

УДК 632.3/952:66-965.61:661.16

## ЭФФЕКТИВНЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСОВ ТЕБУКОНАЗОЛА С ПОЛИСАХАРИДАМИ ЛАМИНАРИИ

<sup>1</sup>Власенко Н.Г., <sup>1</sup>Теплякова О.И., <sup>2</sup>Метелева Е.С., <sup>3</sup>Поляков Н.Э.,  
<sup>4</sup>Халиков С.С., <sup>2</sup>Душкин А.В.

<sup>1</sup>Сибирский НИИ земледелия и химизации сельского хозяйства СФНЦА РАН,  
Краснообск, e-mail: vlas\_nata@ngs.ru;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт химии твердого тела и механохимии» СО РАН, Новосибирск,  
e-mail: dushkin@solid.nsk.su;

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского» СО РАН,  
Новосибирск, e-mail: polyakov@kinetics.nsc.ru;

<sup>4</sup>ФГБУН «Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова» РАН,  
Москва, e-mail: salavatkhalikov@mail.ru

Методами механохимии синтезированы межмолекулярные комплексы – твердые композиции на основе тебуконазола (ТБК) и полисахаридов ламинарии. Механохимическая технология получения композиций имеет преимущества в одностадийности процесса, отсутствии растворителей и воды, высокой производительности и низкой себестоимости. Существование комплексов показано методами изучения водорастворимости и мембранной проницаемости на искусственных мембранах, а также методом динамической спектроскопии <sup>1</sup>H ЯМР в водных растворах. Показано увеличение водорастворимости тебуконазола в 1,6 раза за счет образования межмолекулярных водорастворимых комплексов. Аналогично наблюдается резкое сокращение в ~250 раз времен спин-спиновой релаксации протонов ТБК при включении его молекул в межмолекулярные комплексы типа гость – хозяин с полисахаридами ламинарии, обусловленное снижением вращательной диффузионной подвижности его молекул. Мембранная проницаемость молекул ТБК, исследованная методом РАМПА, также показывает увеличение в ~10 раз по сравнению с исходным ТБК. Таким образом, физико-химические эксперименты обосновывают повышенную биологическую активность комплексов за счет повышения водорастворимости и абсорбции в объем зерен через биологическую мембрану. Испытания вышеуказанных композиций в качестве препаратов для предпосевной обработки семян зерновых культур в лабораторных и полевых условиях показали синергизм биологических свойств, проявляющийся в ускорении роста культурного растения, снижении пораженности корневой системы яровой пшеницы и ярового ячменя обыкновенной корневой гнилью и в увеличении их продуктивности при снижении нормы расхода действующих веществ – препаратов. Показано, что межмолекулярные комплексы тебуконазола с полисахаридами ламинарии обладают высокой биологической активностью, особенно в контрасте с исходной субстанцией ТБК, но также и улучшенными характеристиками по сравнению с широко распространенным препаратом Раксил.

**Ключевые слова:** тебуконазол, ламинария, механохимия, полисахариды, комплексы включения, фунгицидные композиции

## EFFECTIVE PREPARATION FOR PRETREATMENT GRAIN CROPS SEEDS BASED ON THE COMPLEXES OF TEBUCONAZOLE WITH KELP POLYSACCHARIDES

<sup>1</sup>Vlasenko N.G., <sup>1</sup>Tepliyakova O.I., <sup>2</sup>Metelleva E.S., <sup>3</sup>Polyakov N.E.,  
<sup>4</sup>Khalikov S.S., <sup>2</sup>Dushkin A.V.

<sup>1</sup>Siberian Institute of Soil Management and Chemicalization of Agriculture of Siberian  
Federal Scientific Center of Agrobiotechnologies, Krasnoobsk, e-mail: vlas\_nata@ngs.ru;

<sup>2</sup>Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry of Siberian Branch  
of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, e-mail: dushkin@solid.nsk.su;

<sup>3</sup>Institute of Chemical Kinetics and Combustion named after V.V. Voevodskiy of Siberian Branch  
of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, e-mail: polyakov@kinetics.nsc.ru;

<sup>4</sup>Institute of Organoelement Compounds named after A.N. Nesmeyanov  
of the Russian Academy of Sciences, Moscow, e-mail: salavatkhalikov@mail.ru

Intermolecular complexes – solid compositions on the basis of tebuconazole (TBA) and polysaccharides of kelp were obtained by the methods of mechanochemistry. The noted technology has the advantages in one stage of the process, the absence of solvents, high performance and low cost. The existence of the complexes shown by the study of water solubility, membrane permeability and by dynamic <sup>1</sup>H NMR spectroscopy in water solutions. The increase of water solubility of TBA is 1.6 times due to the formation of water-soluble intermolecular complexes. Similarly, a dramatic reduction in ~250 folds the time of the spin-spin relaxation of protons of TBA connected with the formation of host-guest complexes with the kelps' polysaccharides, due decreasing in the diffusion rotation mobility of TBA molecules. The membrane permeability of TBA were studied by PAMPA assay also shows an increase in ~10 times compared the original TBK. Thus, physicochemical experiments justify the increased biological activity of the complexes due to increase of water solubility and bioavailability by absorption in the volume of bean through the biological membrane. Testing of the compositions as a drug for pre-treatment of seeds in laboratory and field conditions showed synergism of biological properties, manifested in accelerating the growth of cultivated plants, reduction of infestation of the root system of spring wheat and spring barley by common root rot and in increase their productivity while reducing consumption of active substances of drugs. It is shown that intermolecular complexes of tebuconazole with polysaccharides of kelp had high biological activity especially in contrast with initial TBA substance and some improved action relatively well known Raxil preparation.

**Keywords:** tebuconazole, kelp, mechanochemistry, polysaccharides, inclusion complex, fungicidal compositions

Известно, что через семена и почву передается от 30 до 60% всех болезней сельскохозяйственных культур [1]. Протравливание посевного материала считается одним из наиболее экологичных способов применения химических препаратов. Это объясняется тем, что фунгициды вносятся только туда и когда они действительно необходимы с последующим разложением до кушения растений, и их остатки в зерне не содержатся [2]. Протравливание на 60–100% ограничивает проявление семенной инфекции и на 30–80% – первичной аэрогенной, почвенной и содержащейся в растительных остатках и повышает урожайность озимой пшеницы на 3–6 ц/га, яровой – на 2–3 ц/га [3]. Протравители семян достаточно эффективны в начальный период развития растений – от появления всходов до фазы кушения или трубкования. В дальнейшем их действие существенно ослабевает. Действие протравителей можно усилить подбором определенных наполнителей, поверхностно-активных веществ, клеящих добавок, обеспечивающих улучшение проникновения действующего вещества в ткань. А так как обработка семян фунгицидами может усилить состояние покоя или повлиять на рост и интенсивность деления клеток зародыша, то проблема снятия как биотических, так и абиотических стрессов при прорастании семян обработанных фунгицидами считается весьма актуальной и должна решаться комплексно [1].

В этом плане перспективной и актуальной будет разработка полифункциональных протравителей семян с помощью технологии механохимической модификации известных и применяемых на практике пестицидов при их совместной обработке с различными природными соединениями [4, 5].

Целью исследований явилась оценка эффективности нового механохимически синтезированного межмолекулярного комплекса (МСМК) тебуконазола (ТБК) с биомассой водоросли ламинарии, обладающей высоким содержанием полисахаридов, прежде всего альгиновой кислоты (до 50% в сухом остатке) в подавлении обыкновенной корневой гнили на мягкой яровой пшенице и яровом ячмене и определение влияния препарата на ростовые процессы, формирование структуры продуктивности культур в условиях лесостепи Новосибирской области.

#### Материалы и методы исследования

В состав разрабатываемых композиций входили: тебуконазол (ТБК) от Shenzhen Sunrising Industry Co., Ltd. КНР, содержание основного вещества  $\geq 98,0\%$ .

А также порошок ламинарии от ОАО «Архангельский опытный водорослевый комбинат», полученный по ТУ 9284-039-00462769-02.

Совместную механохимическую обработку ТБК и ламинарии в массовых соотношениях 1:10 проводили в условиях, описанных нами ранее [6]. Обработку проводили в течение 24 часов, отбирая пробы через каждые 2 часа.

Полученные композиции анализировали методом ВЭЖХ на содержание действующего вещества (ТБК), растворимость в воде, рентгенофазового и термического анализов. Оптимальное время механохимической обработки выбиралось по критериям максимальной водорастворимости при условии сохранения содержания ТБК не менее 98% от начального. Концентрацию ТБК в растворе определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1200 с колонкой Zorbax Eclipse XDB-C18, 4,6x50 мм; температура колонки +30 °С; детектор диодно-матричный. В качестве элюента применяли систему ацетонитрил – вода (1:1), скорость потока – 1 мл/мин., объем пробы – 5 мкл, детектирование на длине волны 238 нм. Концентрации ТБК определяли относительно его специально приготовленного раствора в этаноле.

Для определения содержания ТБК в полученных композициях, они растворялись в этаноле, затем фильтровались через бумажный фильтр (синяя марка). Затем полученные прозрачные растворы анализировались.

ЯМР спектры  $^1\text{H}$  комплекса ТБК в растворе  $\text{D}_2\text{O}$  регистрировались на спектрометре Bruker ADVANCE III 500 (Германия) на частоте 500 мГц. Измерение времен фазовой (спин-спиновой) релаксации  $T_2$  проводилось с использованием стандартной последовательности Кара – Парсела – Мебума – Гилла (CPMG) при 30 °С. Порошок ТБК-ламинария 1:10 в количестве 12 мг/мл перемешивали с  $\text{D}_2\text{O}$  1 час на магнитной мешалке, затем центрифугировали 3 мин при 5000g. Прозрачный раствор анализировали на спектрометре ЯМР.

Измерение трансмембранной проницаемости на искусственных мембранах производилось методом РАМРА. Этот метод используется для предсказания проницаемости биологически активных веществ через клеточные мембраны [7]. Для проведения анализов использовались специальные 12-позиционные ячейки «Transwell» с поликарбонатной мембраной диаметром 12 mm, размерами пор 0,4 мкм и площадью 1,12  $\text{cm}^2$  (Corning Incorporated, арт. 3401) по методике [8]. В донорную ячейку помещали исследуемый образец – навеску композиций ТБК (в пересчете на ТБК 0,002 г) в 0,5 mL дистиллированной воды, в «акцепторную» ячейку помещалось 1,5 мл воды. Сборку из указанных ячеек инкубировали в орбитальном шейкере при +37 °С. Через определенный интервал времени производили отбор 1 мл раствора из акцепторной ячейки с замещением его на равное количество воды. Концентрация ТБК в отобранных растворах измерялась методом ВЭЖХ по ранее указанной методике.

Рентгенофазовый анализ (РФА) композиций ТБК с ламинарией проводили на дифрактометре ДРОН-4 с использованием  $\text{CuK}\alpha$  излучения, скорость вращения счётчика 2 град/мин,  $I = 1000$ .

Термический анализ ТБК и его композиций с ламинарией проводили методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) с помощью прибора DSC-550 (Instrument Scientific Specialists Inc., USA) в атмосфере аргона. Температурная программа: +20 – +150 °С, скорость нагрева 10°/мин.

Оценка биологической активности нового препарата МСМК – тебуконазол: ламинария проведена в лабораторных и полевом экспериментах. В лабораторных опытах изучали влияние обработки семян на уровень оздоровления посевного материала, подавления развития обыкновенной корневой гнили (возбудители – *Bipolaris sorokiniana* Shoem. (syn. *Helminthosporium sativum* Pam., Kinget Bakke, грибы рода *Fusarium*) на растениях мягкой яровой пшеницы и ячменя, а также на ростовые процессы растений. В полевых условиях определяли биологическую эффективность обработки семян новым препаратом МСМК против болезни на растениях пшеницы и ячменя, его влияния на ростовые процессы растений, на структуру продуктивности и урожайность зерновых. Опыты закладывали по схеме: 1 – контроль (без обработки семян); 2 – семена обработаны фунгицидным протравителем Раксил КС (д.в. ТБК, 60 г/л) с нормой расхода препарата 0,5 л/т семян принят в качестве эталона. В лабораторных опытах использовалась субстанция ТБК – норма расхода 0,3 кг/т; 3 – семена обработаны композицией МСМК – тебуконазол: ламинария (1:10) с нормой расхода 0,3 кг/т семян. Протравливание проводили с увлажнением из расчета 10 л/т семян.

Полевой эксперимент закладывали в 2016 г. на опытном поле СибНИИЗиХ СФНЦА РАН, расположенном в центрально-лесостепном Приобском агроландшафтном районе Новосибирской области. Пшеницу сорта Омская 36 и ячмень сорта Ача высевали по паровому предшественнику сеялкой СН-16, норма высева 6 и 5,5 млн всхожих зерен/га соответственно. Площадь делянки 29 м<sup>2</sup>, расположение делянок систематическое, в 4-кратной повторности. Уборку урожая осуществляли прямым комбайнированием. Урожайность приводили к стандартной влажности и чистоте согласно ГОСТ 1386.5-93 и 1386-2-81. Полевой эксперимент проведен в условиях повышенной теплообеспеченности и дефицита осадков. Третья декада мая и июнь 2016 г. были очень теплыми (среднедекадные температуры воздуха превышали норму на 2,3–3,7°C, в мае ощущался небольшой дефицит осадков (13,8%), а в июне выпало 63,7% от нормы, при этом они отсутствовали в первую декаду, а в третью декаду дефицит составил 62,4%. Июль был также немного теплее, чем обычно (на 0,8°C), осадков выпало близко к норме, но в первую декаду они в 2,3 раза превысили ее, а во вторую и третью декаду их было меньше нормы на 34,6 и 40,7%. Август был теплее обычного (на 1,5°C), а осадков выпало всего 20% от нормы.

Микологический анализ семенного материала проведен методом рулонов согласно ГОСТ 12044-93.

Наблюдения за развитием обыкновенной корневой гнили осуществляли в фазы второго листа, кушение, молочная спелость зерна [9]. Структуру урожайности зерновых определяли согласно рекомендациям [10]. Математическую обработку данных полевых и лабораторных экспериментов осуществляли при помощи пакета прикладных программ «СНЕДЕКОР» [11] и Statistica 6.0.

### Результаты исследования и их обсуждение

По совокупности характеристик максимального повышения растворимости и стабильности ТБК (табл. 1), была выбрана наилучшая по показателю растворимости композиция для дальнейших физико-химических и биологических исследований (ТБК/ламинария массовое соотношение 1/10, механохимическая обработка в течение 6 часов).

#### Физико-химическое исследование твердых фаз композиций

Во всех рентгенограммах РФА смесей ТБК и ламинарии наблюдаются характерные рефлексы кристаллической фазы ТБК. Однако их интенсивность уменьшается в результате механохимической обработки, тем не менее демонстрируя наличие остаточной кристаллической фазы. В термограммах ДСК смесей ТБК и ламинарии также наблюдаются характерные эндотермические пики плавления кристаллической фазы ТБК, площади которых уменьшаются после механохимической обработки в 3–10 раз, тем не менее также демонстрируя наличие остаточной кристаллической фазы. Термограммы и рентгенограммы вспомогательных веществ не показывают наличия выраженных тепловых эффектов фазовых переходов в пределах используемого температурного диапазона, проявляя тем самым их аморфное состояние и отсутствие кристаллической структуры.

Таблица 1

Данные увеличения растворимости ТБК из композиций с ламинарией

№ п/п	Образец	Определяемая концентрация ТБК, г/л	Увеличение растворимости	Содержание ТБК, в% от теоретического	
1	Исх. ТБК	0,030	–	100	
2	ТБК/ламинария 1/10	Без м/о	0,042	99	
3		Вм 2 ч	0,042	99	
4		Вм 4 ч	0,042	99	
5		<b>Вм 6 ч</b>	<b>0,047</b>	<b>1,6</b>	<b>99</b>
6		Вм 8 ч	0,044	1,5	99
7		Вм 16 ч	0,042	1,4	99
8		Вм 24 ч	0,041	1,4	97

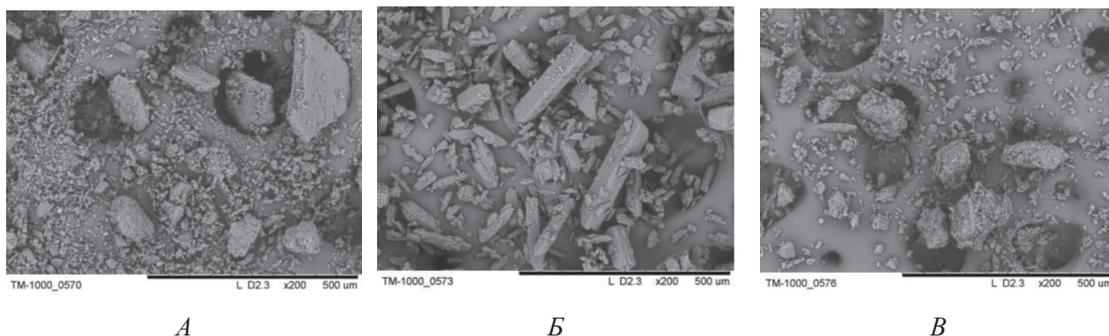


Рис. 1. Микрофотографии А – ламинария, Б – ТБК, В – ТБК/ламинария 1/10 ВМ 6 ч

Микрофотографии. При механохимической обработке происходит разрушение частиц ТБК и ламинарии с последующим формированием полидисперсных порошков, в основном состоящих из частиц неправильной формы и размером 5–50 мкм и их агрегатов (рис. 1).

*Физико-химическое исследование композиций в растворе*

Для доказательства образования межмолекулярных комплексов ТБК с полисахаридами ламинарии в водных растворах в настоящей работе был использован метод динамической <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопии. Спектр <sup>1</sup>H ЯМР раствора ТБК приведен, на рис. 2. Цифрами 1 и 2 помечены протоны для которых измерялись времена релаксации T<sub>2</sub>. Известно, что времена спин-спиновой T<sub>2</sub> релаксации очень чувствительны к диффузионной подвижности молекул, что позволяет использовать этот подход для изучения слабых нековалентных связей между молекулами для комплексов типа гость – хозяин, где «хозяином» является макромолекула полисахарида, обладающая высокой молекулярной массой и низкой диффузионной подвижностью. Это явление может использоваться для доказательства образования комплексов включения [12].

После центрифугирования суспензии порошка ТБК-Ламинария в воде получился абсолютно прозрачный раствор. Величина рН раствора составила 7,04. Спектр ЯМР этого раствора содержит сигналы ТБК и полисахаридов с характерными значениями химических сдвигов протонов (3,2–4,2 мд). При этом сигналы ТБК сильно уширены и имеют более короткое время спин-спиновой релаксации по сравнению с чистым ТБК (рис. 3), что указывает на наличие комплекса [13], а сигналы полисахаридов ламинарии, наоборот, более узкие по

сравнению с ранее изученным полисахаридом арабиногалактаном из древесины лиственницы [13], что указывает на наличие в их составе низкомолекулярных полисахаридов. Это подтверждается и измерением времени релаксации протонов ламинарии. Наблюдаемый спад сигнала <sup>1</sup>H ЯМР мульти-экспоненциальный, что указывает на присутствие полисахаридов в растворе с различной молекулярной массой (рис. 3).

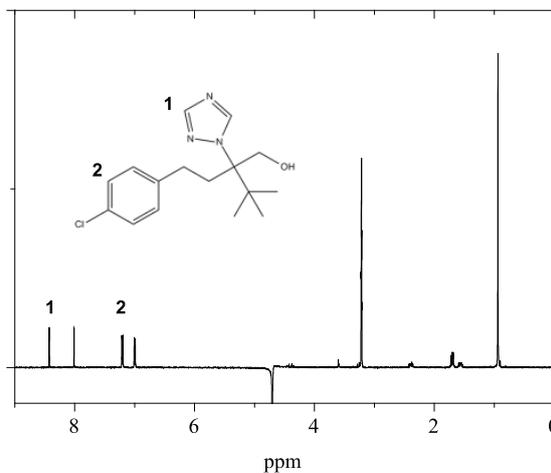


Рис. 2. Спектр <sup>1</sup>H ЯМР ТБК в 20% растворе метанола в воде. Цифрами 1 и 2 помечены протоны для которых измерялись времена релаксации T<sub>2</sub>

При этом время релаксации протонов ТБК в комплексе с полисахаридами ламинарии оказалось около 50 мс, что указывает на существование «прочного» комплекса. Можно предположить, что значительный вклад в релаксацию протонов ТБК вносят сахара с большим молекулярным весом, т.е. комплексообразование происходит преимущественно за счет высокомолекулярных полисахаридов.

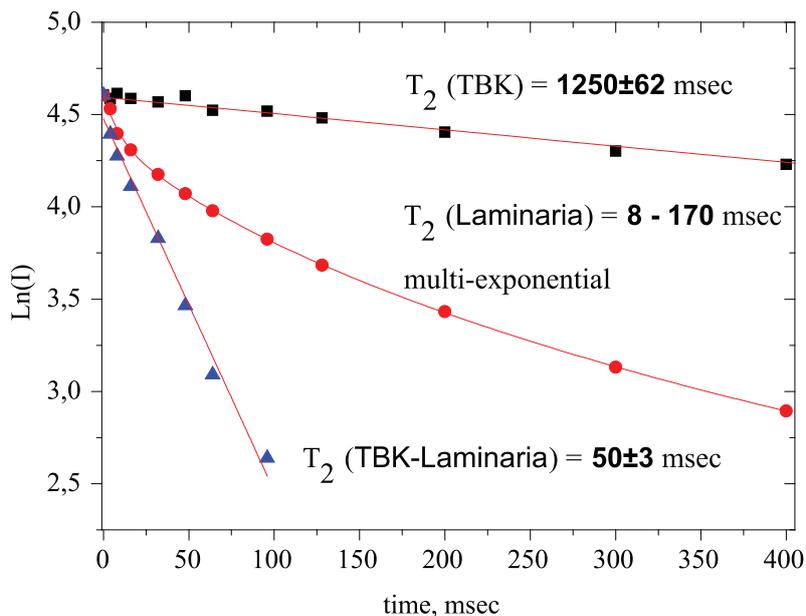


Рис. 3. Кинетики спада сигнала эха (логарифм) и времена релаксации  $T_2$  протонов исходного ТБК, растворимых полисахаридов ламинарии и 2-Н протонов ТБК в комплексе с полисахаридами ламинарии в  $D_2O$  при  $T = +30^\circ C$

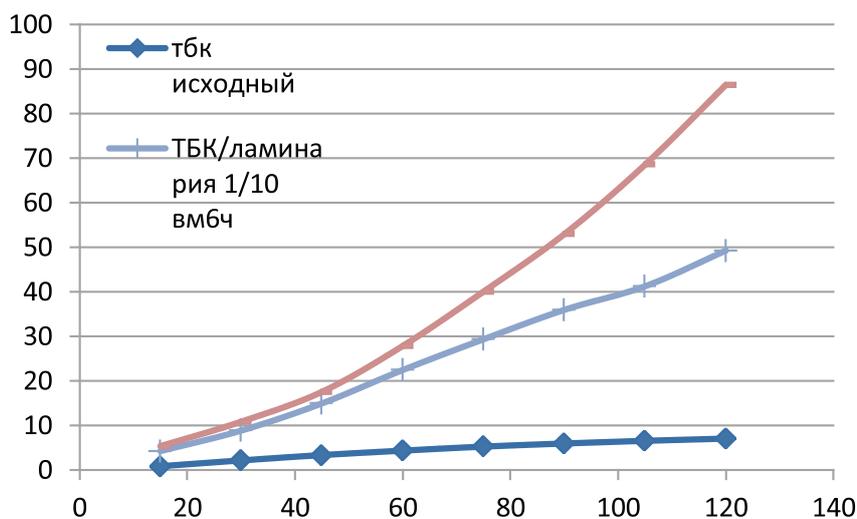


Рис. 4. Динамика переноса ТБК из его композиций через искусственную мембрану – пористый поликарбонат/гексадекан

Результаты измерений трансмембранного переноса, проведенные по методу РАМ-РА, описанному в экспериментальной части, приведены на рис. 4.

Видно, что скорость диффузии/переноса молекул ТБК существенно увеличивается (до ~10 раз) из его композиции с ламинарией, по сравнению с исходной субстанцией ТБК. Высокая проницаемость и форма ее кинетической зависимости при испытаниях препа-

рата Раксил, по нашему мнению, указывает на постепенное разрушение искусственной мембраны органическими растворителями, входящими в состав препарата.

#### Биологические испытания композиций в полевых и лабораторных условиях

В ходе лабораторных исследований с использованием естественно инфицированного семенного материала обеих

культур выявлена высокая фитосанитарная эффективность изучаемой композиции против основного возбудителя – *B. sorokiniana*. Его развитие полностью подавлялось обработкой зерновок новым МСМК – тебуконазол: ламинария (табл. 2). Фузариевая инфекция была выявлена (6,4%, порог вредоносности = 5%) только на семенах пшеницы. Их обработка комплексом тебуконазол: ламинария обеспечила фитосанитарный эффект, сопоставимый с эталоном – Раксил, который обеспечивал 100%-ную защиту семенного материала от грибов *Fusarium* spp. Чистый ТБК контролировал *Fusarium* spp. в 1,5 раза слабее (биологическая эффективность = 67,2%). На грибы *Alternaria* spp., комплексный препарат действовал слабее (в 1,3 раза) эталона (биологическая эффективность Раксила на пшенице = 69,2%), но был эффективнее (в 1,1 раза) чистого тебуконазола и, как показала фитоэкспертиза, частично сдерживал бактериозную инфекцию. На ячмене биологическая эффективность (66,7%) нового препарата МСМК в подавлении

*Alternaria* spp. уступала таковой чистого тебуконазола и Раксила (100%), но препарат полностью подавлял плесени хранения (грибы *Penicillium* и *Aspergillum* spp.). И, как показал микологический анализ, на этой культуре достигнут максимальный фитосанитарный эффект (82% здоровых зерновок; пшеница = 62%) от обработки семян изучаемой композицией.

В лабораторных экспериментах показано снижение распространенности обыкновенной корневой гнили на растениях пшеницы и ячменя при обработке посевного материала изучаемым комплексом (табл. 3). Его защитный эффект в зависимости от культуры различался. Обработка семян пшеницы способствовала формированию растений с непораженными coleoptиле, ячменя – первичных корней. В первом случае частота встречаемости растений с пораженными первичными корнями достигала 6,0 против 20,0% в чистом контроле (биологическая эффективность = 70,0%; тебуконазол = 100%), во втором – 1,1% против 65,3% (биологическая эффективность = 98,3%; тебуконазол = 100%).

Таблица 2

Фитопатогенный комплекс и биологическая эффективность предпосевной обработки МСМК – тебуконазола с ламинарией (метод рулонов)

Вариант	Зерновки, не давшие колоний грибов, %	<i>Bipolaris sorokiniana</i>		<i>Fusarium</i> spp.		<i>Alternaria</i> spp.		<i>Penicillium</i> spp.		Бактериоз	
		зараженность, %	биологическая эффективность, %	зараженность, %	биологическая эффективность, %	зараженность, %	Биологическая эффективность, %	зараженность, %	биологическая эффективность, %	зараженность, %	биологическая эффективность, %
Мягкая яровая пшеница Омская 36											
Контроль	0	10,6	–	6,4	–	83,0	–	0	–	0	–
Раксил	64,4	0	100	0	100	26,7	69,2	0	100	8,9	0
Тебуконазол	48,9	0	100	2,1	67,2	43,8	46,2	3,1	0	2,1	
Тебуконазол: ламинария	62,0	0	100	0	100	38,0	51,3	0	100	0	100
Яровой ячмень Ача											
		<i>Bipolaris sorokiniana</i>		<i>Fusariums</i> pp.		<i>Alternaria</i> spp.		<i>Penicillium</i> spp.		<i>Aspergillum</i> spp.	
Контроль	17,0	18,2	–	0	–	58,0	–	6,8	–	0	–
Раксил	100	0	100	0	100	0	100	0	100	0	100
Тебуконазол	98,9	0	100	0	100	0	100	0	100	1,1	
Тебуконазол: ламинария	82,1	0	100	0	100	17,9	66,7	0	100	0	100

Таблица 3

Эффективность МСМК – тебуконазол: ламинария в ограничении распространения обыкновенной корневой гнили в фазе второго листа мягкой яровой пшеницы и ярового ячменя (метод рулонов)

Оцениваемые органы	Контроль		Тебуконазол		Тебуконазол: ламинария = 1:10	
	распространенность болезни, %	биологическая эффективность, %	распространенность болезни, %	биологическая эффективность, %	распространенность болезни, %	биологическая эффективность, %
Мягкая яровая пшеница Омская 36						
Первичные корни	20,0	–	0	100	6,0	70,0
Колеоптиле	17,8	–	0	100	0	100
Яровой ячмень Ача						
Первичные корни	70,8	–	0	100	0	100
Колеоптиле	65,3	–	0	100	1,1	98,3

Таблица 4

Влияние обработки семян МСМК – тебуконазол: ламинария на показатели роста растений (метод рулонов)

Вариант	Длина главного корня, см	Высота ростка, см	Воздушно-сухая биомасса, мг	
			корней 1 растения	1 ростка
Мягкая яровая пшеница Омская 36				
Контроль	12,7 ± 0,36	21,2 ± 0,35	11,8 ± 0,39	18,5 ± 0,51
Раксил	15,0 ± 0,54	14,0 ± 0,11	12,8 ± 0,40	15,0 ± 0,45
Тебуконазол	10,7 ± 0,06	16,3 ± 0,25	14,6 ± 0,29	15,7 ± 0,33
Тебуконазол ламинария	15,3 ± 0,23	20,1 ± 0,13	14,8 ± 0,43	18,7 ± 0,44
Яровой ячмень Ача				
Контроль	14,5 ± 0,21	21,0 ± 0,12	19,6 ± 0,62	23,7 ± 0,38
Раксил	12,0 ± 0,04	10,4 ± 0,22	13,0 ± 0,74	17,2 ± 0,73
Тебуконазол	13,0 ± 0,12	13,0 ± 0,07	15,8 ± 0,60	17,4 ± 0,76
Тебуконазол : ламинария	15,4 ± 0,24	21,6 ± 0,49	22,0 ± 0,57	21,2 ± 0,41

Таблица 5

Влияние обработки семян МСМК – тебуконазол: ламинария на показатели роста мягкой яровой пшеницы и ярового ячменя

Вариант	Высота растения, см		Воздушно-сухая биомасса надземной части 15 растений, г		Площадь флага листа (см <sup>2</sup> ), фаза налива зерна
	пшеница	ячмень	пшеница	ячмень	
3 листа					
Контроль	23,0 ± 0,15	21,8 ± 0,18	0,95 ± 0,02	1,20 ± 0,01	Пшеница
Раксил	21,7 ± 0,07	21,2 ± 0,08	1,11 ± 0,01	1,45 ± 0,02	
Тебуконазол: ламинария	24,6 ± 0,13	23,2 ± 0,19	1,21 ± 0,01	1,79 ± 0,03	
5 листьев					
Контроль	37,8 ± 0,28	34,2 ± 0,11	7,02 ± 0,01	7,66 ± 0,39	Ячмень
Раксил	35,8 ± 0,17	32,2 ± 0,22	6,52 ± 0,17	8,88 ± 0,41	
Тебуконазол: ламинария	38,8 ± 0,23	37,1 ± 0,11	7,66 ± 0,04	10,23 ± 0,15	

Обработка семян МСМК – тебуконазол: ламинария, в отличие от чистого тебуконазола, не приводила к угнетению роста главного корня у обеих зерновых культур. Его длина у проростков пшеницы и ячме-

ня (15,3 и 15,4 см) увеличивалась на 30,1 и 15,6% (табл. 4).

Но лучшая ростостимуляция корней от применения фунгицидного комплекса наблюдалась у проростков ячменя, где масса

корней одного растения относительно варианта с применением чистого тебуконазола (15,8 мг) увеличивалась на 28,2% и превышала эталон (Раксил = 13 мг) на 41%. На пшенице ростостимулирующий эффект проявился слабее. Биомасса корней одного растения (14,8 мг), выросшего из семян, обработанных фунгицидной композицией, не отличалась от таковой чистого тебуконазола (14,0 мг), но была выше (на 13,5 и 20,2%) контрольного (11,8 мг) и эталонного (12,8 мг) вариантов.

так и эталона (на 8,6 и 14,9 – пшеница; на 19,0 и 13,2% – ячмень). К фазе налива зерна у растений пшеницы и ячменя, выросших из семян, обработанных МСМК, площадь флаг-листа достоверно превышала контрольный показатель ( $НСР_{05} = 0,29$  и  $0,17$ ;  $V = 96,6$  и  $98,4\%$ ).

Протравливание семян комплексом тебуконазол: ламинария на ранних этапах развития растений эффективно снижало развитие обыкновенной корневой гнили (рис. 5).

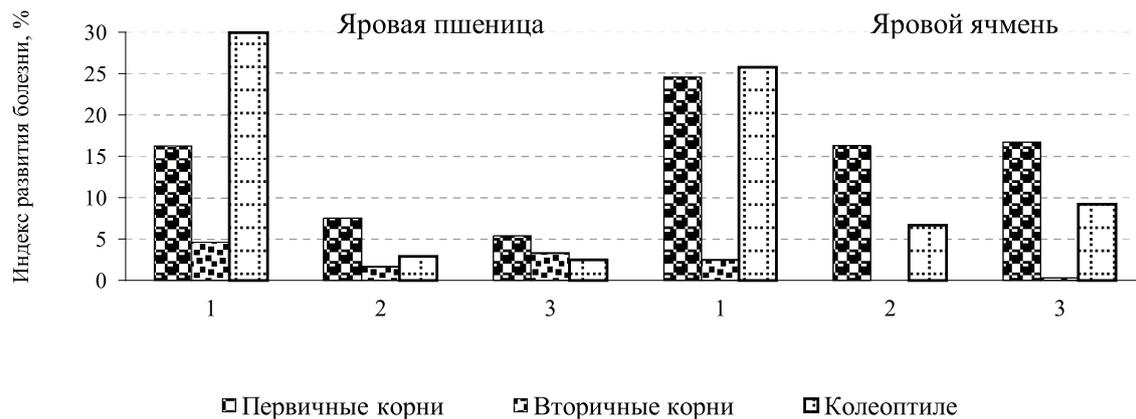


Рис. 5. Влияние состава протравителей на развитие обыкновенной корневой гнили мягкой яровой пшеницы и ярового ячменя. Обозначения: 1 – контроль, 2 – Раксил, 3 – тебуконазол: ламинария

Обработка семян МСМК – тебуконазол: ламинария способствовала несколько замедленному (меньше на 5,1 и 2,7%), чем в контроле (20,1 и 21,6 см), развитию ростков пшеницы и ячменя. Но у обеих культур их высота (на 18,9 и 30,3% – пшеница; 39,8 и 51,9% – ячмень) и биомасса (на 16 и 18,4%) превышала таковую для вариантов с обработкой семян чистым тебуконазолом и Раксилем.

В полевых условиях защищенные новым фунгицидным комплексом растения в обе фазы развития интенсивнее наращивали биомассу надземной части растений. В отличие от эталона, МСМК не оказывал ретардантного эффекта на изучаемые культуры (табл. 5).

Высота растений и ячменя в опытном варианте достоверно превышала контроль как в фазе трех, так и пяти листьев ( $НСР_{05} = 0,23$  и  $0,30$  – пшеница;  $0,24$  и  $0,28$  – ячмень; степень влияния по Снедекору ( $V = 98,7$  и  $99,1\%$  и  $98,1$  и  $99,5\%$ ). Биомасса растений в варианте с новым препаратом увеличивалась как относительно контроля (на 21,5 и 8,3% – пшеница; на 33,0 и 25,1% – ячмень соответственно фазам развития растений,

Фитосанитарный эффект обуславливался высеваемой культурой (доля влияния фактора ( $V = 54,8$  – первичные корни;  $48,9\%$  – вторичные корни). Эффективнее защищались первичные корни у пшеницы и слабее – у ячменя. В первом случае биологическая эффективность МСМК составила 66,9, во втором – 32,1% (Раксил – 54,0 и 33,7% соответственно). Его эффективность ослабевала к концу кущения: частота встречаемости растений пшеницы с пораженными вторичными корнями в варианте тебуконазол: ламинария (13,3%) относительно эталона (Раксил = 5,0%) возрастала в 2,6 раза, но оставалась ниже, чем в контроле (18,3%) – в 1,4 раза. Вторичные корни ячменя полностью защищал Раксил. Эффективность нового фунгицидного комплекса несколько уступала эталону, но оставалась высокой – 83%. Пораженность coleoptile в варианте с обработкой семян новым фунгицидным комплексом сокращалась до 2,5 на пшенице и до 9,2% – на ячмене (в контроле 30 и 25,8% соответственно), биологическая эффективность достигала 91,7 и 64,3%. У ячменя coleoptile поражался в меньшей степени, если при посеве использовали семена, про-

травленные Раксиллом. В этом случае биологическая эффективность возрастала до 74% или в 1,2 раза. На пшенице защитный эффект комплекса тебуконазол: ламинария сопоставим с таковым от Раксила (90,3%). Из пораженных колеоптиле незащищенных пшеницы и ячменя выделено 50 и 64% грибов *B. sorokiniana*, защищенных Раксиллом – 10 и 24, новым фунгицидным комплексом тебуконазола – 6 и 38%. К фазе молочной спелости пшеницы в варианте с обработкой семян новым препаратом распространенность обыкновенной корневой гнили была ниже на 29%, чем в контроле, где показатель был 96% (Раксил = 72%). Индекс развития болезни достигал 18,3%, что ниже показателя в контроле (26,3%) и в варианте с Раксиллом – 19,8%. Распространенность болезни в посевах ячменя при применении МСМК(97%) не отличалось от таковой в контроле (99%), но интенсивность поражения (31,5%; Раксил – 32,0%) понижалась в 1,2 раза.

Защита растений новым комплексным фунгицидным протравителем положитель-

но влияла на все показатели структуры продуктивности посевов пшеницы и ячменя (табл. 6), но в большей мере – на продуктивный стеблестой обеих культур, который увеличился на 33,4 и 30,9%, и сбор зерна с боковых колосьев пшеницы – на 43; ячменя – на 11,6%.

Все показатели достоверно превышали контроль (без обработки семян протравителями) и 75% из них – стандарт (Раксил, КС, 0,5 л/т). К показателям, достоверно не превысившим стандарт относятся длина колоса у ячменя, число колосков и число зерен в главном колосе обеих культур. Более высокорослые (пшеница на 10,1, ячмень – на 13%) защищенные растения формировали колосья с большим, чем в контроле, числом зерен (на 5,9 и 6,5%), их массой (на 10,8 и 11,2%) и выполненностью зерновок (масса 1000 зерен – на 1,6 и 1,8 г). В конечном итоге сбор зерна с одного растения пшеницы повысился на 29,3, ячменя – на 23,4%, а с 1 га посевной площади – на 0,28 и 0,3 т/га по сравнению с контролем.

Таблица 6

Влияние МСМК – тебуконазол: ламинария на густоту стояния растений, продуктивный стеблестой, структуру продуктивности и урожайность яровой пшеницы и ячменя

Показатель	Контроль <sup>1</sup>	Раксил <sup>2</sup>	Тебуконазол: ламинария	НСР <sub>05</sub>
Мягкая яровая пшеница, сорт Омская 36				
Число растений, шт/ м <sup>2</sup>	386	401	453	8,86
Число продуктивных стеблей, шт/ м <sup>2</sup>	452	581	679	9,29
Высота растений, см	86,7	94,8	96,5	0,29
Число стеблей/растение, шт.	1,17	1,45	1,5	0,01
Длина колоса, см	8,14	8,76	8,81	0,16
Число колосков в главном колосе, шт.	13,11	13,54	13,43	0,13
Число зерен в главном колосе, шт.	26,9	28,5	28,6	0,33
Масса зерна с главного колоса, г	0,99	1,06	1,11	0,03
Масса зерна с 1 бокового колоса, г	0,45	0,49	0,79	0,01
Масса зерна с 1 растения, г	1,06	1,27	1,5	0,03
Масса 1000 зерен, г	33,7	34,4	35,3	0,34
Урожайность, т/га	2,45	2,61	2,73	0,02
Яровой ячмень, сорт Ача				
Число растений, шт/ м <sup>2</sup>	404	447	493	5,3
Число продуктивных стеблей, шт/ м <sup>2</sup>	540	702	781	16,4
Высота растений, см	53,8	60,0	61,9	1,46
Число стеблей/растение, шт.	1,34	1,58	1,59	0,06
Длина колоса, см	7,7	8,0	8,3	0,11
Число колосков в главном колосе, шт.	10,6	11,1	10,8	0,20
Число зерен в главном колосе, шт.	18,8	20,3	20,1	0,46
Масса зерна с главного колоса, г	0,95	1,02	1,07	0,01
Масса зерна с 1 бокового колоса, г	0,76	0,78	0,86	0,01
Масса зерна с 1 растения, г	1,21	1,47	1,58	0,09
Масса 1000 зерен, г	46,6	46,9	48,4	0,29
Урожайность, т/га	2,51	2,58	2,81	0,01

Примечание. 1, 2 – данные измерений контроля и раксилла совпадают с ранее опубликованными данными в работах [4, 5], поскольку были получены в едином расширенном эксперименте.

### Выводы

Механохимическим твердофазным синтезом получены композиционные материалы субстанции тебуконазола с биомассой ламинарии. Существование межмолекулярных комплексов ТБК с полисахаридами ламинарии в водных растворах доказано увеличением растворимости ТБК, а также их исследованием методом динамической спектроскопии <sup>1</sup>H ЯМР. На модели искусственной мембраны методом РАМРА показано увеличение трансмембранной проницаемости ТБК из полученного препарата МСМК по сравнению с исходной субстанцией ТБК. Изучение эффективности предпосевной обработки семян мягкой яровой пшеницы и ярового ячменя фунгицидным препаратом МСМК тебуконазол: ламинария в дозах по ТБК, эквивалентных промышленному препарату Раксил, показало, что препарат полностью оздоравливает посевной материал от фитопатогенов *B. sorokiniana* и *Fusarium* spp., на первых этапах органогенеза мягкой яровой пшеницы снижает распространение обыкновенной корневой гнили в 3,5 раза, интенсивности поражения растений в 5,5 раза. Новый препарат на основе межмолекулярных комплексов ТБК с полисахаридами ламинарии повышает рост и накопление биомассы растениями, продуктивный стеблестой, зерновую продуктивность колоса, и в итоге – сбор зерна с 1 га посевов мягкой яровой пшеницы на 0,28 т/га, ярового ячменя – на 0,3 т/га.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-29-05835).*

### Список литературы

1. Тютюрев С.Л. Совершенствовать защиту сельскохозяйственных культур от семенной и почвенной инфекции / С.Л. Тютюрев // Защита и карантин растений. – 2000. – № 2. – С. 14–16.
2. Ассортимент химических средств защиты растений нового поколения (Фунгициды для предпосевной обработки семян) / В.И. Долженко, Л.Д. Гришечкина, Т.И. Ишкова и др. – СПб.: Изд. Россельхозакадемии, ВНИИ защиты растений, Инновационный центр защиты растений, 2013. – 484 с.
3. Абеленцев В.И. Возможности современных протравителей семян зерновых колосовых культур / В.И. Абеленцев // Защита и карантин растений. – 2011. – № 2. – С. 19–21.
4. Душкин А.В. Новый пестицидный препарат на основе комплексов тебуконазола и производных глициррицина / А.В. Душкин [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2016. – № 11–2. – С. 296–300.
5. Душкин А.В., Метелева Е.С., Власенко Н.Г., Теплякова О.И., Халиков С.С. Композиция для протравливания семян и способ ее получения. Патент России № 2619249. 2017. Бюл. № 14.
6. Механохимическое получение и свойства водорастворимых межмолекулярных комплексов полисахаридов и бета-циклодекстрина с лекарственными веществами / А.В. Душкин // Химия в интересах устойчивого развития. – 2010. – Т. 18, № 4. – С. 517–525.

7. Faller B. Artificial membrane assays to assess permeability / B. Faller // Curr. Drug Metab. – 2008. – V.9. – № 9. – P. 886–892.
8. McCallum M.M. High-throughput approaches for the assessment of factors influencing bioavailability of small molecules in pre-clinical drug development / M.M. McCallum. – Ph.D. Dissertations&Theses. – Gradworks, 2013.
9. Тепляков Б.И. Обыкновенная корневая гниль яровой пшеницы на черноземах в лесостепной зоне Западной Сибири / Б.И. Тепляков. – Новосибирск: Изд-во Новосиб. гос. аграрн. ун-та, 2012. – 122 с.
10. Основы опытного дела в растениеводстве: учебное пособие / В.Е. Ещенко, М.Ф. Трифонова, П.Г. Копытко и др. – М.: КолосС, 2009. – 268 с.
11. Сорокин О.Д. Прикладная статистика на компьютере. 2-е изд. / О.Д. Сорокин. – Новосибирск: Изд-во ГУП РПО СО РАСХН, 2012. – 282 с.
12. Diehl. B. Principles in NMR Spectroscopy / B. Diehl. – Amsterdam: Elsevier, 2008. – P. 3–41.
13. Механохимическое получение и фармакологическая активность водорастворимых комплексов арабиногалактана и лекарственных веществ / Е.С. Метелева [и др.] // Известия РАН, сер. Химическая. – 2008. – № 6. – С. 1274–1282.

### References

1. Tjuterev S.L. Sovershenstvovat zashhitu sel'skoxozhaystvennykh kultur ot semennoy i pochvennoj infekcii / S.L. Tjuterev // Zashhita i karantin rastenij. 2000. no. 2. pp. 14–16.
2. Assortiment himicheskikh sredstv zashhity rastenij novogo pokolenija (Fungicidy dlja predposevnoj obrabotki semjan) / V.I. Dolzhenko, L.D. Grishechkina, T.I. Ishkova i dr. Spb.: Izd. Rossel'hoz'akademii, VNII zashhity rastenij, Innovacionnyj centr zashhity rastenij, 2013. 484 p.
3. Abelencev V.I. Vozmozhnosti sovremennykh protравitelej semjan zernovykh kolosovykh kultur / V.I. Abelencev // Zashhita i karantin rastenij. 2011. no. 2. pp. 19–21.
4. Dushkin A.V. Novyj pesticidnyj preparat na osnove kompleksov tebukonazola i proizvodnykh glicirrizina / A.V. Dushkin [i dr.] // Uspеhi sovremennogo estestvoznaniya. 2016. no. 11–2. pp. 296–300.
5. Dushkin A.V., Meteleva E.S., Vlasenko N.G., Tepljakova O.I., Halikov S.S. Kompozicija dlja protравlivaniya semjan i sposоb ee polucheniya Patent Rossii no. 2619249. 2017. Bjul. no. 14.
6. Mehanohimicheskoe poluchenie i svoystva vodorastvorimyykh mezhmolekuljarnyykh kompleksov polisaharidov i beta-ciklodekstrina s lekarstvennyimi veshhestvami / A.V. Dushkin // Himija v interesah ustojchivogo razvitija. 2010. T. 18, no. 4. pp. 517–525.
7. Faller B. Artificial membrane assays to assess permeability / B. Faller // Curr. Drug Metab. 2008. V.9. no. 9. pp. 886–892.
8. McCallum M.M. High-throughput approaches for the assessment of factors influencing bioavailability of small molecules in pre-clinical drug development / M.M. McCallum. Ph.D. Dissertations&Theses. Gradworks, 2013.
9. Tepljakov B.I. Obyknoennaja kornevaja gnij jarovoj pshenicy na chernozemah v lesostepnoj zone Zapadnoj Sibiri / B.I. Tepljakov. Novosibirsk: Izd-vo Novosib. gos. agrarn. un-ta, 2012. 122 p.
10. Osnovy opytного dela v rastenievodstve: uchebное пособие / V.E. Eshhenko, M.F. Trifonova, P.G. Kopytko i dr. M.: KolosS, 2009. 268 p.
11. Sorokin O.D. Prikladnaja statistika na kompjutere. 2-e izd. / O.D. Sorokin. Novosibirsk: Izd-vo GUP RPO SO RASHN, 2012. 282 p.
12. Diehl. B. Principles in NMR Spectroscopy / B. Diehl. Amsterdam: Elsevier, 2008. pp. 3–41.
13. Mehanohimicheskoe poluchenie i farmakologicheskaja aktivnost vodorastvorimyykh kompleksov arabinogalakтана i lekarstvennykh veshhestv / E.S. Meteleva [i dr.] // Izvestija RAN, ser. Himicheskaja. 2008. no. 6. pp. 1274–1282.