт. (2023) была продемонстрирована возможность использования композитных материалов на основе П(ЗГБ) и растительных волокон, полученных из соломы ячменя. Композитные изделия, полученные методом литья под давлением, показали улучшенную водопоглощающую способность и пластичность.

Смеси П(ЗГБ) и природных материалов-наполнителей (глина, торф и березовые опилки) были использованы для изготовления гранул и прессованных форм (пеллет). Исследования биodeградации композитных гранул и пеллет в почве в течение 35 суток показали, что добавление торфа ускоряло процесс распада образцов в 1,2-1,5 раза, тогда как глина и опилки слабо повлияли на скорость деградации (Thomas et al., 2020).

Приведенные в литературе сведения показывают, что ПГА в целом и П(ЗГБ) в частности являются перспективными материалами в качестве основы для депонирования пестицидов и их адресной доставки.

### 1.3.2 Применение ПГА в сельском хозяйстве

В литературе представлено несколько работ об использовании ПГА для создания депонированных форм пестицидов, в которых авторы подтверждают эффективность таких препаратов для защиты растений от фитопатогенов, сорняков и насекомых-вредителей. Первые работы были опубликованы еще в начале 2000-х гг., однако это научное направление получило развитие после 2010 года. Так, биоразлагаемые пленки из П(ЗГБ), нагруженные фунгицидами ронилан (действующие вещества азоксистробин и дифеноконазол) и сумилекс (д.в. процимидон), снижали численность фитопатогенного гриба *Botrytis cinerea* в тепличной почве в лабораторных условиях (Savenkova et al., 2002).

Бразильский научный коллектив R. Grillo и соавт. (2010, 2011), F.A. Lobo и соавт. (2011) сконструировали микрокапсулы из поли(3-гидроксипропиридата)

[П(ЗГБ)] и поли(3-гидроксibuтират-*co*-3-гидроксивалерата) [П(ЗГБ-*co*-ЗГВ)] с гербицидами атразином и аметрином. Эффективность инкапсуляции атразина составляла около 32 %, аметрина – от 34,3 до 38,2 % для П(ЗГБ) и П(ЗГБ-*co*-ЗГВ), соответственно. Полученные микрокапсулы обеспечивали замедленное и равномерное высвобождение гербицидов *in vitro*. Микрокапсулы П(ЗГБ-*co*-ЗГВ) с атразином обладали меньшей генотоксичностью по сравнению со свободной формой препарата в отношении салата латука (*Lactuca sativa*).

Микрокапсулы, нагруженные гербицидом трифлуралином, были получены на основе П(ЗГБ-*co*-4ГБ), нагрузка препарата составила 16,5 %, эффективность инкапсуляции – 90,65 %. Полученные препараты показали способность к замедленному и равномерному высвобождению активного вещества, обладали хорошей фотостабильностью и гербицидной активностью по отношению к сорняку *Echinochloa crus-galli* (Cao et al., 2019).

Эффективность высвобождения инсектицида малатиона, загруженного в микросферы, изготовленные из чистых полимеров, поли(3-гидроксibuтирата) и поли(ε-капролактона) (ПКЛ), и смесей этих полимеров в соотношении 70/30, 80/20, 90/10, 95/5 и 97/3, была исследована *in vitro*. Анализ показал, что скорость высвобождения увеличивалась с ростом содержания ПКЛ в смеси, что указывает на возможность регуляции процесса выхода действующего вещества из микросфер (Suave et al., 2010). В работе С. Zhang и соавт. (2019) получили микросферы из поли(3-гидроксibuтирата-*co*-3-гидроксигексаноата), нагруженные инсектицидом бупрофезином (нагрузка пестицида 15,68 % и эффективность инкапсулирования 78 %). Полученные микросферы доказали свою эффективность в отношении насекомого-вредителя оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum*, но в тоже время оказались не токсичны для нецелевого организма – рыбок данио *Danio rerio*.

П(ЗГБ) успешно применялся для разработки систем доставки удобрений. Использование П(ЗГБ) в смеси с наполнителями позволяет более эффективно контролировать выход удобрений из полимерной основы (Daitx, 2019; Souza et al., 2019). В работе J. de Carvalho Arjona и соавт. (2021) были созданы

биodeградируемые микрокапсулы на основе П(ЗГБ) или композитов П(ЗГБ) с глиной для доставки мочевины. Было показано, что микрокапсулы обеспечивали контролируемое высвобождение мочевины в почве. Микрокапсулы на основе композита разрушались быстрее, чем препараты с чистым П(ЗГБ).

В работе Т. Voinova и соавт. (2019) П(ЗГБ) был использован как основа для депонирования белка *MF3*, который используется для защиты растений от фитопатогенов в качестве альтернативы химическим фунгицидам. Однако белок быстро разрушается в окружающей среде под действием УФ-излучения и ферментов микроорганизмов. Депонированная форма белка *MF3* обладала не только пролонгированным действием, но и была более устойчива к действиям окружающей среды. В модельном эксперименте с растениями пшеницы и фитопатогеном *Parastagonospora nodorum* эффективность таких форм оказалась выше по сравнению со свободной формой препарата: 41,5 % и 28,9 %, соответственно (Voinova et al., 2019).

Биоразлагаемые фунгицидные мульчирующие пленки были изготовлены из сополимера поли(3-гидроксibuтират-*co*-4-гидроксibuтирата), нагруженного протиоконазолом в концентрации от 1,73 до 37,32 % (Chen et al., 2021). Полученные пленки показали эффективность в борьбе с патогеном арахиса *Sclerotium rolfsii*. При оптимальном содержании фунгицида (1,73-3,75 %) пленки ингибировали почвенные заболевания и благоприятно влияли на рост арахиса. Длина корней, стеблей и масса растений была выше при внесении фунгицидной мульчи по сравнению с отрицательным контролем.

В работах научного коллектива Сибирского федерального университета представлены результаты исследований фунгицидных и гербицидных препаратов, депонированных в биоразрушаемую основу из П(ЗГБ). Препаративные формы в виде пленок, пеллет, гранул и микрочастиц, нагруженных гербицидом метрибузином, показали пролонгированный выход действующего вещества (Volova et al., 2016a). Прессованные формы (пеллеты), содержащие 25 % метрибузина, подавляли рост тестового растения полевицы (*Agrostis stolonifera*) in

*vitro*, сопоставимо с коммерческим гербицидом Зеллек Супер и свободной формой метрибузина (Boyandin et al., 2016).

Депонированные формы фунгицида тебуконазола (П(ЗГБ)/ТЕБ) были изготовлены в виде пленок и пеллет, содержащих 25 % фунгицида. Препараты постепенно разрушались в почвенных микросистемах: пленки разрушились на 60 %, пеллеты – на 40 % в течение 35 суток. За это время выход тебуконазола из пленок составил около 60 %, из пеллет – 36 %. Депонированные формы П(ЗГБ)/ТЕБ подавляли рост мицелия грибов *Fusarium fujikuroi* (ранее – *Fusarium moniliforme*) и *F. solani* на питательной среде в чашках Петри (Volova et al., 2016b). Фунгицидные пленки и гранулы, нагруженные тебуконазолом на 25 %, подавляли рост грибов рода *Fusarium* в почве и снижали заболеваемость яровой пшеницы сорта Алтайская 70 корневыми гнилями в лабораторных опытах. Фунгицидное действие депонированной формы П(ЗГБ)/ТЕБ было сопоставимо с действием коммерческого препарата Раксил Ультра (Volova et al., 2018).

Анализ литературы показал, что П(ЗГБ) обладает всеми необходимыми свойствами для его использования в качестве основы для депонирования пестицидов. Среди других типов полимеров его выделяют такие преимущества, как полная биodeградируемость, возможность изготовления разных препаративных форм и комбинирования с другими полимерами и природными материалами. В то же время, свойства и эффективность большинства разработанных пестицидных форм, депонированных в ПГА, исследованы преимущественно в лабораторных экспериментах. Таким образом, имеется существенный пробел в понимании того, насколько эффективно депонированные препараты будут защищать сельскохозяйственные культуры от патогенов в полевых условиях и насколько длительным будет их действие в природной среде.

## Глава 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1 Объекты исследований

Объектами исследования являлись фунгицидные препараты, депонированные в биоразрушаемую основу из микробного полимера, поли(3-гидроксibuтирата) [П(ЗГБ)], и доступных наполнителей (филлеров) природного происхождения – глина, торф и опилки.

#### 2.1.1 Фунгициды

В состав препарата входили системные фунгициды, рекомендованные для защиты растений от возбудителей грибных инфекций и относящиеся к разным химическим классам: тебуконазол, эпоксиконазол и дифеноконазол – класс триазолы, азоксистробин – класс стробилурины, мефеноксам – класс фениламиды (рисунок 2.1). Фунгициды были приобретены в фирме Xi'anTai Cheng Chem Co., Ltd. (Китай).

Тебуконазол (ТЕБ) – ингибитор синтеза стерина, отличается специфичным эффектом против всех видов ржавчины зерновых культур. При опрыскивании растений, защищает их от болезней в течение 3 недель. Последняя обработка разрешена за 30 дней до уборки урожая. Тебуконазол может оказывать регуляторное действие на рост растений. При обработке семян он эффективно подавляет головневые грибы, а также возбудителей корневых гнилей и плесневения семян. Относится к третьему классу опасности для человека по ингаляционной токсичности (Галлямова, 2014).

Эпоксиконазол (ЭПОК) имеет широкий спектр действия, высокоэффективен против возбудителей мучнистой росы, ржавчины, пятнистостей колоса и листьев зерновых культур. Данный фунгицид характеризуется быстрым началом продолжительного действия (3-6 недель), активностью при холодной и влажной погоде. Обладает как профилактическим, так и искореняющим действием. Применяется для борьбы с заболеваниями яровой и озимой пшеницы, ячменя ярового (Галлямова, 2014).

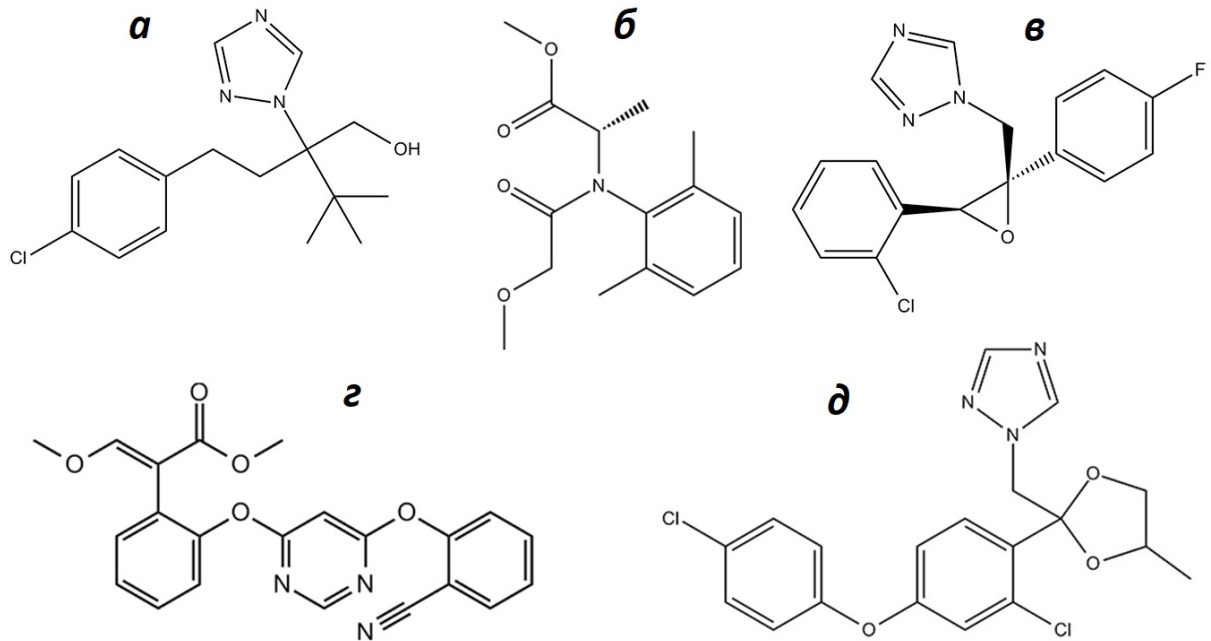


Рисунок 2.1 – Структурные формулы фунгицидов: *а* – тебуконазол, *б* – мепеноксам, *в* – эпоксиконазол, *г* – азоксистробин, *д* – дифеноконазол (по Галлямова, 2014).

Дифеноконазол (ДИФ) используется в сельском хозяйстве против широкого круга фитопатогенов. Положительно влияет на растение, обеспечивает закладку урожая следующего года. Дифеноконазол ингибирует рост субкутикулярного мицелия, что снижает уровень спороношения патогена. Препарат обладает защитным и лечебным действием. При обработке семенного материала проникает глубоко внутрь семян и способен распространяться по мере роста растений по всем органам. Дифеноконазол не обладает побочным ретардантным действием на всходы и исключает их изреженность. Используется данный препарат против широкого круга патогенов из классов аскомицетов, базидиомицетов, дейтеромицетов. Обладает специфичной активностью против мучнистой росы, парши яблони и болезней косточковых, а также против головневых, корневых гнилей и плесневения семян (Галлямова, 2014).

Азоксистробин (АЗК) – фунгицид системного и контактного действия, ингибитор митохондриального дыхания (блокирует перенос электронов в цепи цитохромов *b* и *c*<sub>1</sub>). Характеризуется длительным защитным эффектом - период полураспада в почве от 3-х до 39 дней. Запрещается использование данного препарата на следующий вегетационный период, а также других препаратов из

этого же класса. Эффективен по отношению к большому количеству возбудителей болезней различных растений, в том числе применяется для защиты пшеницы и ячменя от фузариоза, гельминтоспориоза; для защиты картофеля от ризоктониоза и серебристой парши (Галлямова, 2014).

Мефеноксам (МЕФ) эффективен в борьбе с ложномучнисторосьяными грибами и корневыми гнилями, ингибирует синтез РНК, что приводит к замедлению и нарушению митоза. Препарат обладает защитным и лечебным действием. Однако отмечено быстрое появление резистентности к этому фунгициду среди возбудителей фитофтороза картофеля. Но использование этого фунгицида в комплексе с другими препаратами предотвращает формирование резистентности (Галлямова, 2014).

Экспериментальные формы фунгицидов изготавливали из смеси порошкообразного полимера, измельченных наполнителей природного происхождения и действующего вещества фунгицидов. В качестве наполнителей использовали – берёзовые опилки (компания «СтанкоПремьер», Россия), торф верховой марки «Агробалт-Н» (ЗАО Росторфинвест-Россия) или глину (Красноярский край, Красноярск, Кузнецовское месторождение глины). Препараты в виде гранул изготавливали на грануляторе Fimar (Италия) по оригинальной технологии (патент РФ № 2733295; Kiselev et al., 2022) в лаборатории Инновационных препаратов и материалов СФУ.

Соотношение компонентов П(ЗГБ)/филлер/препарат составляло 50/40/10 или 50/30/20 %. Размер гранул составлял около 2 мм в диаметре и 6-8 мм в длину, масса 6-10 мг (рисунок 2.2).



Рисунок 2.2 – Фото гранул фунгицида тебуконазола, депонированного в основу с различными наполнителями: *а* – П(ЗГБ)/глина, *б* – П(ЗГБ)/опилки, *в* – П(ЗГБ)/торф



В качестве положительного контроля к экспериментальным формам фунгицидов использовали чистое действующее вещество фунгицида или коммерческие препараты. Бункер (ЗАО «Август») – действующее вещество тебуконазол, 60 г/л. Норма расхода 0,4-0,5 л/т. Протравитель семян зерновых культур против семенной и почвенной инфекции. Скор (ООО «Сингента») – действующее вещество дифеноконазол, 250 г/л. Норма расхода – 3 л/га. Используется для защиты плодовых культур томатов, картофеля, моркови и винограда от возбудителей альтернариоза и других фитопатогенов. Квадрис (ООО «Сингента») – действующее вещество азоксистробин, 250 г/л. Норма расхода – 3 л/га. Используется для контроля широкого спектра заболеваний овощных культур, винограда, почвенных заболеваний картофеля. Юниформ (ООО «Сингента») – содержит два действующих вещества – азоксистробин, 322 г/л и мефеноксам, 124 г/л. Норма расхода – 1,3-1,5 л/га. Системный фунгицид широкого спектра действия для защиты картофеля от комплекса корневых, стеблевых (прикорневых) и клубневых гнилей (Галлямова, 2014).

### **2.1.2 Сорты зерновых культур**

Яровая пшеница Новосибирская 15 – раннеспелый сорт с вегетационным периодом 75-83 дня. Создан Сибирским НИИ растениеводства и селекции методом межсортовой ступенчатой гибридизации [(Безенчукская 98 × Иртышанка 10) × Тулунская 10] × Новосибирская 22, А.Н. Лубниным, Н.В. Вавенковым, В.В. Советовым, Ж.А. Бахаревой, Н.И. Степочкиной индивидуально-семейственным отбором. Относится к сильным сортам, содержание белка до 20 %, клейковины – до 40 %, с отличными хлебопекарными качествами. Обладает иммунитетом к пыльной головне, умеренно восприимчив к твердой головне, сильновосприимчив к бурой и стеблевой ржавчинам и мучнистой росе (однако в полевых условиях даже при отсутствии защитных мероприятий часто «уходит» от поражения благодаря раннему колошению и созреванию), средняя засухоустойчивость, не полегает. Масса 1000 зерен – до 40 г, максимальная урожайность (51 ц/га) получена в Новосибирской области в 2001 году. Сорт зарегистрирован в

государственном реестре селекционных достижений, допущенных к использованию, с 2003 г. по Уральскому, Западно-Сибирскому, Восточно-Сибирскому регионам (ФГБУ Госсорткомиссия).

Ячмень сорт «Биом». Оригинатор – Сибирский НИИ растениеводства и селекции. Родословная: Темп × Мамлюк, авторы Бахарев А.В., Бахарева Ж.А. Разновидность нутанс. Среднеранний, вегетационный период 68-82 дня. Устойчивость к полеганию на уровне или несколько выше стандартных сортов. По засухоустойчивости в год проявления признака уступает сортам Баган и Омский 91 до одного балла. Зернофуражный. Содержание белка 11,9-15,2%. Умеренно устойчив к пыльной головне; сильновосприимчив к гельминтоспориозу и корневым гнилям. Включен в Госреестр по Западно-Сибирскому региону. Средняя урожайность в регионе – 21,8 ц/га (ФГБУ «Госсорткомиссия»).

### **2.1.3 Сорта картофеля**

Сорт картофеля Красноярский ранний включен в Госреестр селекционных достижений и допущен к использованию по Центрально-черноземному, Западно-Сибирскому и Восточно-Сибирскому регионам. Оригинаторами являются ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет» и ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр картофеля имени А.Г. Лорха». Авторы Складорова Н.П., Попов М.Ф., Мухаметова А.С., Годенюк Т.Г., Мухаметов Р.М. Сорт раннеспелый, столового направления, с отличными вкусовыми качествами, хорошей лежкостью; умеренно восприимчив к вирусным заболеваниям, альтернариозу, ризоктониозу, среднеустойчив к фитофторозу по клубням, восприимчив по ботве. Устойчив к возбудителю рака и восприимчив к нематоде. Средняя урожайность 30-47 т/га, при ранней копке 10-12 т/га, содержание крахмала среднее (13-16%). Масса товарного клубня 90-140 г (ФГБУ «Госсорткомиссия»).

Сорт Леди Клэр нидерландской селекции, оригинатор – С. MEIJER B.V., допущен к использованию по Центральному, Северо-Кавказскому, Центрально-черноземному регионам. Срок созревания от очень раннего до раннего. Пригоден

для переработки на чипсы. Товарная урожайность – 140-167 ц/га, масса товарного клубня 82-107 г. Характеризуется удовлетворительным и хорошим вкусом клубней с содержанием крахмала 12-16%. Устойчив к возбудителю рака картофеля и золотистой цистообразующей нематоде, восприимчив по ботве и умеренно восприимчив по клубням к поражению фитофторозом (ФГБУ «Госсорткомиссия»).

## **2.2 Методы исследования**

### **2.2.1 Физико-химические методы анализа фунгицидов**

Содержание фунгицидов детектировали в разработанных депонированных формах, а также оценивали кинетику выхода фунгицидов из форм и текущие концентрации в почве. Детектирование фунгицидов осуществляли с использованием системы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) Agilent 1200 с диодной матрицей (Agilent Technologies, США), колонка Eclipse XDB-C18. Для построения калибровочных графиков использовали ГСО 7669-99 (тебуконазол), ГСО 8630-2004 (эпоксиконазол), СОП 119-13 (азоксистробин), ГСО 7656-99 (дифеноконазол), аналитический стандарт Сингента (Швейцария) (мефеноксам). С использованием градуировочных растворов действующих веществ фунгицидов с диапазоном концентраций (низких 0,5; 1,0; 2,0 5,0 мкг/мл; высоких от 50 до 1000 мкг/мл) строили калибровочные графики исследуемых фунгицидов, позволяющие детектировать их содержание в широком диапазоне концентраций.

Выделение фунгицидов из почвы проводили следующим образом: к 10-20 мг сухой почвы добавляли 5-10 мл воды, 20-40 мл ацетонитрила и перемешивали с использованием мешалки Vortex в течение 3-5 мин; добавляли 3 г хлорида натрия и 2 г безводного сульфата магния и перемешивали еще в течение 3 мин. Пробу центрифугировали в течение 5 минут при 3000g. Далее с использованием ротационного испарителя под вакуумом удалили ацетонитрил при температуре 40 °С. Для измерения содержания азоксистробина и мефеноксама к пробе добавляли

1 мл ацетонитрила; для измерения дифеноконазола, тебуконазола и эпоксиконазола – 1 мл метанола. Диапазон обнаруженных концентраций составлял от 1 мкг/мл до 500 мкг/мл или выше.

### **2.2.2 Исследование деградации разработанных форм препаратов в лабораторных почвенных микросистемах**

Для исследования микробиологической деградации депонированных форм фунгицидов использованы лабораторные микросистемы с охарактеризованными образцами почвы, отобранной с полей учебного хозяйства «Миндерлинское» ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет» (место проведения дальнейших полевых испытаний). В пластиковые контейнеры объемом 0,5 л насыпали 250 г почвы и увлажняли до 50 % влажности. Предварительно взвешенные на аналитических весах (OHAUS Adventurer AX124) образцы разработанных форм препаратов (по 3 повторности каждого образца), помещали в чехлы из мельничного газа и размещали в почве на глубине 1,5-2 см. Исследования проводили при стабилизации параметров среды: температура 25 °С; влажность почвы 50 %.

Эксперимент длился в течение 12 недель. Образцы периодически извлекали из контейнеров, очищали от остатков почвы, высушивали, определяли убыль массы и остаточные концентрации фунгицидов в полимерной основе. Также в эти сроки проводили микробиологический анализ почвы и определяли концентрации фунгицидов в почве.

### **2.2.3 Агрохимический и микробиологический анализ почвы**

Почвенные характеристики определяли перед началом экспериментов. Гумус определяли по методу Тюринга (ГОСТ 26213-91); актуальную кислотность ( $pH_{\text{водн}}$ ) потенциометрическим методом (ГОСТ 26483-85); гидролитическую кислотность по методу Каппена (ГОСТ 26212-91); сумму поглощенных оснований по методу Каппена (ГОСТ 27821-88); обменный кальций и магний атомно-абсорбционным методом (ГОСТ 26487-85); нитратный азот (ГОСТ 26951-86);

обменный аммоний (ГОСТ 26489-85); подвижный фосфор и обменный калий по методу Чирикова (ГОСТ 26204-91).

Для анализа почвенных микроорганизмов были использованы общепринятые методы почвенной микробиологии (Нетрусов и др, 2005). В почвенных образцах определяли численность культивируемых бактерий и мицелиальных грибов (микромикетов) при высеве разведений почвенных суспензий до  $10^{-6}$ . Численность копитрофных бактерий определяли на МПА, прототрофных – на крахмало-аммиачном агаре (КАА), олиготрофных – на почвенном агаре (ПА), аэробных азотфиксаторов – на среде Эшби. Коэффициент минерализации рассчитывали, как соотношение количества бактерий, выросших на КАА и МПА; коэффициент олиготрофности – соотношение бактерий на ПА и МПА. Общую численность микромикетов определяли на агаре Сабуро или сусло-агаре, в среды добавляли гентамицин или бензилпенициллин (100 мкг/1 л среды) для подавления роста бактерий.

Анализ таксономического разнообразия культивируемых бактерий проводили с использованием метода матрично-активированной лазерной десорбции/ ионизации с времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF MS) на масс-спектрометре Bio Type Microflex LT/SH (Bruker, Германия) в КГБУЗ «Красноярский краевой клинический центр охраны материнства и детства». Идентификацию микромикетов осуществляли на основе культурально-морфологических признаков по определителям (Watanabe, 2002; Саттон и др., 2001).

Выявление первичных микроорганизмов-деструкторов П(ЗГБ) проводили с использованием метода прозрачных зон (Mergaert et al., 1993) высевом проб на минеральный агар следующего состава (г/л):  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  –  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  буфер (1:1) – 0,033 М;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 1;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5; цитрат железа – 0,05;  $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  – 0,005; дрожжевой экстракт – 0,05; гидролизат казеина – 0,1; агар – 20. Среду стерилизовали при 121 °С в течение 20 минут. В чашку Петри с застывшим минеральным агаром добавляли 5 мл среды того же состава, содержащую 0,25 % мелкодисперсного порошка П(ЗГБ). Для выделения грибов-деструкторов П(ЗГБ)

использовали среду следующего состава (г/л):  $\text{NaNO}_3$  – 2;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5;  $\text{KCl}$  – 0,5;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,01;  $\text{ZnSO}_4$  – 0,4; дрожжевой экстракт – 0,1; ПГБ – 5; агар – 20 (Козловский и др., 1999). Рост микроорганизмов, обладающих деполимеразной активностью, сопровождался образованием прозрачных зон гидролиза полимера вокруг колоний.

Для идентификации микроорганизмов-деструкторов определяли последовательность нуклеотидов фрагмента гена, кодирующего 16S рРНК бактерий и локуса 18S рРНК – ITS1 – 5,8S рРНК – ITS2 – 28S рРНК грибов. Выделение ДНК и секвенирование было проведено в Институте химической биологии и фундаментальной медицины (ИХБФМ СО РАН), Центр коллективного пользования «Геномика» СО РАН, г. Новосибирск.

Полученные нуклеотидные последовательности сравнивали с последовательностями баз данных GenBank с помощью программы поиска высокоомологичных последовательностей BLAST веб-ресурса NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Нуклеотидные последовательности выделенных деструкторов П(ЗГБ) депонировали в базе данных GenBank. Филогенетический и молекулярно-эволюционный анализ проводился с использованием программного пакета MEGA версии X (Kumar et al., 2018).

#### **2.2.4 Оценка влияния фунгицидных препаратов на почвенные микроорганизмы**

Для оценки влияния фунгицидных препаратов на почвенные микроорганизмы был заложен лабораторный эксперимент. Охарактеризованную полевою почву помещали в пластиковые контейнеры объемом 250 мл и вносили в нее экспериментальные образцы фунгицидов, содержащих тебуконазол, эпоксиконазол или азоксистробин (таблица 2.1).

Таблица 2.1 – Варианты опыта по оценке влияния фунгицидных препаратов на почвенные микроорганизмы:

| Фунгициды            | Экспериментальный образец                                   | Контроль +   | Норма внесения, кг/га |
|----------------------|---|--------------|-----------------------|
| Тебуконазол (ТЕБ)    | П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ<br>П(ЗГБ)/глина/ТЕБ<br>П(ЗГБ)/торф/ТЕБ    | Раствор ТЕБ  | 0,125-1               |
| Эпоксиконазол (ЭПОК) | П(ЗГБ)/опилки/ЭПОК<br>П(ЗГБ)/глина/ЭПОК<br>П(ЗГБ)/торф/ЭПОК | Раствор ЭПОК | 0,05-0,125            |
| Азоксистробин (АЗК)  | П(ЗГБ)/опилки/АЗК<br>П(ЗГБ)/глина/АЗК<br>П(ЗГБ)/торф/АЗК    | Раствор АЗК  | 0,1-0,375             |

В положительном контроле фунгициды вносили в виде водного раствора действующего вещества фунгицида либо коммерческого препарата с соответствующим действующим веществом. Концентрации препаратов в экспериментальном образце и в растворе были аналогичны и рассчитаны согласно нормам внесения. В отрицательном контроле фунгициды в почву не вносили. Почву культивировали в климатической камере в течение 12 недель. Температуру воздуха поддерживали на уровне 20-25 °С, влажность почвы не менее 50 %. По окончании эксперимента проводили микробиологический анализ почвы.

### 2.2.5 Исследование фунгицидной активности депонированных препаратов *in vitro*

Фунгицидную активность депонированных форм препаратов изучали в отношении штаммов фитопатогенных микромицетов, выделенных из зараженных семян пшеницы и ячменя и зараженного картофеля, выращенных в Красноярском крае. Анализ семян на зараженность проводили биологическим методом по ГОСТ 12044-93 на питательной среде сусло-агаре. Выделение фитопатогенов картофеля проводили из пораженных частей клубней: вырезали фрагменты размером около 1 см и раскладывали в чашки Петри на питательную среду сусло-агар.

Идентификацию фитопатогенных микромицетов осуществляли на основе культурально-морфологических и молекулярно-генетических признаков. Анализ последовательностей ДНК выделенных изолятов микромицетов проведен в

ИХБФМ СО РАН, ЦКП «Геномика» СО РАН, г. Новосибирск. Нуклеотидные последовательности выделенных деструкторов П(ЗГБ) депонировали в базе данных GenBank. Филогенетический и молекулярно-эволюционный анализ проводился с использованием программного пакета MEGA версии X (Kumar et al., 2018).

Выделенные и идентифицированные фитопатогенные микромицеты использовали для оценки фунгицидных препаратов *in vitro*. Штаммы грибов выращивали газоном в чашках Петри на сусло-агаре при температуре 25 °С в течение 7-10 суток. Из области активного роста колонии вырезали блоки диаметром 5 мм и помещали на поверхность сусло-агаровой среды в чашке Петри на расстоянии 1-1,5 см от края чашки. На противоположной стороне помещали одну из исследуемых форм фунгицидов (рисунок 2.3). В качестве положительного контроля использовали чистое действующее вещество фунгицида или его коммерческий аналог в дозах, эквивалентных содержанию фунгицида в депонированной форме. В отрицательном контроле грибы выращивали без фунгицидов. Чашки инкубировали в течение 7-10 суток в термостате при 25 °С.

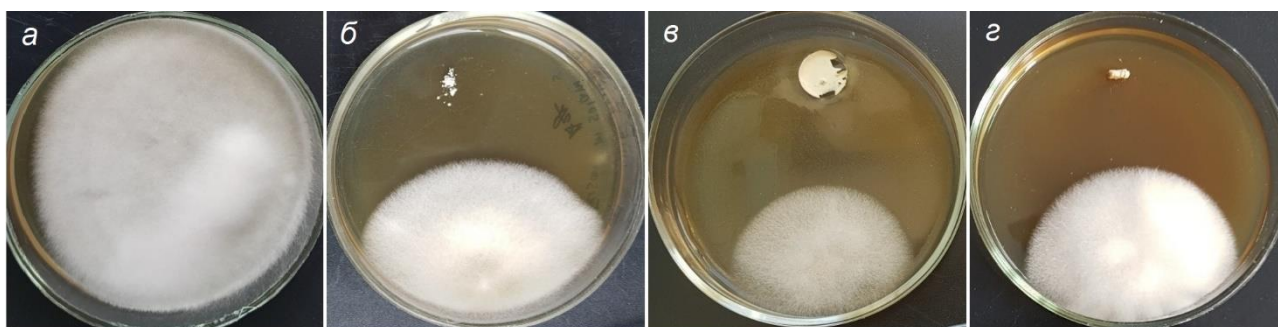


Рисунок 2.3 – Схема оценки фунгицидного действия депонированных форм препаратов: а – отрицательный контроль, б – положительный контроль (действующее вещество), в – коммерческая форма фунгицида, г – гранула депонированного препарата.

Эффективность депонированных форм фунгицидов определяли по разнице диаметра колоний в эксперименте относительно положительного и отрицательного контролей. Все процедуры выполнялись в трех повторностях.



## 2.2.6 Оценка биологической эффективности депонированных фунгицидных препаратов в лабораторных условиях

В лабораторных условиях тестовыми культурами послужили яровой ячмень сорта Биом, яровая пшеница сорта Новосибирская 15 и картофель сорта Красноярский ранний.

Растения выращивали в климатической камере (Фитотрон) ЛиА-2 (Россия) (рисунок 2.4), в режиме фотопериода (ночь – раннее утро – позднее утро – день – ранний вечер – поздний вечер). Температура изменялась от 10 °С ночью до 18 °С днем; освещенность – от 0 до 300 мкмоль/м<sup>2</sup>/с с шагом 100 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. Минимальная влажность почвы – 50 %.



Рисунок 2.4 – Выращивание растений в климатической камере

Была протестирована гранулированная форма фунгицидных препаратов, в которой в качестве наполнителя использовали опилки. Варианты опыта представлены в таблице 2.2. В отрицательном контроле обработку фунгицидами не проводили.

Таблица 2.2 – Схема опыта по оценке эффективности экспериментальных форм фунгицидов в лабораторных условиях:

| Тестовые растения | Экспериментальные образцы | Группы положительного контроля                              | Норма внесения |
|-------------------|---------------------------|---|----------------|
| Зерновые культуры | П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ         | Раствор тебуконазола (26 мг)                                | 30 г/т         |
|                   | П(ЗГБ)/опилки/ЭПОК        | Раствор эпоксиконазола (12,5 мг)                            | 10 г/т         |
| Картофель         | П(ЗГБ)/опилки/АЗК         | Квадрис, СК (250 г/л азоксистробин)                         | 3,0 л/га       |
|                   | П(ЗГБ)/опилки/ДИФ         | Скор, КЭ (250 г/л дифеноконазол)                            | 0,3-0,5 л/га   |
|                   | П(ЗГБ)/опилки/АЗК+МЕФ     | Юниформ, СЭ (321,7 г/л азоксистробин, 123,7 г/л мефеноксам) | 1,3-1,5 л/га   |

Для эксперимента были сформированы почвенные микрэкосистемы. В пластиковые контейнеры объемом 500 см<sup>3</sup> (площадью поверхности 54 см<sup>2</sup>) вносили полевую ранее охарактеризованную почву массой 400 г.

Пшеницу и ячмень засевали из расчета 150 г семян на 1 м<sup>2</sup>. Одновременно в почву вносили экспериментальные образцы фунгицидов на глубину 1,5-2 см или обрабатывали почву соответствующим раствором фунгицида. Растения выращивали в течение 12 недель, анализ проводили в динамике по фазам развития: всходы (7-10 сутки), кущение (26-28 сутки), выход в трубку (40-42 сутки), колошение (50-56 сутки), созревание (80-84 сутки). В эти сроки анализировали следующие показатели:

- высота и биомасса надземной части растений;
- зараженность корневой системы возбудителями корневых гнилей (метод влажных камер, ГОСТ 12044-93);
- численность и таксономический состав микромицетов в ризосферной почве.

Зараженность корней (распространенность болезни) рассчитывали, как отношение количества растений с признаками заболевания к общему числу растений в пробе и выражали в процентах. Биологическую эффективность фунгицидов ( $C$ , %), относительно отрицательного контроля, рассчитывали по модифицированной формуле Аббота (Попов и др., 2003):

$$C = 100 \times (P - p) / P,$$

где  $P$  и  $p$  – распространенность корневых гнилей, соответственно, в контроле и опытном варианте (при анализе корней во влажных камерах).

Растения картофеля выращивали в контейнерах объемом 2 литра, в каждый контейнер высаживали один клубень и вносили фунгицидные гранулы или коммерческий аналог действующего вещества (таблице 2.2). Растения выращивали в течение 15 недель, анализ проводили дважды: через месяц после посадки (13 августа) и по окончании эксперимента (26 октября). В эти сроки определяли:

- морфометрические показатели растений (высота стебля, количество стеблей, длина корня);
- степень поражения патогенами по 9-балльной шкале (Жевора и др., 2019);
- структуру урожая, урожайность, анализ микроклубней;
- микробиологический анализ почвы.

### **2.2.7 Оценка эффективности фунгицидных препаратов на основе П(ЗГБ) в полевых условиях**

Полевые испытания депонированных форм фунгицидных препаратов проведены согласно нормативному документу Минсельхоза РФ (Руководство по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов в сельском хозяйстве, 2018 г.) на полях ООО Учебно-опытное хозяйство «Миндерлинское» (п. Борск, Сухобузимский район Красноярского края), принадлежащего ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», расположенного в Красноярской лесостепи (56° с.ш., 92° в.д.).

**В полевой сезон 2020 года** испытания проводили на зерновых культурах – яровая пшеница сорта Новосибирская 15, яровой ячмень сорта Биом. Общая и учетная площадь опытных делянок – 100 м<sup>2</sup>, 4-х кратная повторность, систематическое размещение. Посев был проведен 18.05.2020 г. Схема опыта включала следующие варианты:

1. Отрицательный контроль – интактные растения, фунгицидные препараты не вносили.

2. Положительный контроль – предпосевная обработка семян коммерческим фунгицидным препаратом Бункер (ЗАО «Август»), действующее вещество тебуконазол (60 г/л). Норма расхода 0,4-0,5 л/т. Через месяц проводили обработку гербицидным препаратом Мортира (ЗАО «Август»), действующее вещество трибенурон-метил (750 г/кг). Норма расхода 15-20 г/га.

3. Экспериментальная форма комплексного препарата в виде гранул, содержащих 5 % фунгицида тебуконазола (ТЕБ) и 5 % гербицида трибенурон-метила (ТРИБ), депонированных в основу "П(ЗГБ)/опилки". Гранулы П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ+ТРИБ вносили в почву одновременно с посевом семян. Норма внесения составляла 100 г гранул на 100 м<sup>2</sup>.

В ходе эксперимента оценивали следующие показатели:

- микробиологический анализ исходной почвы перед посевом (18.05.2020);
- численность и таксономический состав микромицетов ризосферной почвы пшеницы и ячменя;
- зараженность корневой системы возбудителями корневых гнилей (метод влажных камер, ГОСТ 12044-93);
- биологическую эффективность депонированной и коммерческой формы тебуконазола относительно отрицательного контроля;
- урожайность, структуру урожая и качество зерна.

Даты отбора проб для анализа микрофлоры и оценки зараженности корневой системы пшеницы и ячменя соответствовали следующим стадиям: всходы (28.05.2020), кущение (16.06.2020), колошение (03.07.2020), налив зерна (04.08.2020), восковая спелость (28.08.2020). Определение структуры урожая проведено 25.08.2020 г. В структуре урожая учтены масса соломы, количество растений на 1 м<sup>2</sup>, количество стеблей, в т.ч. продуктивных на 1 м<sup>2</sup>, высота растений, длина колоса, число колосков в колосе, масса зерна с колоса и одного растения. Учет урожая проводили сплошным методом. Качество зерна (ГОСТ 9353-2016; ГОСТ 28672-2019) оценивали по показателям: содержание белка

(ГОСТ 10846-91), натура зерна (ГОСТ 10840-2017), содержание клейковины (ГОСТ Р 54478-2011).

**В полевой сезон 2021 года** испытания проводили на картофеле сортов Красноярский ранний и Леди Клэр. Способ размещения вариантов рандомизированный, 4-х кратная повторность. Экспериментальные варианты размещались на четырехрядковых делянках общей площадью – 16,2 м<sup>2</sup> (4,5×3,6 м), учетной – 8,1 м<sup>2</sup> (два рядка с междурядьем 90 см). В ряду делянки высажено по 14 клубней, общее количество для каждого варианта 56 клубней. Посадка картофеля была проведена вручную 01.06.2021 г. Перед посадкой был проведен клубневой анализ по ГОСТ 33996-2016.

В посадках картофеля оценивали эффективность фунгицидов экспериментальных форм фунгицидных препаратов, депонированных в основу "П(ЗГБ)/опилки" в виде гранул, содержащих азоксистробин (П(ЗГБ)/опилки/АЗК), дифеноконазол (П(ЗГБ)/опилки/ДИФ) или комплекс азоксистробина и мефеноксама (П(ЗГБ)/опилки/АЗК+МЕФ). Нагрузка форм фунгицидами составила 10 %, а для формы АЗК+МЕФ – 5+5 %. Гранулы вносили в почву одновременно с посадкой картофеля. Норма внесения составляла 100 г гранул на 100 м<sup>2</sup>. Группы сравнения – коммерческие препараты, содержащие соответствующие фунгициды (таблице 2.3). В отрицательном контроле (интактные растения) фунгицидные препараты не вносили.

Таблица 2.3 – Схема опыта по оценке эффективности фунгицидных препаратов на картофеле в полевых условиях

| Экспериментальные образцы | Группы положительного контроля  | Норма внесения |
|---------------------------|---|----------------|
| П(ЗГБ)/опилки/АЗК         | Квадрис, СК (250 г/л азоксистробин) обработка почвы одновременно с посадкой клубней                         | 3,0 л/га       |
| П(ЗГБ)/опилки/АЗК+МЕФ     | Юниформ, СЭ (321,7 г/л азоксистробин, 123,7 г/л мефеноксам) обработка почвы одновременно с посадкой клубней | 1,3-1,5 л/га   |
| П(ЗГБ)/опилки/ДИФ         | Скор, КЭ (250 г/л дифеноконазол) трехкратное опрыскивание растений в период вегетации                       | 0,3-0,5 л/га   |

В ходе эксперимента оценивали следующие показатели:

- микробиологический анализ исходной почвы перед посевом (01.06.2021);
- численность и таксономический состав микромицетов ризосферной почвы картофеля;
- степень поражения вегетирующих растений картофеля альтернариозом и фитофторозом;
- клубневой анализ и биологическую эффективность депонированных и коммерческих фунгицидов;
- урожайность и структуру урожая картофеля.

Даты отбора проб для анализа микрофлоры соответствовали следующим стадиям: всходы (23.06.2021), цветение (21.07.2021) и физиологическая зрелость (27.08.2021). Оценку развития и распространения заболеваний альтернариозом и фитофторозом проводили по шкале Британского микологического общества (Деренко, 2014) трижды за сезон: первый раз – в период массового цветения (28.06.2021), второй и третий – с интервалом 15 дней. Клубневой анализ урожая включал учет распространенности ризоктониоза и фитофтороза, которую рассчитывали по формуле:

$$P = n/N \times 100,$$

где  $P$  – распространённость болезней,  $n$  – количество больных растений,  $N$  – общее количество учтённых растений в пробе.

По результатам клубневого анализа рассчитана биологическая эффективность депонированных и коммерческих фунгицидов. Определение структуры урожая проведено 07.09.2021 г. В структуре урожая учтены средняя высота стеблей, количество стеблей и клубней в клоне, количество товарных (массой более 40 г) и нетоварных клубней, средняя масса товарных клубней; общая урожайность и прибавка урожая.

### 2.2.8 Статистическая обработка данных

Статистический анализ результатов проводился общепринятыми методами с использованием стандартного программного пакета Microsoft Excel для Windows 10 и StatSoft STATISTICA 13. Средние значения и стандартные отклонения были найдены при доверительной вероятности  $\alpha = 0,95$ . Для определения статистической значимости различий между вариантами экспериментов использовали однофакторный и многофакторный дисперсионный анализ (Дмитриев, 1995).

### **Глава 3 БИОДЕГРАДАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ФОРМ ДЕПОНИРОВАННЫХ ФУНГИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ПОЧВЕННУЮ МИКРОБИОТУ**

#### **3.1 Изготовление экспериментальных форм фунгицидных препаратов, депонированных в биоразрушаемую основу**

Для исследований были выбраны системные фунгицидные препараты, совместимые с полимерной основой, рекомендованные к применению для защиты зерновых и овощных культур от фитопатогенных грибов: тебуконазол, эпоксиконазол, дифеноконазол, азоксистробин, мефеноксам. Долговременные формы фунгицидов были изготовлены с использованием смесовых основ (П(ЗГБ)/глина, П(ЗГБ)/опилки, П(ЗГБ)/торф). Выбор наполнителей был обусловлен широким распространением этих материалов, их дешевизной и экологической безопасностью. Добавление наполнителей в полимерную основу позволяет не только снизить стоимость препаратов, но также регулировать влагопоглощение, скорость биodeградации препаратов в почве, а значит и скорость высвобождения активного вещества – фунгицида.

В ходе работы были получены партии препаратов, сформированные в виде гранул диаметром 3,0 мм, с разным соотношением компонентов П(ЗГБ)/наполнитель/фунгицид – 50/30/20% или 50/40/10%, а для комплексного препарата П(ЗГБ)/опилки/азоксистробин+мефеноксам – 50/40/5+5 %.

#### **3.2 Динамика биodeградации экспериментальных фунгицидных гранул и выход действующего вещества в почву**

Одним из ключевых свойств депонированных форм фунгицидов является биodeградируемость полимерной основы, которая способствует постепенному выходу действующего вещества фунгицида в почву. Скорость разрушения основы зависит от различных факторов: химический состав и структура полимерной основы, гидротермические режим почвы, численность и активность почвенных микроорганизмов – основных деструкторов полимера. Исследование динамики



разрушения экспериментальных гранул в почве было необходимо, чтобы оценить сроки функционирования препаратов, определить концентрации активного вещества в почве в течение периода деградации экспериментальных гранул и ответить на вопрос, обеспечивают ли депонированные препараты пролонгированное действие фунгицидов. Эксперимент выполнен в условиях лабораторных почвенных микрэкосистем. Экспозиция гранул, содержащих 20% фунгицида (тебуконазол, эпоксиконазол или азоксистробин) и разные типы наполнителя, длилась в течение 83 суток. За этот период наблюдали уменьшение размера гранул, потерю веса, фрагментацию; поверхность становилась более рыхлой и пористой (рисунок 3.1).



Рисунок 3.1 – Фото лабораторных почвенных микрэкосистем и экспериментальные гранулы фунгицидных препаратов после экспозиции в почве

Оценка убыли массы гранул показала, что полимерная матрица разрушалась постепенно. Фазе активной биodeградации исследуемых форм предшествовала лаг-фаза. Через 10 суток остаточная масса гранул, содержащих ТЕБ, составляла около 95%, а для гранул ЭПОК и АЗК – около 97% (рисунок 3.2). Затем скорость деградации увеличилась и в конце эксперимента масса гранул, содержащих ТЕБ, составляла от 61 до 69%, гранул ЭПОК – 62-70% и гранул АЗК – 55-62%, в зависимости от типа наполнителя. Разрушение полимерной основы гранул способствовало постепенному выходу препаратов в почву в течение периода экспозиции. За первые 7 суток остаточное содержание фунгицидов в форме

быстро снижалось, так как происходило вымывание препаратов с поверхности гранул и верхних слоев.

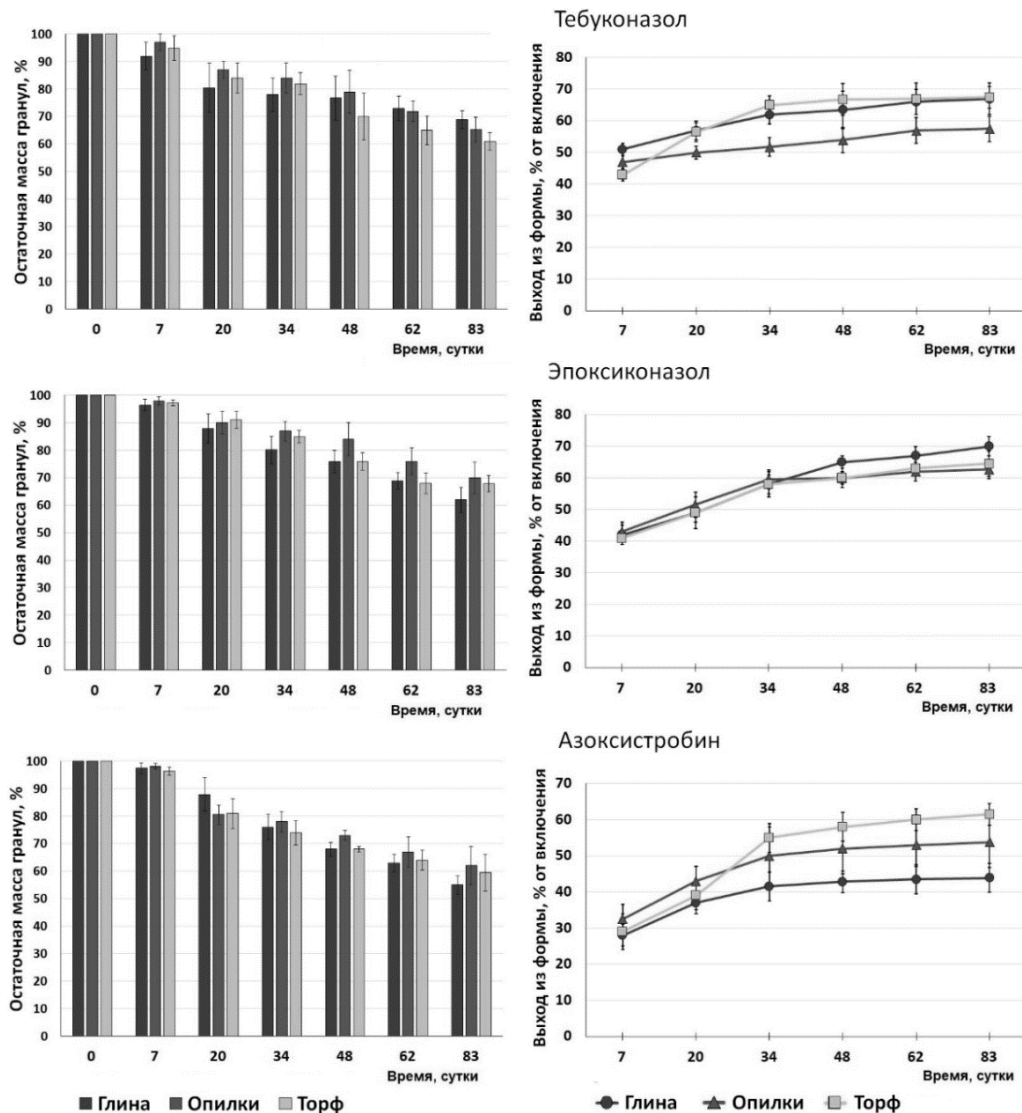


Рисунок 3.2 – Динамика убыли массы гранул и выхода депонированных фунгицидных препаратов из гранул с разными наполнителями

Выход тебуконазола составил от 43% (наполнитель – торф) до 51% (наполнитель – глина); выход эпоксиконазола был близким для гранул с разным типом наполнителя – 41-43%; самый низкий выход отмечали для азоксистробина – 29-32%, что согласуется с замедленной деградацией гранул с азоксистробином в первую неделю (рисунок 3.2). В период от 7 до 34 суток выход препаратов из форм происходил за счет разрушения полимерной основы гранул и достигал 50-60% за исключением азоксистробина, депонированного в гранулы с глиной, где

выход составил 41% от включения. Далее динамика выхода фунгицидов в почву выходила на плато и с 34 по 83 сутки стабилизировалась на одном уровне.

Различия в составе смесовой основы достоверно не повлияли на динамику разрушения образцов с различными типами наполнителя. Также не было выявлено зависимости выхода фунгицидов от наполнителя. Так, выход азоксистробина из гранул с глиной был самым низким – 43%, тогда как выход тебуконазола и эпоксиконазола в этой группе составил 67% и 70%. В большей степени на биодegradацию и выход повлиял тип используемого фунгицида и его растворимость в воде. Препараты дифеноконазола, эпоксиконазола, азоксистробина и тебуконазола относятся к слабо растворимым: 5 мг/л, 6,6 мг/л, 10 мг/л и 32 мг/л соответственно. Растворимость у мефеноксама самая высокая среди исследуемых – 26 г/л. В результате препараты с более растворимым мефеноксамом в составе разрушались быстрее (рисунок 3.3).

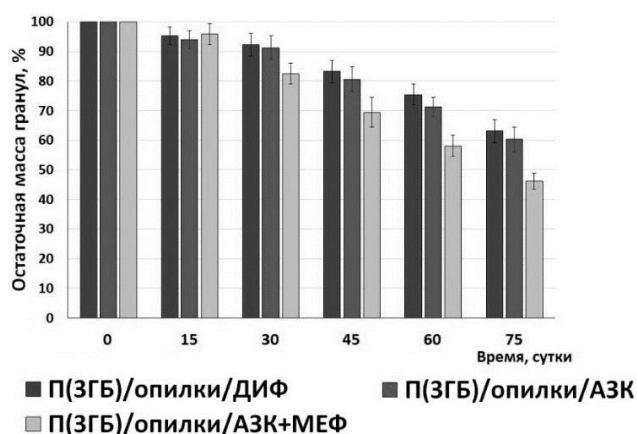


Рисунок 3.3 – Динамика убыли массы гранул депонированных фунгицидных препаратов с разной растворимостью: ДИФ – дифеноконазол, АЗК – азоксистробин, МЕФ – мефеноксам

Динамика накопления фунгицидов в почве отличалась в зависимости от типа препаратов, их растворимости и стабильности, при этом тип наполнителя не оказывал существенного влияния. Активный выход препаратов из гранул происходил в начальный период, поэтому уже через 7 суток концентрация фунгицидов в почве была достаточно высокой (рисунок 3.4). Динамика концентрации плохо растворимых в воде фунгицидов (тебуконазола, азоксистробина и эпоксиконазола) была сходной. Происходил постепенный

выход препаратов и на 3-5 неделю достигал максимума. Далее содержание фунгицидов в почве практически оставалось на стабильном уровне, а в конце экспозиции несколько снижалось, что, по всей видимости, связано с частичной деградацией препаратов.

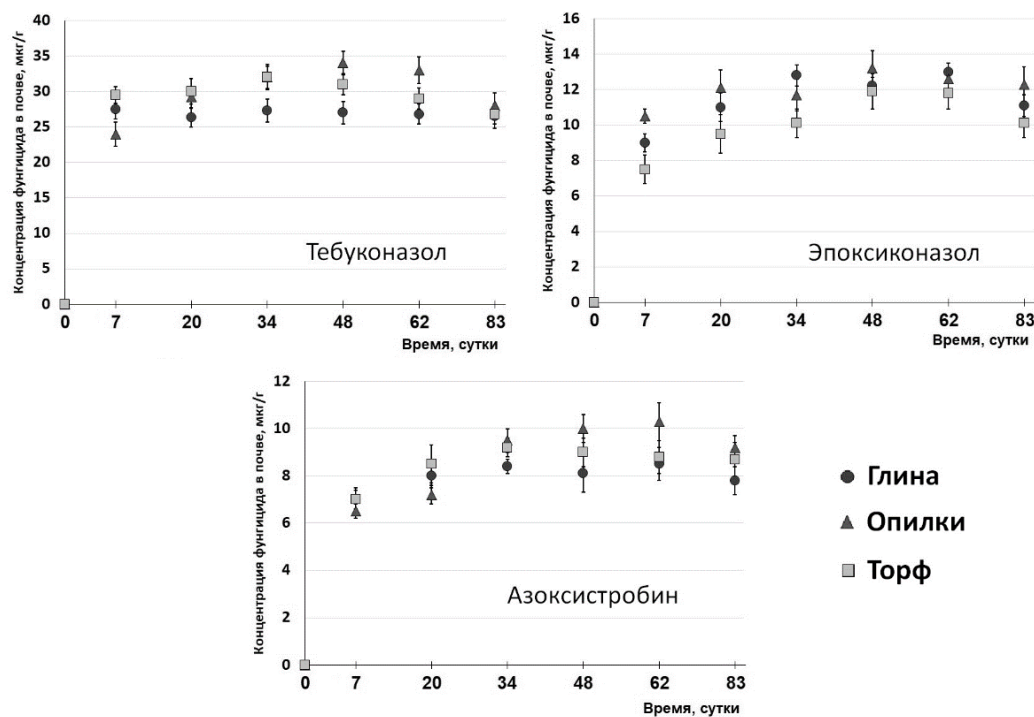


Рисунок 3.4 – Динамика концентрации фунгицидов в почве (мкг/г почвы) при выходе из гранул с разными наполнителями

Следует отметить, что максимальная достигнутая концентрация тебуконазола, растворимость которого выше, чем у азоксистробина и эпоксиконазола, составила в зависимости от наполнителя 27-34 мкг/г почвы, тогда как концентрации эпоксиконазола и азоксистробина были ниже и не превышали 13 и 11 мкг/г почвы, соответственно.

Препараты азоксистробин, тебуконазол, эпоксиконазол и дифеноконазол можно отнести к относительно долгоживущим, период полураспада которых по данным разных авторов составляет от нескольких суток до нескольких недель и даже месяцев (Bromilow et al., 1999; Strickland et al., 2004; Singh, Singh, 2010; Šudoma et al., 2019). Быстро инактивируемым фунгицидом является мефеноксам, его активность составляет несколько дней. В связи с этим на содержание

фунгицидов в почве влияли не только растворимость и динамика выхода из форм, но также их стабильность («время жизни») в почве.

При исследовании депонированного азоксистробина, являющегося относительно стабильным фунгицидом, но характеризующимся низкой растворимостью в воде, накопление его концентрации в почве происходило постепенно, от 0,7 мкг/г почвы через 15 суток после размещения образцов в почве до 1,7 мкг/г почвы через 45 суток и далее концентрация падала (рисунок 3.5).

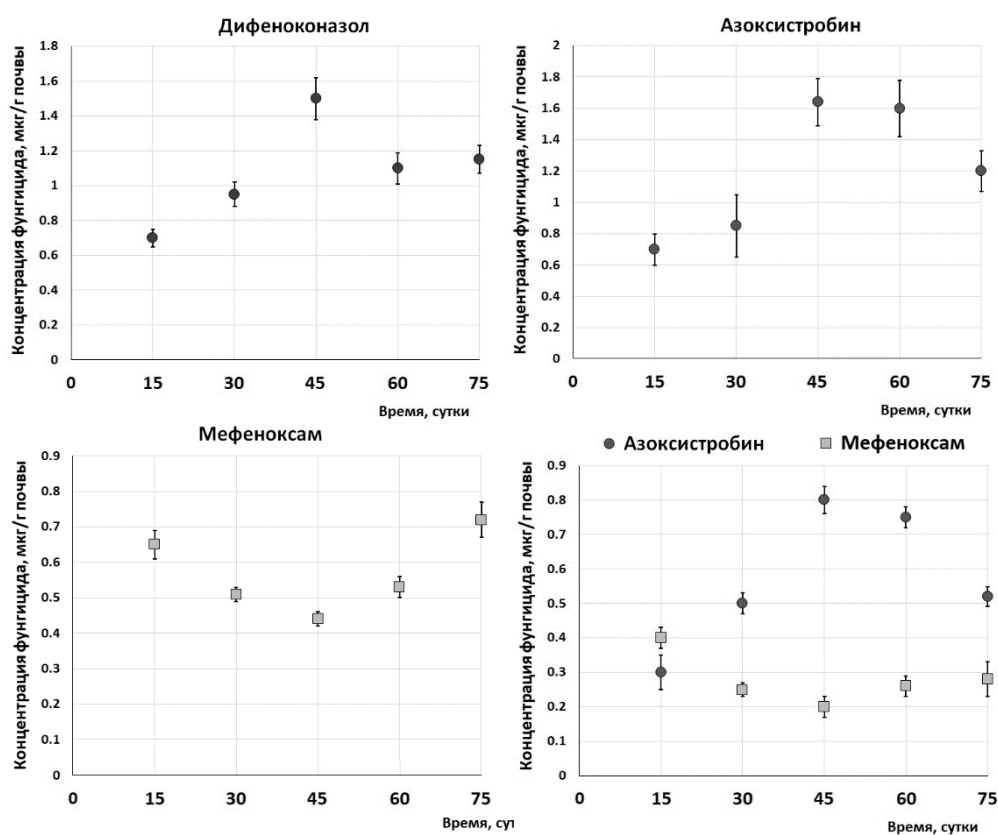


Рисунок 3.5 – Динамика концентрации фунгицидов с разной растворимостью (мкг/г почвы) при выходе из гранул

Аналогичная динамика получена для дифеноконазола. Динамика содержания в почве двух фунгицидов – азоксистробина и мефеноксама – при их депонировании в одну форму, была аналогичной динамике высвобождения препаратов из гранул, содержащих эти фунгициды по отдельности. Более низкие значения концентрации этих препаратов в почве объясняются более низким содержанием в исходных гранулах. Суммарная масса двух фунгицидов

составляла 10%, но каждого – по 5%. Здесь мы можем видеть, что концентрации мефеноксама, характеризующегося наибольшей растворимостью в воде среди исследуемых фунгицидов, ниже концентраций азоксистробина. Это связано, по всей видимости, с его быстрым распадом в почве, что согласуется с литературными данными о времени полураспада этого препарата, составляющего от 5-6 до 10-13 суток (Hanumantharaju, Awasthi, 2003). Далее концентрация мефеноксама возросла до начальных значений, что объясняется активным разрушением гранул в эти сроки.

### 3.3 Почвенные микроорганизмы, осуществляющие деструкцию полимерной основы депонированных форм фунгицидов

Биодеградируемость полимерной основы депонированных препаратов, обеспечивается деполимеразной активностью почвенных микроорганизмов – первичных деструкторов П(ЗГБ) (рисунок 3.6). Наличие таких микроорганизмов является определяющим фактором для процесса деградации, а значит, будет влиять на динамику выхода и накопления препаратов в почве.

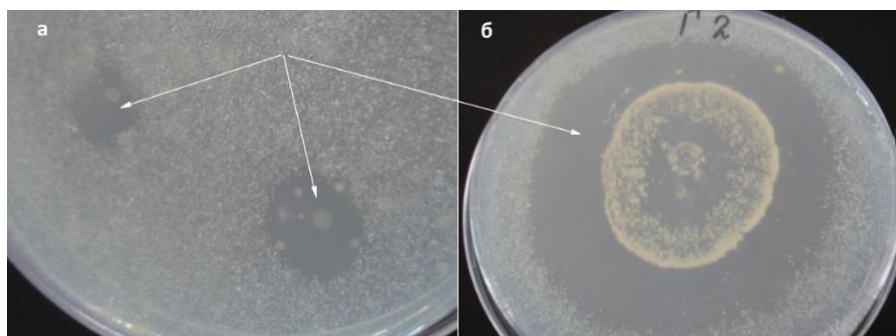


Рисунок 3.6 – Образование «прозрачных зон» бактериями (а) и грибами (б) первичными деструкторами П(ЗГБ) на минеральном агаре с порошком полимера в качестве источника углерода

Анализ образцов почвы, в которой экспонировали гранулы депонированных форм фунгицидов, показал, что в ней присутствуют виды бактерий и грибов первичных деструкторов П(ЗГБ). Среди бактерий выделены и идентифицированы *Pseudomonas sp.*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus simplex*, *Pseudarthrobacter sp.*, *Streptomyces sp.*, среди грибов – *Penicillium*

*chrysogenum*, *Talaromyces purpureogenus* и *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. Филогенетический анализ с использованием данных нуклеотидных последовательностей фрагментов генов 16S рРНК бактерий и последовательностей локусов 18S рРНК-ВТС1-5, 8S рРНК-ВТС2-28S рРНК грибов, представлен на рисунке 3.7.

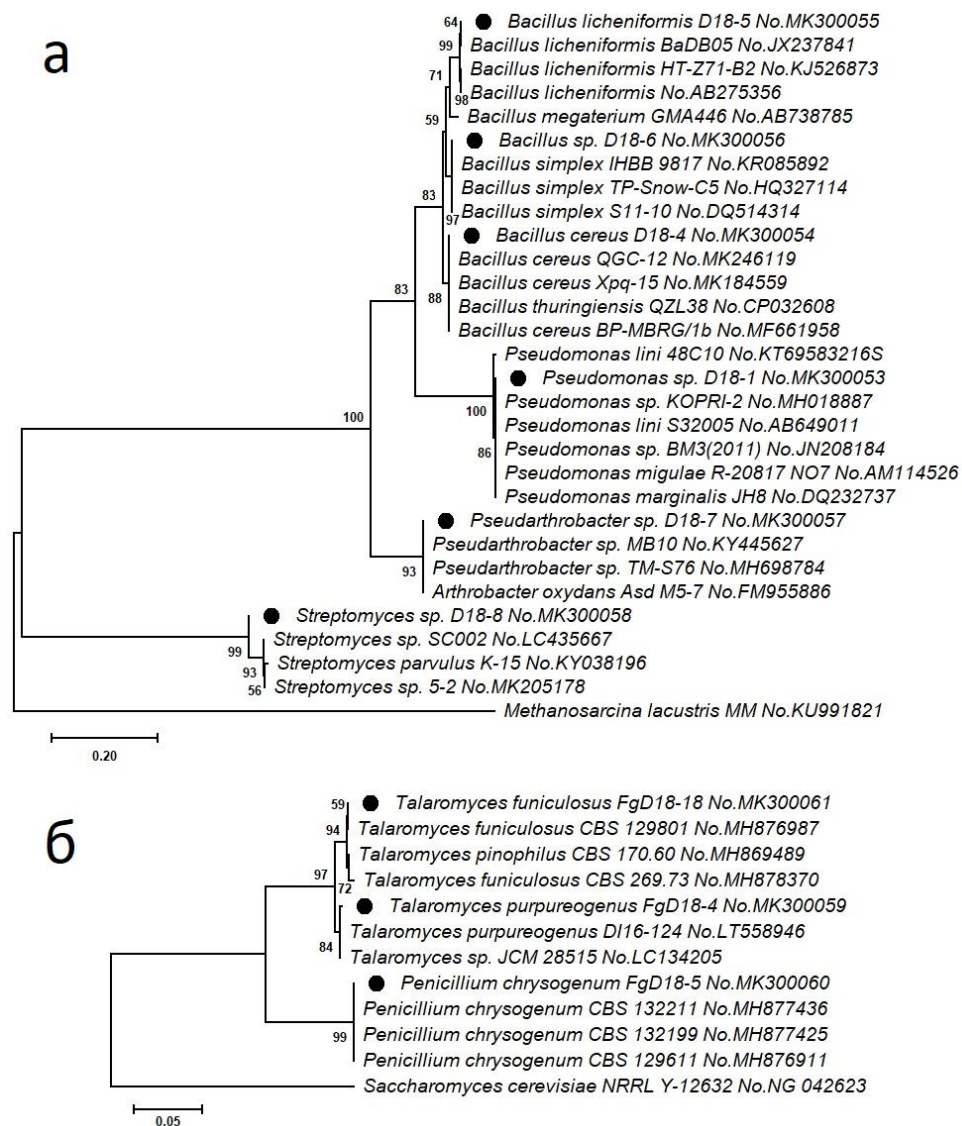


Рисунок 3.7 – Филогенетическое дерево бактерий (а) и грибов (б) деструкторов П(ЗГБ), основанное на эволюционном анализе последовательностей методом Neighbor-Joining. Дерево нарисовано в масштабе, длина ветвей выражена в тех же единицах, что и эволюционные расстояния, используемые для построения филогенетического дерева. Числа указывают точность ветвления, подтвержденную с помощью бутстреп-анализа. Штаммы-деструкторы отмечены черным маркером.

Таким образом, деградация П(ЗГБ) обусловлена наличием в почве микроорганизмов-деструкторов и ферментативной активностью микробных деполимераз, что обеспечивает постепенный выход действующего вещества фунгицида из полимерной основы.

### **3.4 Влияние депонированных форм фунгицидных препаратов на структуру микробиоценоза почвенных микрэкосистем**

Микроорганизмы являются важной частью почвенных экосистем. Они участвуют в формировании почвенного покрова, круговороте веществ, минерализации органических веществ различного происхождения, в том числе пестицидов. По данным литературы, накопление фунгицидов в почве может негативно влиять на развитие и активность почвенных бактерий, которые не являются мишенью фунгицидов (Muñoz-Leoz et al., 2011; Wang et al., 2016; Roman et al., 2021). Поэтому важно понимать, как повлияет депонирование фунгицидов на их функционирование в почве, и оценить действие экспериментальных форм на структуру сообщества почвенных микромицетов и бактерий.

Эксперимент проводился в лабораторных почвенных микрэкосистемах. Почва, отобранная в районе предполагаемых полевых испытаний, – это чернозем тяжелосуглинистого гранулометрического состава, плотность от 0,80 до 1,24 г/см<sup>3</sup>; рН 7.3; с низким содержанием аммонийного (35 мг/кг) и нитратного (9,2 мг/кг) азота и высоким – фосфора (280 мг/кг) и калия (250 мг/кг). Микробиологический анализ почвы показал более высокую численность олиготрофных и прототрофных микроорганизмов по сравнению с копитрофами и, соответственно, высокие коэффициенты олиготрофности и минерализации (таблица 3.1), что указывает на зрелость почв и низкое содержание органических форм азота. Численность азотфиксирующих микроорганизмов также была высокой, что свидетельствует о дефиците легкодоступных форм азота в почве.

Анализ таксономического разнообразия доминирующих культивируемых бактерий выявил следующее соотношение: среди грамположительных преобладали актинобактерии, в том числе *Streptomyces* – 17,7%; *Arthrobacter* – 4,6;



*Nocardia* – 4,5%; и *Actynomyces* – 2,3%; также значительную долю занимали бактерии родов *Bacillus* – 23,4% и *Paenibacillus* 9,5%. Среди грамотрицательных бактерий доминировали представители рода *Pseudomonas* – 8,9% (рисунок 3.8).

Таблица 3.1 – Структура микробиоценоза исходной полевой почвы

| Численность групп микроорганизмов, КОЕ в 1 г почвы |                               |                               |                              |                              |
|--|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Копиотрофы   | Прототрофы                    | Олиготрофы                    | Азотфиксаторы                | Микромицеты                  |
| $(1,33 \pm 0,88) \times 10^6$                      | $(5,34 \pm 1,78) \times 10^6$ | $(7,67 \pm 12,4) \times 10^6$ | $(2,0 \pm 1,24) \times 10^6$ | $(37,3 \pm 9,8) \times 10^3$ |
| Коэффициент минерализации – 4,72                   |                               |                               |                              |                              |
| Коэффициент олиготрофности – 6,76                  |                               |                               |                              |                              |

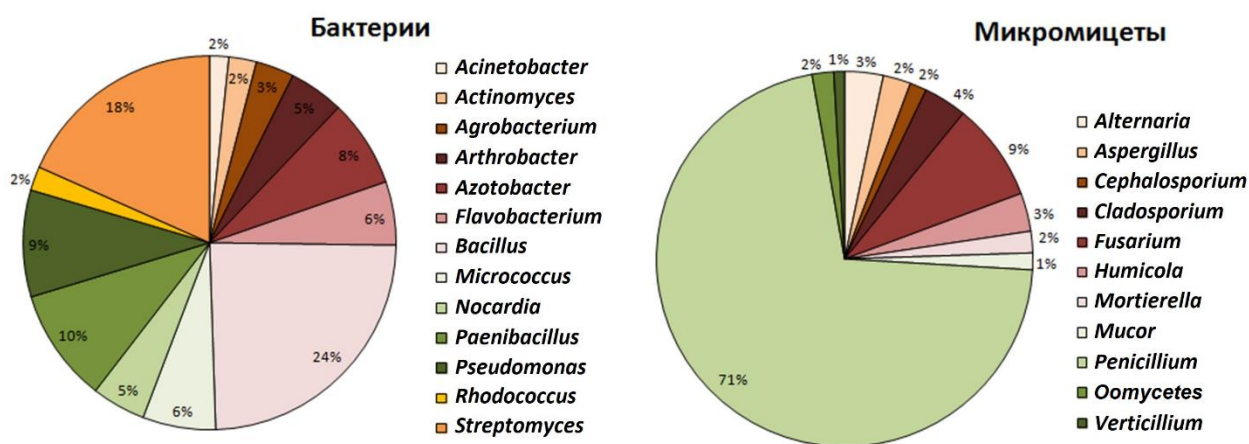


Рисунок 3.8 – Таксономический состав микробиоценоза исходных образцов полевой почвы

Среди микромицетов доминировали представители рода *Penicillium*, их доля составляла 69% от общего числа микромицетов. Далее следовали представители рода *Fusarium* – 8,4%. Также были выделены представители родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Humicola*, *Mortierella*, *Mucor* и *Verticillium*, их суммарная доля составила около 20%. Среди потенциальных фитопатогенов выделялись грибы *Fusarium*, *Alternaria*, *Verticillium*, а также представители класса *Oomycetes*, на их долю суммарно приходилось около 15% от общей численности микромицетов в почве, что говорит о высокой вероятности заражения растений, культивируемых в ней.

Через месяц после экспозиции экспериментальных гранул в почве или внесения свободных форм фунгицидов (положительный контроль) численность микромицетов, эколого-трофических групп бактерий и таксономический состав доминирующих микроорганизмов изменились.

При всех способах доставки фунгицидных препаратов численность микромицетов существенно снижалась по сравнению с отрицательным контролем (почва без фунгицидов). Свободные формы фунгицидов ТЕБ, АЗК и ЭПОК резко снижали общую численность микромицетов – в 17,7; 30,9 и 61,8 раза, соответственно, по сравнению с нативной почвой (таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Влияние способа доставки фунгицидов на численность микромицетов в почве

| Варианты опыта   | Численность микромицетов, 10 <sup>2</sup> КОЕ в 1 г почвы |                   |                  |
|--|---|-------------------|------------------|
|  | Контроль (-)  | 37,1 ± 8,2        |                  |
| Тип фунгицида:   | Тебуконазол   | Азоксистробин     | Эпоксиконазол    |
| Контроль (+)<br>свободные формы  | <b>2,1 ± 0,3*</b>   | <b>1,2 ± 0,3</b>  | <b>0,6 ± 0,4</b> |
| Наполнитель опилки   | <b>7,5 ± 2,2</b>  | <b>13,3 ± 4,2</b> | <b>7,6 ± 1,2</b> |
| Наполнитель глина  | <b>6,2 ± 3,1</b>  | <b>4,9 ± 1,7</b>  | 24,4 ± 7,4       |
| Наполнитель торф   | <b>23,4 ± 4,3</b>   | <b>11,2 ± 6,3</b> | <b>7,3 ± 4,4</b> |
| * Шрифтом выделены достоверные различия с отрицательным контролем (p < 0,05) |   |                   |                  |

Депонированные формы фунгицидов оказывали не столь выраженный эффект, как свободные формы, но все же значительно снижали их численность: ТЕБ – в 1,6-6,0 раз, АЗК – в 2,8-7,6 раза, ЭПОК – в 1,5-5,1 раза по сравнению с нативной почвой. Не было выявлено четких закономерностей изменения численности микромицетов при использовании различных наполнителей. Так, депонирование эпоксиконазола в гранулы с глиной не привело к достоверному снижению численности микромицетов, в то же время азоксистробин в гранулах с этим наполнителем показал максимальное фунгицидное действие. Гранулы с тебуконазолом и торфом были менее эффективны, чем с другими наполнителями. В целом можно отметить, что использование опилок в качестве наполнителя показывало стабильный фунгицидный эффект для всех типов фунгицидов.

Анализ таксономического состава микромицетов показал, что во всех пробах почвы, как контрольных, так и с внесением фунгицидов, доминировали виды рода *Penicillium*, доля которых составляла более 70% выросших колоний (рисунок 3.9). На втором месте в контрольных образцах почвы были виды рода *Fusarium* – 7,4%, остальные представители составляли 2-3% от общей численности.

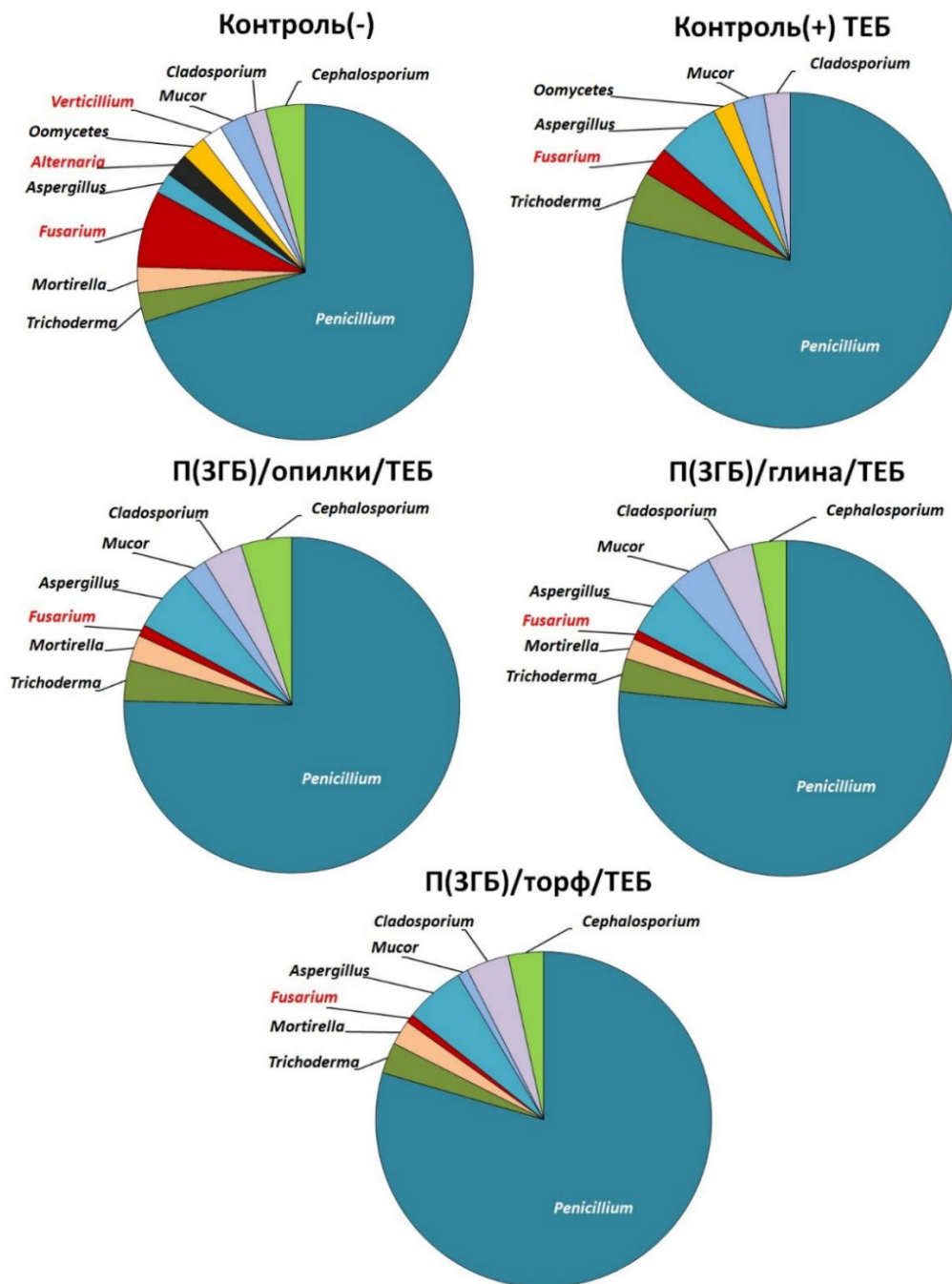


Рисунок 3.9 – Таксономическое разнообразие микромицетов при внесении депонированных и свободных форм фунгицидов на примере тебуконазола

Под влиянием свободных и депонированных форм препаратов соотношение основных таксонов микромицетов изменилось. Сократилось таксономическое разнообразие микромицетов по сравнению с контрольной почвой, но главным образом это происходило за счет снижения доли потенциальных фитопатогенов – представителей родов *Alternaria*, *Fusarium*, и *Verticillium*. Грибы рода *Fusarium* составляли около 1% при внесении депонированных форм фунгицидов и 2,8% при внесении свободной формы тебуконазола. Численность *Alternaria* и *Verticillium* при обработке фунгицидами была ниже порога обнаружения. Такой эффект можно объяснить перераспределением таксонов и увеличением доли *Trichoderma* (3-5%), *Aspergillus* (5,4-6%) и *Penicillium* (75,4-79,5%), более устойчивых к пестицидам.

Оценка влияния депонированных форм фунгицидов на нецелевую микробиоту (бактерии) выявила стимулирующее действие на развитие копитрофных бактерий. Вероятной причиной такой стимуляции было поступление дополнительного субстрата для микроорганизмов, способных гидролизовать сложные вещества, в том числе П(ЗГБ) и продукты его распада, а также компоненты опилок, торфа, гуминовых кислот и др. Кроме того, подавление роста мицелиальных грибов повышало конкурентоспособность копитрофных бактерий.

Лучше всего обеспечивали рост численности копитрофов фунгициды в гранулах с опилками – в 6,3-9,7 раза по сравнению с отрицательным контролем (таблица 3.3). В вариантах с использованием глины в качестве наполнителя численность копитрофов возросла в 1,6-6,3 раза, при использовании торфа – в 4,6-10,8 раза. Рост копитрофов сопровождался снижением численности прототрофов и олиготрофов, это способствовало уменьшению коэффициентов минерализации и олиготрофности, что указывает на поступление органического вещества в почву. Численность аэробных азотфиксаторов варьировала: наблюдали как снижение, так и повышение их численности по сравнению с контрольной почвой. Некоторые отличия в изменении численности экологотрофических групп наблюдались в зависимости от наполнителя, который

использовался в гранулах. Так, тебуконазол, депонированный в основу из П(ЗГБ) и торфа оказывал меньшее влияние на численность прототрофных, олиготрофных и азотфиксирующих организмов по сравнению с образцами гранул с глиной и опилками, но значительно сильнее стимулировал развитие копиотрофных микроорганизмов. Эпоксиконазол оказывал схожее влияние при использовании форм с опилками в качестве наполнителя. Азоксистробин в вариантах с разными типами наполнителя оказал более сильное влияние на численность прототрофов и олиготрофов, чем другие типы фунгицидов. Однако в целом тип наполнителя не оказывал значимого влияния на изменение численности прототрофных, олиготрофных или азотфиксирующих бактерий.

Таблица 3.3 – Влияние фунгицидов, депонированных в полимерную основу с различными наполнителями, на эколого-трофические группы бактерий в почве

| Тип фунгицида и наполнитель | Эколого-трофические группы бактерий,<br>10 <sup>6</sup> КОЕ в 1 г почвы |                  |                  |                  | Км   | Ко   |
|-----------------------------|---|------------------|------------------|------------------|------|------|
|                             | Копиотрофы  | Прототрофы       | Олиготрофы       | Азотфиксаторы    |      |      |
| Контроль (-)                | 2,1 ± 0,1   | 6,1 ± 0,6        | 10,8 ± 1,7       | 3,2 ± 1,2        | 2,90 | 5,14 |
| Тебуконазол/<br>опилки      | <b>18,0 ± 2,7*</b>  | <b>3,0 ± 1,3</b> | <b>1,5 ± 0,3</b> | <b>0,7 ± 0,4</b> | 0,14 | 0,08 |
| Тебуконазол/<br>глина       | <b>11,0 ± 3,0</b>   | <b>0,7 ± 0,2</b> | <b>2,3 ± 0,5</b> | <b>0,7 ± 0,4</b> | 0,06 | 0,21 |
| Тебуконазол/<br>торф        | <b>22,7 ± 4,9</b>   | 5,7 ± 0,9        | <b>3,9 ± 0,7</b> | 3,7 ± 1,1        | 0,25 | 0,17 |
| Азоксистробин/<br>опилки    | <b>13,3 ± 4,4</b>   | <b>0,5 ± 0,4</b> | <b>1,5 ± 0,2</b> | <b>0,3 ± 0,4</b> | 0,04 | 0,11 |
| Азоксистробин/<br>глина     | <b>13,3 ± 4,4</b>   | <b>0,3 ± 0,2</b> | <b>1,9 ± 0,3</b> | <b>1,0 ± 0,6</b> | 0,02 | 0,14 |
| Азоксистробин/<br>торф      | <b>9,7 ± 1,8</b>  | <b>0,7 ± 0,4</b> | <b>1,0 ± 0,1</b> | 1,7 ± 0,4        | 0,07 | 0,10 |
| Эпоксиконазол/<br>опилки    | <b>20,3 ± 1,1</b>   | <b>3,3 ± 1,1</b> | <b>2,6 ± 0,8</b> | 5,0 ± 1,4        | 0,16 | 0,13 |
| Эпоксиконазол/<br>глина     | 3,3 ± 1,1   | <b>0,4 ± 0,3</b> | <b>2,8 ± 0,5</b> | 1,7 ± 1,0        | 0,11 | 0,84 |
| Эпоксиконазол/<br>торф      | <b>11,7 ± 1,6</b>   | <b>0,9 ± 0,2</b> | <b>3,1 ± 1,1</b> | <b>0,9 ± 0,2</b> | 0,08 | 0,27 |

\* Шрифтом выделены достоверные различия с отрицательным контролем (p < 0,05);  
Км – коэффициент минерализации, Ко – коэффициент олиготрофности

Фунгициды в свободной форме проявляли ингибирующее действие на все эколого-трофические группы бактерий (таблица 3.4). Численность копиотрофов

снизилась в 1,4-3,3 раза, прототрофов – в 5,6-13,6 раза, олиготрофов – в 6,9-10,2 раза и азотфиксаторов – в 2,1-3,3 раза. Коэффициенты минерализации в вариантах с обработкой фунгицидами также снижались по сравнению с контрольной почвой. Наиболее значительным негативным действием свободных форм фунгицидов являлось угнетение роста копиотрофных бактерий, к которым относятся деструкторы органических веществ, в том числе полимеров и ксенобиотиков.

Таблица 3.4 – Влияние свободных форм фунгицидов на эколого-трофические группы бактерий в почве

| Тип фунгицида | Эколого-трофические группы бактерий,<br>10 <sup>5</sup> КОЕ в 1 г почвы |                  |                   |                  | Км   | Ко   |
|---------------|---|------------------|-------------------|------------------|------|------|
|               | Копиотрофы  | Прототрофы       | Олиготрофы        | Азотфиксаторы    |      |      |
| Контроль (-)  | 13,3 ± 0,9  | 53,4 ± 17,8      | 87,7 ± 17,5       | 20,1 ± 12,4      | 4,02 | 6,59 |
| Тебуконазол   | <b>9,3 ± 1,1*</b>   | <b>9,5 ± 0,8</b> | <b>8,6 ± 0,9</b>  | <b>9,5 ± 0,2</b> | 1,02 | 0,92 |
| Азоксистробин | <b>9,4 ± 1,7</b>  | <b>8,1 ± 1,7</b> | <b>8,9 ± 0,2</b>  | <b>7,5 ± 2,1</b> | 0,98 | 3,19 |
| Эпоксиконазол | <b>4,0 ± 0,7</b>  | <b>3,9 ± 0,8</b> | <b>12,8 ± 3,5</b> | <b>6,1 ± 0,7</b> | 0,86 | 0,65 |

\* Шрифтом выделены достоверные различия с отрицательным контролем (p < 0,05);  
Км – коэффициент минерализации, Ко – коэффициент олиготрофности

Таким образом, изменение численности эколого-трофических групп бактерий при внесении в почву депонированных форм фунгицидов было менее драматично по сравнению со свободными формами фунгицидов и обусловлено, в том числе, естественными закономерностями, происходящими при изменении трофических условий в почве.

Применение разных способов доставки фунгицидов в почву отразилось не только на численности микроорганизмов, но и на их разнообразии. На примере тебуконазола было показано, что в почве с фунгицидами формировались микробные сообщества, отличающиеся по набору и соотношению видов от микробиоценоза контрольной почвы; при этом выявлена смена доминирующих культивируемых бактерий (рисунок 3.10).

В контрольной почве без фунгицидов доминировали грамположительные бактерии (88,2%), в том числе спорообразующие (*Bacillus* – 43,5% и *Paenibacillus*

– 7,6%); на втором месте были актинобактерии (37,1%); доля грамотрицательных бактерий составила 11,8%.

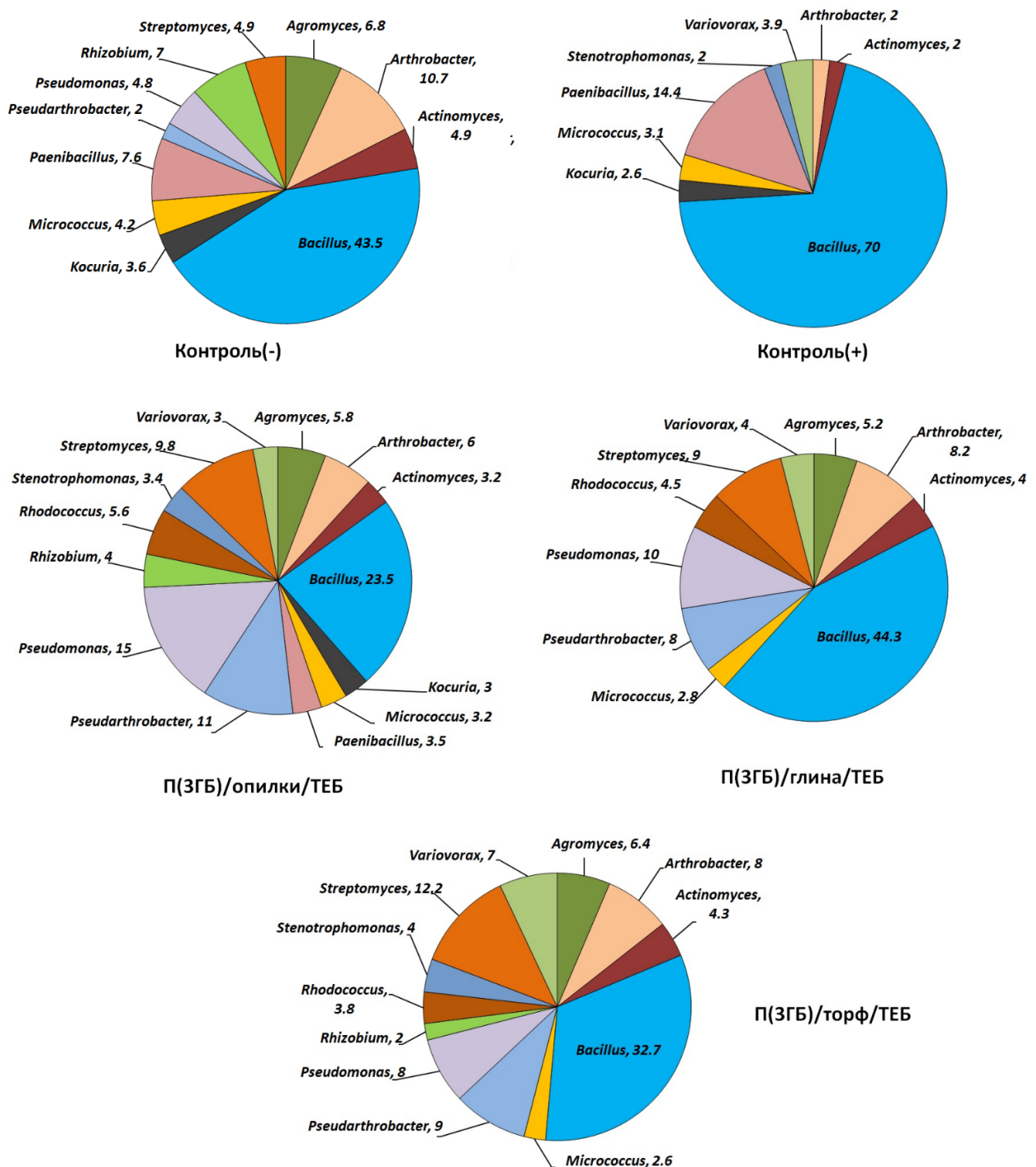


Рисунок 3.10 – Таксономическое разнообразие бактерий при внесении депонированных и свободных форм фунгицидов на примере тебуконазола

После внесения депонированного тебуконазола доля грамположительных споровых бактерий снизилась до 27-44,3%, а грамотрицательных увеличилась до

14-25,4%. Среди протеобактерий в образцах почвы с гранулами ТЕБ обнаружены представители родов *Stenotrophomonas* (3,4-4%) и *Variovorax* (3-7%), которые не выделялись в контрольной почве. Доля бактерий рода *Pseudomonas* увеличилась в 1,7-3,1 раза по сравнению с отрицательным контролем. Среди актинобактерий обнаружены *Rhodococcus* (3,8-5,6%), кроме того, увеличилась доля *Pseudarthrobacter* до 8-11% и *Streptomyces* до 9-12,2%. Такое соотношение согласуется с набором первичных деструкторов П(ЗГБ), образующих П(ЗГБ)-деполимеразы, синтез которых индуцируется в присутствии субстрата.

При внесении свободного тебуконазола отмечено наиболее выраженное снижение видового разнообразия и абсолютное доминирование грамположительных споровых бактерий – представителей родов *Bacillus* (70%) и *Paenibacillus* (14,4%). Это обусловлено тем, что *Bacillus* относится к типичным почвенным микроорганизмам, способным использовать сложные органические вещества, в том числе пестициды, в качестве субстрата.

Тип наполнителя не оказывал значимого влияния на таксономический состав микроорганизмов. При внесении в почву гранул с другими типами фунгицидов (эпоксиконазол и азоксистробин) отмечали действие, схожее с тебуконазолом: увеличивалась доля протеобактерий (*Pseudomonas*, *Variovorax*) и актинобактерий (*Pseudarthrobacter*, *Rhodococcus*, *Streptomyces*).

### **Заключение к главе 3:**

Депонированные формы фунгицидных препаратов были изготовлены в виде гранул из гомогенных смесей биоразрушаемого полимера поли(3-гидроксibuтирата), природных материалов в качестве наполнителей (глина, торф, опилки) и фунгицидов системного действия, разрешенных к применению в РФ. Исследовано разрушение полученных фунгицидных гранул в лабораторных почвенных микрэкосистемах и выход действующего вещества из полимерной основы. Показано, что гранулы могут длительно функционировать в почве (до трех и более месяцев). Деградация основного компонента смеси – П(ЗГБ) обеспечивала постепенный выход фунгицидов в течение вегетационного периода



без резкого увеличения концентрации препарата в почве. Динамика деградации гранул и кинетика выхода препаратов зависела от растворимости фунгицидов и их стабильности в почве.

Из образцов почвы с поверхности гранул выделены и идентифицированы бактерии и микромицеты – первичные деструкторы П(ЗГБ). Оценка влияния разработанных препаратов на микробиоту почвы показала снижение общей численности микромицетов, в том числе фитопатогенных представителей. Эффективность фунгицидного действия гранул была сопоставима со свободными формами действующего вещества, следовательно, депонирование фунгицидов в основу П(ЗГБ)/наполнитель не ингибирует их фунгицидную активность. Показано отсутствие негативного влияния разработанных препаратов на почвенные бактерии в отличие от свободных форм фунгицидов. Селективное действие депонированных препаратов на почвенный микробоценоз проявлялось в увеличении доли протеобактерий и актинобактерий, среди которых были выявлены деструкторы.

## Глава 4 ФУНГИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕПОНИРОВАННЫХ ФУНГИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

### 4.1 Фунгицидное действие депонированных препаратов *in vitro* в отношении возбудителей болезней зерновых культур и картофеля

Заболевания растений, связанные с развитием фитопатогенных грибов, наносят большой вред сельскому хозяйству. Для каждой территории характерен свой набор возбудителей, в связи с этим для оценки фунгицидной активности депонированных препаратов были выделены и идентифицированы представители, характерные для района исследований. В работе был проведен фитосанитарный анализ семян яровой пшеницы сорта Новосибирская 15, ярового ячменя сорта Биом и клубней картофеля сортов Красноярский ранний и Леди Клэр. В ходе фитосанитарного анализа были выделены в чистую культуру 19 грибных изолятов, отнесенных к следующим родам: *Alternaria* – 3 изолята, *Rhizoctonia* – 1 изолят, *Phytophthora* – 1 изолят, *Boeremia* – 2 изолята, *Fusarium* – 12 изолятов. Все представители рода *Alternaria* выделялись преимущественно из образцов полевой почвы, только изолят *A. longipes* F-solK1 был выделен с клубней картофеля сорта Красноярский ранний. Представители родов *Rhizoctonia*, *Phytophthora* и *Boeremia* выделялись только из пораженных клубней обоих сортов картофеля и не обнаруживались в почвенных пробах. Изоляты рода *Fusarium* были наиболее многочисленные и встречались как в почвенных пробах, так и на клубнях картофеля и на зерне. Грибы рода *Fusarium* доминировали среди изолятов, выделенных из клубней, пораженных при хранении, а также на зараженном зерне.

По результатам анализа последовательностей нуклеотидов фрагментов генов рибосомальной РНК были определены следующие виды: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl.; *Alternaria longipes* (Ellis & Everh.) E.W. Mason; *Boeremia exigua* (Desm.) Aveskamp, Gruyter & Verkley (ранее *Phoma exigua* Desm.); *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary; *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn; *Fusarium oxysporum* Schldl.; *Fusarium redolens* Wollenw.; *Fusarium solani* (Mart.) Sacc.;

*Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. и *Fusarium vanettenii* O'Donnell, Geiser, Kasson & T. Aoki (приложение Б).

Нуклеотидные последовательности выделенных изолятов депонированы в базе данных GenBank под номерами MZ424190-MZ424198, ON528756. Филогенетический анализ идентифицированных штаммов и наиболее близких гомологов из GenBank показал, что штаммы формируют на дереве с максимальным уровнем “bootstrap”-поддержки три отдельных кластера (рисунок 4.1).

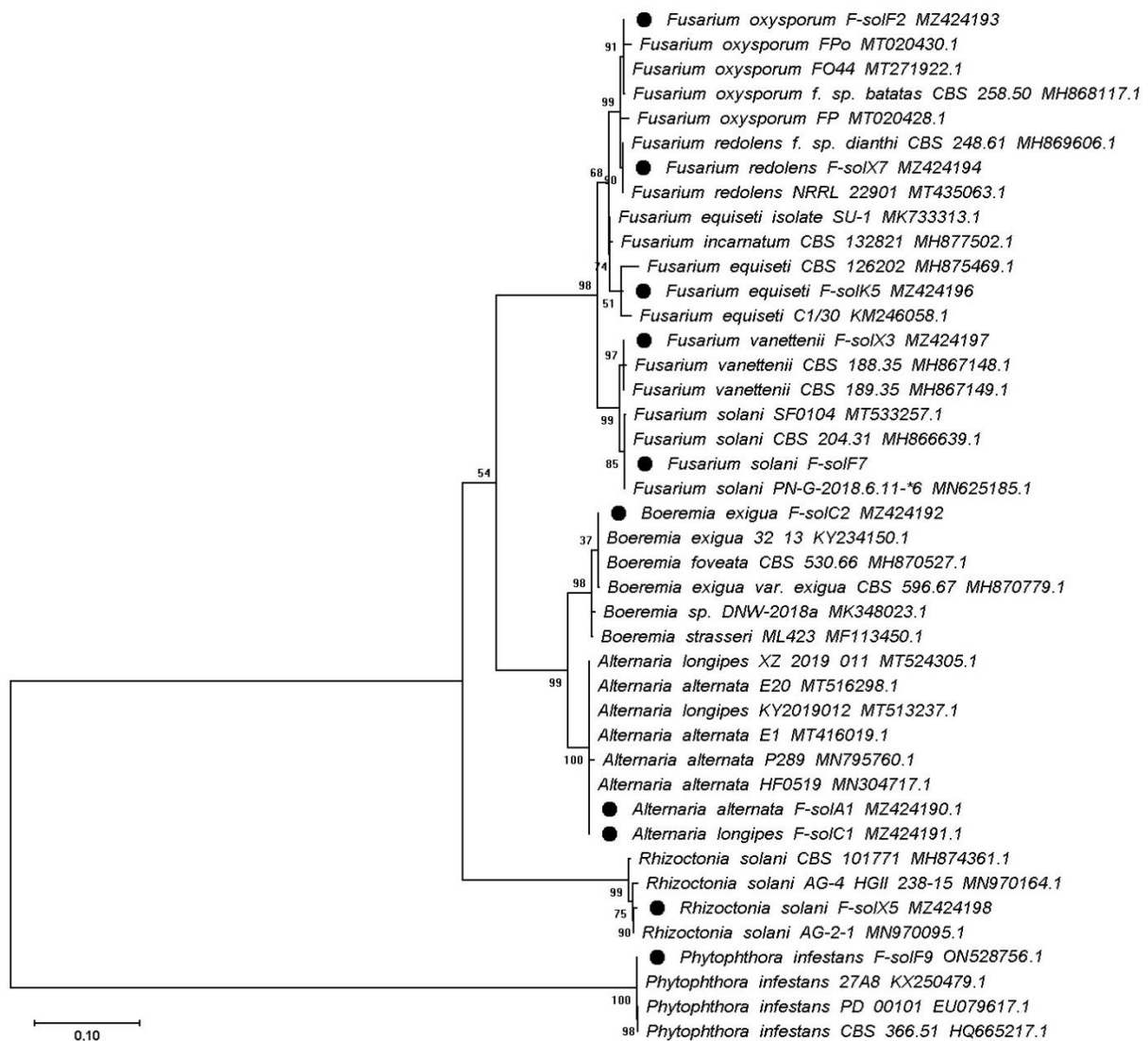


Рисунок 4.1 – Бескорневое филогенетическое дерево, построенное на основе анализа последовательностей гена 28S рРНК с использованием модели Джукса и Кантора, метод максимального правдоподобия. Шкала показывает количество замен на сайт. Маркером отмечены штаммы фитопатогенных грибов, распространенные в Красноярском крае (Прудникова и др., 2021)

В соответствии с современными представлениями о систематике грибов, первый кластер монофилетический, содержит штаммы вида *Phytophthora infestans*, принадлежащего к филуму *Oomycota*, порядок *Peronosporales*. Второй кластер также монофилетический содержит вид *Rhizoctonia solani*, относящийся к порядку *Cantharellales* отдела *Basidiomycota*. Третий кластер – полифилетический, включает представителей отдела *Ascomycota*: виды родов *Fusarium*, относящиеся к порядку *Hypocreales*, и виды родов *Alternaria* и *Boeremia*, относящиеся к порядку *Pleosporales*.

Виды рода *Fusarium* – космополиты, широко распространенные среди патогенов зерновых культур и картофеля как в России, так и в других странах мира. Вид *Boeremia exigua* вызывает поражение клубней картофеля при хранении (гангрена или фомозная гниль). Возбудители альтернариоза картофеля *A. alternata* и *A. longipes* также повсеместно распространены и проявляют высокую скорость распространения и вредоносность. Наиболее вредоносный и распространенный патоген картофеля – возбудитель фитофтороза *P. infestans* – космополит, поражающий растения и клубни во всех картофелеводческих регионах, как в России (Кузнецова М.А. и др., 2010; Соколова, 2019; Хадиева и др., 2018).

В отношении выделенных видов грибов была проведена оценка эффективности экспериментальных форм фунгицидных препаратов *in vitro*. Все препаративные формы фунгицидов, как свободные, так и депонированные, подавляли рост гриба *Fusarium fujikuroi* вне зависимости от типа фунгицида и использованного наполнителя. Рост мицелия ингибировался, диаметр колоний снижался в 1,4-2,8 раза по сравнению с диаметром колоний в отрицательном контроле (рисунок. 4.2, приложение В). Различий в чувствительности *F. fujikuroi* к фунгицидам в свободной форме и депонированным в гранулы обнаружено не было. В связи отсутствием достоверных отличий между препаратами с различными наполнителями для дальнейших экспериментов были выбраны опилки в качестве наполнителя

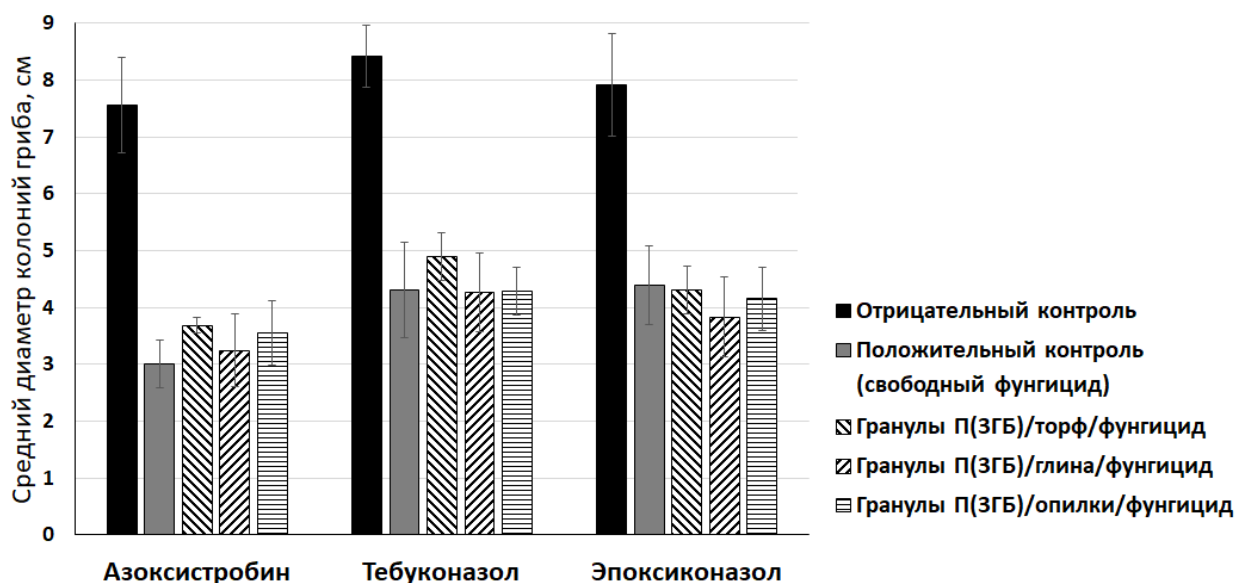


Рисунок 4.2 – Чувствительность гриба *F. fujikuroi* к свободным и депонированным фунгицидам *in vitro*

Экспериментальные формы фунгицидных препаратов азоксистробина, дифеноконазола или смеси азоксистробина и мефеноксама, изготовленные в виде гранул, были протестированы в отношении 10 штаммов фитопатогенных грибов, выделенных из почвы, семян зерновых культур и клубней картофеля. Все разработанные формы депонированных фунгицидов подавляли рост мицелия фитопатогенных грибов на чашках Петри (рисунок 4.3, приложение Г). Наиболее чувствительными к разработанным формам фунгицидов были виды *A. longipes*, *B. exigua*, *P. infestans*, *R. solani* и *F. solani*.

Сравнение с положительным контролем – свободными формами фунгицидов (действующим веществом фунгицида в количестве, эквивалентном содержанию в грануле), показало, что в большинстве случаев депонированные препараты не уступали по эффективности. Следовательно, при диффузии в агар из гранул выделялось достаточное количество препарата, чтобы останавливать рост мицелия, а эффективность депонированного фунгицида зависела от уровня восприимчивости гриба, а не от типа формы. Так, например, среди представителей рода *Alternaria* вид *A. alternata* был в меньшей степени подвержен действию обеих форм фунгицидов (свободных и депонированных), чем *A. longipes*.

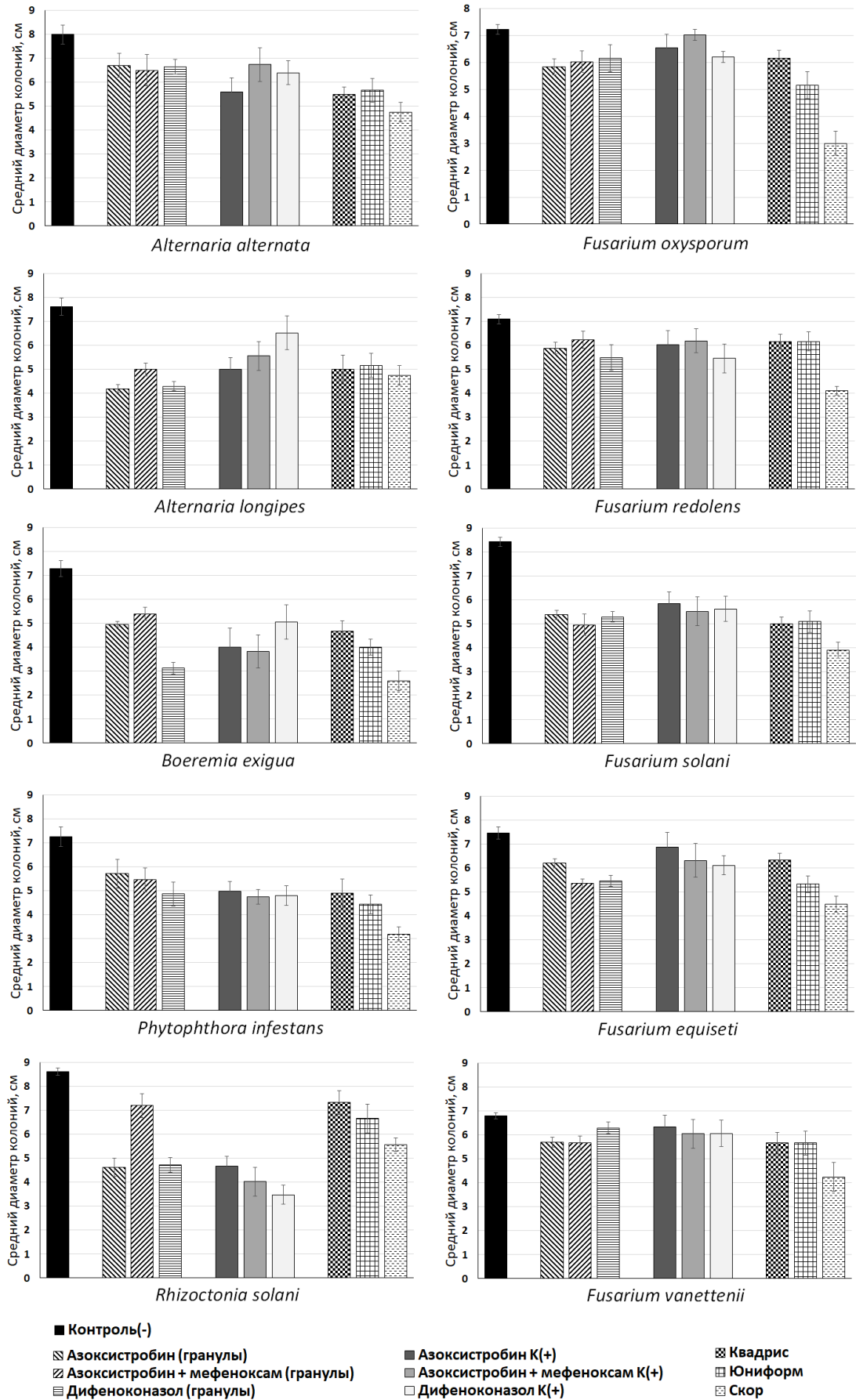


Рисунок 4.3 – Чувствительность фитопатогенных грибов к разным формам фунгицидов: депонированным в гранулы, свободным формам и коммерческим препаратам *in vitro*

Средний диаметр колонии вида *A. longipes* без фунгицидов достигал  $7,6 \pm 0,4$  см; под действием гранулированных препаратов диаметр колонии уменьшался в 1,5-1,8 раза. Свободные формы препаратов оказывали аналогичное действие, подавляя рост колонии гриба в 1,4-1,6 раза (рисунок 4.3, приложение В).

Аналогичная тенденция была отмечена и среди видов рода *Fusarium*. В отрицательном контроле колония гриба *F. solani* занимала практически всю поверхность агаровой среды в чашке, диаметр составил  $8,8 \pm 0,2$  см. Все депонированные формы фунгицидов были одинаково эффективны в ингибировании роста колонии гриба, диаметр колонии уменьшался в 1,6-1,7 раза под действием гранул. Действие свободных форм фунгицидов не отличалось от депонированных форм.

Сходные результаты получены для гриба *P. infestans*. Без воздействия фунгицидов диаметр колонии составлял  $7,1 \pm 0,4$  см, все типы фунгицидов в гранулах оказывали одинаковое ингибирующее действие на рост мицелия, диаметр колонии уменьшился в 1,3 раза.

Вид *R. solani* был наиболее чувствителен к дифеноконазолу и его коммерческому аналогу – препарату Скор. В целом, препарат Скор оказывал наиболее сильное ингибирующее действие *in vitro* среди коммерческих аналогов, диаметр колоний грибов уменьшился в 1,6-2,8 раза. Схожие результаты наблюдали и с другими видами исследованных фитопатогенных грибов.

Таким образом, экспериментальные формы депонированных фунгицидов проявляли фунгицидное действие, в том числе в отношении наиболее вредоносных патогенов картофеля – *P. infestans*, *R. solani* и *F. solani*, и не уступали по эффективности свободным фунгицидам и коммерческим препаратам. Депонирование фунгицидов в полимерную основу не снижает их эффективности. Полученные результаты дают возможность перейти к следующим этапам исследования – лабораторным экспериментам с тестовыми растениями.

## **4.2 Эффективность применения пролонгированных препаратов фунгицидного действия в лабораторных условиях в посевах зерновых культур**

Исследована эффективность действия разработанных экспериментальных форм двух фунгицидов: П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ и П(ЗГБ)/опилки/ЭПОК, нагруженных действующими веществами на 20 вес. %, в лабораторных посевах яровой пшеницы Новосибирская 15 и ярового ячменя сорта Биом. Тестовые культуры растений выращивали в фитотроне.

В ходе наблюдений периодически отбирали пробы образцы ризосферной почвы и растений (корни и наземную часть) согласно фазам развития: всходы (7-10 сутки), кущение (26-28 сут.), выход в трубку (40-42 сут.), колошение (50-56 сут.), созревание (80-84 сут.). Показателями эффективности действия экспериментальных форм тебуконазола и эпоксиконазола в сравнении со свободными препаратами (положительный контроль) служили: динамика численности фитопатогенных грибов в почве, пораженность корневой системы пшеницы и ячменя фитопатогенными грибами, динамика прироста биомассы надземной части растений. Перед началом эксперимента проводили фитосанитарный анализ семян и микробиологический анализ почвы.

### **4.2.1 Фитосанитарный анализ семян и почвы**

Семена пшеницы и ячменя имели высокую всхожесть (свыше 90%) и низкую зараженность. У пшеницы общая зараженность семян при проращивании во влажных камерах составила 21%, у ячменя общая зараженность составила 33% (рисунок 4.4). Семена пшеницы были в большей степени заражены фузариозной инфекцией (11 %); семена ячменя – альтернариозной (22%), в некоторых случаях наблюдалась смешанная инфекция.



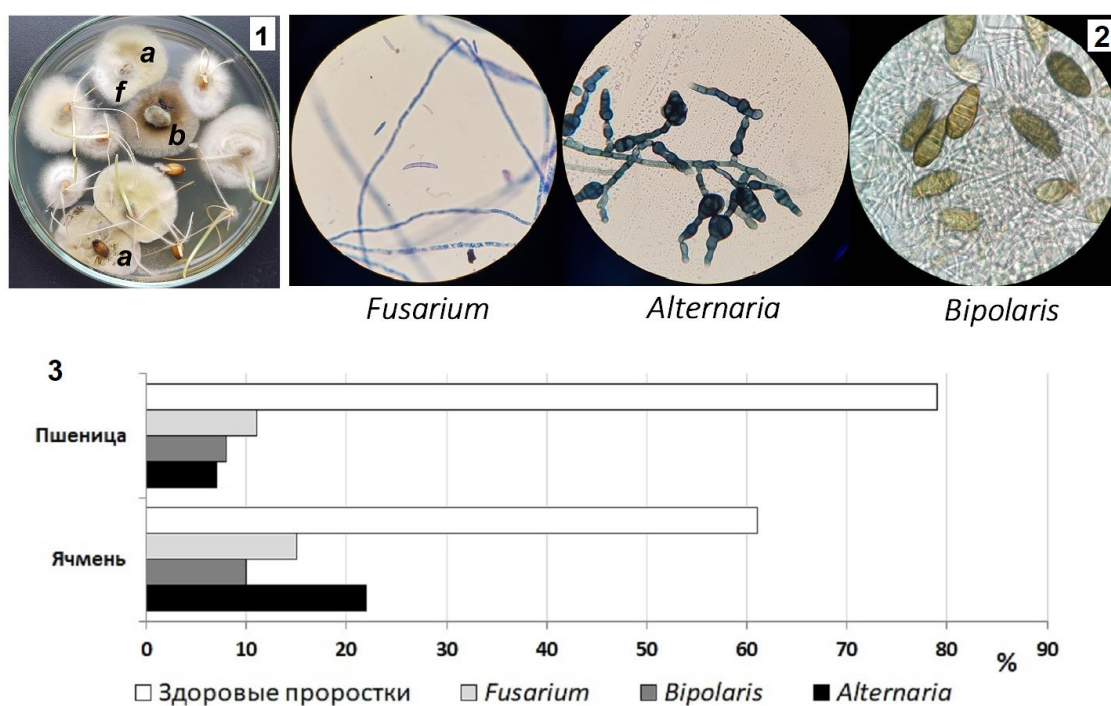


Рисунок 4.4 – Фитосанитарный анализ семян: 1 – проращивание семян на питательной среде (*a* – *Alternaria*; *b* – *Bipolaris*; *f* – *Fusarium*); 2 – микрофотографии фитопатогенов; 3 – частота встречаемости фитопатогенных грибов при проращивании семян *in vitro*

Образы почвы для эксперимента были отобраны на территории стационара Красноярского государственного агроуниверситета (микрорайон Ветлужанка, г. Красноярск). Почва характеризуется как лугово-черноземная, по строению профиля близка к черноземам; имеет мощный гумусовый горизонт, рыхлый с зернистой структурой. Химический анализ показал, что почва характеризуется нейтральной реакцией почвенного раствора, низкой гидролитической кислотностью, очень высоким содержанием гумуса, превышающим 10 %. Микробиологический анализ исходных образцов почвы показал, что общая численность микромицетов составляла  $(35,6 \pm 5,0) \times 10^3$  КОЕ/г почвы. Анализ эколого-трофических групп бактерий выявил высокую численность копитрофных бактерий –  $(57,7 \pm 8,6) \times 10^6$  КОЕ/г, численность прототрофных и олиготрофных бактерий составляла  $(5,7 \pm 1,3) \times 10^6$  и  $(14,1 \pm 3,8) \times 10^6$  КОЕ/г, соответственно. Низкие коэффициенты минерализации (0,10) и олиготрофности (0,24) указывают на высокое содержание органического вещества в почве и незавершенность процессов минерализации. Также выявлена относительно

невысокая численность азотфиксирующих бактерий –  $(3,6 \pm 0,5) \times 10^6$  КОЕ/г, что также свидетельствует о наличии доступных форм азота в почве.

Среди бактерий в почвенных образцах доминировали грамотрицательные палочки, представители рода *Pseudomonas* (из них 79% - *P. vancouverensis*); на втором месте – грамположительные спорообразующие палочки рода *Bacillus*, в том числе *B. pumilus* (9,6%), *B. idriensis* (4,7%) и другие виды (рисунок 4.5 а).

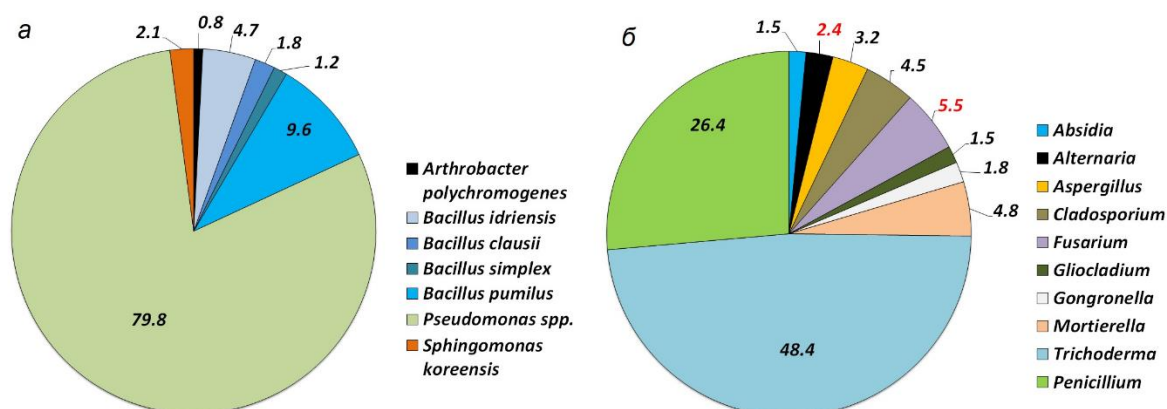


Рисунок 4.5 – Таксономическое разнообразие доминирующих бактерий (а) и микромицетов (б) в образцах исходной почвы лабораторного эксперимента

Среди доминирующих таксонов микромицетов в почве преобладали представители родов *Trichoderma* (48,4%) и *Penicillium* (24,6%). Фитопатогенные микроорганизмы были представлены родами *Fusarium* и *Alternaria*, их доля составляла всего 7,9% (рис. 4.5 б). Кроме того, в почве присутствовали минорные микромицеты родов *Aspergillus*, *Mortierella*, *Cladosporium*, *Gliocladium*, *Gongronella* и *Absidia* (1,5-4,8%). Таким образом, источником грибных инфекций корневой системы при выращивании пшеницы и ячменя в охарактеризованной почве могут быть как почвенные фитопатогены, так и виды, присутствующие в семенном материале. Большая доля грибов *Trichoderma* – один из показателей супрессивности почвы, способствующей ограничению численности фитопатогенов.

#### 4.2.2 Влияние депонированных форм фунгицидных препаратов на сообщество микробиоты ризосферной почвы пшеницы и ячменя

Исследование сообщества микробиоты ризосферы пшеницы и ячменя показали отличия в характере действия разных форм доставки фунгицидов. Оба фунгицида, как свободные, так и депонированные, снижали общую численность микробиоты в ходе эксперимента, в то время как в ризосфере интактных растений пшеницы и ячменя общая численность микробиоты в течение 84 суток эксперимента оставалась на уровне 30-35 тыс. КОЕ в 1 г почвы (рисунок 4.6).

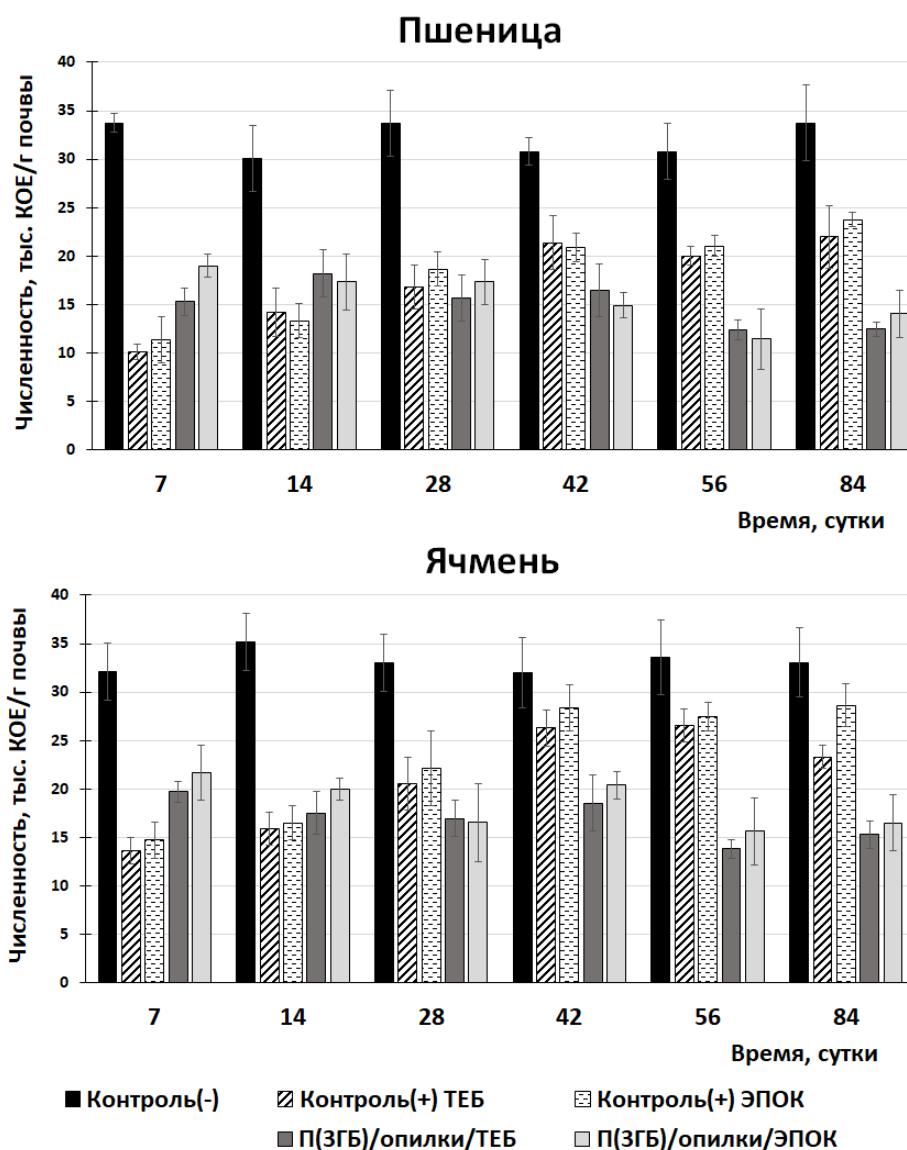


Рисунок 4.6 – Влияние свободных и депонированных форм фунгицидов на численность почвенных микробиоты

В начальный период эксперимента (7-14 суток) свободные фунгициды были активнее депонированных форм и снижали численность микромицетов в ризосфере пшеницы в 2,1-3,3 раза и ячменя в 2,1-2,4 раза в сравнении с отрицательным контролем. На 28 сутки (фаза кущения) и далее фунгицидное действие свободных форм ТЕБ и ЭПОК ослабевало, и численность микромицетов возрастала, но при этом была ниже отрицательного контроля во все фазы эксперимента. Депонированная форма тебуконазола обеспечивала стабильное снижение численности микромицетов, которое составило в сроки 28 суток  $15,6 \pm 2,4$  и  $16,9 \pm 1,8$  тыс. КОЕ в 1 г ризосферной почвы, соответственно, у пшеницы и ячменя. Это в 2,2 и 1,9 раза ниже, чем в отрицательном контроле.

На заключительном этапе фунгицидное действие депонированной формы ТЕБ усиливалось и превышало по эффективности свободную форму этого фунгицида в посевах пшеницы – в 1,9 раза и ячменя – в 1,6 раза. Депонированный эпоксиконазол также снижал численность микромицетов в ризосфере обоих растений на протяжении всего эксперимента. В конце опыта численность микромицетов в среднем была в 1,8 раза ниже по сравнению со свободной формой этого фунгицида. Таким образом, депонированные фунгициды обеспечивали более длительное функционирование и эффективное подавление микромицетов в ризосфере пшеницы и ячменя.

Анализ таксономического состава микромицетов показал, что в ризосфере интактных растений пшеницы, как и в исходной почве, в течение всего эксперимента сохранялось доминирование грибов рода *Trichoderma*, доля которых варьировала в разные сроки от 45 до 55 % (рисунок 4.7). Вторым по численности был род *Penicillium*, доля которого составляла от 15 до 22 %. Количество фитопатогенных грибов (*Alternaria* + *Fusarium*) в ризосфере пшеницы без внесения фунгицидов в ходе эксперимента увеличивалась: через 7 дней суммарная доля фитопатогенов составляла 10,5 %, а к концу эксперимента (84 суток) достигла 17 %.

Грибы *Bipolaris sorokiniana* не были обнаружены при высеве почвенных суспензий, однако впоследствии выделялись при анализе корней растений во

влажных камерах. Это может объясняться низкой численностью этих грибов в почве (ниже порога обнаружения) или заражением корневой системы в процессе прорастания семян, несущих внутреннюю инфекцию.

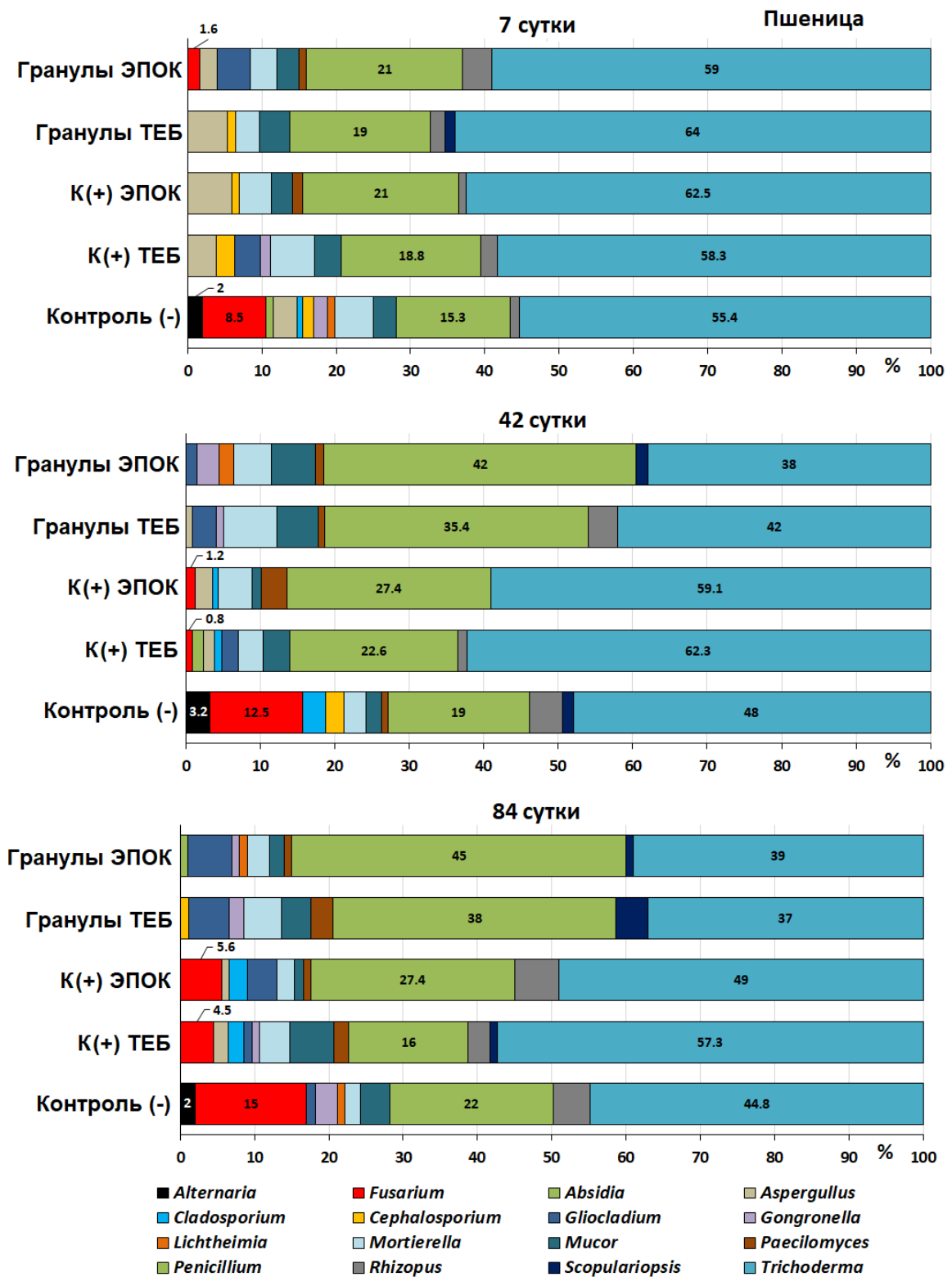


Рисунок 4.7 – Влияние свободных и депонированных форм фунгицидов на таксономический состав почвенных микромицетов в ризосфере пшеницы

Применение фунгицидных препаратов, как в свободном виде, так и депонированных, не только снижало общую численность микромицетов в почве, но и меняло соотношение представителей, уменьшая долю фитопатогенов и увеличивая долю сапрофитов. Внесение обоих типов фунгицидов в свободном виде не повлияло на развитие доминантных родов *Trichoderma* и *Penicillium*, которые сохранили свое преимущество в сообществе микромицетов. Наименее чувствительными к фунгицидам были грибы *Trichoderma*: после внесения свободного ТЕБ их доля возрастала в среднем до 60%. Схожие результаты получены при внесении свободного ЭПОК. Грибы рода *Penicillium* по-прежнему занимали второе место. Что касается фитопатогенных грибов, представители *Fusarium* и *Alternaria* не обнаруживались в положительных контролях в течение 42 суток эксперимента. Однако на 84 сутки был зафиксирован рост колоний *Fusarium*, доля которых составила 4,5 % и 5,6 % при внесении свободных ТЕБ и ЭПОК, соответственно. Это может быть связано с частичным разрушением фунгицидных препаратов в почве микробными ферментами.

Депонированные формы ТЕБ эффективно сдерживали развитие фитопатогенных грибов в ризосфере пшеницы. В течение всего эксперимента грибы *Fusarium* и *Alternaria* при внесении гранул ТЕБ не выявлялись. В сравнении с тебуконазолом депонированный эпоксиконазол был чуть менее эффективным в начальные сроки (7 дней), когда был зарегистрирован рост колоний *Fusarium* (1,6 %), однако в последующие сроки (42 и 84 дня) фитопатогены в почве не обнаруживались. Среди сапротрофных грибов в пробах почвы в конце эксперимента (84 сутки) зафиксировано уменьшение доли представителей *Trichoderma* и увеличение доли *Penicillium*, особенно выражено в вариантах с депонированными фунгицидами.

Аналогичные тенденции были обнаружены в сообществе микромицетов ризосферной почвы ячменя (рисунок 4.8). Во всех образцах почвы доминировали грибы рода *Trichoderma*; при внесении свободных форм фунгицидов их доля в пробах возрастала в ходе эксперимента до 74 % (свободный ТЕБ) и 77,5 % (свободный ЭПОК). На втором месте по численности был *Penicillium*, как и в

ризосфере пшеницы, однако его частота встречаемости уменьшалась к концу эксперимента до 9-11 %. В целом, следует отметить снижение видового разнообразия микромицетов в ризосфере ячменя при внесении свободных форм обоих фунгицидов.

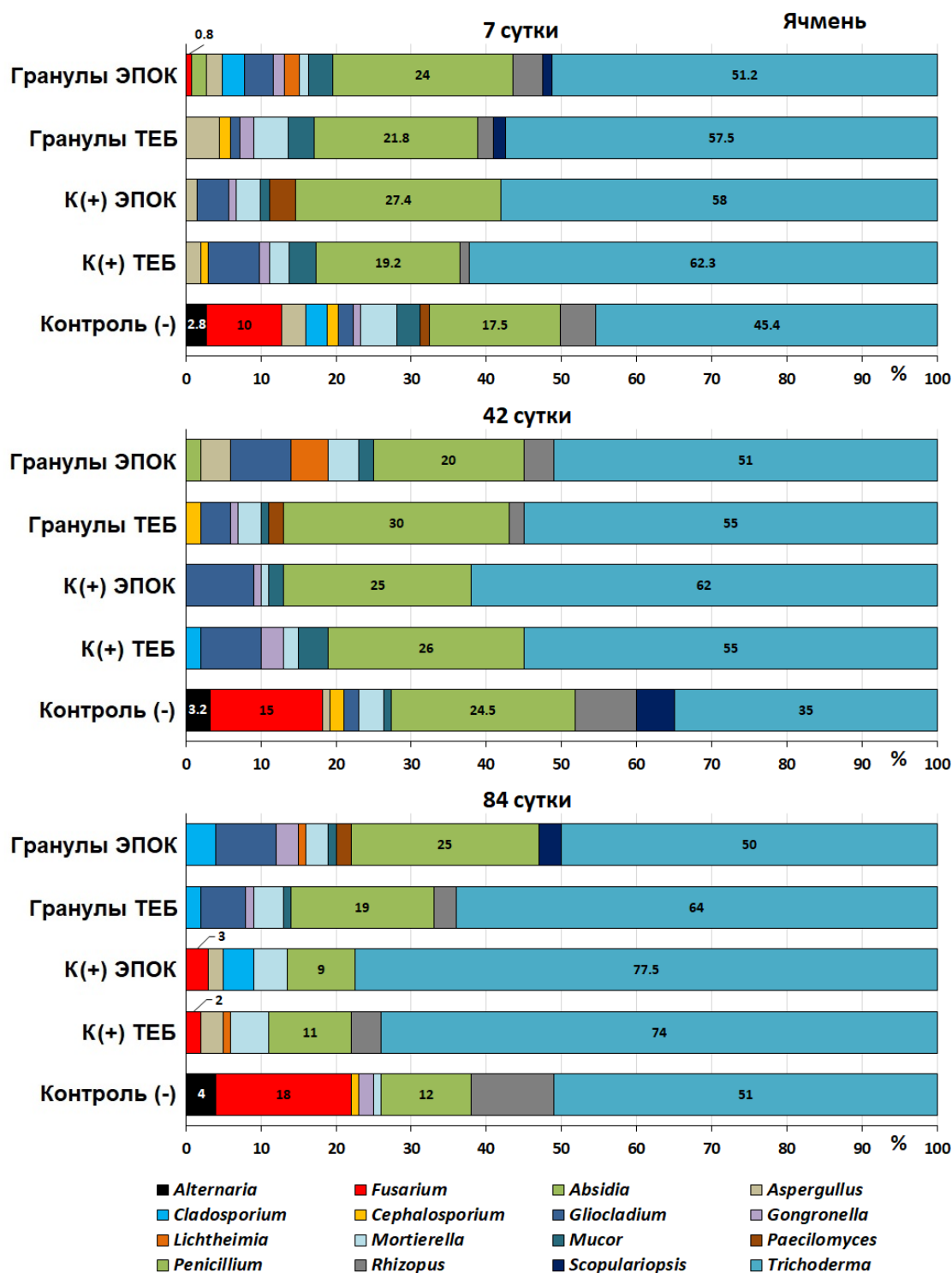


Рисунок 4.8 – Влияние свободных и депонированных форм фунгицидов на таксономический состав почвенных микромицетов в ризосфере ячменя

В вариантах, с применением депонированных ТЕБ и ЭПОК, соотношение микромицетов сдвигалось в сторону увеличения доли грибов рода *Penicillium*. Таксономическое разнообразие сообщества сапротрофных микромицетов также увеличивалось при внесении депонированных ТЕБ и ЭПОК, что указывает на отсутствие выраженного токсического действия форм на полезную микробиоту. Доля фитопатогенных грибов *Alternaria* и *Fusarium* в ризосфере интактных растений ячменя увеличивалась, составляя в конце эксперимента 22 % от всех выделенных колоний микромицетов. При использовании депонированных фунгицидов отмечено снижение развития фитопатогенов в течение всего срока наблюдения. Начиная с 42 суток и до конца эксперимента (84 сутки) представителей *Alternaria* и *Fusarium* в пробах ризосферной почвы экспериментальных групп растений не обнаружено, тогда как в положительных контролях отмечено появление грибов *Fusarium* (2-3 %) на 84 сутки.

#### **4.2.3 Биологическая эффективность депонированных форм фунгицидных препаратов и их влияние на ростовые показатели пшеницы и ячменя**

Микробиологические исследования корневой системы растений проводили в динамике по фазам развития растений. Показатели распространения корневой инфекции (%) в группах растений с разными формами доставки фунгицидов использовали для расчета биологической эффективности фунгицидов (Попов и др., 2003) по сравнению с группами отрицательного контроля – интактными растениями.

В отрицательном контроле в течение всего эксперимента зараженность корней пшеницы фитопатогенными грибами постепенно увеличивалась от фазы всходов (7 суток) до созревания (84 суток) и составляла в эти фазы от 20,8 до 33,2% (рисунок 4.9). В положительных контролях при внесении ТЕБ и ЭПОК в свободном виде фунгицидный эффект отмечали уже через 7 суток: биологическая эффективность по сравнению с негативным контролем составляла 52% при



внесении растворенного ТЕБ и 42,4% – при внесении ЭПОК (таблица 4.1). Фунгицидное действие экспериментальных форм депонированных препаратов в этот же период (7-14 суток) было вполне очевидно, но менее выражено, что связано с постепенным выходом препарата из гранул; биологическая эффективность гранул ТЕБ на пшенице составляла 20%, гранул ЭПОК – 2,6%. На 28-е сутки действие экспериментальных форм ТЕБ было сопоставимо с положительным контролем, а биологическая эффективность составляла 71,4%. Более низкая эффективность депонированного эпоксиконазола (56,8%) обусловлена его слабой растворимостью и замедленным выходом из гранул по сравнению с тебуконазолом. Через 42, 56 и 84 суток зараженность корней при использовании обеих форм депонированных фунгицидов значительно снижалась, а биологическая эффективность превышала действие свободных форм препаратов, достигая 88 и 91,0% для ТЕБ и ЭПОК соответственно (таблица 4.1).

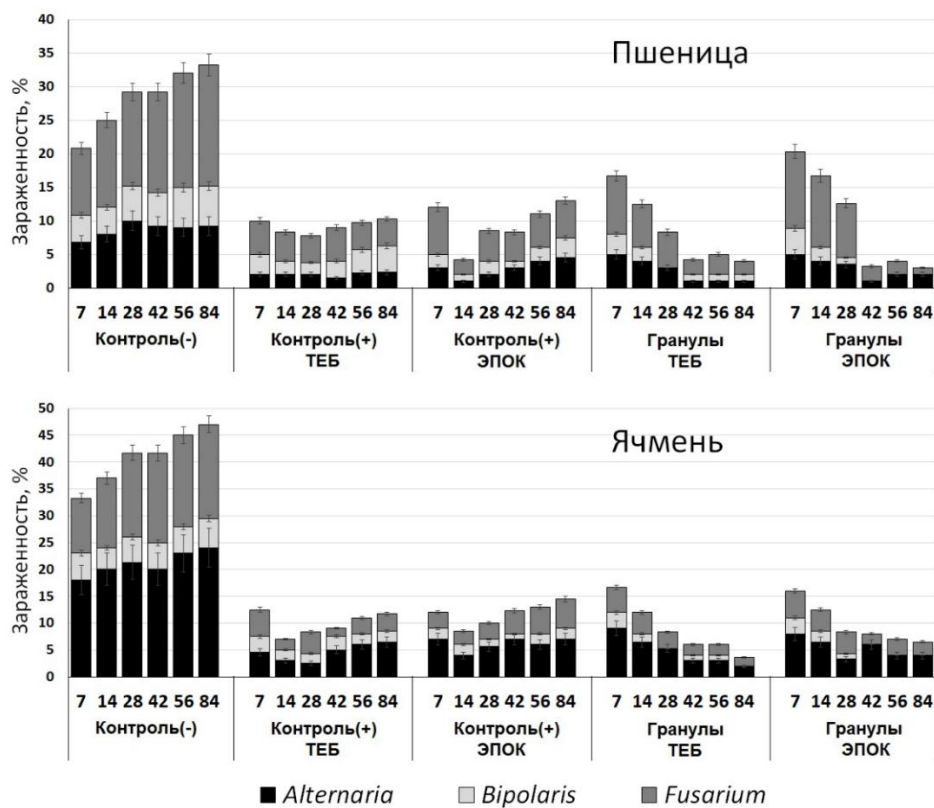


Рисунок 4.9 – Влияние свободных и депонированных форм фунгицидов на зараженность растений корневыми гнилями

Аналогичные результаты были получены при анализе фитопатогенов на корнях ячменя. В отрицательном контроле зараженность корней нарастала и к фазе начала колошения достигала 47% (рисунок 4.9). В первые 7-14 суток наблюдали снижение зараженности корней ячменя под действием гранул ТЕБ и ЭПОК, однако их биологическая эффективность была лишь немногим ниже препаратов в свободном виде (таблица 4.1). К фазе кущения биологическая эффективность депонированных препаратов сравнялась с положительными контролями, достигая 80%, а в последующие сроки возрастала до 92,3% для гранул ТЕБ и 86,2% для гранул ЭПОК, превышая эффективность свободных фунгицидов.

Таблица 4.1 – Зараженность корней зерновых культур ( $P$ , %) и биологическая эффективность ( $C$ , %) депонированных и свободных форм тебуконазола и эпоксиконазола (лабораторный опыт)

| Сроки отбора, сутки   | Отрицательный контроль | Свободные фунгициды |      |                 |      | Депонированные фунгициды |      |                      |      |
|---|------------------------|---------------------|------|-----------------|------|--------------------------|------|----------------------|------|
|   |                        | ТЕБ                 |      | ЭПОК            |      | П(ЗГБ)/ опилки/ ТЕБ      |      | П(ЗГБ)/ опилки/ ЭПОК |      |
|   |                        | $P$                 | $p$  | $C$             | $p$  | $C$                      | $p$  | $C$                  | $p$  |
| <i>Пшеница</i>  |                        |                     |      |                 |      |                          |      |                      |      |
| 7   | 20,8±8,3               | 10,0±5,3            | 52,0 | 12,0±3,6        | 42,4 | 16,7±4,2                 | 20,0 | 20,3±4,1             | 2,6  |
| 14  | 25,0±3,3               | <b>8,3±3,5*</b>     | 66,7 | <b>4,2±1,2</b>  | 83,3 | <b>12,5±4,2</b>          | 50,0 | <b>16,7±2,3</b>      | 33,3 |
| 28  | 29,2±3,3               | <b>7,8±2,5</b>      | 73,3 | <b>8,5±2,2</b>  | 70,9 | <b>8,3±2,2</b>           | 71,4 | <b>12,6±2,3</b>      | 56,8 |
| 42  | 29,2±4,2               | <b>9,0±2,0</b>      | 69,1 | <b>8,3±3,0</b>  | 71,4 | <b>4,2±1,8</b>           | 85,7 | <b>3,2±1,2</b>       | 89,0 |
| 56  | 32,0±4,2               | <b>9,7±2,3</b>      | 69,7 | <b>11,0±2,6</b> | 65,6 | <b>5,0±1,6</b>           | 84,4 | <b>4,0±1,3</b>       | 87,5 |
| 84  | 33,2±5,5               | <b>10,3±2,1</b>     | 69,0 | <b>13,0±1,8</b> | 60,8 | <b>4,0±1,1</b>           | 88,0 | <b>3,0±0,3</b>       | 91,0 |
| <i>Ячмень</i>   |                        |                     |      |                 |      |                          |      |                      |      |
| 7   | 33,3±4,0               | <b>12,5±4,2</b>     | 62,5 | <b>12,0±4,2</b> | 64,0 | <b>16,7±7,0</b>          | 50,0 | <b>16,0±2,3</b>      | 52,0 |
| 14  | 37,5±4,2               | <b>7,0±3,0</b>      | 81,3 | <b>8,3±2,0</b>  | 77,8 | <b>12,0±4,2</b>          | 68,0 | <b>12,5±4,2</b>      | 66,7 |
| 28  | 41,7±4,2               | <b>8,3±3,1</b>      | 80,0 | <b>10,0±1,7</b> | 76,0 | <b>8,3±3,2</b>           | 80,0 | <b>8,3±2,2</b>       | 80,0 |
| 42  | 41,7±8,3               | <b>9,0±2,4</b>      | 78,4 | <b>12,0±2,3</b> | 71,2 | <b>6,0±2,1</b>           | 85,6 | <b>8,0±1,5</b>       | 80,8 |
| 56  | 45,0±7,2               | <b>11,0±2,0</b>     | 75,6 | <b>13,0±3,1</b> | 71,1 | <b>6,0±1,2</b>           | 86,7 | <b>7,0±1,6</b>       | 84,4 |
| 84  | 47,0±7,5               | <b>12,0±3,2</b>     | 75,1 | <b>15,0±3,2</b> | 69,1 | <b>4,0±0,8</b>           | 92,3 | <b>6,5±1,3</b>       | 86,2 |
| $P$ – уровень зараженности корней в отрицательном контроле; $p$ – уровень заражения корней при использовании свободных или депонированных фунгицидов. |                        |                     |      |                 |      |                          |      |                      |      |
| * Шрифтом выделены достоверные различия с отрицательным контролем ( $p < 0,05$ ).   |                        |                     |      |                 |      |                          |      |                      |      |

Таким образом, в наблюдаемые сроки (84 сутки) получена более выраженная по сравнению с контролями положительная динамика оздоровления корневой системы пшеницы и ячменя при использовании депонированных форм фунгицидов. Снижение зараженности корневыми гнилями повлияло на развитие

корневой системы и надземной части растений. Кроме того, наблюдали увеличение длины корней при внесении депонированного ТЕБ в 1,5 раза по сравнению с группами интактных растений.

Наблюдение за развитием растений показало, что на стадии всходов внесение обеих форм ТЕБ и ЭПОК, как в свободном, так и в депонированном виде, несколько замедляло рост по сравнению с интактными растениями, что может быть связано с частичным ингибированием культур в силу системного действия самих препаратов, в особенности ретардантного эффекта ТЕБ (таблица 4.2).

Таблица 4.2 – Показатели надземной биомассы пшеницы и ячменя при различных способах доставки фунгицидов

| Варианты                  | Высота флагманского листа, см |                 | Воздушно сухая биомасса надземной части, г/м <sup>2</sup> |                  |
|---------------------------|-------------------------------|-----------------|---|------------------|
|                           | пшеница                       | ячмень          | пшеница   | ячмень           |
| Всходы (7 суток)          |                               |                 |   |                  |
| Контроль -                | 23,4±0,1                      | 17,8±0,7        | 22,6±1,8  | 38,0±1,5         |
| Контроль + (ТЕБ)          | 18,7±0,2                      | 16,2±0,07       | 15,5±2,0  | 26,9±2,8         |
| Контроль + (ЭПОК)         | 19,25±1,7                     | 16,0±0,6        | 17,6±1,4  | 26,6±2,2         |
| П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ         | 18,5±0,14                     | 15,9±0,4        | <b>17,8±1,0*</b>  | 28,4±0,2         |
| П(ЗГБ)/опилки/ЭПОК        | 19,7±0,8                      | 16,1±2,1        | 18,6±2,2  | 29,0±3,3         |
| Кущение (28 суток)        |                               |                 |   |                  |
| Контроль -                | 29,3±2,3                      | 30,5±1,2        | 80,5±0,9  | 90,1±0,0         |
| Контроль + (ТЕБ)          | 30,5±3,2                      | 31,5±1,1        | 98,8±3,5  | 93,6±9,6         |
| Контроль + (ЭПОК)         | 32,8±0,7                      | 33,5±0,5        | 97,7±6,0  | 109,6±8,8        |
| П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ         | 30,65±0,6                     | 30,7±4,3        | 95,5±9,6  | 98,8±3,5         |
| П(ЗГБ)/опилки/ЭПОК        | <b>31,2±0,9</b>               | 32,5±1,1        | 103,7±11,4  | 105,9±10,5       |
| Выход в трубку (42 суток) |                               |                 |   |                  |
| Контроль -                | 31,2±1,6                      | 31,3±0,8        | 119,5±1,7   | 123,2±3,7        |
| Контроль + (ТЕБ)          | 37,0±0,2                      | 36,4±2,3        | 149,7±9,6   | 166,7±0,9        |
| Контроль + (ЭПОК)         | 39,5±1,2                      | 40,5±1,0        | 159,0±1,2   | 183,1±7,7        |
| П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ         | 37,5±1,1                      | 36,0±3,0        | 147,2±5,7   | 166,7±1,8        |
| П(ЗГБ)/опилки/ЭПОК        | 39,3±1,7                      | 40,4±0,7        | 156,6±4,5   | 182,7±12,2       |
| Колошение (56 суток)      |                               |                 |   |                  |
| Контроль -                | 37,1±2,1                      | 42,3±3,1        | 276,5±1,8   | 333,3±1,2        |
| Контроль + (ТЕБ)          | 38,7±1,5                      | 44,2±1,6        | 292,6±7,7   | 352,2±3,4        |
| Контроль + (ЭПОК)         | 39,6±0,7                      | 43,5±2,1        | 290,9±1,2   | 347,0±5,7        |
| П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ         | 40,0±1,1                      | 45,4±2,2        | <b>320,7±3,7</b>  | <b>379,2±1,8</b> |
| П(ЗГБ)/опилки/ЭПОК        | <b>41,5±2,1</b>               | <b>46,8±0,7</b> | <b>339,8±1,8</b>  | <b>388,6±1,2</b> |

Продолжение таблицы 4.2

| Варианты   | Высота флагманского листа, см |          | Воздушно сухая биомасса надземной части, г/м <sup>2</sup> |                  |
|--|-------------------------------|----------|---|------------------|
|  | пшеница                       | ячмень   | пшеница   | ячмень           |
| Созревание (84 суток)  |                               |          |   |                  |
| Контроль -   | 38,6±1,5                      | 43,9±1,2 | 401,2±5,7   | 524,6±3,7        |
| Контроль + (ТЕБ)   | 39,74±1,4                     | 41,2±2,1 | 425,5±2,3   | 535,9±4,7        |
| Контроль + (ЭПОК)  | 38,9±0,7                      | 43,9±0,7 | 428,1±7,7   | 541,6±1,5        |
| П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ  | <b>41,7±2,1</b>               | 42,2±1,4 | <b>540,1±4,7</b>  | <b>646,5±6,8</b> |
| П(ЗГБ)/опилки/ЭПОК   | <b>42,6±2,2</b>               | 44,5±2,3 | <b>529,4±5,3</b>  | <b>626,3±5,7</b> |
| * Шрифтом выделены достоверные различия с отрицательным контролем (p < 0,05) |                               |          |   |                  |

Однако в последующие сроки высота растений пшеницы и ячменя при использовании экспериментальных форм ТЕБ и ЭПОК достоверно превышала показатели отрицательного контроля и была сопоставима с действием свободных форм фунгицидов. В фазе колошения (56 суток) рост растений замедлился, и высота в большинстве случаев достоверно не изменялась до конца эксперимента. Однако при этом продолжался прирост биомассы. В более поздние сроки (фаза колошения и созревания) положительный эффект применения депонированных фунгицидов был более заметным при сравнении с посевами растений в положительном контроле. В конце эксперимента надземная биомасса растений при использовании депонированных фунгицидов была достоверно выше, чем в группах со свободными формами фунгицидов, для пшеницы на 20-28 % и ячменя на 15-18 %. Фотографии растений представлены в приложениях Д и Е.

#### **4.3 Оценка эффективности депонированных форм фунгицидов в подавлении возбудителей болезней картофеля в лабораторном эксперименте**

Положительные результаты лабораторного эксперимента на зерновых культурах дали толчок для проведения исследований на другой важной сельскохозяйственной культуре – картофеле, с учетом того факта, что спектр грибных инфекций картофеля не менее широк, чем у зерновых культур.

В эксперименте использовали сорт картофеля Красноярский ранний, растения выращивали в климатической камере. Экспериментальные формы депонированных фунгицидов включали следующие составы: П(ЗГБ)/опилки/АЗК,

П(ЗГБ)/опилки/ДИФ и П(ЗГБ)/опилки/АЗК+МЕФ, нагруженные действующими веществами на 10 вес. %. В положительном контроле использовали коммерческие препараты Квадрис, Скор и Юниформ.

Фитосанитарный анализ посадочных клубней показал наличие ризоктониоза, доля пораженных клубней составляла 1%. Микробиологический анализ почвы, отобранной на опытном поле учебного хозяйства «Миндерлинское», показал, что общая численность органотрофных бактерий в почвенных пробах составляла  $(5,4 \pm 2,7) \times 10^6$  КОЕ в 1 г почвы. Среди доминирующих представителей были идентифицированы виды рода *Bacillus* (64,5%), в том числе *B. pumilus*, *B. licheniformis* и *B. muralis*, на втором месте – род *Streptomyces* (12,2%), доля грамотрицательных палочек рода *Pseudomonas* составляла 7,7%. Численность микромицетов в исходной почве составляла  $17,3 \pm 3,5$  тыс. КОЕ в 1 г почвы. Доминирующими были виды родов *Penicillium* (46,6%) и *Trichoderma* (22,3%). Кроме того, были обнаружены фитопатогенные виды *A. alternata* (2,5 %) и *F. oxysporum* (7,8 %).

Установлено, что внесение депонированных фунгицидных препаратов положительно влияло на всхожесть, рост и развитие растений картофеля. При внесении депонированных форм фунгицидов одновременно с посадкой, всходы появились на 13 сутки после посадки картофеля. В отрицательном контроле (интактные растения) и в группах положительного контроля появление всходов отмечено позднее, на 18 сутки после посадки.

Через месяц после посадки (13 августа 2021 г.) был проведен анализ растений в группах с определением морфометрических показателей, а также степени поражения патогенами по 9-балльной шкале (Жевора и др., 2019).

Интактные растения имели достоверно меньшее количество стеблей и высоту по сравнению с экспериментальными группами растений (таблица 4.3, приложение Ж). Количество стеблей на кустах картофеля в экспериментальных группах и положительном контроле были сопоставимыми, так же, как и длина корней. Варианты с депонированными фунгицидами оказывали положительное влияние на рост надземной части растений. В экспериментальных группах высота

растений в два раза превышала аналогичный показатель в обоих контролях, кроме обработки препаратом Юниформ, где высота растений была сопоставимой с вариантом комплексного депонированного препарата АЗК+МЕФ. Через месяц после посадки во всех группах поражение растений ризоктониозом определено на уровне 8 баллов – наличие пораженных участков на уровне не выше 10%. Во всех вариантах опыта кроме обработки Скор на стеблях у основания отмечены некрозы (приложение Е), овальные или удлиненные коричневатые пятна, погруженные в ткань, но с четкими границами.

Таблица 4.3 – Морфометрические показатели картофеля, выращиваемого в лабораторных условиях при различной форме доставки фунгицидов

| Варианты   | Кол-во стеблей, шт | Высота стебля, см | Длина корня, см | Степень поражения, балл |
|--|--------------------|-------------------|-----------------|-------------------------|
| 13 августа 2021 г.   |                    |                   |                 |                         |
| Контроль (-)   | 4,0±1,3            | 6,3±1,3           | 19,0±2,2        | 8                       |
| Квадрис  | 6,0±1,0            | 7,7±1,8           | 16,2±2,2        | 8                       |
| Юниформ  | 4,7±1,1            | 11,1±2,0          | 15,0±2,1        | 8                       |
| Скор   | 6,0±0,7            | 7,7±1,5           | 21,5±2,4        | 8                       |
| П(ЗГБ)/опилки/АЗК  | <b>6,3±0,9*</b>    | <b>16,7±2,3</b>   | 18,5±2,4        | 8                       |
| П(ЗГБ)/опилки/АЗК+ МЕФ   | <b>6,3±0,5</b>     | <b>12,4±2,0</b>   | 15,3±2,2        | 8                       |
| П(ЗГБ)/опилки/ДИФ  | 6,1±1,2            | <b>12,8±2,0</b>   | 18,7±2,3        | 8                       |
| 26 октября 2021 г.   |                    |                   |                 |                         |
| Контроль (-)   | 4,5±0,5            | 38,2±8,4          | 14,8±3,8        | 7                       |
| Квадрис  | <b>6,5±0,5</b>     | 36,1±9,6          | 19,5±1,5        | 8                       |
| Юниформ  | 4,5±0,5            | 45,6±8,0          | 15,2±2,0        | 9                       |
| Скор   | 5,5±0,5            | 45,2±6,9          | 16,2±3,4        | 8                       |
| П(ЗГБ)/опилки/АЗК  | 3,0±1,0            | <b>62,7±6,4</b>   | 18,0±3,4        | 8                       |
| П(ЗГБ)/опилки/АЗК+ МЕФ   | 4,0±1,0            | 48,6±9,1          | 16,2±1,4        | 9                       |
| П(ЗГБ)/опилки/ДИФ  | 7,0±2,0            | 45,4±6,4          | 15,0±2,0        | 8                       |
| * Шрифтом выделены достоверные различия с отрицательным контролем (p < 0,05) |                    |                   |                 |                         |

Через 60 суток после фазы полных всходов – 26 октября – эксперимент был завершён. Высота надземной части растений в группах с депонированными фунгицидами была выше, чем в группе отрицательного контроля, и сопоставима с высотой в группах с положительными контролями по препаратам Юниформ и Скор (таблица 4.3). Максимальная высота стеблей отмечена в варианте с депонированным азоксистробином – 62,7±6,4 см, что в 1,6 раза выше интактных растений и в 1,7 группы растений, обработанных Квадрис. Вероятно, меньшее

количество стеблей в этом варианте компенсировалось удлинением надземной части. Ввиду ограниченного пространства для развития корневой системы длина корней достоверно не отличалась по вариантам опыта.

При анализе поражения растений болезнями в группе интактных растений было отмечено наиболее выраженное проявление ризоктониоза – 7 баллов; было поражено до 15-20% поверхности растений, при этом кусты сохраняли нормальную форму с преобладанием зеленого цвета (приложение И). Растения в экспериментальных группах и группах положительного контроля были поражены ризоктониозом в меньшей степени, на уровне 8 баллов, повреждения отмечены на 2-3 стеблях и в целом занимали не более 10%. В вариантах с депонированным комплексным АЗК+МЕФ, а также при обработке почвы коммерческим препаратом Юниформ на стеблях растений повреждения не обнаружены, оценка – 9 баллов (поражение отсутствует). На листьях растений симптомов развития грибной инфекции не обнаружено. Частичное усыхание некоторых листьев или красная пигментация обусловлены особенностью спектра освещения в фитотроне. Тем не менее, более выраженное усыхание листьев наблюдали в варианте с опрыскиванием растений препаратом Скор.

Анализ зараженности корневой системы фитопатогенами показал отсутствие признаков развития бактериальной или грибной инфекции на корнях всех растений. Таким образом, наиболее высокие показатели развития растений получены в группах с применением депонированных азоксистробина и комплекса азоксистробин + мефеноксам, а также коммерческого препарата Юниформ.

Применение фунгицидов повлияло на продуктивность растений. Структура урожая представлена в таблице 4.4. При выращивании картофеля в лабораторных условиях с одного растения было получено от 1 до 4 микроклубней, средний диаметр которых варьировался значительно. Масса клубней, полученных с одного растения, была самой высокой с депонированным азоксистробином ( $12,8 \pm 1,8$  г) и комплексом азоксистробин-мефеноксам ( $13,7 \pm 2,3$  г). Это превышает показатели с применением коммерческих аналогов фунгицидов в 1,6 и 1,7 раз соответственно. Наибольшая прибавка урожая в этих экспериментальных группах по отношению

к положительному контролю получена при использовании депонированного азоксистробина и комплекса азоксистробин+мефеноксам – на 60 и 71,3% соответственно.

Таблица 4.4 – Структура урожая и урожайность картофеля при различных формах доставки фунгицидов

| Форма доставки фунгицидов | Показатели                            |                            |                                    |                                 |
|---------------------------|---------------------------------------|----------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
|                           | Количество клубней, шт./одно растение | Средний диаметр клубня, см | Масса клубней с одного растения, г | Урожайность, в % к контролю (-) |
| Контроль (-)              | 2 ± 1                                 | 2,0 ± 0,3                  | 8,0 ± 3,2                          | -                               |
| Квадрис                   | 2 ± 1                                 | 2,3 ± 0,5                  | 9,9 ± 0,5                          | 23,8                            |
| Юниформ                   | 4 ± 1                                 | 2,5 ± 0,4                  | 11,8 ± 3,4                         | 47,5                            |
| Скор                      | 1 ± 1                                 | <b>2,7 ± 0,3*</b>          | 10,0 ± 1,0                         | 25,0                            |
| П(ЗГБ)/опилки/АЗК         | 3 ± 1                                 | 2,5 ± 0,6                  | 12,8 ± 1,8                         | 60,0                            |
| П(ЗГБ)/опилки/АЗК+МЕФ     | 4 ± 1                                 | 2,6 ± 0,5                  | <b>13,7 ± 2,3</b>                  | 71,3                            |
| П(ЗГБ)/опилки/ДИФ         | 3 ± 1                                 | 2,2 ± 0,5                  | 8,6 ± 1,2                          | 7,5                             |

\* Шрифтом выделены достоверные различия с отрицательным контролем (p < 0,05)

Микробиологический анализ микроклубней показал (рисунок 4.10), что при выращивании интактных растений большинство образовавшихся клубней имели незначительные поражения ризоктониозом (*R. solani*) и паршой обыкновенной (*S. scabies*). При этом площадь поражения составляла менее 1%. Во всех вариантах с внесением фунгицидных препаратов количество пораженных клубней было меньше, чем в отрицательном контроле. При использовании депонированных препаратов, содержащих комплекс АЗК+МЕФ, а также их коммерческого аналога Юниформ, поверхностные признаки поражения фитопатогенами отсутствовали.





Рисунок 4.10 – Фотографии микроклубней, картофеля, выращенного при различных формах доставки фунгицидов; красным цветом выделено поражение ризоктониозом, синим цветом – паршой обыкновенной

Анализ почвенных микромицетов показал, что через месяц после посадки максимальная численность отмечена в ризосфере интактных растений –  $24,2 \pm 3,1$  тыс. КОЕ/г почвы. Обработка почвы коммерческими препаратами Квадрис и Юниформ способствовала снижению численности микромицетов в ризосфере в 1,3 раза по сравнению с интактными растениями (рисунок 4.11). Однако в этот период их фунгицидное действие было слабее, чем у депонированных препаратов. Экспозиция экспериментальных гранул в почве в течение месяца способствовала активному выходу действующего вещества и проявлению фунгицидного действия препаратов. Максимальное ингибирующее действие в этот период оказывал препарат Скор, т.к. обработка проводилась по рекомендации производителя путем опрыскивания почвы и вегетирующих растений, и после опрыскивания прошло всего 10 дней.

Через 2 месяца (26 октября) численность микромицетов снижалась во всех группах растений, включая отрицательный контроль. Группы положительного контроля, обработанные препаратами Квадрис и Юниформ, не отличались от негативного контроля, тогда как их депонированные аналоги (азоксистробин и комбинация азоксистробина и мефеноксама) продолжали ингибировать развитие микромицетов – в 1,8 и 2,3 раза соответственно. Наибольшее фунгицидное

действие проявляли коммерческая и депонированная формы дифеноконазола, снижая численность микромицетов в 4,6 и 3,1 раза, соответственно.

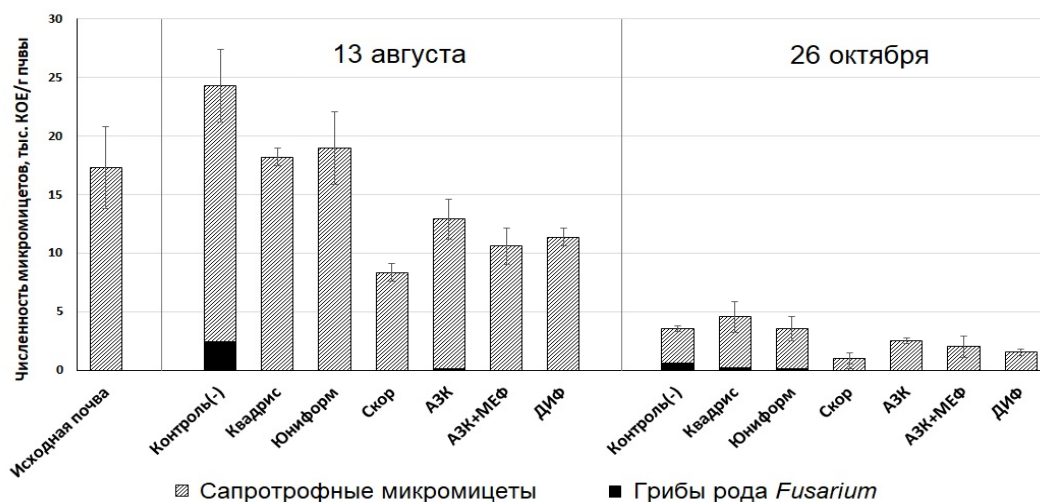


Рисунок 4.11 – Общая численность микромицетов (включая род *Fusarium*) в ризосфере картофеля под действием различных форм фунгицидов

Вид *A. alternata* выделялся из исходной почвы, но не был обнаружен в ризосфере растений, что может быть обусловлено высокими конкурентными взаимоотношениями в почве между микроорганизмами при выращивании картофеля в условиях фитотрона. Среди представителей фитопатогенных микромицетов в образцах ризосферной почвы выделялись грибы *F. oxysporum* и *F. solani*. В ризосфере интактных растений суммарная доля видов рода *Fusarium* в почвенных образцах возрастала в течение эксперимента от 11,1 до 24,6%. Через месяц после внесения депонированных препаратов *F. oxysporum* (доля – 1%) выделялся только в варианте с внесением гранул с азоксистробинолом. В конце эксперимента все депонированные формы подавляли рост видов *Fusarium*, тогда как в вариантах с обработкой препаратами Квадрис и Юниформ доля фузариев составляла 5,3 и 3,1%, соответственно.

Микробиологический анализ бактериального сообщества показал рост численности копитрофных бактерий в ризосфере картофеля при всех способах доставки фунгицидов по сравнению с исходной почвой (рисунок 4.12). Через

месяц после посадки в парных вариантах с экспериментальными формами фунгицидов и коммерческими препаратами с аналогичными действующими веществами численность бактерий достоверно не различалась. Снижение численности бактерий отмечено при опрыскивании почвы препаратом Скор по сравнению с другими типами фунгицидов.

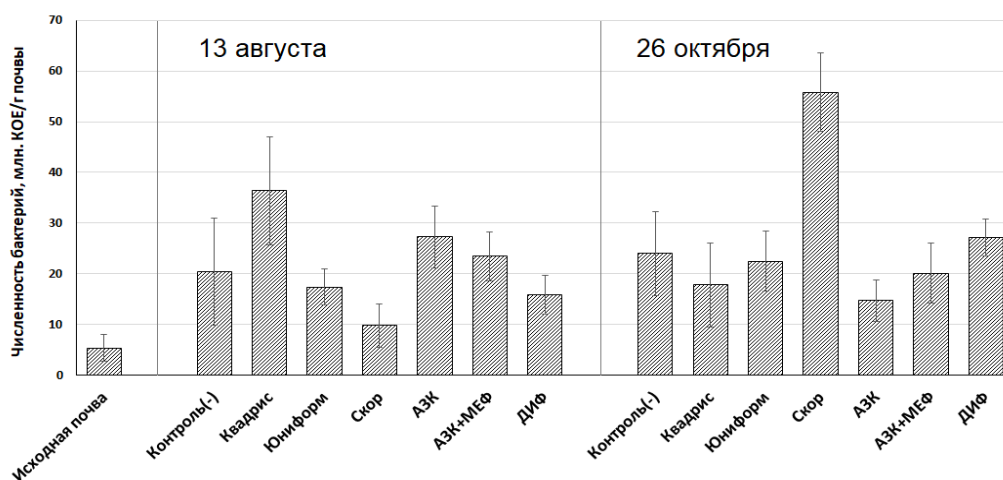


Рисунок 4.12 – Общая численность копитрофных бактерий в ризосфере картофеля под действием различных форм фунгицидных препаратов

Через два месяца после всходов в большинстве вариантов с фунгицидами численность бактерий в ризосфере картофеля достоверно не отличалась от численности в ризосфере интактных растений, за исключением варианта с обработкой препаратом Скор. В этой группе растений отмечено увеличение численности ризосферных бактерий в 2,1 раза по сравнению с депонированной формой того же действующего вещества – дифеноконазола, и в 2,5-3,8 раза выше по сравнению с другими типами фунгицидов. Кроме того, в этом варианте опыта отмечено доминирование грамотрицательных бактерий (83% изолятов), и в том числе 65% пигментированных колоний бактерий, идентифицированных как *Stenotrophomonas maltophila*, *Sphingomonas koreensis*, *Sphingobium xenophagum*, *Pseudomonas chlororaphis*. Это указывает на наличие стрессового фактора, влияющего на почвенную микрофлору. В этом же варианте было обнаружено

минимальное количество микромицетов. Можно предположить, что препарат Скор вносил сильный дисбаланс в ризосферное микробное сообщество в лабораторной почвенной системе, тогда как его депонированный аналог был менее токсичным.

#### **Заключение к главе 4:**

Депонирование фунгицидных препаратов в полимерную основу из П(ЗГБ) и наполнителей природного происхождения не приводит к инаktivации действующего вещества препарата. В условиях *in vitro* было показано, что депонированные препараты проявляли фунгицидное действие в отношении всех выделенных видов фитопатогенных грибов, распространенных в Красноярском крае, в том числе в отношении наиболее вредоносных патогенов – *P. infestans*, *R. solani* и *F. solani*. Эффективность депонированных форм фунгицидов была сопоставима по эффективности со свободными формами и коммерческими аналогами и зависела не от формы применения препарата, а от восприимчивости разных видов микромицетов к разным типам фунгицидов.

В лабораторном эксперименте с зерновыми культурами яровой пшеницы и ярового ячменя пролонгированные формы двух фунгицидов тебуконазола и эпоксиконазола, депонированные в основу П(ЗГБ)/березовые опилки, обеспечивали более длительное функционирование фунгицидов в почве по сравнению со свободными формами ТЕБ и ЭПОК, вызывали выраженное в течение всего эксперимента подавление фитопатогенов в ризосфере и более эффективное оздоровление корневой системы растений, в особенности во второй половине эксперимента, когда действие свободных форм фунгицидов ослабевало. Разработанные экспериментальные формы ТЕБ и ЭПОК оказывали положительное влияние на рост и развитие пшеницы и ячменя, наземная биомасса которых к концу эксперимента была выше по сравнению с применением этих препаратов в свободном виде.

В лабораторном эксперименте с растениями картофеля также показана эффективность применения разработанных долговременных форм пестицидов,

положительно влияющих на всхожесть, рост и развитие растений, а также формирование клубней и их качество. Депонированный комплекс П(ЗГБ)/опилки/азоксистробин+мефеноксам обеспечил самую высокую защиту растений от фитопатогенов.

## Глава 5 ФУНГИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕПОНИРОВАННЫХ ФУНГИЦИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

Полученные в лабораторном эксперименте положительные результаты оценки биологической эффективности депонированных форм фунгицидных препаратов позволили перейти к полевым испытаниям. Полевые эксперименты проводились в течение двух сезонов: в 2020 году на зерновых культурах яровой пшеницы и ярового ячменя и в 2021 году – на картофеле.

Полевые испытания депонированных форм фунгицидных препаратов проведены согласно нормативному документу Минсельхоза РФ (Руководство по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов в сельском хозяйстве, 2018 г.) на полях ООО Учебно-опытное хозяйство «Миндерлинское» (п. Борск, Сухобузимский район Красноярского края), принадлежащего ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет». Почва учхоза «Миндерлинское» – выщелоченный чернозем, среднемошный, легкоглинистого гранулометрического состава, сформирован на желто-бурой глине. Пахотный слой почвы (0-20 см) характеризуется высоким содержанием гумуса, высокой суммой обменных оснований, нейтральной реакцией почвенного раствора (таблица 5.1). Почва отличалась низкой обеспеченностью нитратным азотом, очень низкой – аммонийным азотом, средней обеспеченностью подвижным фосфором и очень высокой – обменным калием.

Таблица 5.1 – Химическая характеристика чернозема учебно-опытного хозяйства «Миндерлинское»

| № п/п | Показатель                              | Значение     |
|-------|---|--------------|
| 1     | pH <sub>водн</sub>                      | 7,2 ± 0,3    |
| 2     | Гумус, %                                | 6,9 ± 0,3    |
| 3     | Сумма поглощенных оснований, ммоль/100г | 57,5 ± 6,0   |
| 4     | Азот нитратный, мг/кг                   | 4,7 ± 0,2    |
| 5     | Азот аммонийный, мг/кг                  | < 0,5        |
| 6     | Подвижный фосфор, мг/кг                 | 175,8 ± 14,5 |
| 7     | Обменный калий, мг/кг                   | 291,0 ± 20,7 |

### 5.1 Эффективность депонированной формы фунгицида в подавлении возбудителей корневых гнилей пшеницы и ячменя в полевых условиях

Полевой эксперимент проводили в течение вегетационного сезона 2020 г. В посевах пшеницы сорта Новосибирская 15 и ячменя сорта Биом испытаны долговременная форма комплексного препарата следующего состава: П(ЗГБ)/опилки/тебуконазол+трибенурон-метил (П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ+ТРИБ); нагрузка форм пестицидами составила 5 % ТЕБ и 5 % ТРИБ. В положительном контроле использовали протравливание семян коммерческим фунгицидом Бункер (тебуконазол 60 г/л) и опрыскивание растений гербицидом Мортира (трибенурон-метил 750 г/кг) в фазе полного кущения по рекомендации производителя (АО «Август»); в отрицательном контроле растения и почву пестицидами не обрабатывали. Посев зерна проведен 18 мая; гранулы препарата вносили в почву одновременно с посевом.

Погодные условия вегетационного периода 2020 года отличались от среднелетних показателей высокой среднесуточной температурой воздуха, особенно значительно в конце мая (таблица 5.2). Количество осадков в этот месяц составило 162,5 % от нормы. Таким образом, перед посевом культур почва достаточно хорошо прогрелась (15-17 °С) и была обеспечена продуктивной влагой – 43,8 мм.

Таблица 5.2 – Показатели режимов температуры и осадков за вегетационный сезон 2020 года (учхоз «Миндерлинское»)

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

В летний периода температура также была выше средних значений, в августе – на 3,2 °С. В июне было зарегистрировано максимальное количество осадков, в июле и августа – близко к средним значениям. В сочетании с агрохимическими показателями почвы опытного участка можно говорить о его высоком плодородии.

Численность почвенных микромицетов в ризосфере пшеницы и ячменя, а также зараженность корневой системы фитопатогенными грибами определяли в течение вегетационного периода по фазам развития растений (таблица 5.3)

Таблица 5.3 – Фазы развития пшеницы и ячменя в течение вегетационного периода 2020 года

| Фазы развития     | Пшеница    | Ячмень     |
|-------------------|------------|------------|
| Всходы            | 30 мая     | 28 мая     |
| Начало кущения    | 12 июня    | 10 июня    |
| Кущение           | 18 июня    | 16 июня    |
| Выход в трубку    | 20 июня    | 18 июня    |
| Колошение         | 7 июля     | 7 июля     |
| Восковая спелость | 25 августа | 25 августа |

Растения в контрольных и экспериментальных группах вступали в фазы роста и развития в одни и те же сроки. Даты отбора проб ризосферной почвы и растений для анализа корневой системы соответствовали следующим стадиям: всходы (28 мая), кущение (16 июня), колошение (3 июля), налив зерна (4 августа), восковая спелость (28 августа).

Микробиологический анализ почвы учебного хозяйства Миндерлинское, проведенный 18 мая (посев зерна), выявил превышение численности олиготрофных и прототрофных бактерий над копиотрофными (таблица 5.4). Численность микромицетов составила  $(49,2 \pm 7,2) \cdot 10^3$  КОЕ в 1 г почвы. Высокие коэффициенты олиготрофности (2,30) и минерализации (1,85) свидетельствуют о зрелости почв и согласуются низким содержанием легкодоступных форм азота.



Таблица 5.4 – Структура микробиоценоза исходных образцов полевой почвы опытных участков (18 мая 2020 г.)

| Эколого-трофические группы бактерий | Численность, $10^6$ КОЕ в 1 г почвы | Численность микромицетов, $10^3$ КОЕ в 1 г почвы | Коэффициент минерализации | Коэффициент олиготрофности |
|-------------------------------------|-------------------------------------|--|---------------------------|----------------------------|
| Копиотрофы                          | $12,0 \pm 2,4$                      | $49,2 \pm 7,2$                                   | 1,85                      | 2,30                       |
| Прототрофы                          | $22,2 \pm 4,5$                      |  |                           |                            |
| Олиготрофы                          | $27,6 \pm 5,4$                      |  |                           |                            |
| Азотфиксаторы                       | $4,0 \pm 0,9$                       |  |                           |                            |

Анализ видового состава сообщества культивируемых бактерий выявил, что в почвенных образцах доминировали грамположительные палочки – 76,2 %, в том числе бактерии рода *Bacillus* 47,6 %, из которых чаще всего определялись *Bacillus simplex* – 23,8 % (рисунок 5.1а). Среди грамотрицательных палочек преобладали представители *Pseudomonas kilonensis* – 14,3 %. Таксономический состав почвенных микромицетов был представлен типичными родами. Доминировали представители родов *Penicillium* 27,5 %, и *Trichoderma* 17,6 %. Среди фитопатогенных грибов были обнаружены представители родов *Fusarium* 15,7 % и *Alternaria* 3,9 % (рисунок 5.1б).

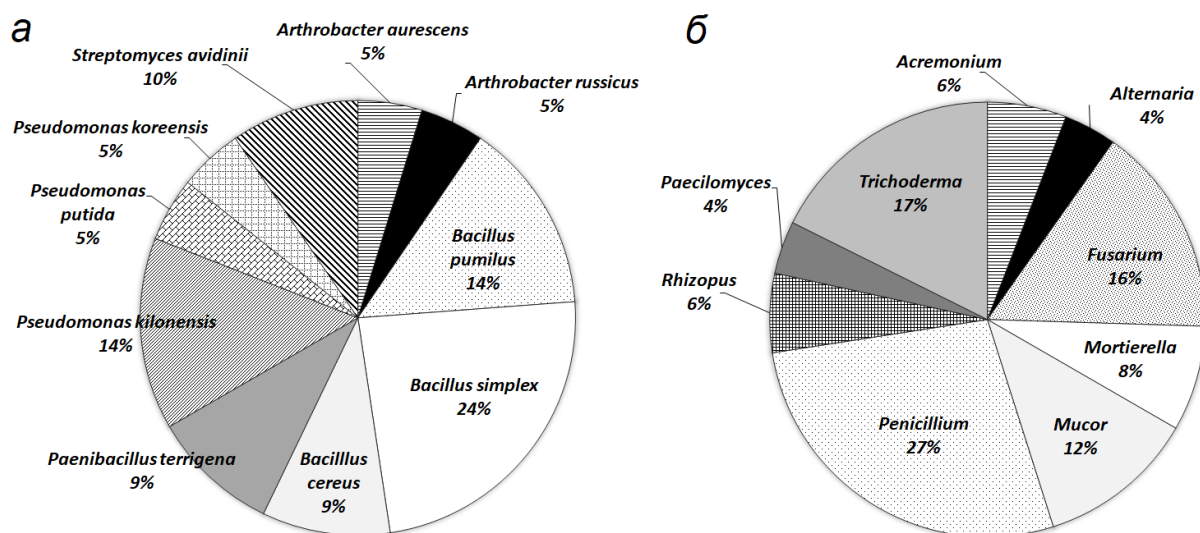


Рисунок 5.1 – Таксономический состав микрофлоры образцов полевой почвы опытных участков (18 мая 2020 г); а – бактерии, б – микромицеты

### 5.1.1 Влияние фунгицидных препаратов на численность и разнообразие почвенных микромицетов в ризосфере пшеницы и ячменя

Анализ структуры микробных сообществ ризосферной почвы пшеницы и ячменя в течение вегетационного периода показал, что при выращивании интактных растений численность микромицетов с середины мая и до конца августа варьировала в пределах от 25 до 40 тыс. КОЕ/г ризосферной почвы пшеницы и от 31 до 44 тыс. КОЕ/г почвы в ризосфере ячменя (рисунок 5.2). Максимальная численность микромицетов на обоих опытных участках была отмечена в начале августа, что соответствовало сезонному подъему численности, обусловленному поступлением органического вещества в почву. Тенденция изменения численности микромицетов в почве под действием фунгицидных препаратов соответствовала колебаниям численности в негативном контроле, однако обе формы – и комплексный препарат, содержащий тебуконазол в депонированной форме, и коммерческий протравитель Бункер – снижали общую численность микромицетов в ризосфере обработанных растений по сравнению с интактными растениями.

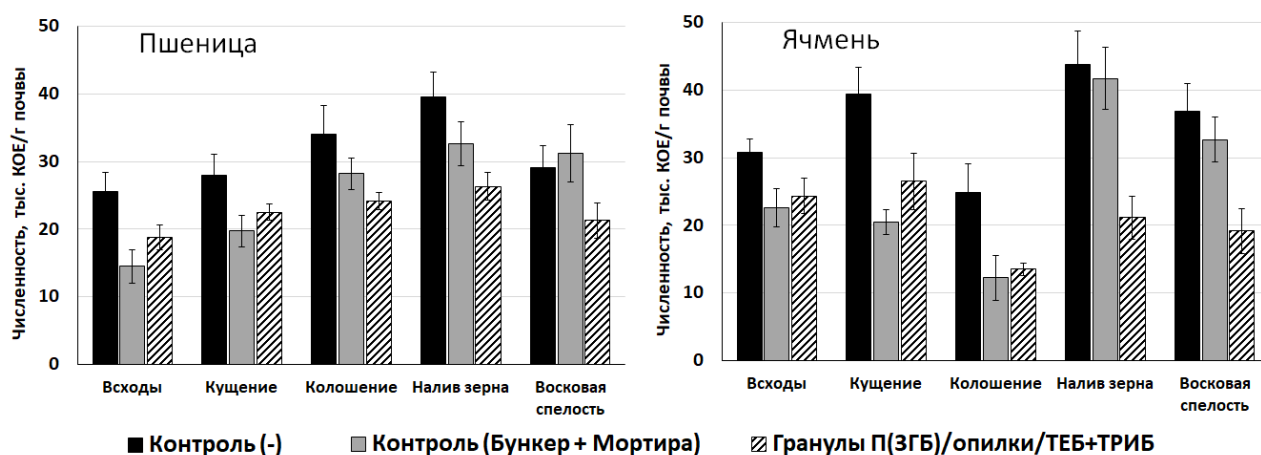


Рисунок 5.2 – Влияния различных форм препаратов на численность микромицетов в ризосферной почве пшеницы

Предпосевное протравливание семян препаратом Бункер эффективно подавляло развитие микромицетов в ризосфере пшеницы в начале вегетационного

периода, снижая общую численность в 1,8 раза по сравнению с негативным контролем. Максимальное снижение микромицетов в ризосфере ячменя, в 1,9-2 раза по сравнению с интактными растениями, наблюдали в июне-июле, в фазах кущения-колошения. В дальнейшем фунгицидный эффект протравителя проявлялся слабее, и численность микромицетов в положительном и отрицательном контролях достоверно не отличалась.

Внесение в почву экспериментальных гранул П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ+ТРИБ показало, что в первые 14 суток в фазу всходов происходило снижение численности микромицетов в ризосфере пшеницы в 1,3 раза по сравнению с интактными растениями, а в ризосфере ячменя – в 1,5 раза. В последующие сроки в результате постепенной деградации полимерной основы и выхода фунгицида тебуконазола в почву эффективность депонированного препарата возрастала и депонированный ТЕБ стабильно ингибировал развитие микромицетов, снижая их численность в 1,4-1,5 раза в ризосфере пшеницы и в 1,9-2,1 раза в ризосфере ячменя по сравнению с отрицательным контролем.

Идентификация доминирующих представителей микромицетов, выделенных из образцов ризосферной почвы интактных растений показала, что в начальные сроки вегетации (в фазе всходов) во всех пробах почвы преобладали грибы рода *Penicillium*, доля которых составляла от 41,4 % до 50,6 %. Второе место занимали грибы *Trichoderma*, составляя 12,8 % и 19,6 % в ризосфере пшеницы и ячменя, соответственно (рисунок 5.3, 5.4). В отрицательном контроле суммарная доля потенциально опасных видов *Fusarium spp.*, *Alternaria spp.* и *Bipolaris sorokiniana* увеличивалась от фазы всходов к фазе полного созревания от 15,6 % до 26,0 % в ризосфере пшеницы и от 12,1 % до 24,4 % - в ризосфере ячменя.

Предпосевная обработка зерна препаратом Бункер полностью подавила рост фитопатогенов в начальные фазы роста и увеличила долю грибов рода *Penicillium*. В конце вегетации действие протравителя было неэффективным и в ризосферной зоне возобновился рост фитопатогенов: 9,1 % и 10,9 % в ризосфере пшеницы и ячменя, соответственно.

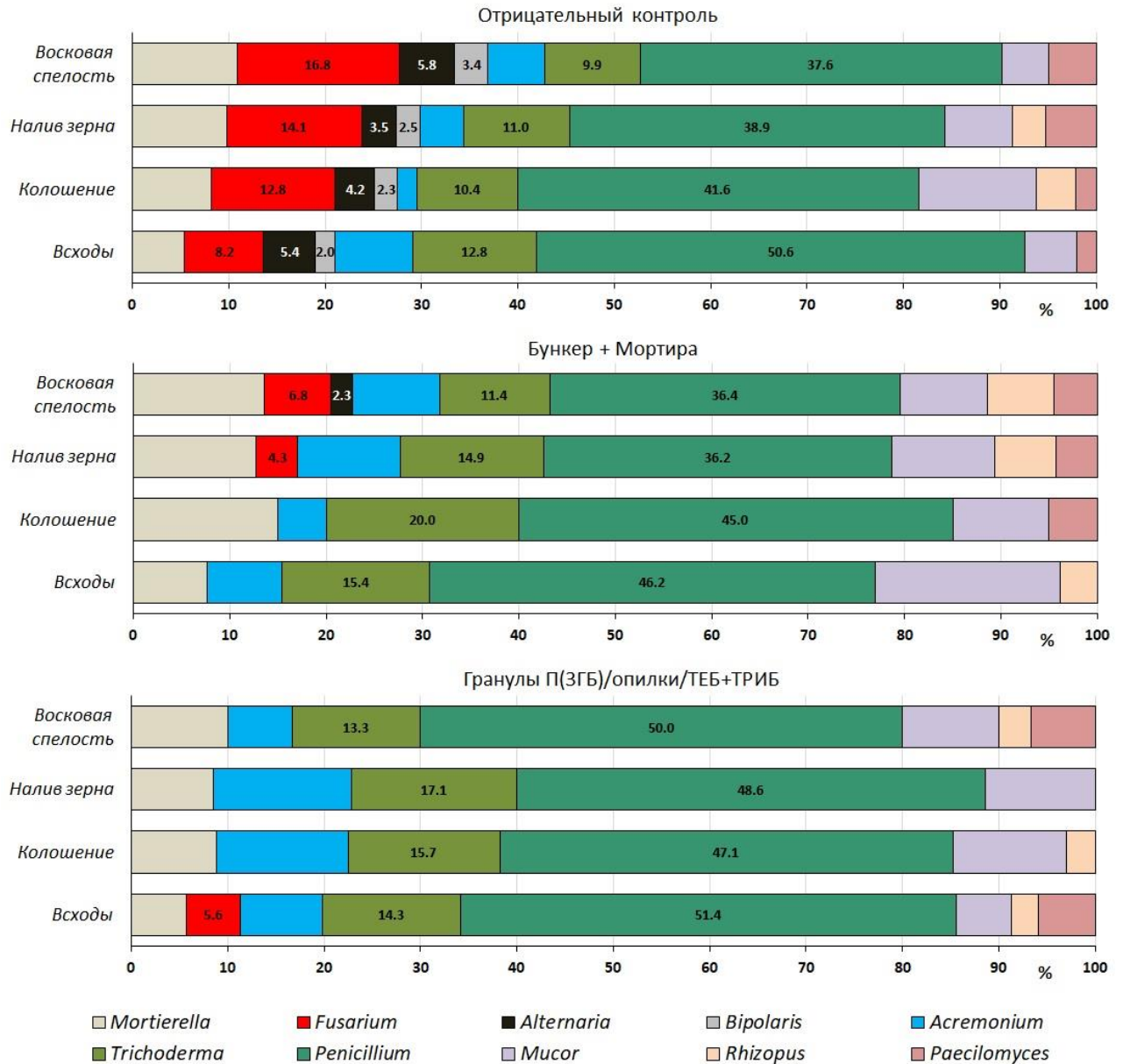


Рисунок 5.3 – Таксономический состав (%) доминирующих микромицетов в ризосфере пшеницы при внесении разных форм фунгицидов

Депонированный тебуконазол эффективно сдерживал развитие комплекса фитопатогенных грибов в ризосфере обоих видов растений. Грибы *Alternaria spp.* и *Bipolaris sorokiniana* не выявлялись в образцах ризосферной почвы в течение всего периода вегетации. Грибы *Fusarium spp.* были обнаружены только в период всходов, однако их доля была незначительная – 5,6 % в ризосфере пшеницы и 3,6 % - в ризосфере ячменя.

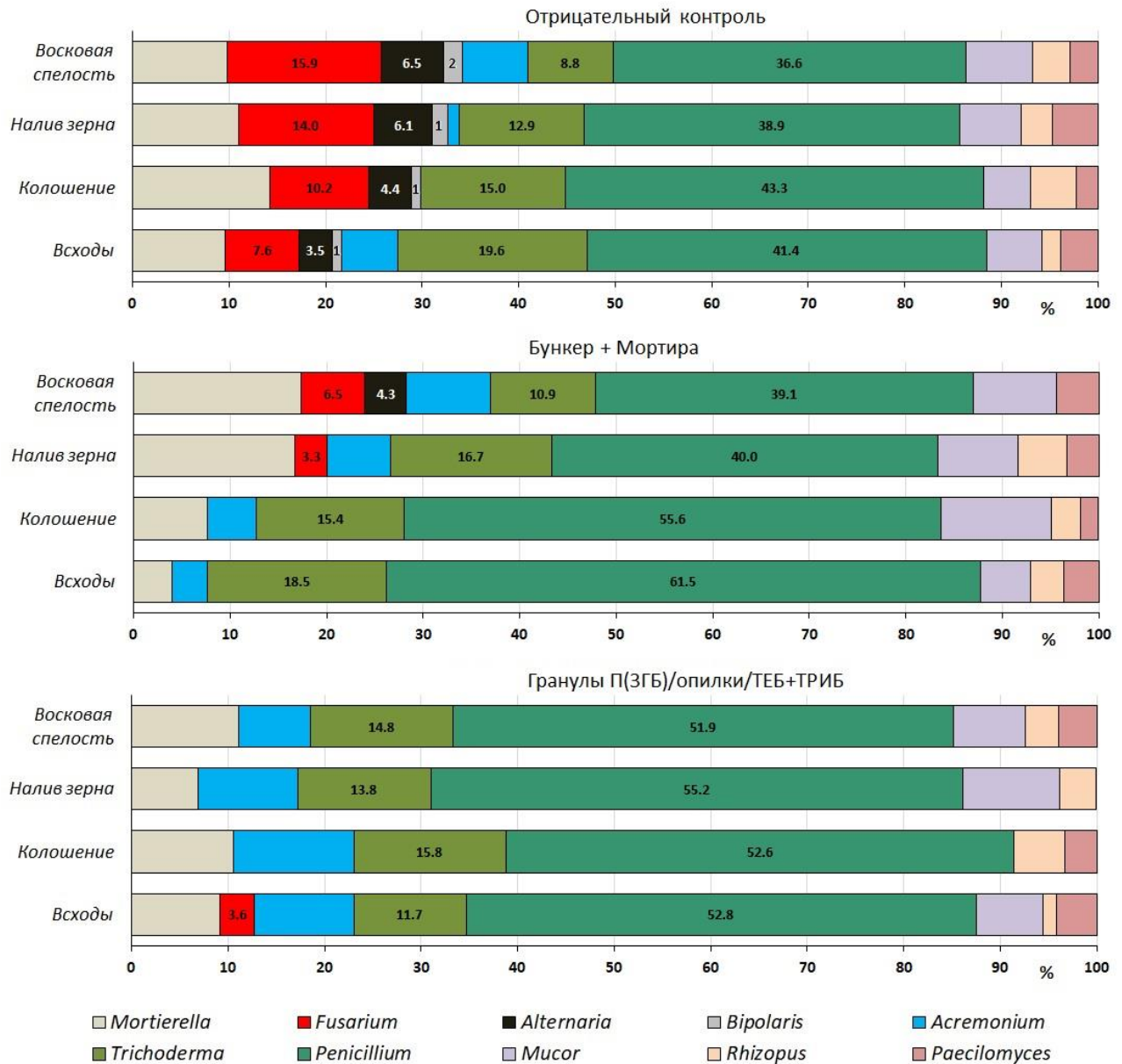


Рисунок 5.4 – Таксономический состав (%) доминирующих микромицетов в ризосфере ячменя при внесении разных форм фунгицидов

Таким образом, применение гранул депонированного тебуконазола в течение всего периода вегетации эффективно сдерживало рост микромицетов в ризосфере растений, обеспечивая пролонгированное действие разработанного комплексного препарата. Снижение общей численности микромицетов сопровождалось снижением доли фитопатогенов *Fusarium spp.*, *Bipolaris sorokiniana* и *Alternaria spp.* и увеличением доли сапротрофных представителей из родов *Penicillium* и *Trichoderma*.

### 5.1.2 Влияние фунгицидных препаратов на зараженность пшеницы и ячменя корневыми гнилями (биологическая эффективность)

Вместе со снижением общей численности микромицетов в почве и снижением доли фитопатогенных представителей сокращалась и инфекционная нагрузка на корневую систему растений (приложение К, Л). Оценка зараженности корневой системы комплексом фитопатогенных грибов из родов *Alternaria*, *Bipolaris* и *Fusarium* показала, что корни растений в большей степени были подвержены фузариозной и альтернариозной инфекции (рисунок 5.5). Грибы *B. sorokiniana* встречались значительно реже, особенно при использовании депонированной формы тебуконазола, которая практически полностью подавляла проявление гельминтоспориоза на корнях пшеницы.

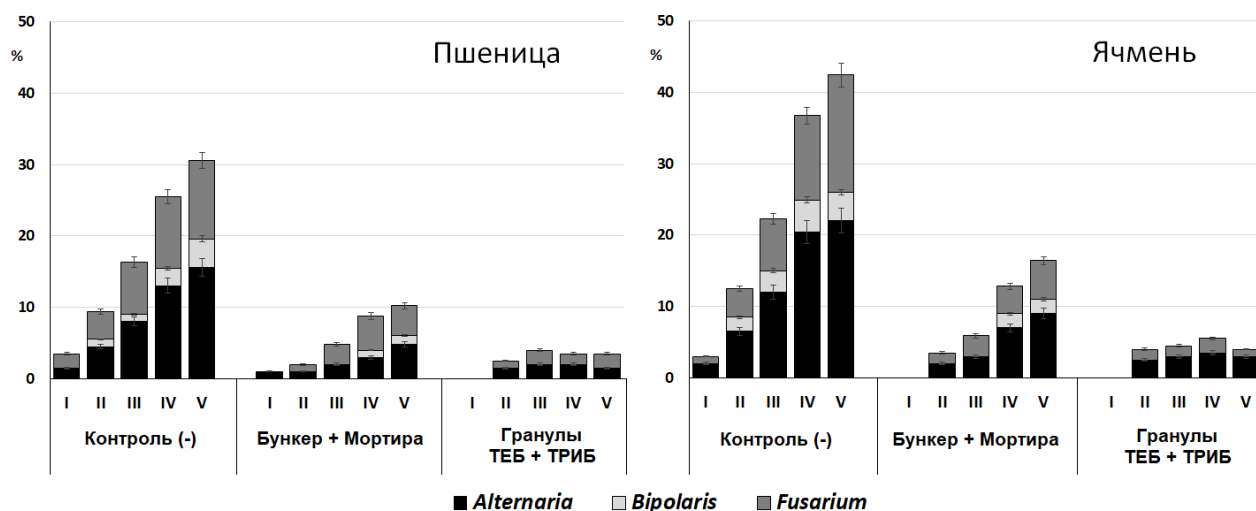


Рисунок 5.5 – Распространение корневых гнилей в посевах пшеницы и ячменя в разные фазы вегетации: I – всходы, II – кущение, III – колошение, IV – налив зерна, V – восковая спелость

Распространение инфекции корневой системы интактных растений пшеницы в фазе всходов составило 3,5 %, а к фазе полной спелости доля зараженных растений увеличилась до 30,6 % (рисунок 5.5). В условиях слабого развития инфекции действие обеих форм фунгицидных препаратов обеспечило эффективное подавление ее распространения в фазе всходов. От фазы кущения до

фазы колошения уровень зараженности пшеницы корневыми гнилями при разных формах тебуконазола достоверно не различался. В последующие сроки, от фазы кущения до восковой спелости, депонированный ТЕБ эффективно сдерживал распространение инфекции на корнях пшеницы на уровне от 4 до 3,5 %. В эти же сроки эффективность протравителя снижалась и наблюдали рост зараженности корней от 4,8 до 10,2 %.

Аналогичные тенденции в динамике распространения корневых гнилей были отмечены и для ячменя. Уровень зараженности корневыми гнилями интактных растений от фазы кущения до полного созревания был в 1,3-1,4 раза выше, чем пшеницы; к моменту созревания зерна распространение корневых гнилей на ячмене в отрицательном контроле достигло 42,4 % (рисунок 5.5). В фазу всходов и депонированный ТЕБ, и протравитель обеспечили защиту корней ячменя от грибных инфекций. В последующие сроки внесение депонированной формы ТЕБ обеспечило сдерживание зараженности на уровне 4-5 % до конца вегетационного периода. Предпосевное протравливание ячменя препаратом Бункер эффективно препятствовало распространению корневых гнилей до середины июля (фаза колошения), а затем зараженность корней нарастала от 6 до 16,4 %.

Результаты, интегрирующие показатели биологической эффективности депонированного тебуконазола, представлены в таблице 5.5.

В фазу всходов биологическая эффективность депонированного тебуконазола в подавлении зараженности пшеницы и ячменя достигала 100 %, аналогично подействовал протравитель Бункер в ризосфере ячменя – инфекция на корнях не проявлялась. Несколько слабее проявилось действие протравителя на пшенице, эффективность которого составила 71,4 %, что может быть связано с погрешностями при проведении процедуры предпосевной обработки семян.

В фазе кущения наблюдали незначительное снижение биологической эффективности депонированного препарата, в сравнении с положительным контролем, однако достоверных различий в уровне зараженности растений в этот период не установлено. В дальнейшем, от фазы колошения до созревания зерна,

фунгицидная активность протравителя Бункер постепенно снижалась, тогда как действие депонированного тебуконазола проявлялось до конца вегетации, достигая 88,6-90,6 %, что превышало эффективность протравителя Бункер.

Таблица 5.5 – Биологическая активность депонированного фунгицида тебуконазола в составе комплексного препарата [П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ+ТРИБ] в сравнении с действием протравителя Бункер

| Форма препарата                  | Биологическая эффективность, С (%) |         |           |             |                   |
|----------------------------------|------------------------------------|---------|-----------|-------------|-------------------|
|                                  | Всходы                             | Кущение | Колошение | Налив зерна | Восковая спелость |
| Пшеница Новосибирская 15         |                                    |         |           |             |                   |
| Контроль «+»<br>Бункер + Мортира | 71,4                               | 78,7    | 70,6      | 65,5        | 66,7              |
| Эксперимент<br>гранулы ТЕБ+ТРИБ  | 100                                | 73,4    | 75,5      | 86,3        | 88,6              |
| Ячмень Биом                      |                                    |         |           |             |                   |
| Контроль «+»<br>Бункер + Мортира | 100                                | 72,0    | 73,5      | 65,1        | 61,3              |
| Эксперимент<br>гранулы ТЕБ+ТРИБ  | 100                                | 68,0    | 79,8      | 85,0        | 90,6              |

Таким образом, в полевых экспериментах в течение полного вегетационного периода от фазы всходов до созревания зерна показано эффективное оздоровление корневой системы пшеницы и ячменя при использовании депонированного комплекса П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ+ТРИБ. Применением депонированной формы обеспечено пролонгированное фунгицидное действие в сравнении с действием коммерческого фунгицидного препарата Бункер, использованного для предпосевного протравливания семенного материала.

### **5.1.3 Влияние фунгицидных препаратов на структуру урожая и урожайность пшеницы и ячменя**

Основным показателем, который в итоге характеризует эффективность мероприятий защиты растений, является урожай. Исследования показали, что способ доставки фунгицида тебуконазола повлиял не только на заболеваемость растений корневыми гнилями, но и, в конечном счете, на структуру урожая зерновых культур. Анализ урожая пшеницы и ячменя показал, что защита



растений от болезней способствовала увеличению продуктивности. Наибольшая масса соломы пшеницы отмечена в положительном контроле на фоне применения препаратов Бункер и Мортира, а также при использовании депонированной формы препаратов П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ+ТРИБ в гранулах (рисунок 5.6). В группах с применением депонированной формы отмечена тенденция к увеличению количества и высоты растений, однако вариации в пределах статистической погрешности. Качество зерна пшеницы в варианте с применением депонированного тебуконазола улучшилось и соответствовало 1 классу по таким показателям, как количество клейковины, содержание белка и натура зерна.

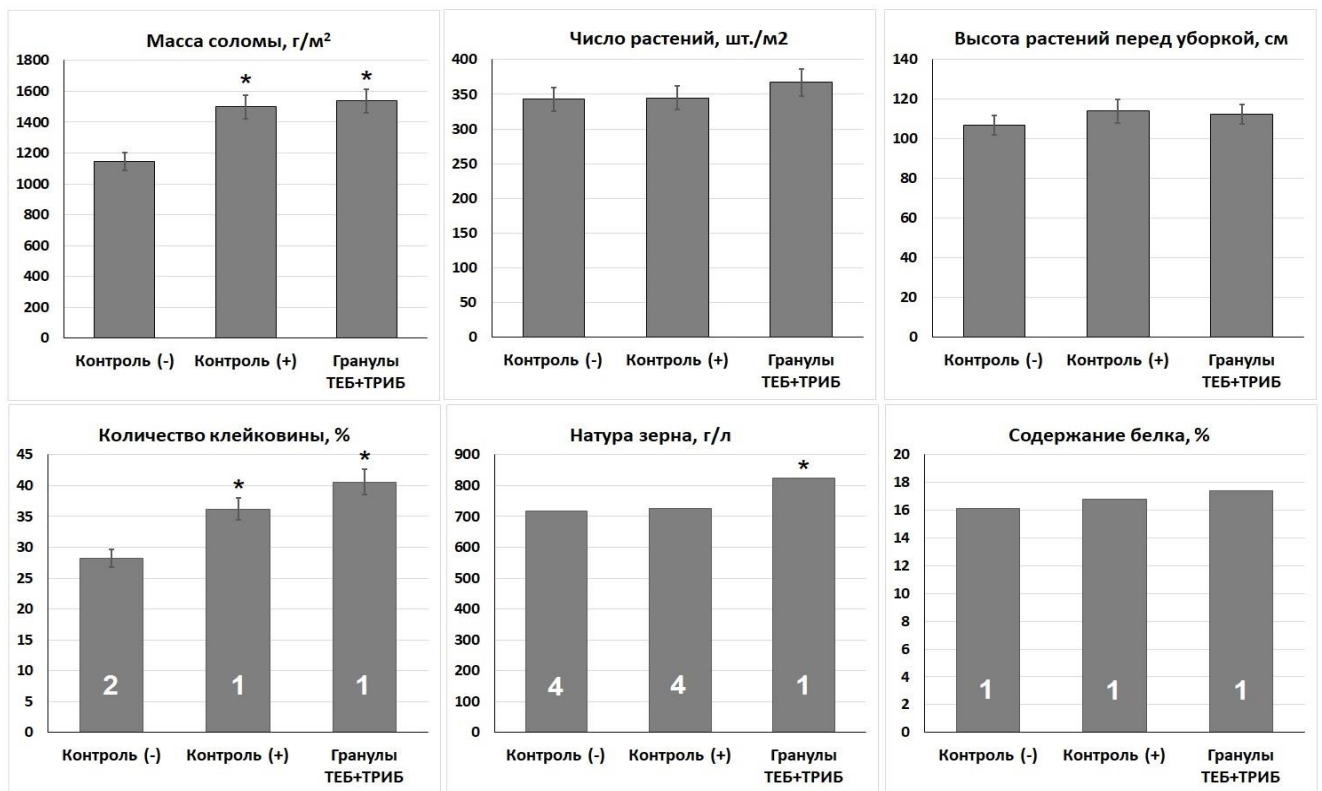


Рисунок 5.6 – Структура и качество урожая пшеницы; цифрами на столбцах указан класс зерна; \* - достоверные различия с группами отрицательного контроля

В показателях продуктивности ячменя отмечено достоверное увеличение массы соломы в обоих вариантах с внесением тебуконазола, но в то же время обнаружена тенденция к снижению количества растений в этих же вариантах по сравнению с отрицательным контролем (рисунок 5.7). Форма внесения препаратов защиты растений достоверно не повлияла на высоту растений. Тем не

менее, применение депонированной формы фунгицида обеспечило повышение качества зерна до 1 класса, а также способствовало повышению формирования белкового компонента.

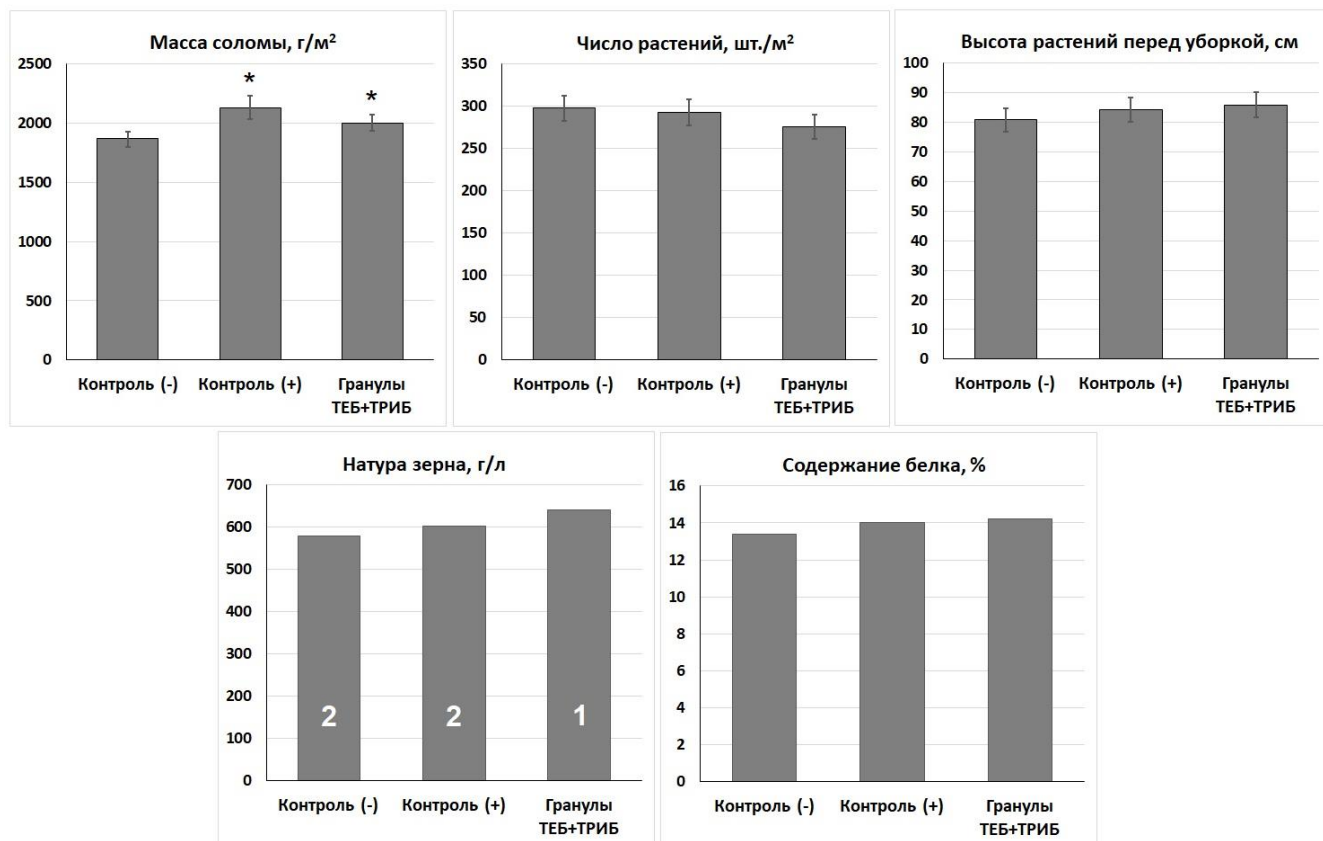


Рисунок 5.7 – Структура и качество урожая ячменя; цифрами на столбцах указан класс зерна; \* - достоверные различия с группами отрицательного контроля

Обладая системным действием, фунгициды на основе триазолов не только защищают корни, но и проявляют стимулирующую активность, оказывая влияние на физиологические процессы в растениях - активируют биосинтез хлорофиллов, повышают содержание  $\text{CO}_2$  в клетках и увеличивают продолжительность активного фотосинтеза (Зубко, Долженко, 2023). Применение депонированной формы тебуконазола способствовало пролонгации защитного и системного куративного действия фунгицида на растения, что положительно повлияло на формирование урожая.

Не выявлено достоверного влияния формы внесения фунгицидного препарата на урожайность ячменя по причине высокой вариации этого

показателя, хотя отмечена тенденция к увеличению в сравнении с отрицательным контролем (рисунок 5.8). В то же время урожайность пшеницы при использовании экспериментальной формы тебуконазола достоверно увеличилась – на 9,2 ц/га по сравнению с положительным контролем и на 10,8 ц/га по сравнению с отрицательным контролем.

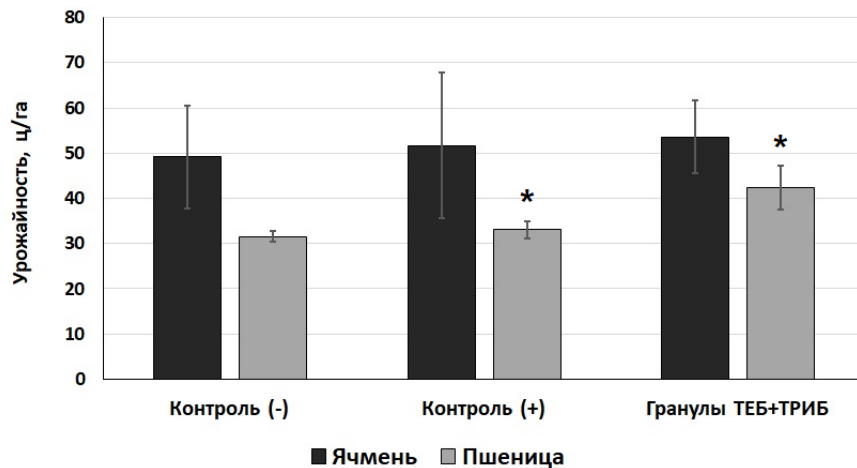


Рисунок 5.8 – Урожайность ячменя и пшеницы; \* - достоверные различия с отрицательным контролем

## 5.2 Эффективность депонированных форм фунгицидов в подавлении возбудителей болезней картофеля в полевых условиях

Полевой эксперимент проводили в течение вегетационного сезона 2021 г. В посадках картофеля сортов Красноярский ранний и Леди Клэр оценивали эффективность фунгицидов азоксистробина (АЗК), дифеноконазола (ДИФ) и комплекса азоксистробина и мефеноксама (АЗК+МЕФ), депонированных в биоразрушаемую основу П(ЗГБ)/опилки. Нагрузка форм фунгицидами составила 10 %, а для формы АЗК+МЕФ – 5+5 %. В качестве положительного контроля использовали коммерческие препараты с аналогичными действующими веществами: Квадрис (азоксистробин, 250 г/л), Скор (дифеноконазол, 250 г/л) и Юниформ (азоксистробин, 322 г/л и мефеноксам, 124 г/л). В отрицательном контроле растения и почву фунгицидами не обрабатывали. Посадка картофеля была проведена вручную, 01 июня 2021 г. В положительных контролях проведено

внесение в почву рабочих растворов Квадрис и Юниформ одновременно с посадкой; фунгицидом Скор проводили трехкратное опрыскивание растений в период вегетации.

Вегетационный сезон 2021 года характеризовался поздним наступлением тепла. Май и июнь были достаточно холодными (табл.та 5.6). По данным метеостанции «Сухобузимское» для июня было характерно неравномерное количество осадков: мало в первые две декады и 100 мм в третьей декаде. Июль характеризовался резким подъемом температуры воздуха и незначительным количеством осадков (60 % от среднеголетних). Август был жарким, при температуре воздуха, превышающей среднеголетний показатель на 3°C, количество осадков ниже уровня среднеголетних данных.

Таблица 5.6 – Показатели режимов температуры и осадков за вегетационный сезон 2021 года (учхоз «Миндерлинское»)

| Месяцы | Температура воздуха, °С |      |      |                  | Осадки             |           | Средне многолетние показатели t воздуха, °С | Средне многолетний уровень осадков, мм |
|--------|-------------------------|------|------|------------------|--------------------|-----------|---|--|
|        | Декады                  |      |      | средняя за месяц | сумма за месяц, мм | % к норме |   |  |
|        | I                       | II   | III  |                  |                    |           |   |  |
| Май    | 8,5                     | 9,2  | 9,3  | 9,0±0,3          | 29,1               | 90,9      | 8,0   | 32,0                                   |
| Июнь   | 14,3                    | 14,6 | 14,7 | 14,5±0,2         | 113,4              | 257,7     | 15,2  | 44,0                                   |
| Июль   | 18,6                    | 18,9 | 18,7 | 18,7±0,1         | 41,4               | 60,0      | 18,4  | 69,0                                   |
| Август | 18,2                    | 16,7 | 18   | 17,6±0,6         | 43,0               | 69,4      | 14,9  | 62,0                                   |

Учет запасов продуктивной влаги в 0-20 см слое перед посадкой картофеля показал хорошую влагообеспеченность чернозема (41-53 мм). Однако, характер сезонной динамики запасов доступной влаги определялся погодными условиями. Количество продуктивной влаги в период активного роста и развития картофеля изменялось от 42 до 31 мм, что ниже среднеголетних показателей. Наблюдения за гидротермическим режимом агрочернозема в посадках картофеля в ходе исследований показали, что вегетационный сезон 2021 года был недостаточно благоприятным как для роста и развития картофеля, так и активности микроорганизмов в почве.

Микробиологический анализ почвы учебного хозяйства Миндерлинское, проведенный 1 июня (посадка картофеля), выявил, что численность экологотрофических групп микроорганизмов перед началом полевых опытов 2021 года (таблица 5.7) была ниже на 1-2 порядка по сравнению с предыдущим годом. Неблагоприятные погодные условия сдерживали развитие микроорганизмов, количество которых в период посадки картофеля было относительно низким.

Таблица 5.7 – Структура микробиоценоза исходных образцов полевой почвы опытных участков (1 июня 2021 г)

| Экологотрофические группы бактерий | Численность, $10^6$ КОЕ в 1 г почвы | Численность микромицетов, $10^3$ КОЕ в 1 г почвы | Коэффициент минерализации | Коэффициент олиготрофности |
|------------------------------------|-------------------------------------|--|---------------------------|----------------------------|
| Копиотрофы                         | $1,4 \pm 0,5$                       | $14,7 \pm 1,8$                                   | 3,14                      | 3,05                       |
| Прототрофы                         | $4,4 \pm 0,9$                       |  |                           |                            |
| Олиготрофы                         | $4,3 \pm 0,6$                       |  |                           |                            |
| Азотфиксаторы                      | $1,7 \pm 0,2$                       |  |                           |                            |

В бактериальном сообществе доминировали представители рода *Bacillus*, на их долю приходилось 65 % (рисунок 5.9), в том числе *B. muralis* (26 %), *B. licheniformis* (18 %) и *B. pumilus* (14 %). В сообществе микромицетов доминировал род *Penicillium* (47 %) далее следовали *Trichoderma* (22 %) и *Mortierella* (11%). Среди фитопатогенных представителей выделялись грибы родов *Alternaria* (3 %) и *Fusarium* (8 %).

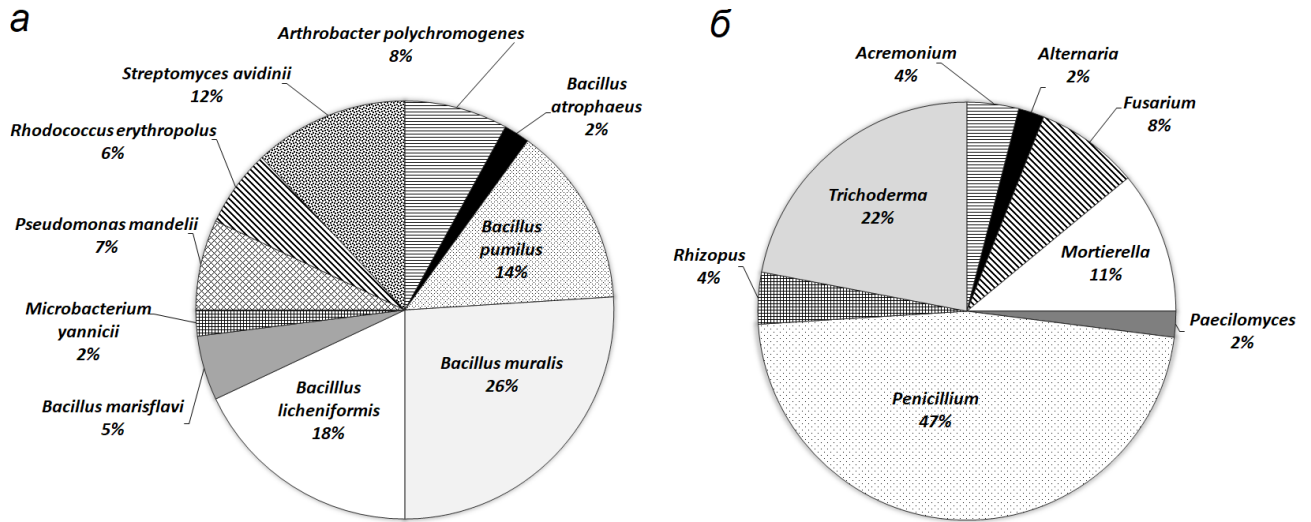


Рисунок 5.9 – Таксономический состав микрофлоры образцов полевой почвы опытных участков (1 июня 2021 г); а – бактерии, б – микромицеты

### 5.2.1 Влияние фунгицидных препаратов на численность и таксономический состав почвенных микромицетов в ризосфере картофеля

Численность почвенных микромицетов в ризосфере картофеля определяли на стадии всходов (23 июня), цветения (21 июля) и физиологической зрелости (27 августа). В достаточно прохладном июне общий титр микроорганизмов, бактерий и микромицетов, оставался пониженным. В фазе всходов численность микромицетов варьировала от 7,4 до 11,8 тыс. КОЕ/г почвы в ризосфере картофеля Красноярский ранний и от 7,6 до 12,2 тыс. КОЕ/г почвы – в ризосфере Леди Клэр (рисунок 5.10). Численность микромицетов в отрицательном контроле была аналогична показателям в момент посадки. При обработке коммерческими фунгицидами достоверное снижение численности микромицетов по сравнению с отрицательным контролем обеспечивал комбинированный препарат Юниформ. Использование депонированных препаратов не приводило в этот период к значимому изменению численности микромицетов в сравнении с отрицательным контролем в ризосфере обоих сортов картофеля.

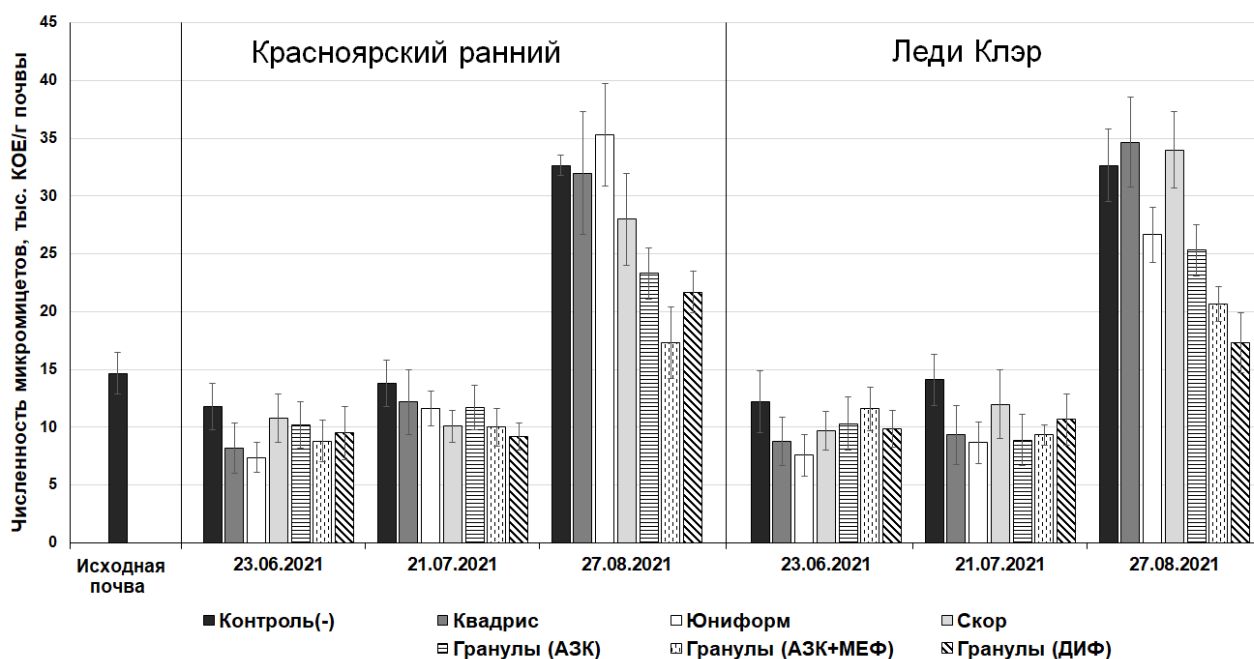


Рисунок 5.10 – Влияние формы внесения фунгицида на численность микромицетов в ризосферной почве картофеля

Засушливый и жаркий июль также неблагоприятно сказывался на развитии почвенной микрофлоры, в ризосфере интактных растений численность микромицетов не изменилась по сравнению с предыдущим месяцем. Применение фунгицидов, содержащих дифеноконазол, как в составе гранул, так и в препарате Скор, снизило численность микромицетов в ризосфере картофеля Красноярский ранний в 1,5 раза по сравнению с отрицательным контролем. В ризосфере сорта Леди Клэр более эффективно действовали препараты, содержащие азоксистробин и мефеноксам.

И только в теплом и дождливом августе отмечен резкий рост количества микромицетов, и наиболее выражено – в ризосфере интактных растений и в вариантах с обработкой коммерческими препаратами. В почве с депонированными формами численность микромицетов достоверно снижалась по сравнению с отрицательным контролем в 1,4-1,9 раза и в 1,3-2,0 раза – с положительными контролями. Такая динамика указывает на активное поступление в почву фунгицидных препаратов из депонированных форм в августе.

Исследование таксономического состава микромицетов, проведенное в августе в период всплеска их численности, показало, что основными доминирующими представителями во всех почвенных образцах были виды рода *Penicillium* (рисунок 5.11). В ризосфере интактных растений их доля составляла от 42 до 51 % для сортов Леди Клэр и Красноярский ранний, соответственно.

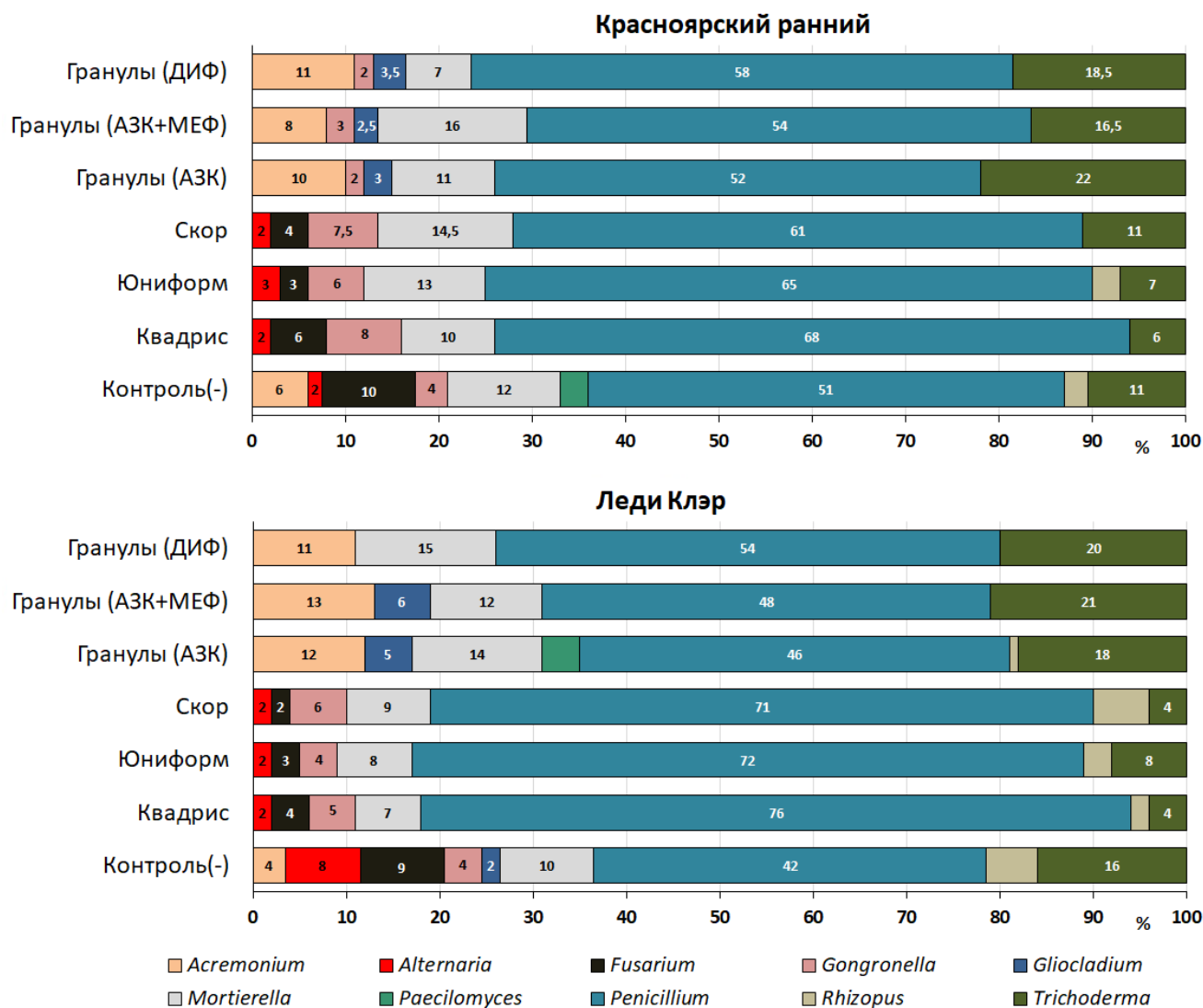


Рисунок 5.11 – Таксономический состав микромицетов ризосферной почвы картофеля при различных формах внесения фунгицидов (27 августа 2021)

В результате воздействия различных форм фунгицидов произошло перераспределение соотношения доминирующих сапротрофных и фитопатогенных представителей почвенных микромицетов. При внесении в почву



гранул с фунгицидами увеличилась доля видов *Penicillium* – на 1-7% для сорта Красноярский ранний и на 4-12% для сорта Леди Клэр, а также возросла доля грибов *Trichoderma* – на 6-12% и 2-5%, для обоих сортов, соответственно. Популяции микромицетов из родов *Alternaria* и *Fusarium* в почве были ниже порога обнаружения и не выявлялись при высеве почвенных суспензий на сусловый агар, что свидетельствует о проявлении фунгицидного действия депонированных препаратов в отношении этих фитопатогенных грибов картофеля на поздних сроках вегетации, когда возрастает опасность поражения клубней данными возбудителями.

Обработка почвы коммерческими фунгицидами привела к росту доли грибов рода *Penicillium* до 61-68% в ризосфере сорта Красноярский ранний и до 71-76% – в ризосфере Леди Клэр, в то же время доля грибов *Trichoderma* в этих образцах уменьшилась в 2-4 раза по сравнению с ризосферной почвой интактных растений, что неблагоприятно, поскольку триходерма относится к естественным антагонистам фитопатогенных грибов. Также было отмечено, что в конце вегетации фунгицидное действие коммерческих препаратов в отношении грибов из родов *Alternaria* и *Fusarium* ослаблялось, и от 4 до 8% изолятов в сообществе микромицетов принадлежало к этим представителям.

### **5.2.2 Влияние фунгицидных препаратов на зараженность картофеля фитопатогенными грибами (биологическая эффективность)**

Перед посадкой картофеля был проведен клубневой анализ, который выявил незначительное поражение клубней грибным возбудителем *Rhizoctonia solani*; для картофеля Красноярский ранний – 1 %, для Леди Клэр – 3 %.

Особенности погодных условий полевого сезона 2021 года, отрицательно сказывающиеся на развитии почвенной микрофлоры, также повлияли на характер распространения фитопатогенных грибов на вегетирующих растениях. В фазу массового цветения (третья декада июля) были обнаружены только единичные пятна альтернариоза в группах интактных растений. Во всех других вариантах с применением фунгицидов признаки инфекции отсутствовали. Развитие

фитопатогенов в эти сроки, очевидно, сдерживалось сухой и жаркой погодой, что неблагоприятно для развития грибов. Дальнейшее наблюдение за растениями показало, что во второй декаде августа степень поражения альтернариозом в целом была незначительной, на уровне 0,04 % для сорта Леди Клэр и 0,1 % для сорта Красноярский ранний в группах отрицательного контроля (таблица 5.8).

Таблица 5.8 – Степень поражения растений картофеля альтернариозом и фитофторозом (%) при различных способах доставки фунгицидов

| Вариант опыта  | Красноярский ранний |                   | Леди Клэр           |                   |
|--|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
|  | 12.08.2021          | 27.08.2021        | 12.08.2021          | 27.08.2021        |
| Альтернариоз   |                     |                   |                     |                   |
| Контроль (-)   | 0,10 ± 0,04         | 2,5 ± 0,4         | 0,04 ± 0,01         | 2,0 ± 0,4         |
| Квадрис  | 0,05 ± 0,01         | <b>0,3 ± 0,1*</b> | <b>0</b>            | 2,3 ± 0,5         |
| Юниформ  | 0,05 ± 0,01         | <b>0,3 ± 0,1</b>  | <b>0</b>            | 2,7 ± 0,6         |
| Скор   | 0,06 ± 0,01         | <b>0,1 ± 0,01</b> | <b>0</b>            | <b>0,1 ± 0,1</b>  |
| Гранулы (АЗК)  | 0,05 ± 0,01         | <b>1,8 ± 0,4</b>  | 0,02 ± 0,01         | <b>0,8 ± 0,4</b>  |
| Гранулы (АЗК+МЕФ)  | 0,10 ± 0,03         | <b>0,1 ± 0,1</b>  | <b>0,01 ± 0,01</b>  | <b>0,1 ± 0,02</b> |
| Гранулы (ДИФ)  | 0,10 ± 0,04         | <b>0,4 ± 0,1</b>  | <b>0,01 ± 0,003</b> | <b>0,7 ± 0,2</b>  |
| Фитофтороз   |                     |                   |                     |                   |
| Контроль (-)   | 5,8 ± 1,2           | 32,6 ± 3,4        | 18,0 ± 3,8          | 31,3 ± 5,9        |
| Квадрис  | <b>2,8 ± 0,3</b>    | <b>17,9 ± 1,5</b> | 13,6 ± 2,8          | 36,8 ± 6,9        |
| Юниформ  | 5,0 ± 1,0           | <b>13,1 ± 0,7</b> | 15,9 ± 2,2          | 38,7 ± 6,1        |
| Скор   | <b>3,1 ± 0,3</b>    | <b>15,4 ± 1,6</b> | 21,1 ± 4,4          | 46,0 ± 6,4        |
| Гранулы (АЗК)  | <b>2,4 ± 0,3</b>    | <b>21,2 ± 2,1</b> | 16,9 ± 5,1          | 32,1 ± 4,9        |
| Гранулы (АЗК+МЕФ)  | <b>2,9 ± 0,2</b>    | <b>13,1 ± 0,7</b> | <b>9,0 ± 1,8</b>    | 31,5 ± 5,9        |
| Гранулы (ДИФ)  | <b>3,6 ± 0,4</b>    | 31,0 ± 4,7        | 21,6 ± 4,3          | 23,4 ± 6,4        |
| * Шрифтом выделены достоверные различия с отрицательным контролем (p < 0,05) |                     |                   |                     |                   |

Достоверное снижение поражения сорта Леди Клэр показано при использовании всех типов коммерческих фунгицидов и депонированных форм с дифеноконазолом и комплексом азоксистробин+мефеноксам.

В конце августа на фоне снижения среднесуточных температур и выпадения осадков отмечали рост поражения альтернариозом на обоих сортах растений. Степень поражения интактных растений была близкой для обоих сортов – от 2,0 до 2,5 %, однако защитный эффект фунгицидов отличался в зависимости от генотипа. Для сорта Красноярский ранний максимальный фунгицидный эффект проявился у депонированного комплексного препарата АЗК+МЕФ (0,1 %

поражения), немногим уступал депонированный ДИФ (0,4 % поражения). Коммерческие препараты Юниформ, Квадрис и Скор давали аналогичный положительный эффект (0,1-0,3 %).

Для сорта Леди Клэр препараты Квадрис и Юниформ не проявили защитного действия от альтернариоза. Наиболее эффективными были коммерческий препарат Скор и комплексные гранулы, содержащих два фунгицида АЗК+МЕФ (0,1 % поражения).

Таким образом, все депонированные формы фунгицидов сдерживали поражение картофеля альтернариозом: от 29 до 95% на сорте Красноярский ранний и от 51 до 67% на сорте Леди Клэр. Однако максимальный защитный эффект был получен при трехкратном опрыскивании растений препаратом Скор (специализированный фунгицид против альтернариоза): зараженность снизилась на 94-98%.

Степень поражения растений фитофторозом была значительно выше, чем альтернариозом (табл. 5.9). При этом для сорта Красноярский ранний практически все фунгицидные препараты (свободные и депонированные) проявляли защитное действие против фитофтороза. В первой половине августа наиболее выраженный защитный эффект проявили депонированные формы с АЗК и комплексом АЗК+МЕФ (2,4 и 2,9 %, соответственно), а также коммерческий препарат азоксистробина Квадрис. Депонированный дифеноконазол и его аналог Скор были чуть менее эффективны. Что касается сорта Леди Клэр, то максимальный и достоверный эффект подавления фитофтороза наблюдали при использовании депонированной формы АЗК+МЕФ (9 % поражения). Во всех остальных случаях фунгицидный эффект препаратов не был подтвержден статистически.

В ходе дальнейших наблюдений отмечали взрывной рост поражения фитофторозом в конце августа: 31,3 % для сорта Леди Клэр и 32,6 % для Красноярского раннего. Ни один из использованных препаратов не обеспечил защиту сорта Леди Клэр от фитофтороза, что может объясняться генетическими особенностями: сорт Леди Клэр относится к группе ультраранних и для него характерна очень низкая устойчивость к фитофторозу, которая в ходе вегетации

снижается с увеличением возраста растений. Самая низкая степень поражения фитофторозом сорта Красноярский ранний зарегистрирована при использовании депонированного комплекса фунгицидов азксистробин+мефеноксам и его аналога Юниформ (13,1 %). Действие двух других коммерческих препаратов несколько уступало: 15,4 % Скор и 17,9 % Квадрис.

После сбора урожая был проведен анализ зараженности клубней фитопатогенами, который выявил симптомы поражения ризоктониозом и фитофторозом. Степень поражения клубней сорта Красноярский ранний была значительно меньше, чем Леди Клэр: в группах отрицательного контроля распространенность ризоктониоза была ниже в 2 раза, а фитофтороза – в 8 раз (таблица 5.9). Внесение фунгицидов оказало существенный оздоравливающий эффект. Для сорта Красноярский ранний все типы фунгицидов обеспечили полную защиту от фитофтороза. Распространенность ризоктониоза максимально снижалась при внесении гранул с азоксистробином и комплексом азоксистробина и мефеноксама; из коммерческих препаратов эффективную защиту обеспечил Юниформ; препараты дифеноконазола снижали распространенность ризоктониоза в 2,3 раза (Скор) и 3,2 раза (гранулы ДИФ) по сравнению с контролем.

Таблица 5.9 – Распространенность заболеваний на клубнях картофеля (%) и биологическая эффективность (С) при различных способах доставки фунгицидов

| Форма препарата   | Красноярский ранний |            |      | Леди Клэр   |            |      |
|-------------------|---------------------|------------|------|-------------|------------|------|
|                   | Ризоктониоз         | Фитофтороз | С, % | Ризоктониоз | Фитофтороз | С, % |
| Контроль (-)      | 16                  | 2          | -    | 32          | 16         | -    |
| Квадрис           | 5.4                 | 0          | 70.0 | 27          | 2          | 39.6 |
| Юниформ           | 1.3                 | 0          | 92.8 | 22          | 6          | 41.7 |
| Скор              | 7                   | 0          | 61.1 | 40          | 4          | 8.3  |
| Гранулы (АЗК)     | 1                   | 0          | 94.4 | 24          | 2          | 45.8 |
| Гранулы (АЗК+МЕФ) | 1                   | 0          | 94.4 | 5.4         | 2          | 84.6 |
| Гранулы (ДИФ)     | 5                   | 0          | 72.2 | 20          | 2          | 54.2 |

Несмотря на отсутствие защитного действия фунгицидов на вегетирующей части растений сорта Леди Клэр, на клубнях все фунгициды обеспечили

достоверное снижение распространенности фитофтороза. Вероятно, в отношении почвенных инфекций фунгицидное действие было более эффективным. Во всех вариантах применения депонированных фунгицидов распространенность фитофтороза не превышала 2 %, при использовании коммерческих аналогов симптомы фитофтороза проявлялись на 2-6 % клубней.

В отношении ризоктониоза максимальный защитный эффект был получен от применения комплексных гранул с двумя препаратами азоксистробин+мефеноксам, а также коммерческого аналога Юниформ.

На основании степени подавления распространенности клубневых инфекций была рассчитана биологическая эффективность препаратов (таблица 5.9). На картофеле сорта Красноярский ранний максимальная биологическая эффективность (94,4 %) отмечена для депонированных препаратов азоксистробина и комплекса АЗК+МЕФ; близкое значение зарегистрировано для коммерческого препарата Юниформ (92,8 %). На картофеле сорта Леди Клэр биологическая эффективность депонированных форм всех фунгицидов превышала их коммерческие аналоги. Максимальное значение также было отмечено для комплексных гранул АЗК+МЕФ (84,6 %).

Таким образом, депонированный препарат, содержащий два фунгицида азоксистробин и мефеноксам наиболее эффективно сдерживал развитие таких заболеваний картофеля, как альтернариоз, фитофтороз и ризоктониоз, и не уступал по эффективности коммерческому аналогу. Защитный эффект фунгицидов в большей степени проявлялся на клубнях картофеля, чем на надземной части вегетирующих растений.

### **5.2.3 Влияние фунгицидных препаратов на структуру урожая и урожайность картофеля**

Триазолы и стробилурины оказывают влияние на физиологию растений: продлевают фотосинтетическую активность, активируют нитратредуктазу, способствуют накоплению крахмала, оказывают иммуностимулирующее действие на растения (Зубко, Долженко, 2023; Kuznetsova et al., 2009).

Фенологические наблюдения за развитием картофеля показали, что формы доставки фунгицидов не оказали влияния на развитие исследуемых сортов (приложение М, Н). Интактные растения (отрицательный контроль), растения в группах положительного контроля (применение коммерческих фунгицидов), а также в экспериментальных группах с применением депонированных фунгицидов вступали в фазы роста одновременно. В период физиологической зрелости у сорта Леди Клэр достоверной разницы в количестве стеблей и их высоте не обнаружено (таблица 5.10). Растения сорта Красноярский ранний в группах с использованием депонированных фунгицидов были выше интактных растений от 9,2 до 13 % в случае применения депонированных дифеноконазола или азоксистробина, соответственно.

Оценка структуры урожая показала степень влияния депонированных фунгицидов и традиционных способов их применения на урожайность картофеля и качество клубней. Урожайность сорта Красноярский ранний была выше, чем сорта Леди Клэр, по всем вариантам опыта, как для интактных растений, так и в группах с применением фунгицидов. Доля товарных клубней (массой более 40 г) у сорта Красноярский ранний в группах с применением свободных фунгицидов была на 16-30 % выше, чем у интактных растений, в группах с гранулами – на 14-21 %. У сорта Леди Клэр в варианте с обработкой препаратом Квадрис доля товарных клубней была выше на 15 %; в остальных группах – на 3-8 % выше, чем в отрицательном контроле.

Таблица 5.10 – Урожайность и структура урожая картофеля при различных способах доставки фунгицидов

| Вариант  | Количество стеблей в клоне, шт. | Средняя высота стеблей, см | Урожайность, т/га | Количество клубней в клоне, шт. | Масса товарного клубня, г | Доля товарных клубней в клоне, % | Прибавка урожая, % |
|--|---------------------------------|----------------------------|-------------------|---------------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------|
| Красноярский ранний  |                                 |                            |                   |                                 |                           |                                  |                    |
| Контроль(-)  | 5,4                             | 70,5                       | 14,4 ± 2,2        | 7,0 ± 1,5                       | 70 ± 5                    | 46                               | -                  |
| Квадрис  | 6,8                             | 70,8                       | 18,4 ± 2,2        | 9,0 ± 2,5                       | 71 ± 7                    | 62                               | <b>27,8</b>        |
| Юниформ  | 6,8                             | 69,9                       | <b>20,8 ± 1,7</b> | 7,0 ± 1,8                       | 70 ± 6                    | 76                               | <b>44,4</b>        |
| Скор   | 7,1                             | 70,3                       | 16,8 ± 1,7        | 7,3 ± 1,8                       | 75 ± 5                    | 75                               | 16,7               |
| Гранулы (АЗК)  | 7,0                             | <b>79,7</b>                | <b>23,3 ± 3,4</b> | 9,0 ± 2,0                       | 69 ± 3                    | 60                               | <b>61,8</b>        |
| Гранулы (АЗК+МЕФ)  | 6,6                             | <b>77,9</b>                | <b>22,5 ± 2,9</b> | 7,8 ± 2,2                       | 75 ± 5                    | 67                               | <b>56,3</b>        |
| Гранулы (ДИФ)  | 6,0                             | <b>77,0</b>                | 17,7 ± 1,3        | 7,5 ± 2,2                       | 73 ± 6                    | 60                               | 22,9               |
| Леди Клэр  |                                 |                            |                   |                                 |                           |                                  |                    |
| Контроль(-)  | 5,2                             | 64,0                       | 11,3 ± 1,1        | 9,1 ± 2,1                       | 85 ± 7                    | 61                               | -                  |
| Квадрис  | 5,0                             | 60,9                       | <b>14,3 ± 1,6</b> | 9,8 ± 2,1                       | 83 ± 5                    | <b>76</b>                        | <b>26,5</b>        |
| Юниформ  | 5,1                             | 50,7                       | 12,4 ± 0,9        | 9,8 ± 2,0                       | 75 ± 4                    | 67                               | 9,3                |
| Скор   | 5,5                             | 50,0                       | 10,5 ± 0,7        | 9,6 ± 1,9                       | 67 ± 5                    | 65                               | -7,1               |
| Гранулы (АЗК)  | 5,5                             | <b>44,4</b>                | 12,4 ± 0,4        | 9,7 ± 2,0                       | 78 ± 5                    | 64                               | 9,7                |
| Гранулы (АЗК+МЕФ)  | 5,5                             | 63,9                       | <b>15,0 ± 1,4</b> | 11,1 ± 1,7                      | 74 ± 7                    | 69                               | <b>32,7</b>        |
| Гранулы (ДИФ)  | 5,5                             | 62,6                       | 12,6 ± 1,1        | 9,6 ± 1,9                       | 78 ± 7                    | 69                               | 11,5               |
| * Шрифтом выделены достоверные различия с отрицательным контролем (p < 0,05) |                                 |                            |                   |                                 |                           |                                  |                    |

В группах положительного контроля у сорта Красноярский ранний наибольшая прибавка урожая относительно отрицательного отмечена в варианте использования препарата Юниформ (44,4 %). В группах с экспериментальными формами достоверная прибавка урожая получена в варианте применения гранул с азоксистробином и комплексных гранул АЗК+МЕФ (61,8 и 56,3 %); в группе с депонированным дифеноконазолом увеличение показателя было статистически не значимым. Сорт Леди Клэр на фоне пониженной урожайности позитивно реагировал на применение фунгицидов. При этом самая высокая прибавка урожая (32,7 %) получена в экспериментальном варианте с применением комплекса двух депонированных фунгицидов с разным механизмом действия; эффект коммерческого препарата Квадрис также был высоким (26,5 %).

В целом, применение депонированных фунгицидов в большинстве вариантов опыта значительно повышало урожайность по сравнению с интактными растениями; при этом статистически значимо в случае применения депонированного азоксистробина или комплекса азоксистробин + мефеноксам.

### **Заключение к главе 5:**

Депонированные формы фунгицидов обеспечивали снижение численности микромицетов в ризосферной почве зерновых культур и картофеля в течение вегетационного периода. Максимальный фунгицидный эффект наблюдали при почвенно-климатических условиях, благоприятных для развития микроорганизмов-деструкторов полимерной основы экспериментальных гранул. На фоне общего снижения численности микромицетов фунгицидные препараты эффективно сдерживали рост фитопатогенных микромицетов в ризосфере ниже порога обнаружения.

Депонированный фунгицид тебуконазол в составе комплексных гранул П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ+ТРИБ оказывал оздоравливающее действие на ризосферную почву и снижал распространение корневых гнилей зерновых культур; биологическая эффективность депонированного ТЕБ варьировала от 68 до 100 % в посевах ячменя Биом и от 73,4 до 100 % в посевах пшеницы Новосибирская 15. В начальные фазы развития растений (всходы – кущение) биологическая эффективность экспериментальных гранул и коммерческого протравителя Бункер была близкой, а в последующие фазы (колошение – восковая спелость) эффективность депонированного ТЕБ превышала коммерческий аналог. Снижение зараженности зерновых культур корневыми гнилями в свою очередь привело к формированию более качественного зерна и повышению урожайности: пшеницы – на 10,8 ц/га и ячменя – на 4,4 ц/га.

Применение депонированных фунгицидов в посадках картофеля сортов Красноярский ранний и Леди Клэр обеспечивало защиту вегетирующих растений от альтернариоза, наиболее эффективным был комплексный препарат, содержащий два фунгицида – азоксистробин и мефеноксам, который снижал



степень поражения альтернариозом картофеля Красноярский ранний в 25 раз и Леди Клэр – в 20 раз по сравнению с растениями в отрицательном контроле. В отношении фитофтороза депонированные и коммерческие фунгициды проявили защитное действие только для сорта Красноярский ранний: комплексный препарат П(ЗГБ)/опилки/АЗК+МЕФ и его коммерческий аналог Юниформ в 2,5 раза снизили степень поражения фитофторозом. В виду высокой восприимчивости к фитофторозу сорта Леди Клэр, ни один из исследуемых препаратов не обеспечил эффективной защиты растений от заболевания.

Слабое фунгицидное действие депонированных форм препаратов на надземной части растений компенсировалось более выраженным защитным действием в ризосферной почве, которое привело к существенному снижению распространенности фитофтороза и ризоктониоза на клубнях картофеля обоих сортов. Для сорта Красноярский ранний биологическая эффективность всех исследуемых форм фунгицидов составила 100 % в отношении фитофтороза и 72-94 % – в отношении ризоктониоза. Для сорта Леди Клэр биологическая эффективность депонированных фунгицидов в отношении фитофтороза составила 87,5 %, в отношении ризоктониоза – от 83 до 26 %. Среди депонированных форм наибольшую эффективность проявили комплексные гранулы с двумя фунгицидами (П(ЗГБ)/опилки/АЗК+МЕФ). Именно в этих группах эксперимента была получена достоверная прибавка урожая к контролю для обоих сортов картофеля: на 56,3 % для сорта Красноярский ранний и на 32,7 % для сорта Леди Клэр.

Таким образом, разработанные экспериментальные формы депонированных фунгицидных препаратов подтвердили свою эффективность в полевых условиях. Сочетание высокой биологической эффективности фунгицидов и их физиологического и иммуностимулирующего действия на растения способствовало улучшению показателей продуктивности.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение были сделаны следующие выводы:

1. С использованием трехкомпонентных смесей П(ЗГБ)/наполнитель/фунгицид разработаны экспериментальные формы фунгицидных препаратов эпоксиконазола, азоксистробина, тебуконазола, дифеноконазола и мефеноксама в виде гранул, обеспечивающих пролонгированное действие фунгицидов в почве до конца вегетационного периода.

2. Интенсивность деградации экспериментальных форм и кинетика высвобождения действующего вещества зависели от растворимости фунгицида и не изменялись существенно при использовании различных наполнителей. Период полураспада для гранул с более растворимым мефеноксамом составлял от 56-70 суток, для гранул с малорастворимыми фунгицидами – более 80 суток.

3. Депонированные фунгицидные препараты снижали численность почвенных микромицетов в 1,2-4,4 раза, подавляя рост *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.* и *Bipolaris sorokiniana*. Сапротрофные микромицеты были слабо чувствительны к депонированным формам препаратов и сохраняли видовое разнообразие. Внесение депонированных фунгицидов в почву не оказывало ингибирующего действия на развитие почвенных бактерий, но приводило к изменению соотношения таксонов доминирующих культивируемых бактерий в сторону увеличения доли протеобактерий и актинобактерий.

4. Экспериментальные формы фунгицидных препаратов подавляли рост мицелия фитопатогенных грибов *in vitro*, уменьшая диаметр колоний в 1,2-2,8 раза по сравнению с контрольной группой без фунгицидов; эффективность депонированных форм была сопоставима со свободными фунгицидами и их коммерческими аналогами.

5. В лабораторных условиях применение депонированных форм фунгицидов снижало распространение болезней корневой системы зерновых культур и увеличивало продукцию биомассы надземной части. Биологическая

эффективность депонированных форм тебуконазола и эпоксиконазола достигала 88,0-91,0% для пшеницы и 92,3-86,2% - для ячменя, что превышало эффективность свободных форм фунгицидов. При выращивании картофеля экспериментальный комплексный препарат с двумя фунгицидами азоксистробин+мефеноксам обеспечивал эффективную защиту от ризоктониоза и увеличил продукцию микроклубней в 1,7 раза по сравнению с интактными растениями.

6. Депонированные фунгицидные препараты показали высокую биологическую эффективность и пролонгированное защитное действие при выращивании зерновых культур и картофеля в полевых условиях. Для пшеницы биологическая эффективность составила 88,6%, для ячменя – 90,6%. На растениях картофеля наибольшая биологическая эффективность отмечена для комплексного препарата, содержащего азоксистробин и мефеноксам – от 84,6% (сорт Леди Клэр) до 94,4% (сорт Красноярский ранний). Использование депонированных фунгицидов повышало урожайность, улучшало качество зерна пшеницы и ячменя и увеличивало долю товарного картофеля.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аубакирова, Д.С. Фитотоксичность грибов рода *Alternaria* / Д.С.Аубакирова, В.В Ремеле // Сельское, лесное и водное хозяйство. – 2013. – № 12.
2. Асхадуллин, Д.Ф. Влияние применения фунгицидов на основе стробилуринов на качество зерна яровой мягкой пшеницы / Д.Ф. Асхадуллин, Н.З. Василова, Э.З. Багавиева, М.Р. Тазутдинова, И.И. Хусаинова // Агропромышленные технологии Центральной России. – 2020. – № 4. – С. 23-31.
3. Белов, Д. А., Хютти, А. В. Современные фитопатогенные комплексы болезней картофеля и меры по предотвращению их распространения в России / Д. А. Белов, А. В. Хютти // Картофель и овощи. – 2022. – № 5.– С. 18-24.
4. Березненко, Н. М., Лепешкина, М. И. Перспективы использования пестицидных формуляций с контролируемым высвобождением действующего вещества / Н. М. Березненко, М. И. Лепешкина // SWorld: сб. науч. ст. – Иваново: Научный мир. – 2015. – Т. 18. – № 2 (39). – С. 56-69.
5. Бояндин, А. Н. Биодegradация полигидроксиалканоатов почвенными микробиоценозами различной структуры и выявление микроорганизмов-деструкторов / А. Н. Бояндин, С. В. Прудникова, М. Л. Филипенко, Е. А. Храпов, А. Д. Васильев, Т. Г. Волова // Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48. – №. 1. – С. 35-35.
6. Бурлакова, С. В. Оценка влияния препаративных форм протравителей семян на основе триазолов на физиологические особенности всходов яровой пшеницы / С. В. Бурлакова, Н. Г. Власенко, С. С. Халиков // Агрохимия. – 2019. – №. 11. – С. 27-32.
7. Волова, Т. Г. Современные биоматериалы: мировые тренды, место и роль микробных полигидроксиалканоатов. / Т. Г. Волова // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. – 2014. – Т. 7. – №. 2. – С. 103-133.
8. Волова, Т.Г. Фундаментальные основы конструирования и применения сельскохозяйственных препаратов нового поколения. /Т.Г. Волова, Н.О. Жила, С.В. Прудникова, А.Н. Бояндин, Е.И. Шишацкая. Красноярск, Красноярский писатель. – 2016. – 214 с.
9. Гаврилова, О. П. Контаминация зерна в Западной Сибири грибами *Alternaria* и их микотоксинами / О. П. Гаврилова, Т. Ю. Гагкаева, Н. Н. Гогина // Вестник защиты растений. – 2021. – Т. 104. – №. 3. – С. 153-162.
10. Гагкаева, Т. Ю. Фузариоз зерновых культур / Т. Ю. Гагкаева, О. П. Гаврилова // Защита и карантин растений. – 2009. – №. 12. – С. 13-15.
11. Галлямова, О. В. Действующие вещества фунгицидов. [Электронный ресурс]: Пестициды.ру. Сельскохозяйственный онлайн справочник [сайт] –

Москва, 2014. – Режим доступа: <http://www.pesticidy.ru> (дата обращения: 26.05.2024).

12. Ганнибал, Ф. Б. Альтернариозы сельскохозяйственных культур на территории России / Ф. Б. Ганнибал, А. С. Орина, М. М. Левитин // Защита и карантин растений. – 2010. – №. 5. – С. 31-32.

13. Гоготов, И. Н. Биодegradация полиоксиалканоатов и их свойства / И. Н. Гоготов // Пластические массы. – 2012. – №. 11. – С. 54-61.

14. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, 2022 год. <http://old.mcx.ru/>

15. ГОСТ 12044-93. «Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями». Дата издания: 01.01.2004. Дата последнего изменения: 19.07.2010

16. ГОСТ 28672-2019 «Ячмень. Технические условия» Дата издания: 01.10.2020. Дата последнего изменения: 01.12.2021

17. ГОСТ 9353-2016 «Пшеница. Технические условия» Дата издания: 22.02.2019. Дата последнего изменения: 01.01.2021

18. ГОСТ 10846-91 «Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка» Дата издания: 01.05.2009. Дата последнего изменения: 01.07.2023

19. ГОСТ 10840-2017 «Зерно. Метод определения натурь» Дата издания: 20.02.2019. Дата последнего изменения: 01.01.2024

20. ГОСТ Р 54478-2011 «Зерно. Методы определения количества и качества клейковины в пшенице» Дата издания: 25.09.2012. Дата последнего изменения: 01.01.2022

21. ГОСТ 26213-91 «Почвы. Методы определения органического вещества» Дата издания: 21.07.1992. Дата последнего изменения: 06.04.2015

22. ГОСТ 26483-85 «Почвы. Приготовление солевой вытяжки и определение ее рН по методу ЦИНАО» Дата издания: 01.01.1985. Дата последнего изменения: 06.04.2015.

23. ГОСТ 26212-91 «Почвы. Определение гидролитической кислотности по методу Каппена в модификации ЦИНАО» Дата издания: 21.07.1992. Дата последнего изменения: 06.04.2015.

24. ГОСТ 27821-88 «Почвы. Определение суммы поглощенных оснований по методу Каппена» Дата издания: 01.12.1988. Дата последнего изменения: 06.04.2015.

25. ГОСТ 26487-85 «Почвы. Определение обменного кальция и обменного (подвижного) магния методами ЦИНАО» Дата издания: 01.01.1985. Дата последнего изменения: 06.04.2015.

26. ГОСТ 26951-86 «Почвы. Определение нитратов ионометрическим методом» Дата издания: 25.08.1986. Дата последнего изменения: 06.04.2015.
27. ГОСТ 26489-85 «Почвы. Определение обменного аммония по методу ЦИНАО» Дата издания: 01.01.1985. Дата последнего изменения: 01.01.2021.
28. ГОСТ 26204-91 «Почвы. Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Чирикова в модификации ЦИНАО» Дата издания: 21.07.1992. Дата последнего изменения: 07.11.2012.
29. ГОСТ 33996-2016 «Картофель семенной. Технические условия и методы определения качества» Дата издания: 06.08.2020. Дата последнего изменения: 01.01.2021.
30. Гришечкина, Л. Д. Современные фунгициды для интегрированных систем защиты зерновых культур от комплекса фитопатогенов / Л. Д. Гришечкина, В. И. Долженко // Вестник аграрной науки. – 2012. – № 39 (6). – С. 7-9.
31. Деренко, Т.А. Биологическое обоснование стратегии применения фунгицидов для защиты картофеля от фитофтороза и альтернариоза: дис. ... канд. биол. наук: 06.01.07. Защита растений. – РАСХН, ГНУ ВНИИ фитопатологии. – М. – 2014.
32. Дмитриев, Е. А. Математическая статистика в почвоведении. – М.: Изд-во МГУ. – 1995. – 319 с.
33. Долженко, В. И. Пестициды и их действие на человека и окружающую среду / В. И. Долженко, А. П. Кармазин, Т. С. Астарханова // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агронимия и животноводство. – 2023. – № 18 (4). – С. 455-463.
34. Дорофеева, Л. Л., Шкалик, В. А. Болезни зерновых культур. М.: Печатный город. – 2007. – 96 с.
35. Жевора, С.В., Зейрук, В.Н., Белов, Г.Л., Васильева, С.В., Дервягина, М.К., Анисимов, Б.В., Старовойтов, В.И., Старовойтова, О.А., Мишуков, Н.П., Неменуша, Л.А., Манохина, А.А., Пискунова, Н.А. Передовые методы диагностики патогенов картофеля: науч. анал. Обзор // М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. – 92 с.
36. Желтова, К. В. Корневые гнили озимой пшеницы и их вредоносность / К. В. Желтова, В. И. Долженко // Вестник аграрной науки. – 2017. – №. 1 (64). – С. 45-51.
37. Жилияков, Д. И. Анализ состояния мирового рынка пшеницы и перспективы России по расширению экспортного потенциала / Д. И. Жилияков, В. Я. Башкатова, Ю. В. Плахутина, О. В. Петрушина, Д. А. Зюкин // Экономические науки. – 2020. – №. 183. – С. 38-43.

38. Золкин, А. Л. Современное состояние и тенденции мирового производства зерна / А. Л. Золкин, Е. В. Матвиенко, Е. Н. Шанина, В. М. Калякина // Управленческий учет. – 2021. – №. 7-1. – С. 231-237.
39. Зубко, Н. Г., Долженко, Т. В. Действие фунгицидов на содержание фотосинтетических пигментов в растениях пшеницы яровой / Н. Г. Зубко, Т. В. Долженко // Аграрная наука. – 2023. – №. 12. – С. 110-118.
40. Иванов, А.А. Увеличение продолжительности жизни листьев пшеницы при обработке растений фунгицидом / А.А. Иванов, Н.И. Шабнова, Ю.С. Дунаева, А.А. Кособрухов // Физиология и биохимия культурных растений. – 2013. – Т. 45(2). – С. 164-172.
41. Калининкова, Т. Б. Токсическое действие пестицидов на пчел: обзор / Т. Б. Калининкова, А. Ф. Гатиятуллина, А. В. Егорова // Российский журнал прикладной экологии. – 2021. – №. 3 (27). – С. 50-57.
42. Козловский, А. Г. Изучение биodeградации поли- $\beta$ -гидроксипутирата микроскопическими грибами / А. Г. Козловский, В. П. Желифонова, Н. Г. Винокурова, Т.В. Антипова, Н.Е. Иванушкина // Микробиология. – 1999. – Т. 68. – №. 3 – С. 340–346
43. Кекало, А. Ю. Современный подход к вопросу защиты пшеницы от болезней и вредителей / А. Ю. Кекало, В. В. Немченко, Н. Ю. Заргарян, А. С. Филиппов, Т. А. Козлова // Земледелие. – 2020. – №. 5. – С. 41-45.
44. Келер, В. В. Влияние предшественников, удобрения и пестицидов на распространенность и таксономический состав семенной инфекции мягкой яровой пшеницы сорта Алтайская 75 / В. В. Келер, С. В. Хижняк, С. В. Овсянкина, Д. М. Щеклеин, Э. Д. Машковская // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2022. – №. 4 (181). – С. 44-52.
45. Круглов, Ю. В. Микрофлора почвы и пестициды. – М.: Агропромиздат – 1991. - 28 с.
46. Крупенько, Н. А. Классификация и механизм действия химических фунгицидов, применяемых для защиты зерновых культур от болезней в Беларуси / Н. А. Крупенько // Plant Protection News. – 2023. – №. 2. – С. 84-92.
47. Кузнецова, М.А. Болезни картофеля // Защита и карантин растений. – 2007. – №5. – С. 1-28
48. Кузнецова, М.А. Фитофтороз и альтернариоз картофеля: программа защитных действий / М.А. Кузнецова, Б.Е. Козловский, А.Н. Рогожин, Т.И. Сметанина, С.Ю. Спиглазова, Т.А. Деренко, А.В. Филиппов // Картофель и овощи. – 2010. – №3. – С. 27-29.
49. Кузнецова, М.А. Защита картофеля от ризоктониоза, антракноза и серебристой парши / М.А. Кузнецова, А.Н. Рогожин, Т.И. Сметанина, И.А. Денисенков // Картофель и овощи. – 2017. – №4. – С. 27-29.

50. Кузнецова, М.А. Опасное заболевание картофеля / М. А. Кузнецова, Н. В. Стацюк, А. Н. Рогожин, К. В. Боровский // Защита и карантин растений. – 2020. – №2. – С. 7-13.
51. Кузьмицкая, А. А. Растениеводство России и Брянской области: состояние и приоритеты развития отрасли / А. А. Кузьмицкая, О. Н. Коростелева, Т. В. Иванюга, А. В. Кубышкин // Продовольственная политика и безопасность. – 2023. – Т. 10. – №. 4. – С. 693-718.
52. Кукушкина, К. В. Таксономический состав и распространенность фитопатогенных грибов на корнях мягкой яровой пшеницы в Канско-Красноярской лесостепи / К. В. Кукушкина, С. В. Овсянкина, В. В. Келер, С. В. Хижняк //АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал. – 2021. – №. 2.
53. Левитин, М. М., Джавахия, В. Г. Токсигенные грибы и проблемы продовольственной безопасности (обзор) / М. М. Левитин, В. Г. Джавахия // Достижения науки и техники АПК. – 2020. – Т. 34. – №. 12.
54. Малюга, А. А. Эффективность инновационных препаратов на основе тебуконазола, тирама и карбендазима против болезней картофеля / А. А. Малюга, Н. С. Чуликова, С. С. Халиков // Агрехимия. – 2020. – № 7. – С. 57-67.
55. Мельников, Н. Н. Пестициды. Химия, технология и применение – М.: Химия. – 1987. – 712 с.
56. Мехдиев, И. Т. Фузариозная болезнь и способ ведения предупредительных мероприятий против нее / И. Т. Мехдиев //Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков. – 2013. – №. 4. – С.99-104.
57. Назаров, П. А. Инфекционные болезни растений: этиология, современное состояние, проблемы и перспективы защиты растений / П. А. Назаров, Д. Н. Балеев, М. И. Иванова, Л. М. Соколова, М. В. Каракозова //Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2020. – Т. 12. – №. 3 (46). – С. 46-59.
58. Нетрусов, А. И. Егорова, М. А., Захарчук, Л.М. Практикум по микробиологии под ред. А.И. Нетрусова – М.: Академия. – 2005.
59. Орина, А. С. Микробицеты *Alternaria* spp. и *Bipolaris sorokiniana* и микотоксины в зерне, выращенном в Уральском федеральном округе / А. С. Орина, О. П. Гаврилова, Т. Ю. Гагкаева, Ф. Б. Ганнибал // Микология и фитопатология. – 2020. – Т. 54. – №. 5. – С. 365-377.
60. Павлюшин, В. А. Совершенствование систем защиты кормовых культур от фитопатогенов в Зауралье / В. А. Павлюшин, А. А. Постовалов // Вестник Курганской ГСХА. – 2022. – №. 4 (44). – С. 19-27.



61. Павлюшин, В. А. Фузариоз зерновых культур и опасность микотоксинов в России / В. А. Павлюшин // АгроСнабФорум. – 2017. – №. 3. – С. 41-43.
62. Пересыпкин, В. Ф. Болезни сельскохозяйственных культур. Т. 2. Болезни технических культур и картофеля / В. Ф. Пересыпкин, З. А. Пожар, Н. Н. Кирик и др. – Киев: Урожай, 1989. - 248 с.
63. Прудникова, С. В. Выделение и идентификация автохтонных возбудителей болезней картофеля, распространенных в регионах Сибири / С. В. Прудникова, А. А. Чураков, С. В. Овсянкина, С. В. Хижняк // Биотехнология новых материалов – окружающая среда – качество жизни: материалы IV Междунар. науч. конф., г. Красноярск, 10-13 октября 2021 г. – С. 174-177
64. Пилипова, Ю. В. Мониторинг вредных организмов как основа фитосанитарной оптимизации агроэкосистем картофеля / Ю. В. Пилипова, Е. М. Шалдяева // Инновации и продовольственная безопасность. – 2019. – №. 1. – С. 42-50.
65. Побежимова, Т.П. Физиологические эффекты действия на растения фунгицидов триазольной природы / Т.П. Побежимова, А.В. Корсукова, Н.В. Дорофеев, О.И. Грабельных // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2019. – Т. 9. – №.3. – С. 461-475.
66. Побежимова, Т.П. Влияние тебуконазола и тебуконазол-содержащего препарата “Бункер” на функционирование митохондрий озимой пшеницы / Т.П. Побежимова, А.В. Корсукова, О.А. Боровик, Н.С. Забанова, Н.В. Дорофеев, О.И. Грабельных, В.К. Войников // Биологические мембраны. – 2020. – Т. 37. – №.3. – С. 224-234.
67. Попов, С. Я., Дорожкина, Л. А., Калинин, В. А. Основы химической защиты растений // Под ред. профессора С. Я. Попова - М.: Арт-Лион. – 2003. – 208 с.
68. Руководство по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов в сельском хозяйстве: производственно-практ. издание. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2018. – 220 с.
69. Саттон, Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов - М.: Мир. – 2001. – 486 с.
70. Соколова, Л. М. Анализ видовой разнообразия грибов из рода *Fusarium* / Л. М. Соколова // Аграрная наука. – 2019. – Т. 1. – С. 118-122.
71. Торопова, Е. Ю. Альтернариоз зерна яровой пшеницы и ячменя в Западной Сибири и Восточном Зауралье / Е. Ю. Торопова, А. А. Кириченко, О. А. Казакова, И. Н. Порсев // Защита и карантин растений. – 2015. – №. 1. – С. 20-22.\

72. Торопова, Е. Ю. Грибы рода *Fusarium* на зерне пшеницы в Западной Сибири / Е. Ю. Торопова, И. Г. Воробьева, М. А. Мустафина, М. П. Селюк // Защита и карантин растений. – 2019а. – №. 1. – С. 21-23.
73. Торопова, Е. Ю. Мониторинг грибов рода *Fusarium* Link. и их микотоксинов на зерне пшеницы в Западной Сибири / Е. Ю. Торопова, И. Г. Воробьева, М. А. Мустафина, М. П. Селюк // Агрохимия. – 2019b. – №. 5. – С. 76-82.
74. Торопова, Е. Ю. Фитосанитарный мониторинг и контроль фитопатогенов яровой пшеницы / Е. Ю. Торопова, И. Г. Воробьева, Г. Я. Стецов, О. А. Казакова, А. А. Кириченко // Достижения науки и техники АПК. – 2021. – Т. 35. – №. 6. – С. 25-32.
75. Торопова, Е. Ю. Паразитирование *Vipolaris sorokiniana* Sacc. Shoem. в системе органов сортов яровой пшеницы в северной лесостепи Приобья / Е. Ю. Торопова, В. Ю. Сухомлинов, А. А. Кириченко, В. В. Пискарев // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2022. – №. 1. – С. 76-87.
76. ФГБУ «Госсорткомиссия». Реестр селекционных достижений. [Электронный ресурс]. Официальный сайт. Режим доступа <https://gossortrf.ru/registry/> (дата обращения 26.07.2024)
77. Федоров, Л. А., Яблоков А. В. Пестициды – токсический удар по биосфере и человеку – М.: Наука. – 1999.
78. Хадиева, Г. Ф. Анализ микромицетов рода *Fusarium*, изолированных из инфицированных клубней картофеля, выращенных в Республике Татарстан / Г. Ф. Хадиева, М. Т. Лутфуллин, Й. А. Акосах, А. В. Малова, Н. К. Мочалова, С. Г. Вологин, З. Сташевски, А. М. Марданова // Достижения науки и техники АПК. – 2018. – Т. 32. – №. 3.
79. Шабатуков, А. Х. Видовой состав и частота встречаемости фитопатогенов на посевах озимой пшеницы / А. Х. Шабатуков, Л. М. Хромова Д. А. Кимова // Известия Кабардино-Балкарского научного центра РАН. – 2022. – №. 4 (108). – С. 74-83.
80. Шалаева, Л. В. Тенденции производства и потребления ячменя в Российской Федерации // Продовольственная политика и безопасность. – 2023. – Т. 10. – №. 4. – С. 719-734.
81. Щеголихина, Т. А. Система защиты картофеля / Т. А. Щеголихина, Л. А. Неменуцкая, Л. Ю. Коноваленко // Итоги и перспективы развития агропромышленного комплекса. – 2020. – С. 64-70.
82. Adolf, B. et al. Fungal, Oomycete, and Plasmodiophorid Diseases of Potato // The Potato Crop. – Springer, Cham, 2020. – С. 307-350.

83. Ajayi-Oyetunde, O. O. *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean / O. O. Ajayi-Oyetunde, C. A. Bradley // *Plant pathology*. – 2018. – T. 67. – №. 1. – C. 3-17.
84. Aktar, M. W. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards / M. W. Aktar, D. Sengupta, A. Chowdhury // *Interdisciplinary toxicology*. – 2009. – T. 2. – №. 1. – C. 1.
85. AL-Ani, M. A. M. Effect of pesticides on soil microorganisms / M. A. Al-Ani, R. M. Hmoshi, I. A. Kanaan, A. A. Thanoon // *Journal of Physics: Conference Series*. – IOP Publishing. – 2019. – T. 1294. – №. 7. – C. 072007.
86. Alexandrino, D. A. M. Microbial degradation of two highly persistent fluorinated fungicides-epoxiconazole and fludioxonil / D. A. Alexandrino, A. P. Mucha, C. M. R. Almeida, M. F. Carvalho // *Journal of Hazardous Materials*. – 2020. – C. 122545.
87. Altaee, N. Biodegradation of different formulations of polyhydroxybutyrate films in soil / N. Altaee, G. A. El-Hiti, A. Fahdil, K. Sudesh, E. Yousif // *SpringerPlus*. – 2016. – T. 5. – №. 1. – C. 762.
88. Ashitha, A. Characteristics and types of slow/controlled release of pesticides / A. Ashitha, J. Mathew // *Controlled release of pesticides for sustainable agriculture*. – Springer, Cham. – 2020. – C. 141-153.
89. Baćmaga, M. Microbial and enzymatic activity of soil contaminated with azoxystrobin / M. Baćmaga, J. Kucharski, J. Wyszowska // *Environmental monitoring and assessment*. – 2015. – T. 187. – №. 10. – C. 615.
90. Baćmaga, M. Biostimulation as a process aiding tebuconazole degradation in soil / M. Baćmaga, J. Wyszowska, J. Kucharski // *Journal of Soils and Sediments*. – 2019a. – T. 19. – №. 11. – C. 3728-3741.
91. Baćmaga, M. The biochemical activity of soil contaminated with fungicides / M. Baćmaga, J. Wyszowska, J. Kucharski // *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. – 2019b. – T. 54. – №. 4. – C. 252-262.
92. Baćmaga, M. The influence of chlorothalonil on the activity of soil microorganisms and enzymes / M. Baćmaga, J. Wyszowska, J. Kucharski // *Ecotoxicology*. – 2018. – T. 27. – №. 9. – C. 1188-1202.
93. Baćmaga, M. The effect of the Falcon 460 EC fungicide on soil microbial communities, enzyme activities and plant growth / M. Baćmaga, J. Wyszowska, J. Kucharski // *Ecotoxicology*. – 2016. – T. 25. – №. 8. – C. 1575-1587.
94. Baćmaga, M. Response of soil microorganisms and enzymes to the foliar application of Helicur 250 EW fungicide on *Hordeum vulgare L.* / M. Baćmaga, J. Wyszowska, J. Kucharski // *Chemosphere* – 2020. – T. 242. – C. 125163.

95. Bending, G. D. Fungicide impacts on microbial communities in soils with contrasting management histories / G. D. Bending, M. S. Rodriguez-Cruz, S. D. Lincoln // *Chemosphere*. – 2007. – T. 69. – №. 1. – C. 82-88.
96. Berhan, M. Review on epidemiology, sampling techniques, management strategies of late blight (*Phytophthora infestans*) of potato and its yield loss / M. Berhan // *Asian Journal of Advances in Research*. – 2021. – C. 9-17.
97. Boyandin, A. N. Constructing slow-release formulations of herbicide metribuzin using its co-extrusion with biodegradable polyester poly- $\epsilon$ -caprolactone / A. N. Boyandin, E. A. Kazantseva // *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. – 2021. – T. 56. – №. 5. – C. 467-476.
98. Boyandin, A. Constructing slow-release formulations of metribuzin based on degradable poly (3-hydroxybutyrate) / A. Boyandin, N. Zhila, E. Kiselev, T. Volova // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2016. – T. 64. – №. 28. – C. 5625-5632.
99. Brhich, A. Fate and impact of pesticides: Environmental and human health issues. / A. Brhich, M. Ait Sidi Brahim, H. Merzouki, R. Chatoui, M. Merzouki // *Nutrition and Human Health: Effects and Environmental Impacts*. – Cham: Springer International Publishing. – 2022. – C. 41-53.
100. Bromilow, R. H. Factors affecting degradation rates of five triazole fungicides in two soil types: 1. Laboratory incubations. / R. H. Bromilow, A. A. Evans, P. H. Nicholls // *Pesticide Science*. – 1999. – T.55– №.12. – C.1129-1134.
101. Bugnicourt, E. Polyhydroxyalkanoate (PHA): Review of synthesis, characteristics, processing and potential applications in packaging / E. Bugnicourt, P. Cinelli, A. Lazzeri, V. A. Alvarez – 2014.
102. Campos, E. V. R. Applications of controlled release systems for fungicides, herbicides, acaricides, nutrients, and plant growth hormones: a review / E. V. R. Campos, J. L. de Oliveira, L. F. Fraceto // *Advanced Science, Engineering and Medicine*. – 2014. – T. 6. – №. 4. – C. 373-387.
103. Cao, L. Biodegradable poly (3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate) microcapsules for controlled release of trifluralin with improved photostability and herbicidal activity / L. Cao, Y. Liu, C. Xu, Z. Zhou, P. Zhao, S. Niu, Q. Huang // *Materials Science and Engineering: C*. – 2019. – T. 102. – C. 134-141.
104. Carvalho, F. P. Pesticides, environment, and food safety / F. P. Carvalho // *Food and Energy Security*. – 2017. – T. 6. – №. 2. – C. 48-60.
105. Casarin, S. A. Biodegradation in soil of the PHB/wood flour (80/20) and PHB/sisal fiber (80/20) tubes / S. A. Casarin, C. P. Rodrigues, O. F. de Souza Junior, F. Rosario, J. A. M. Agnelli // *Materials Research*. – 2017. – T. 20. – C. 47-50.
106. Chauhan, N. Development of chitosan nanocapsules for the controlled release of hexaconazole / N. Chauhan, N. Dilbaghi, M. Gopal, R. Kumar, K. H. Kim, S.

Kumar // International journal of biological macromolecules. – 2017. – T. 97. – C. 616-624.

107. Chen, G. Effective and sustained control of soil-borne plant diseases by biodegradable polyhydroxybutyrate mulch films embedded with fungicide of prothioconazole / G. Chen, L. Cao, C. Cao, P. Zhao, F. Li, B. Xu, Q. Huang // *Molecules*. – 2021. – T. 26. – №. 3. – C. 762.

108. Chen, X. Preparation and characterization of atrazine-loaded biodegradable PLGA nanospheres / X. Chen, T. Wang // *Journal of Integrative Agriculture*. – 2019. – T. 18. – №. 5. – C. 1035-1041.

109. Chowdhury, M. A. The controlled release of bioactive compounds from lignin and lignin-based biopolymer matrices / M. A. Chowdhury // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2014. – T. 65. – C. 136-147.

110. Daitx, T. S. Biodegradable polymer/clay systems for highly controlled release of NPK fertilizer / T. S. Daitx, M. Giovanela, L. N. Carli, R. S. Mauler // *Polymers for Advanced Technologies*. – 2019. – T. 30. – №. 3. – C. 631-639.

111. Devaux, A. Potatoes for sustainable global food security / A. Devaux, P. Kromann, O. Ortiz // *Potato Research*. – 2014. – T. 57. – №. 3. – C. 185-199.

112. de Carvalho Arjona, J. Biodegradable nanocomposite microcapsules for controlled release of urea / J. de Carvalho Arjona, M. das Gracas Silva-Valenzuela, S-H. Wang, F. R. Valenzuela-Diaz // *Polymers*. – 2021. – T. 13. – №. 5. – C. 722.

113. Dey, S. Microbial functional diversity plays an important role in the degradation of polyhydroxybutyrate (PHB) in soil / S. Dey, P. Tribedi // *3 Biotech*. – 2018. – T. 8. – №. 3. – C. 1-8.

114. Dobrovol'skaya, T. G. The role of microorganisms in the ecological functions of soils / T. G. Dobrovol'skaya, D. G. Zvyagintsev, I. Y. Chernov, A. V. Golovchenko, G. M. Zenova, L. V. Lysak, N. A. Manucharova, O.E. Marfenina, L.M. Polyanskaya, A. L. Stepanov, M. Umarov // *Eurasian soil science*. – 2015. – T. 48. – №. 9. – C. 959-967.

115. Dubey, S. Controlled release agrochemicals formulations: a review / S. Dubey, V. Jhelum, P. K. Patanjali // *Journal of Scientific and Industrial Research*. – 2011. – C.105-112.

116. Edrees, W. Study the effects of chemical pesticides on soil bacterial community on khat / W. Edrees // *Clinical Biotechnology and Microbiology*. – 2019. – T. 3. - №2. C. 599-604.

117. Feng, J. Controlled release of biological control agents for preventing aflatoxin contamination from starch–alginate beads / J. Feng, J. Dou, Z. Wu, D. Yin, W. Wu // *Molecules*. – 2019. – T. 24. – №. 10. – C. 1858.

118. Fiers, M. Potato soil-borne diseases. A review / M. Fiers, V. Edel-Hermann, C. Chatot, Y. Le Hingrat, C. Alabouvette, C. Steinberg // *Agronomy for Sustainable Development*. – 2012. – T. 32. – №. 1. – C. 93-132.
119. Figueroa, M. A review of wheat diseases—a field perspective / M. Figueroa, K. E. Hammond-Kosack, P. S. Solomon // *Molecular plant pathology*. – 2018. – T. 19. – №. 6. – C. 1523-1536.
120. Fisher, M. C. Threats posed by the fungal kingdom to humans, wildlife, and agriculture / M. C. Fisher, S. J. Gurr, C. A. Cuomo, et. al // *MBio*. – 2020. – T. 11. – №. 3. – C. e00449-20.
121. Flores-Céspedes, F. Lignin and ethylcellulose in controlled release formulations to reduce leaching of chloridazon and metribuzin in light-textured soils / F. Flores-Céspedes, I. Daza-Fernández, M. Villafranca-Sánchez, M. Fernández-Pérez, E. Morillo, T. Undabeytia // *Journal of hazardous materials*. – 2018. – T. 343. – C. 227-234
122. Flores-Céspedes, F. Preparation and characterization of imidacloprid lignin–polyethylene glycol matrices coated with ethylcellulose / F. Flores-Céspedes, C. I. Figueredo-Flores, I. Daza-Fernández, F. Vidal-Peña, M. Villafranca-Sánchez, M. Fernández-Pérez, E. Morillo, T. Undabeytia // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2012. – T. 60. – №. 4. – C. 1042-1051.
123. Fraceto L. F., De Castro V. L. S., Grillo R., Ávila D., Oliveira H. C., Lima R. *Nanopesticides*. – Springer International Publishing. – 2020.
124. Fraeyman, S. Emerging Fusarium and Alternaria mycotoxins: Occurrence, toxicity and toxicokinetics / S. Fraeyman, S. Croubels, M. Devreese, G. Antonissen // *Toxins*. – 2017. – T. 9. – №. 7. – C. 228.
125. Guo, P. Enzymatic activities and microbial biomass in black soil as affected by azoxystrobin / P. Guo, L. Zhu, J. Wang, J. Wang, H. Xie, D. Lv // *Environmental Earth Sciences*. – 2015. – T. 74. – C. 1353-1361.
126. Grillo, R. Characterization of atrazine-loaded biodegradable poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) microspheres / R. Grillo, N.F.S. de Melo, R. de Lima, R.W. Lourenço, A.H. Rosa, L.F. Fraceto // *J.Polym. Environ*. – 2010. – Vol 18. – №1. – P. 26-32.
127. Grillo, R. Controlled release system for ametryn using polymer microspheres: preparation, characterization and release kinetics in water / R. Grillo, A.D.E.S. 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 // *J.Hazard.Mater*. – 2011. – T. 186. – №. 2-3. – C. 1645-1651
128. Grube, A., Donaldson, D., Kiely, T., Wu, L. *Pesticides industry sales and usage* – US EPA, Washington, DC. – 2011.

129. Hashimi, M. H. Toxic effects of pesticides on humans, plants, animals, pollinators and beneficial organisms / M. H. Hashimi, R. Hashimi, Q. Ryan // *APRJ.* – 2020. – T. 5. – №. 4. – C. 37-47.
130. Huang, B. Advances in targeted pesticides with environmentally responsive controlled release by nanotechnology / B. Huang, F. Chen, Y. Shen, K. Qian, Y. Wang, C. Sun, X. Zhao, B. Cui, F. Gao, Z. Zeng, H. Cui // *Nanomaterials.* – 2018. – T. 8. – №. 2. – C. 102.
131. Hanumantharaju, T. H., Awasthi, M. D. Studies on the fate of fungicides in different soil environments / T. H. Hanumantharaju, M. D. Awasthi // *Journal of the Indian Society of Soil Science.* – 2003. – T.51. – №. 4. – C. 528-534.
132. Haq, I. History and recent trends in plant disease control: An overview / I. Haq, S. Ijaz // *Plant Disease Management Strategies for Sustainable Agriculture through Traditional and Modern Approaches.* – 2020. – C. 1-13.
133. Ishii, H., Holloman, D. W. Fungicide resistance in plant pathogens – Tokyo: Springer. – 2015. – C. 978-4.
134. Jain, A. A review of plant leaf fungal diseases and its environment speciation / A. Jain, S. Sarsaiya, Q. Wu, Y. Lu, J. Shi // *Bioengineered.* – 2019. – T. 10. – №. 1. – C. 409-424
135. Kapsa, J. S. Important threats in potato production and integrated pathogen/pest management / J. S. Kapsa // *Potato research.* – 2008. – T. 51. – №. 3. – C. 385-401.
136. Karas, P. A. Assessment of the impact of three pesticides on microbial dynamics and functions in a lab-to-field experimental approach / P. A. Karas, C. Baguelin, G. Pertile, E.S. Papadopoulou, S. Nikolaki, V. Storck, F. Ferrari, M. Trevisan, A. Ferrarini, F. Fornasier, S. Vasileiadis, G. Tsiamis, F. Martin-Laurent, D.G. Karpouzas // *Science of the total environment.* – 2018. – T. 637. – C. 636-646.
137. Kashyap, P. L. Chitosan nanoparticle-based delivery systems for sustainable agriculture / P. L. Kashyap, X. Xiang, P. Heiden // *International journal of biological macromolecules.* – 2015. – T. 77. – C. 36-51.
138. Kaviya, N. Role of microorganisms in soil genesis and functions / N. Kaviya, V. K. Upadhayay, J. Singh, A. Khan, M. Panwar, A. V. Singh // *Mycorrhizosphere and Pedogenesis.* – Springer, Singapore, 2019. – C. 25-52.
139. Khan S. U. Pesticides in the soil environment. – Elsevier. – 2016.
140. Koller, M. The Handbook of Polyhydroxyalkanoates: Postsynthetic Treatment, Processing and Application. – CRC Press. – 2020.
141. Kumar, R. Assessment of Antifungal Efficacy and Release Behavior of Fungicide-Loaded Chitosan-Carrageenan Nanoparticles against Phytopathogenic Fungi / R. Kumar, A. Najda, J. S. Duhan, B. Kumar, P. Chawla, J. Klepacka, S. Malawski, P. K. Sadh, A. K. Poonia // *Polymers.* – 2022. – T. 14. – №. 1. – C. 41.

142. Kumar, S. Development and evaluation of alginate–chitosan nanocapsules for controlled release of acetamiprid / S. Kumar, N. Chauhan, M. Gopal, R. Kumar, N. Dilbaghi // *International journal of biological macromolecules*. – 2015. – T. 81. – C. 631-637.
143. Kumar, S. Nano-based smart pesticide formulations: Emerging opportunities for agriculture / S. Kumar, M. Nehra, N. Dilbaghi, G. Marrazza, A. A. Hassan, K. H. Kim // *Journal of Controlled Release*. – 2019. – T. 294. – C. 131-153.
144. Kumar, S. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms / S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, K. Tamura // *Mol. Biol. Evol.* – 2018. – T. 35. – C. 1547–1549.
145. Kuznetsova, M.A. Effect of Quadris applied as an in-furrow spray against the late blight and early blight on a potato foliage / M.A. Kuznetsova, S.Yu. Spiglazova, T.I. Smetanina, B.E. Kozlovsky, T.A. Derenko, A.V. Filippov // *PPO-Special Report*. – 2009. – №13. – P. 275-280.
146. Lal, M. Management of Late Blight of Potato / M. Lal S. Sharma S. Yadav, S. Kumar // *Potato-From Incas to All Over the World*. – 2018.
147. Li, D. Preparation of uniform starch microcapsules by premix membrane emulsion for controlled release of avermectin / D. Li, B. Liu, F. Yang, X. Wang, H. Shen, D. Wu // *Carbohydrate polymers*. – 2016. – T. 136. – C. 341-349.
148. Li, N. Advances in controlled-release pesticide formulations with improved efficacy and targetability / N. Li, C. Sun, J. Jiang, et al. // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2021. – T. 69. – №. 43. – C. 12579-12597.
149. Liu, B. Construction of a controlled-release delivery system for pesticides using biodegradable PLA-based microcapsules / B. Liu, Y. Wang, F. Yang, X. Wang, H. Shen, H. Cui, D. Wu. // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2016. – T. 144. – C. 38-45.
150. Lewis, D. H. Principles of controlled release pesticides / D. H. Lewis, D. R. Cowsar. – ACS: Washington, DC, 1977. – 205 p.
151. Lobo, F. A. Poly (hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) microspheres loaded with atrazine herbicide: screening of conditions for preparation, physico-chemical characterization, and in vitro release studies / F. A. Lobo, C. L. de Aguirre, M. S. Silva, R. Grillo, N. F. S. de Melo, L. K. de Oliveira, L. F. Fraceto // *Polymer bulletin*. – 2011. – T.67. – C. 479-495.
152. Lu, T. Ecotoxicological effects of fungicides azoxystrobin and pyraclostrobin on freshwater aquatic bacterial communities / T. Lu, Z. Zhou, Q. Zhang, Z. Zhang, H. Qian // *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. – 2019. – T. 103. – №. 5. – C. 683-688.
153. Machado, T. O. Bio-based lignin nanocarriers loaded with fungicides as a versatile platform for drug delivery in plants / T. O. Machado, S. J. Beckers, J. Fischer,



B. Müller, C. Sayer, P. H. de Araújo, K. Landfester, F. R. Wurm // *Biomacromolecules*. – 2020. – T. 21. – №. 7. – C. 2755-2763.

154. Mahmood, I. Effects of pesticides on environment / I. Mahmood, S. R. Imadi, K. Shazadi, A. Gul, K. R. Hakeem // *Plant, soil and microbes: volume 1: implications in crop science*. – 2016. – C. 253-269.

155. Maluin, F. N. Preparation of chitosan–hexaconazole nanoparticles as fungicide nanodelivery system for combating Ganoderma disease in oil palm / F. N. Maluin, M. Z. Hussein, N. A. Yusof, S. Fakurazi, A. S. Idris, N. H. Zainol Hilmi, L. D. Jeffery Daim // *Molecules*. – 2019. – T. 24. – №. 13. – C. 2498.

156. Mandal, A. Impact of agrochemicals on soil health / A. Mandal, B. Sarkar, S. Mandal, M. Vithanage, A. K. Patra, M. C. Manna // *Agrochemicals detection, treatment and remediation*. – Butterworth-Heinemann, 2020. – C. 161-187.

157. Meena, R. S. Impact of agrochemicals on soil microbiota and management: A review / R. S. Meena, S. Kumar, R. Datta, et al. // *Land*. – 2020. – T. 9. – №. 2. – C. 34.

158. 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 // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1993. – T.59 – C. 3233–3238.

159. Mihajlović, M. Methods for management of soilborne plant pathogens / M. Mihajlović, E. Rekanović, J. Hrustić, M. Grahovac, B. Tanović // *Pesticidi i fitomedicina*. – 2017. – T. 32. – №. 1. – C. 9-24.

160. Muñoz-Leoz, B. Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity / B. Muñoz-Leoz, E. Ruiz-Romera, I. Antigüedad, C. Garbisu // *Soil Biol. Biochem.* – 2011. – T. 43. – C.2176–2183.

161. Mujtaba, M. Chitosan-based delivery systems for plants: A brief overview of recent advances and future directions / M. Mujtaba, K. M. Khawar, M. C. Camara, L. B. Carvalho, L. F. Fraceto, R. E. Morsi, M. Z. Elsabee, M. Kaya, J. Labidi, H. Ullah, D. Wang // *International journal of biological macromolecules*. – 2020. – T. 154. – C. 683-697.

162. Neri-Badang, M. C. Carbohydrate polymers as controlled release devices for pesticides / M. C. Neri-Badang, S. Chakraborty // *Journal of Carbohydrate Chemistry*. – 2019. – T. 38. – №. 1. – C. 67-85.

163. Nettles, R. Influence of pesticide seed treatments on rhizosphere fungal and bacterial communities and leaf fungal endophyte communities in maize and soybean / R. Nettles, J. Watkins, K. Ricks, M. Boyer, M. Licht, L. W. Atwood, M. Peoples, R. G. Smith, D. A. Mortenses, R. T. Koide // *Applied soil ecology*. - 2016. - T.102. - C. 61-69.

164. Nishimoto, R. Global trends in the crop protection industry / R. Nishimoto // *Journal of pesticide science*. - 2019. – T. 44. – №.3. – C. 141-147.

165. Oliver-Ortega, H. Simulated environmental conditioning of PHB composites reinforced with barley fibers to determine the viability of their use as plastics for the agriculture sector / H. Oliver-Ortega, F. Julián, F. X. Espinach, J. A. Méndez // *Polymers*. – 2023. – T. 15. – №. 3. – C. 579.
166. Orina, A. S. Specific diversity, biological characters and geography of *Alternaria* fungi associated with solanaceous plants / A. S. Orina, P. H. B. Gannibal, M. M. Levitin // *Mikologiya i fitopatologiya*. – 2010. – T. 44. – №. 2. – C. 150-159.
167. Pang, L. Cellulose based materials for controlled release formulations of agrochemicals: A review of modifications and applications / L. Pang, Z. Gao, H. Feng, S. Wang, Q. Wang // *Journal of Controlled Release*. – 2019. – T. 316. – C. 105-115.
168. Panth, M. Methods for management of soilborne diseases in crop production / M. Panth, S. C. Hassler, F. Baysal-Gurel // *Agriculture*. – 2020. – T. 10. – №. 1. – C. 16.
169. Puoci, F. Polymer in agriculture: a review / F. Puoci, F. Iemma, U. G. Spizzirri, G. Cirillo, M. Curcio, N. Picci // *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. - 2008. - T. 3. - № 1. – C. 299-314.
170. Qin, H. Preparation and properties of lambda-cyhalothrin/polyurethane drug-loaded nanoemulsions / H. Qin, H. Zhang, L. Li, X. Zhou, J. Li, C. Kan // *RSC Advances*. – 2017. – T. 7. – №. 83. – C. 52684-52693.
171. Rakhimol, K. R., Thomas, S., Volova, T., Jayachandran, K. Controlled release of pesticides for sustainable agriculture. – Springer International Publishing. – 2020.
172. Roman, D. L. Effects of triazole fungicides on soil microbiota and on the activities of enzymes found in soil: a review / D. L. Roman, D. I. Voiculescu, M. Filip, V. Ostafe, A. Isvoran // *Agriculture*. – 2021. – T. 11. – №. 9. – C. 893.
173. 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
174. Saini, R. D. Biodegradable polymers / R. D. Saini // *International Journal of Applied Chemistry*. – 2017. – T. 13. – №. 2. – C. 179-196.
175. Santísima-Trinidad, A. B. L. Impact of foliar fungicides on target and non-target soil microbial communities in cucumber crops / A. B. L. Santísima-Trinidad, M. del Mar Montiel-Rozas, M. Á. Díez-Rojo, J. A. Pascual, M. Ros // *Ecotoxicology and environmental safety*. – 2018. – T. 166. – C. 78-85.
176. 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.

177. Secor, G. A. Managing fungal diseases of potato / G. A. Secor, N. C. Gudmestad // *Canadian Journal of Plant Pathology*. – 1999. – T. 21. – №. 3. – C. 213-221.
178. Shen, Y. Construction of lambda-cyhalothrin nano-delivery system with a high loading content and controlled-release property / Y. Shen, H. Zhu, J. Cui, A. Wang, X. Zhao, B. Cui, Y. Wang, H. Cui // *Nanomaterials*. – 2018. – T. 8. – №. 12. – C. 1016.
179. Shi, S. The rhizomicrobiomes of wild and cultivated crops react differently to fungicides / S. Shi, L. Tian, S. Xu, L. Ji, F. Nasir, X. Li, Z. Song, C. Tian // *Archives of microbiology*. – 2019. – T. 201. – №. 4. – C. 477-486.
180. Singh, N., Singh, S. B. Effect of moisture and compost on fate of azoxystrobin in soils / N. Singh, S. B. Singh // *Journal of Environmental Science and Health Part B*. – 2010. – T.45. – №. 7. – C. 676-681.
181. Singh, A., Singh, J. Integrated Management of Fungal Diseases in Potato / A. Singh, J. Singh // *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*. – 2018. – T. 7. – №. 8. – C. 4443-4450.
182. Singh, B. Environment friendly agar and alginate-based thiram delivery system / B. Singh, D. K. Sharma, A. Dhiman // *Toxicological & Environmental Chemistry*. – 2013. – T. 95. – №. 4. – C. 567-578.
183. Sipponen, M. H. Lignin for nano-and microscaled carrier systems: Applications, trends, and challenges / M. H. Sipponen, H. Lange, C. Crestini, A. Henn, M. Österberg // *ChemSusChem*. – 2019. – T. 12. – №. 10. – C. 2039-2054.
184. Souza, J. L. PHB and montmorillonite clay composites as KNO<sub>3</sub> and NPK support for a controlled release / J. L. Souza, A. de Campos, D. França, R. Faez // *Journal of Polymers and the Environment*. – 2019. – T. 27. – №. 9. – C. 2089-2097.
185. Sreedevi, S. Bioplastics: advances in polyhydroxybutyrate research / S. Sreedevi, K. N. Unni, S. Sajith, P. Priji, M. S. Josh, S. Benjamin // Springer, Berlin, Heidelberg. – 2014. – C. 1-30.
186. Strickland, T.C. Tebuconazole dissipation and metabolism in Tifton loamy sand during laboratory incubation / T.C. Strickland, T.L. Potter, H. Joo // *Pest Manag. Sci*. – 2004. – T. 60. – C. 703–709.
187. Suave, J. Biodegradable microspheres of poly(3-hydroxybutyrate)/poly( $\epsilon$ -caprolactone) loaded with malathion pesticide: Preparation, characterization, and in vitro controlled release testing / J. Suave, E. C. Dall'Agnol, A. P. T. Pezzin, M. M. Meier, D. A. K. Silva // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2010. – T.117. – №.6. – C.3419-3427.
188. 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.

189. Šudoma, M. Fate and bioavailability of four conazole fungicides in twelve different arable soils—effects of soil and pesticide properties / M. Šudoma, N. Neuwirthová, M. Hvězdová, M. Svobodová, Z. Bílková, K. E. Scherr, J. Hofman // *Chemosphere*. – 2019. – T.230. – C. 347-359.
190. Sułowicz, S. Non-target impact of fungicide tetraconazole on microbial communities in soils with different agricultural management / S. Sułowicz, M. Cycoń, Z. Piotrowska-Seget // *Ecotoxicology*. – 2016. – T. 25. – №. 6. – C. 1047-1060.
191. Thind, T. S. Changing trends in discovery of new fungicides: a perspective / T. S. Thind // *Indian Phytopathology*. – 2021. – C. 1-9.
192. Thomas, S. Thermal, mechanical and biodegradation studies of biofiller based poly-3-hydroxybutyrate biocomposites / S. Thomas, A. A. Shumilova, E. G. Kiselev, S. V. Baranovsky, A. D. Vasiliev, I. V. Nemtsev, A. P. Kuzmin, A. G. Sukovaty, R. P. Avinash, T. G. Volova // *International journal of biological macromolecules*. – 2020. – T. 155. – C.1373-1384.
193. Tleuova, A. B. Recent advances and remaining barriers to producing novel formulations of fungicides for safe and sustainable agriculture / A. B. Tleuova, E. Wielogorska, V. P. Talluri, F. Štěpánek, C. T. Elliott, D. O. Grigoriev // *Journal of Controlled Release*. – 2020. – T. 326. – C.468-481.
194. Torres, J. M. B. Influence of fungicides on bacterial and fungal populations in Ecuadorian Potato (*Solanum Tuberosum*) cultivated soils / J. M. B. Torres, G. J. Mohiddin, M. Srinivasulu, G. Llumiquinga, G. Iaydra Almeida, E. B. Morales // *Eco. Env. & Cons.* – 2018. – T. 24. – C. 450-456.
195. Tsolomyti, G., Magoutas, A., Tsoufas, G. T. Global corporate concentration in pesticides: agrochemicals industry. In *Business Intelligence and Modelling: Unified Approach with Simulation and Strategic Modelling in Entrepreneurship 8th* // Springer International Publishing. – 2021. – C. 289-297.
196. Vaishnav, A., Choudhary, D. K. (ed.). *Microbial Polymers: Applications and Ecological Perspectives*. – Springer Nature. – 2021.
197. Voinova, T. MF3 Protein Encapsulation in Biodegradable Poly-3-Hydroxybutyrate Improves Its Protective Action Against a Major Wheat Pathogen *Parastagonospora Nodorum* / T. Voinova, M. Kartashov, L. Shcherbakova, N. Statsyuk, V. Dzhabakhiya // *Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration*. – Springer, Cham, 2019. – C. 1373-1377.
198. Volova, T. Poly(3-hydroxybutyrate)/metribuzin formulations: characterization, controlled release properties, herbicidal activity, and effect on soil microorganisms / T. Volova, N. Zhila, E. Kiselev, S. Prudnikova, O. Vinogradova, E. Nikolaeva, A. Shumilova, A. Shershneva, E. Shishatskaya // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2016a. – T. 23. – №. 23. – C. 23936-23950

199. Volova, T. Characterization of biodegradable poly-3-hydroxybutyrate films and pellets loaded with the fungicide tebuconazole / T. Volova, N. Zhila, O. Vinogradova, A. Shumilova, S. Prudnikova, E. Shishatskaya // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2016b. – T. 23. – №. 6. – C. 5243-5254.
200. Volova, T.G. Fungicidal activity of slow-release P (3HB)/TEB formulations in wheat plant communities infected by *Fusarium moniliforme* / T.G. Volova, S.V. Prudnikova, N.O. Zhila // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2018. – T. 25. – №. 1. – C. 552-561.
201. Volova, T.G. Efficacy of embedded metribuzin and tribenuron-methyl herbicides in field-grown vegetable crops infested by weeds / T.G. Volova, A.V. Demidenko, N.L. Kurachenko, S.V. Baranovsky, O.D. Petrovskaya, A.A. Shumiliva // *Environ. Sci. Pollut. Res.* – 2021. – T. 28. – №1. – C. 982-994
202. Wang, C. Individual and combined effects of tebuconazole and carbendazim on soil microbial activity / C. Wang, F. Wang, Q. Zhang, W. Liang // *Eur. J. Soil Biol.* – 2016. – T.72. – C.6–13.
203. Wang, F. Responses of soil microorganisms and enzymatic activities to azoxystrobin in cambisol / F. Wang, X. Li, L. Zhu, Z. Du, C. Zhang, J. Wang, J. Wang, D. Lv. // *Polish Journal of Environmental Studies* – 2018. – T. 27 - №6 – C. 2775-2783
204. Wang, X. Fungicide azoxystrobin induced changes on the soil microbiome / X. Wang, Z. Lu, H. Miller, J. Liu, Z. Hou, S. Liang, X. Zhao, H. Zhang, T. Borch // *Applied Soil Ecology*. – 2020. – T. 145. – C. 103343.
205. Wang, Y. Compound pesticide controlled release system based on the mixture of poly(butylene succinate) and PLA / Y. Wang, C. Li, Y. Wang, Y. Zhang, X. Li // *Journal of microencapsulation*. – 2018. – T. 35. – №. 5. – C. 494-503.
206. Watanabe T. Pictorial atlas of soil fungi: morphologies of fungi and key species. – CRC Press. – 2002. – 486 p.
207. Wołejko, E. Soil biological activity as an indicator of soil pollution with pesticides—a review / E. Wołejko, A. Jabłońska-Trypuć, U. Wydro, A. Butarewicz, B. Łozowicka // *Applied Soil Ecology*. – 2020. – T. 147. – C. 103356.
208. Xu, C. Multifunctional manganese-based carboxymethyl chitosan hydrogels for pH-triggered pesticide release and enhanced fungicidal activity / C. Xu, L. Cao, M. Bilal, C. Cao, P. Zhao, H. Zhang, Q. Huang // *Carbohydrate Polymers*. – 2021. – T. 262. – C. 117933.
209. Xu, Y. Ecotoxicity evaluation of azoxystrobin on *Eisenia fetida* in different soils / Y. Xu, B. Li, K. Hou, Z. Du, S. C. Allen, L. Zhu, J. Wang, J. Wang // *Environmental Research*. – 2021. – T. 194. – C. 110705.
210. Yang, C. Fungicide: modes of action and possible impact on nontarget microorganisms / C. Yang, C. Hamel, V. Vujanovic, Y. Gan // *International Scholarly Research Notices*. – 2011. – T. 2011.

211. Ye, X. Microbial resources and ecology-microbial degradation of pesticides / X. Ye, F. Dong, X. Lei // *Natural Resources Conservation and Research*. – 2018. – T. 1. – №. 1.
212. Yusoff, S. N. M. A review of materials used as carrier agents in pesticide formulations / S. N. M. Yusoff, A. Kamari, N. F. A. Aljafree // *International journal of environmental science and technology*. – 2016. – T. 13. – №. 12. – C. 2977-2994.
213. Zhang, C. Ecotoxicology of strobilurin fungicides / C. Zhang, T. Zhou, Y. Xu, Z. Du, B. Li, J. Wang, J. Wang, L. Zhu // *Science of The Total Environment*. – 2020. – T. 742. – C. 140611.
214. Zhang, C. Preparation and characterization of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) microspheres for controlled release of buprofezin / C. Zhang, R. Jia, Y. Dong, L. Zhao // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2019. – C. 1-9.
215. Zhao, J. *Alternaria* species infecting potato in southern China / J. Zhao, G. P. Ma, Y. Y. Liu, X. H. Wu // *Canadian Journal of Plant Pathology*. – 2018. – T. 40. – №. 2. – C. 312-317.
216. Zubrod, J. P. Fungicides: an overlooked pesticide class? / J. P. Zubrod, M. Bundschuh, G. Arts, C.A. Bruhl, G. Imfeld, A. Knabel, S. Payraudeau, J.J. Rasmussen, J. Rohr, A. Scharmuller, K. Smalling, S. Stehle, R. Schulz, R.B. Schafer // *Environmental Science & Technology*. – 2019. – T. 53. – №. 7. – C. 3347-3365

**ПРИЛОЖЕНИЯ**

## Приложение А

### Акт о внедрении результатов диссертационной работы



С И Б И Р С К И Й  
Ф Е Д Е Р А Л Ь Н Ы Й  
У Н И В Е Р С И Т Е Т

S I B E R I A N  
F E D E R A L  
U N I V E R S I T Y

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Сибирский федеральный университет»

660041, Красноярский край,  
г. Красноярск, пр. Свободный, д. 79  
телефон: (391) 244-80-13; тел./факс: (391) 244-80-25  
<http://www.sfu-kras.ru>, e-mail: [office@sfu-kras.ru](mailto:office@sfu-kras.ru)

ОКПО 02067876; ОГРН 1022402137460;  
ИНН/КПП 2463011853/246301001

18.03.2024 № 5/11

на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

#### АКТ

о внедрении результатов диссертационной работы Н.В. Стрельцовой «Эколого-биологическая оценка фунгицидных препаратов, депонированных в биоразрушаемую основу из поли(3-гидроксibuтирата)»

Результаты диссертационной работы Стрельцовой Надежды Владимировны «Эколого-биологическая оценка фунгицидных препаратов, депонированных в биоразрушаемую основу из поли(3-гидроксibuтирата)» внедрены в учебный процесс Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский федеральный университет»: используются в лекционном курсе и при проведении практических занятий по дисциплине Б1.В.ДВ.02.02 «Микология с основами фитопатологии» для подготовки магистров по программе 06.04.01.01 Микробиология и биотехнология, направление 06.04.01 Биология.

Применение инновационного подхода для защиты растений от почвенных фитопатогенов с использованием экологически безопасных форм фунгицидных препаратов нового поколения с контролируемым выходом способствует снижению пестицидной нагрузки на окружающую среду и вносит вклад в развитие экологизации сельского хозяйства Красноярского края.

Проректор по учебной работе  
ФГАОУ ВО «Сибирский  
федеральный университет»



Директор Института фундаментальной  
биологии и биотехнологии

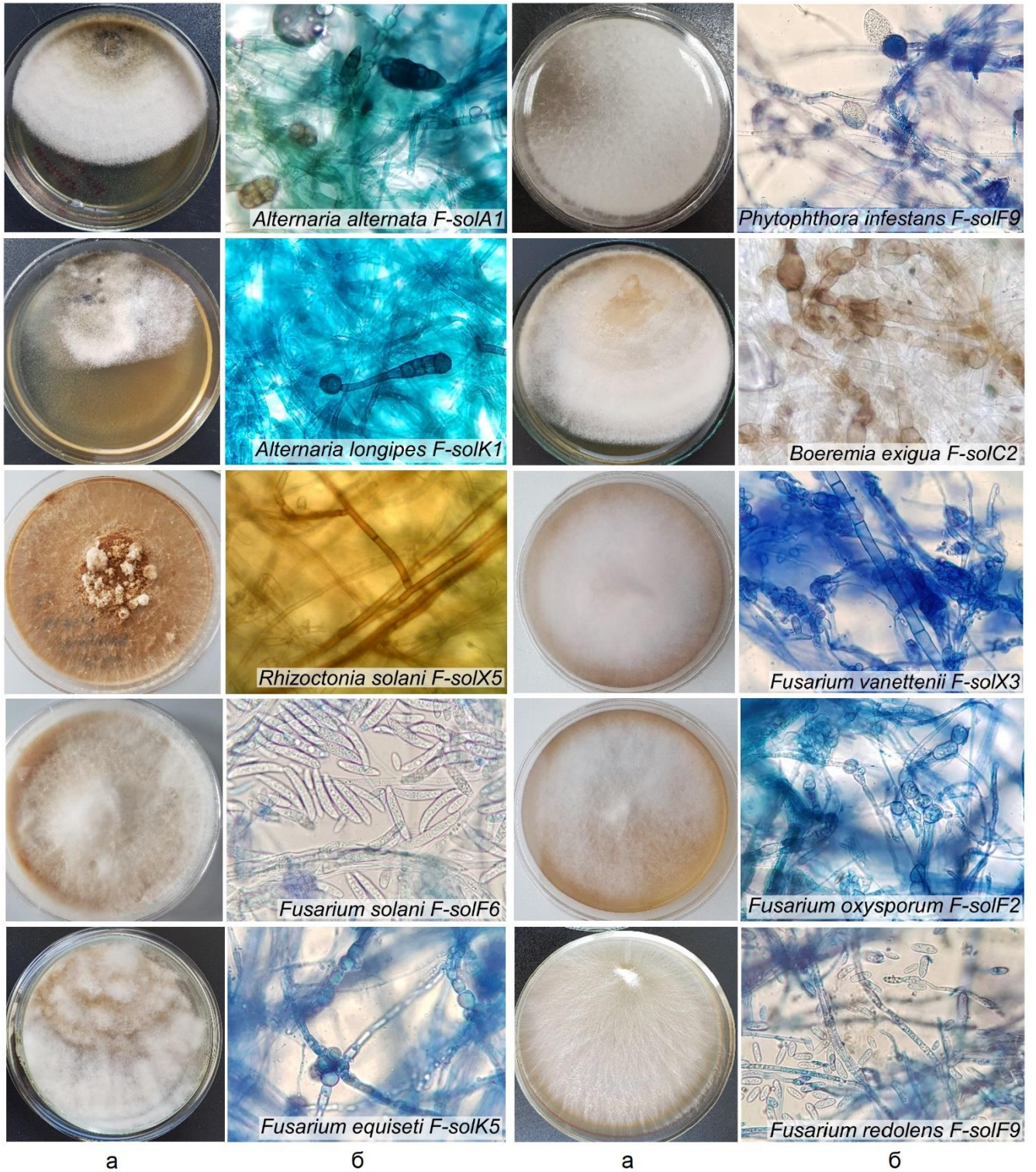
Д. С. Гуца

В. В. Шишов



## Приложение Б

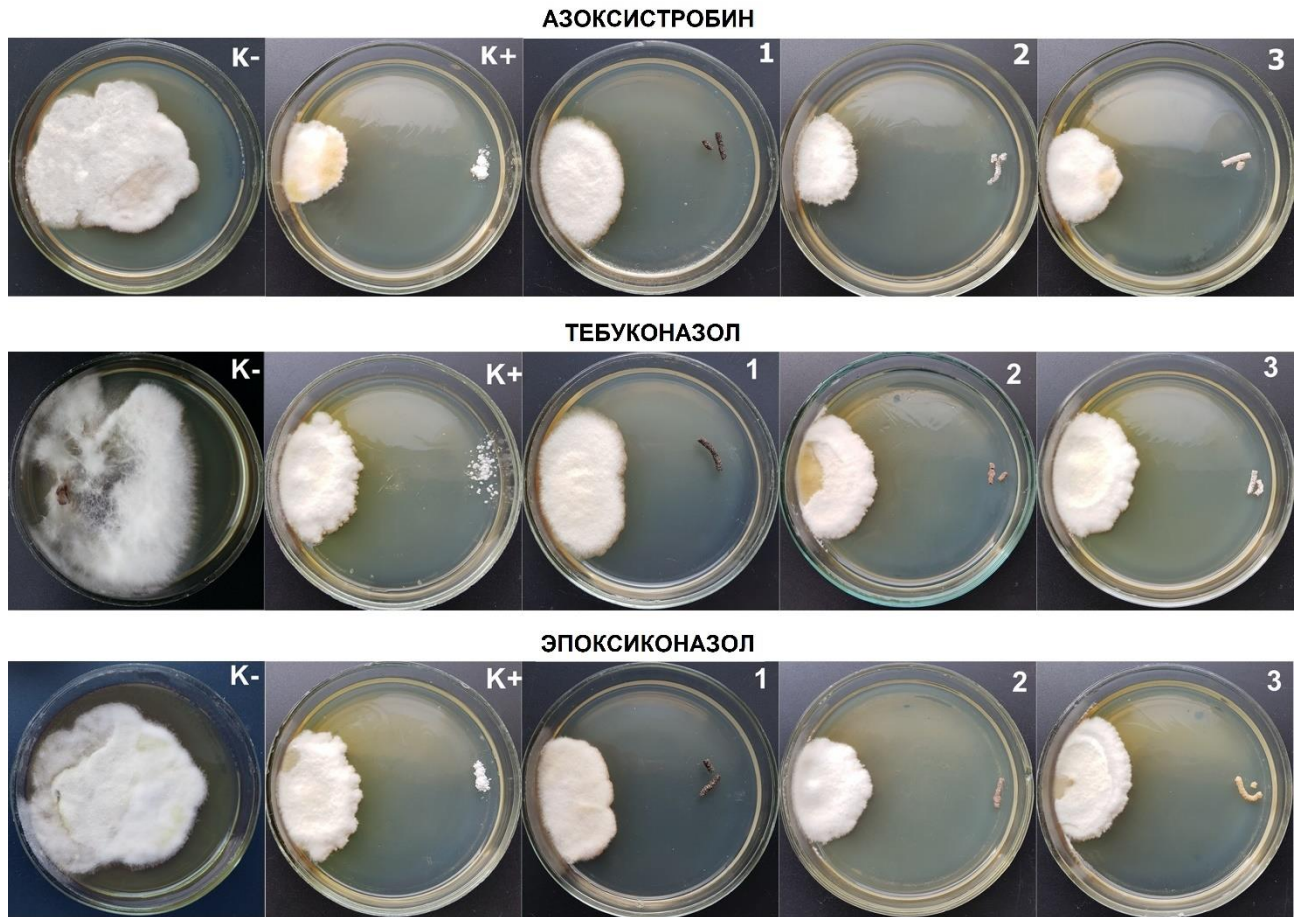
Фотографии грибов – возбудителей заболеваний картофеля и зерновых культур в Красноярском крае



а – фотографии колоний на сусло-агаре; б – микрофотографии (×1000) мицелия и конидий выделенных грибов (Прудникова и др., 2021)

## Приложение В

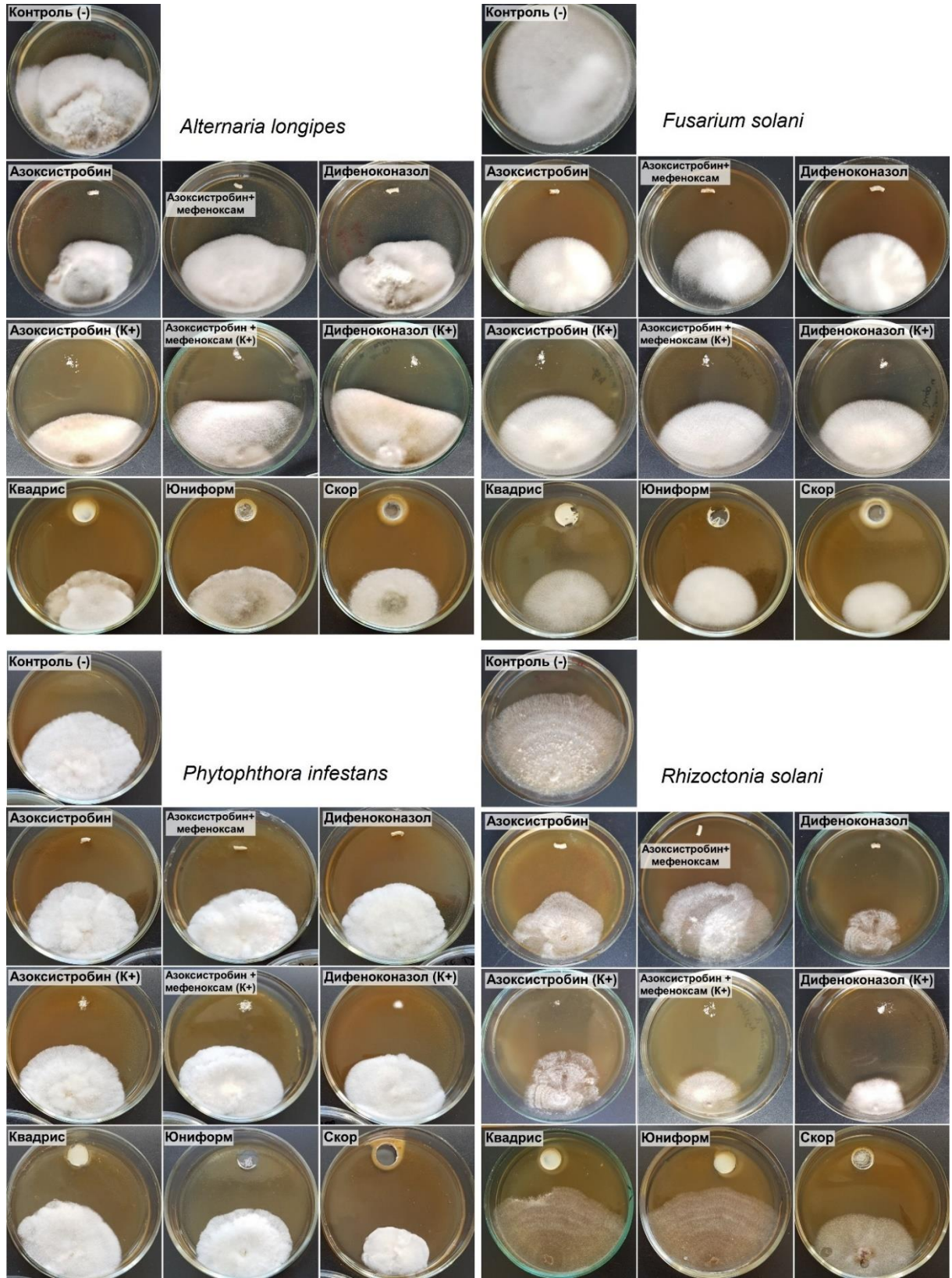
### Чувствительность гриба *Fusarium fujikuroi* к долговременным формам фунгицидов



К- – отрицательный контроль (без фунгицида); К+ – положительный контроль (действующее вещество); 1 – гранулы П(ЗГБ)/торф/фунгицид; 2 – гранулы П(ЗГБ)/глина/фунгицид; 3 – гранулы П(ЗГБ)/опилки/фунгицид

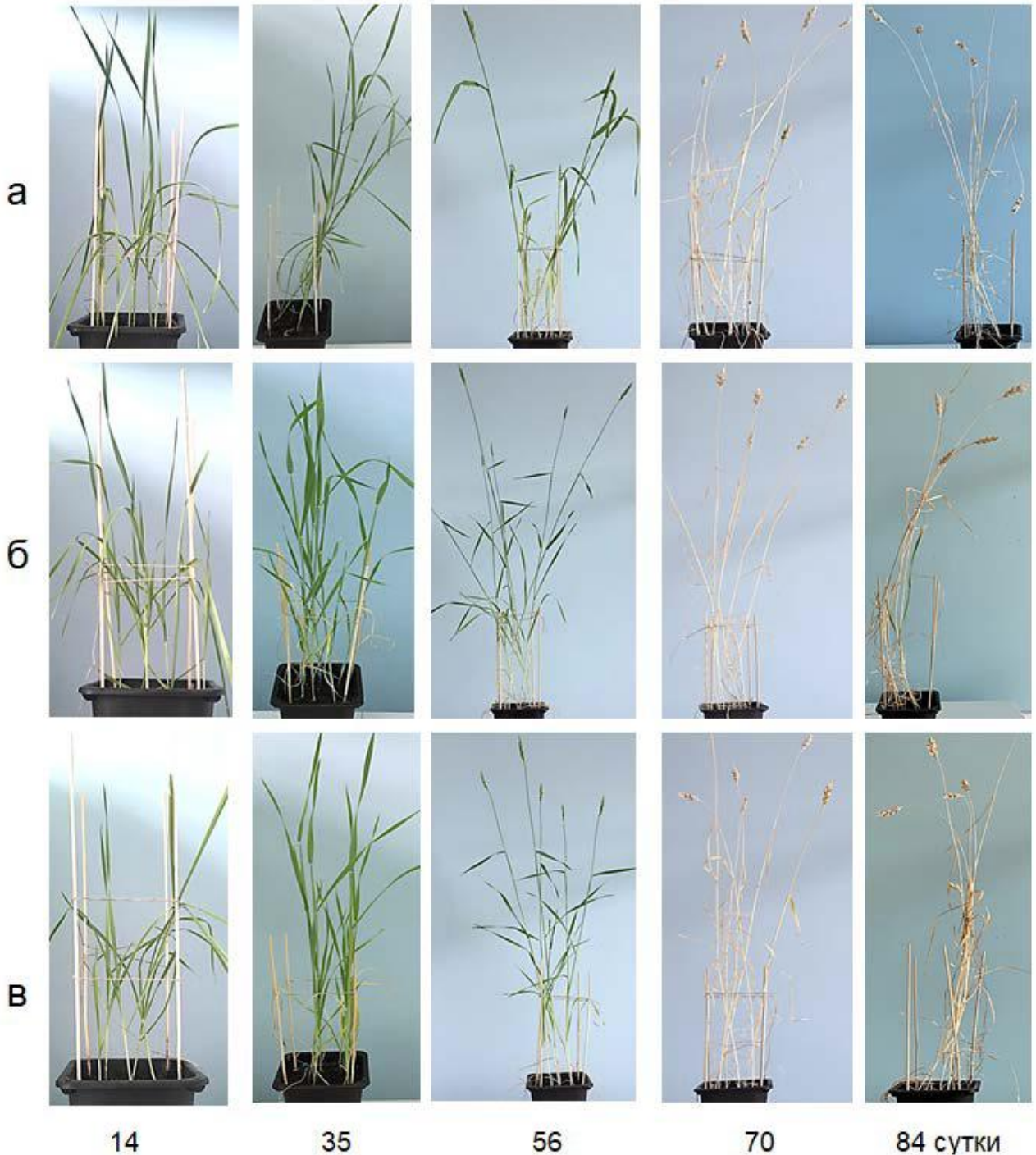
## Приложение Г

Рост мицелия грибов под действием депонированных, свободных и коммерческих форм фунгицидных препаратов



## Приложение Д

Фотографии лабораторных посевов пшеницы при различных способах доставки тебуконазола



а – отрицательный контроль; б – положительный контроль (свободный ТЕБ);  
в – экспериментальная форма депонированного тебуконазола П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ

## Приложение Е

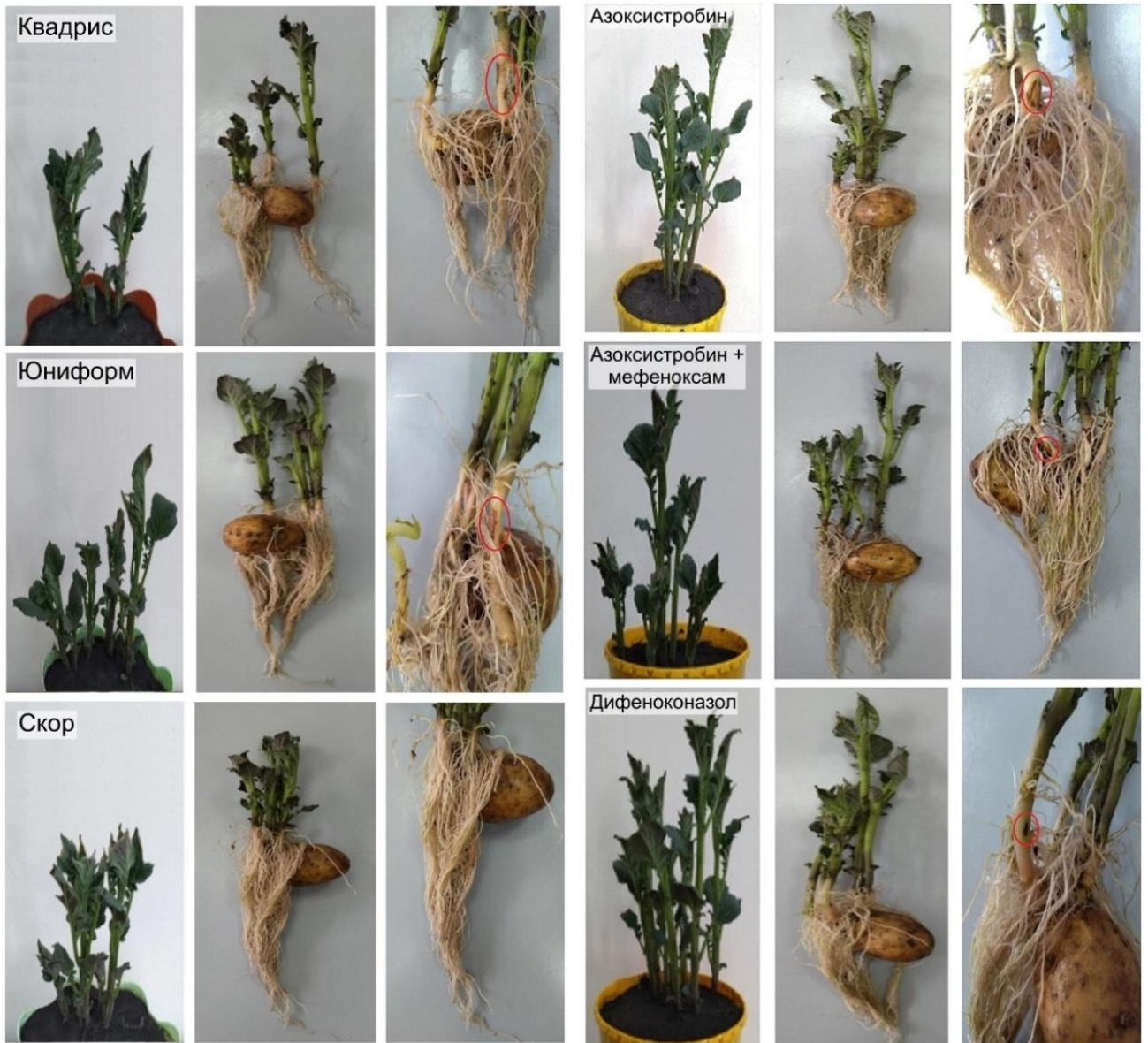
Фотографии лабораторных посевов ячменя при различных способах доставки тебуконазола



а – отрицательный контроль; б – положительный контроль (свободный ТЕБ);  
в – экспериментальная форма депонированного тебуконазола П(ЗГБ)/опилки/ТЕБ

## Приложение Ж

Фото лабораторных посадок картофеля при различных формах доставки фунгицидов (13 августа)



Красным цветом выделено поражение стеблей ризоктониозом

## Приложение И

Фото лабораторных посадок картофеля при различных формах доставки фунгицидов (26 октября)



Красным цветом выделено поражение стеблей ризоктониозом

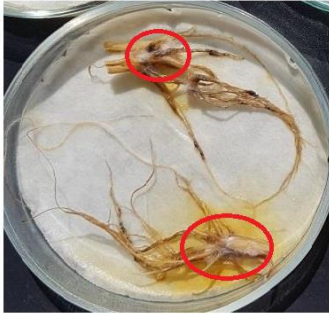
## Приложение К

Анализ зараженности корней ячменя возбудителями корневых гнилей во влажных камерах

Контроль«-»  
(интактные растения)

Контроль«+»  
Бункер+ Мортира  
КУЩЕНИЕ

Гранулы ТЕБ+ТРИБ



КОЛОШЕНИЕ



НАЛИВ ЗЕРНА



ВОСКОВАЯ СПЕЛОСТЬ



Красным цветом выделены симптомы заражения



## Приложение Л

Анализ зараженности корней пшеницы возбудителями корневых гнилей во влажных камерах

Контроль«-»  
(интактные растения)



Контроль«+»  
Мортира+Бункер  
КУЩЕНИЕ



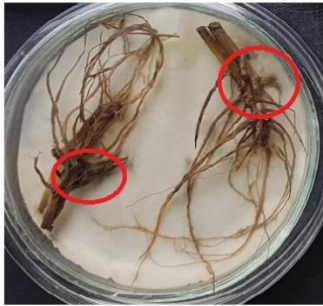
Гранулы ТЕБ+ТРИБ



КОЛОШЕНИЕ



НАЛИВ ЗЕРНА



ВОСКОВАЯ СПЕЛОСТЬ



Красным цветом выделены симптомы заражения

## Приложение М

Фото картофеля сорта Красноярский ранний в фазу цветения при различных способах доставки фунгицидов (01 августа 2021 г.)



Контроль отрицательный (интактные растения)



Контроль положительный, «Юниформ»  
(действующие вещества азоксистробин +  
мефеноксам)



Эксперимент, гранулы с фунгицидами  
азоксистробин + мефеноксам



Контроль положительный, «Скор» (действующее  
вещество дифеноконазол)



Эксперимент, гранулы с фунгицидом  
дифеноконазол



Контроль положительный, «Квадрис»  
(действующее вещество азоксистробин)



Эксперимент, гранулы с фунгицидом  
азоксистробин

## Приложение Н

Фото картофеля сорта Леди Клэр в фазу цветения при различных способах доставки фунгицидов (01 августа 2021 г.)



Контроль отрицательный (интактные растения)



Контроль положительный, «Юниформ»  
(действующие вещества азоксистробин +  
мефеноксам)



Эксперимент, гранулы с фунгицидами  
азоксистробин + мефеноксам



Контроль положительный, «Скор»  
(действующее вещество дифеноконазол)



Эксперимент, гранулы с фунгицидом  
дифеноконазол



Контроль положительный, «Квадрис»  
(действующее вещество азоксистробин)



Эксперимент, гранулы с фунгицидом  
Азоксистробин