

ЦЕНТР ЭКОПЕСТИЦИДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ «ЭПИцентр»

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Центра

Р.С. Аптикаев

«02» ноября 2023 г.



ОТЧЕТ

о научно-исследовательской работе

«Оценка влияния пестицида

НОВОСИЛ, ВЭ (100 г/л тритерпеновых кислот древесной зелени пихты сибирской) на почвенные микроорганизмы»

за 2023 год

Научный руководитель
и ответственный исполнитель работы
кандидат биологических наук

Р.А. Стрелецкий

Москва - 2023 г.

ЦЕНТР ЭКОПЕСТИЦИДНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ «ЭПИцентр»



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор Центра

Р.С. Аптикаев

«02» ноября 2023 г.

ОТЧЕТ

о научно-исследовательской работе

«Оценка влияния пестицида

НОВОСИЛ, ВЭ (100 г/л тритерпеновых кислот древесной зелени пихты сибирской) на почвенные микроорганизмы»

за 2023 год

Научный руководитель
и ответственный исполнитель работы
кандидат биологических наук

Р.А. Стрелецкий

Москва - 2023 г.

Оглавление

Оглавление	2
Реферат	3
Введение	4
1. Объекты и методы исследования.....	5
1.1. Характеристика тестируемого препарата и действующего вещества	5
1.2. Почва.....	5
1.3. Постановка эксперимента	8
1.4. Оценка интенсивности микробной трансформации углерода в почвах.....	8
1.5. Оценка интенсивности микробной трансформации азота в почвах	9
2. Результаты исследований и их обсуждение	9
2.1. Оценка микробного дыхания.....	9
2.2. Оценка микробной трансформации азота	10
Выводы	11
Литература	12
Приложение 1.....	13

Реферат

Отчет изложен на 13 страницах, содержит 6 таблиц.

В отчете приведена оценка влияния НОВОСИЛ, ВЭ на почвенные микроорганизмы. При внесении НОВОСИЛ, ВЭ в почву в концентрациях, соответствующих норме и десятикратной норме применения пестицида, не наблюдается угнетения деятельности микробиоты, проявляемого в изменениях интенсивности нитрификации и эмиссии углерода.

Ключевые слова: регулятор роста растений, Новосил, почвенные микроорганизмы, дыхание почвы, субстрат-индуцированное дыхание (СИД), трансформация азота, нитрификация.

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Инженер-испытатель

Р.И. Пилик

Инженер-испытатель

А.М. Огнева

Инженер-испытатель

П.А. Бауэр

Введение

НОВОСИЛ, ВЭ – регулятор роста растений.

Цель данного исследования – оценить влияния НОВОСИЛ, ВЭ в концентрации 0,13 и 1,25 мкг/г почвы на процессы микробной трансформации углерода и азота в почвах. Концентрации действующего вещества соответствовали ожидаемой концентрации и десятикратной концентрации НОВОСИЛ, ВЭ в почве после применения пестицида в десятикратной норме применения - 3000 мл/га.

Исследования проведены в соответствии с действующими в Российской Федерации регистрационными требованиями, предъявляемыми к пестицидам (раздел 6.2, п. 6.2.1.2.22., п. 6.2.1.2.23. «Сведения о пестициде»). Исследования проведены в соответствии с ГОСТами (3041-2014, 32631-2014) аналогами руководств ОЭСР (217,216).

Работы выполнены в Центре экопестицидных исследований «ЭПИцентр», допущенном Минприроды РФ и Минсельхозом РФ к проведению регистрационных испытаний по экологической оценке пестицидов в Российской Федерации. Исследования были проведены на базе испытательной лаборатории Центра.

1. Объекты и методы исследования

При проведении данного исследования использовали руководства, рекомендуемые при проведении лабораторных тестов по оценке побочных эффектов химических веществ на почвенную микрофлору [2,3].

1.1. Характеристика тестируемого препарата и действующего вещества

Нижеприведённые свойства взяты из заявки на регистрацию препарата [1].

Наименование препарата: НОВОСИЛ, ВЭ.

Назначение: регулятор роста растений

Регистранты: ООО НПП "Биохимзащита". 633009, Новосибирская Область, Г. Бердск, Ул. Зеленая Роща, Д.7/35. Тел.: +7-383-212-59-22; e-mail: naturzachita@yandex.ru.

Изготовители продукта:

ООО НПП "Биохимзащита", 633009, Новосибирская Область, Г. Бердск, Ул. Зеленая Роща, Д.7/35. Тел.: +7-383-212-59-22; e-mail: naturzachita@yandex.ru.

Производитель действующего вещества:

ООО НПП "Биохимзащита", 633009, Новосибирская Область, Г. Бердск, Ул. Зеленая Роща, Д.7/35. Тел.: +7-383-212-59-22; e-mail: naturzachita@yandex.ru.

Культуры: см. таблица 1

Вредные объекты: см. таблица 1

Способ применения: см. таблица 1

Кратность обработок: см. таблица 1

Норма применения: см. таблица 1

Таблица 1. Сведения о применении препарата НОВОСИЛ, ВЭ

Культуры	Норма расхода препарата	Назначение	Способ, время обработки, норма расхода рабочей жидкости	Срок ожидания (кратность обработок)
Пшеница озимая	50 мл /т	Повышение полевой всхожести, усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности	Предпосевная обработка семян. Расход 10 л/т	-(1)
	30 мл/га			-(2)
Пшеница яровая	50 мл/т	Повышение полевой всхожести, усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе кушения; 2-я - в фазе колошения. Расход 300 л / га	-(1)
	30 м л/ га			-(2)
Ячмень	50 мл/т	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, ускорение созревания, повышение урожайности	Предпосевная обработка семян. Расход 10 л/т	-(1)
	30 мл/га		Опрыскивание растений в фазе кушения. Расход 300 л/га	-(1)

Культуры	Норма расхода препарата	Назначение	Способ, время обработки, норма расхода рабочей жидкости	Срок ожидания (кратность обработок)
Кукуруза	50 мл/т	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания,	Предпосевная обработка семян. Расход 10 л/т	-(1)
	50 мл/га		Опрыскивание растений в фазе кущения. Расход 300 л/га	
Соя	20 мл/га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, ускорение созревания, повышение содержания масла в семенах.	Опрыскивание растений в фазе начала цветения.	-(1)
Гречиха	50 мл/га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, ускорение созревания, повышение урожайности	Опрыскивание 1-е – в фазе начала раскрытия цветков нижних соцветий, 2-е – в фазе массового цветения. Расход 300 л/га	-(2)
Подсолнечник	40 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности, увеличение содержания масла в семенах	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе 2-4 листьев, 2-е - в фазе начала цветения. Расход 300 л/га	-(2)
Свёкла сахарная	20 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, повышение урожайности	Опрыскивание растений : 1-е - в фазе образования 8- 10 листьев, 2-ое - через 15 дней после первого опрыскивания. Расход 300 л/га	-(2)
Хлопчатник	75 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности, увеличение содержания масла в семенах, улучшение качества волокна	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе начала бутонизации, 2-е - в фазе начала цветения. Расход 300 л/га	-(2)
Картофель	100 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности, увеличение выхода товарных клубней , повышение качества продукции	- Опрыскивание растений: 1-е - в фазе начала цветения , 2-е – в , фазе массового цветения, 3-е - - через 7 дней после второго опрыскивания . Расход 300 л/га	-(3)
Лук на семена	100 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, повышение урожайности	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе массового стрелкования, 2-е - через 7 дней после первого опрыскивания , 3-через 7 дней после второго опрыскивания. Расход 300 л/га	-(3)
Лук на репку		Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности-	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе образования 4-оголиста, 2-е - через 15 дней после первого опрыскивания. Расход 300 л/га	-(2)
Томат	50 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности, увеличение выхода товарных плодов, повышение качества продукции	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе цветения 1-ой кисти, 2-ое - в фазе цветения 2-ой кисти, 3-е - в фазе цветения 3-ей кисти. Расход 300 л/га	
Фасоль	20 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе начала цветения, 2-е - в фазе массового цветения, 3-е - через 7 дней	-(3)

Культуры	Норма расхода препарата	Назначение	Способ, время обработки, норма расхода рабочей жидкости	Срок ожидания (кратность обработок)
			после второго опрыскивания. Расход 300 л/га	
Огурец	15 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности, увеличение выхода товарных плодов, повышение качества продукции	Опрыскивание растений :1-е - в фазе образования 2-4 настоящих листьев, 2-е - в начале цветения, 3-е - в фазе массового цветения, 4-е - через 7 дней после третьего опрыскивания. Расход 300 л/га	-(4)
Капуста белокочанная	40 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, повышение урожайности, увеличение выхода товарных плодов, повышение качества продукции	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе образования 6-7 листьев, 2-е - в фазе массового завязывания кочанов. Расход 300 л/га	-(2)
Виноград	50 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение урожайности, повышение качества продукции	Опрыскивание растений : 1-е - в фазе цветения, 2-е - через 12 дней после первого опрыскивания. Расход 600 л/га	-(2)
Люцерна на семена	50 мл / га	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, ускорение созревания, повышение урожайности	Опрыскивание растений: 1-е - в фазе бутонизации, 2-е - в фазе массового цветения. Расход 300 л/га	-(2)
Овес	60 мл /т,	Усиление ростовых и формообразовательных процессов, повышение устойчивости к болезням, ускорение созревания, повышение урожайности	Предпосевная обработка семян. Расход 10 л/т-	-(1)
	50 мл /га		Опрыскивание растений в фазе 5-6 листьев. Расход 300 л/га	-(1)

На испытание заказчиком (ООО НПП «Биохимзащита») был представлен образец препарата – НОВОСИЛ, ВЭ (100 г/л) в пластиковом флаконе заводского производства. Основные сведения о представленном в качестве образца для исследования препарате представлены в таблице 2.

Таблица 2. Основные сведения о препарате НОВОСИЛ, ВЭ

Состав препарата	Действующие вещества: ISO: Природная смесь тритерпеновых кислот из древесной зелени (хвои) пихты сибирской общей формулы C ₃₀ H ₄₄ O ₄ . IUPAC: 1) (24 E)-3,23-диоксо- 7,24-(9β)ланостадиен-26-овая кислота, 2) (24E)-23-оксо-7,14,24-(β)мериеситриен-3α-ол-26-овая кислота, CAS: 107584-83 -8
Количество действующих веществ	100 г/л
Препаративная форма	Водная эмульсия (ВЭ)
Описание образца	Жидкость
Нормативная и/или техническая документация	Паспорт безопасности (Приложение 1)
Стабильность при хранении	-

1.2. Почва

В работе использованы образцы окультуренной дерново-подзолистой супесчаной почвы (Сорг 1,5 %; рН – 6,5; Одинцовского района Московской области). Смешанные образцы почвы отбирали с глубины 10 см, высушивали до воздушно-сухого состояния и просеивали через сито диаметром 1 мм.

По 5 г воздушно-сухой почвы были помещены в пенициллиновые флаконы объемом 15 мл, после чего в каждый флакон добавлено 1,5 мл дистиллированной воды. Увлажненные почвенные образцы инкубировались во влажной камере в течение недели для восстановления биологической активности (реактивация образцов).

1.3. Постановка эксперимента

Эксперимент проводился в серии индивидуальных образцов. Измерения велись в трех повторностях для двух концентраций тестируемого вещества и одного контрольного образца почвы. Для каждого из четырех сроков анализа был подготовлен набор из 18 пенициллиновых флаконов с 5 г реактивированной почвы (9 для исследования трансформации азота и 9 – углерода). Тестируемое вещество было внесено в почву в 0,5 мл водного раствора из расчета 0,13 и 1,25 мкг/г сухой почвы (из расчета максимальной нормы применения и десятикратной нормы применения пестицида НОВОСИЛ, ВЭ данные по умолчанию: плотность почвы 1,2 г/см³, 20 см слой почвы). В контрольные образцы вносился 1 мл дистиллированной воды. В образцы, где исследовалась трансформация азота, в качестве источника азота добавлялась люпиновая мука (*Lupinus albus*, доза внесения 5 г/кг почвы или 0,025 г /образец). Почвенные образцы инкубировались в термостате при температуре 20±0,5 С° в течение 28 суток и были затянуты парафилмом.

1.4. Оценка интенсивности микробной трансформации углерода в почвах

Интенсивность микробной трансформации углерода в почвах оценивали по эмиссии СО₂ при добавлении к почве глюкозы [2]. Для определения субстрат-индуцированного дыхания (далее СИД) [4] во флаконы вносили 1 мл раствора глюкозы из расчета 2,5 мг/г почвы, после чего их закрывали резиновыми пробками и инкубировали в термостате температуре (20±0,5 °С) в течение 12 часов для определения скорости дыхания. Концентрацию СО₂ в газовой фазе образцов определяли на 0-е, 7-е, 14-е и 28-е сутки инкубации почвы. Измерение концентрации СО₂ осуществлялось на газовом хромографе Кристалл 2000м, с детектором по

теплопроводности (катарометром) на колонке с адсорбентом Полисорб-1 и гелием в качестве газа-носителя (рис.2). Концентрацию углекислого газа определяли по калибровочной кривой. Результаты выражали в мг CO₂/кг сухой почвы в час.

1.5. Оценка интенсивности микробной трансформации азота в почвах

Интенсивность микробной трансформации азота в почвах оценивали по динамике накопления нитратов [3]. Концентрацию нитратов в пробах почвы определяли на 0-е, 7-е, 14-е и 28-е сутки инкубации. Для экстракции нитратов к навеске почвы приливали 20 мл 0,1 М раствора KCl и встряхивали на ротаторе в течение часа. Экстракты фильтровали через фильтр синяя лента, не содержащий нитратов. Концентрацию NO₃⁻ определяли при помощи нитрат-селективного электрода ЭЛИС-121NO₃ в составе иономера Эксперт-001-3(01) Концентрацию нитратного азота рассчитывали по калибровочному графику с тестовыми растворами и выражали в мг NO₃⁻/кг воздушно-сухой почвы.

2. Результаты исследований и их обсуждение

2.1. Оценка микробного дыхания

Интенсивность микробного дыхания является интегральным показателем, характеризующим уровень метаболической активности почвенной биоты, представленной в подавляющем большинстве гетеротрофными организмами (грибы, бактерии, актиномицеты) [4]. Активность этого процесса определяет скорость разложения органического вещества и круговорот углерода в почвах.

Оценка величины потока CO₂ показала (табл.3,4), что различия между контролем и вариантами опыта с внесением НОВОСИЛ, ВЭ во все сроки наблюдения не превышали 25 %, что говорит об отсутствии влияния НОВОСИЛ, ВЭ в концентрациях 0,13 и 1,25 мкг/г на микробный комплекс, ответственный за трансформацию углерода в почве.

Таблица 3.

Субстрат-индуцированное дыхание (мг CO₂/кг сухой почвы в час) при внесении тестируемого вещества в почву с указанием величин среднеквадратического отклонения (СКО)

	0 сутки		7 сутки		14 сутки		28 сутки	
	Эмиссия*	СКО	Эмиссия	СКО	Эмиссия	СКО	Эмиссия	СКО
Контроль	3,84	0,46	5,19	0,42	9,78	0,87	12,96	0,79
300 мл/га	3,36	0,53	5,24	0,65	10,56	1,17	13,14	0,59
3000 мл/га	3,71	0,42	5,85	0,92	11,22	1,02	13,49	0,60

* мг CO₂/кг сухой почвы в час

Таблица 4.

Процентное соотношение СИД в обработанных и контрольных образцах с указанием величин среднеквадратического отклонения (СКО)

	0 сутки		7 сутки		14 сутки		28 сутки	
	Эмиссия	СКО	Эмиссия	СКО	Эмиссия	СКО	Эмиссия	СКО
Контроль	100,0	12,0	100,0	8,1	100,0	8,9	100,0	6,1
300 мл/га	87,5	15,7	100,8	12,5	108,0	11,1	101,3	4,5
3000 мл/га	96,6	11,3	112,6	15,7	114,7	9,1	104,0	4,4

2.2. Оценка микробной трансформации азота

В течение всего эксперимента наблюдалось накопление нитратов, что связано с постепенной утилизацией высокобелкового субстрата (табл.5,6).

Таблица 5.

Накопление нитратов в почве (мг/кг сухой почвы) при внесении тестируемого вещества в почву с указанием величин среднеквадратического отклонения (СКО)

	0 сутки		7 сутки		14 сутки		28 сутки	
	мг/кг	СКО	мг/кг	СКО	мг/кг	СКО	мг/кг	СКО
Контроль	9,5	0,7	11,8	1,2	25,2	2,6	96,0	2,5
300 мл/га	10,1	0,5	12,1	0,6	25,5	3,8	97,4	3,5
3000 мл/га	11,5	1,2	13,0	1,1	27,8	3,9	96,9	4,9

Таблица 6.

Процентное соотношение концентрации нитратов в обработанных и контрольных образцах с указанием величин среднеквадратического отклонения (СКО)

	0 сутки		7 сутки		14 сутки		28 сутки	
	Нитраты %	СКО	Нитраты, %	СКО	Нитраты, %	СКО	Нитраты, %	СКО
Контроль	100,0	7,4	100,0	10,1	100,0	10,1	100,0	2,6
300 мл/га	107,3	4,8	102,4	4,9	101,4	14,8	101,5	3,6
3000 мл/га	122,0	10,7	110,0	8,5	110,4	14,0	100,9	5,1

Достоверные различия между контролем и вариантами опыта с внесением пестицида во все сроки наблюдения не превышали 25 %, что говорит об отсутствии влияния НОВО-СИЛ, ВЭ в концентрациях 0,13 и 1,25 мкг/г на микробный комплекс, ответственный за трансформацию азота в почве.

Выводы

На основании полученных результатов можно сделать заключение об отсутствии угнетения деятельности почвенной микрофлоры НОВОСИЛ, ВЭ в концентрациях 300 и 3000 мг/га, проявляемое в отсутствии отклонений в дыхании микробного сообщества и процессах нитрификации от контрольных (незагрязненных) вариантов

Литература

1. СВЕДЕНИЯ О ПЕСТИЦИДЕ НОВОСИЛ, ВЭ, ООО НПП «Биохимзащита», 2023, 19 с.
2. ГОСТ 33041-2014 «Почвенные микроорганизмы: тест на трансформацию углерода» аналог руководства ОЭСР №217 по тестированию химических веществ. Почвенные микроорганизмы: тест на трансформацию углерода. ОЭСР, 2000, 12 с.
3. ГОСТ 32631-2014 «Почвенные микроорганизмы: испытание на трансформацию азота» аналог руководства ОЭСР №216 по тестированию химических веществ. Почвенные микроорганизмы: тест на трансформацию азота. ОЭСР, 2000, 13 с.
4. Anderson, J.P.E., Domsch, K.H., A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils//Soil Biology & Biochemistry.1978.V. 10.P. 215-221.
5. Методы почвенной микробиологии и биохимии. Ред. Д.Г.Звягинцев, Изд-во Моск. ун-та, М., 1991, 304 с.
6. Умаров М. М., Кураков А. В., Степанов А. Л. Микробиологическая трансформация азота в почве — ГЕОС Москва, 2007. — С. 138.

