

## ВЛИЯНИЕ РИЗОБАКТЕРИЙ Р. *PSEUDOMONAS* НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ КУКУРУЗЫ В ПРИСУТСТВИИ ГЛИФОСАТА В ПОЧВЕ

Н. А. Михайловская<sup>1</sup>, С. А. Касьянчик<sup>2</sup>, Т. Б. Барашенко<sup>1</sup>,  
Т. В. Погирницкая<sup>1</sup>, С. В. Дюсова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт почвоведения и агрохимии, г. Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Национальная академия наук Беларуси, г. Минск, Беларусь

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время гербицид глифосат применяется в глобальных масштабах. Глифосат интенсивно используется в сельскохозяйственных посевах, в лесном хозяйстве, в садоводстве, на территориях городов, для очистки водоемов и в качестве десиканта. Это обусловлено его эффективностью, невысокой стоимостью и наличием устойчивых к гербициду трансгенных сортов основных сельскохозяйственных культур. В международной научной литературе отмечается практически повсеместное присутствие остаточных количеств глифосата (ГФ) и его первичного метаболитического продукта, аминометилфосфоновой кислоты (АМФК), в окружающей среде [1, 2]. При оценке остаточного количества глифосата установлено, что гербицид может распространяться на большие расстояния (до нескольких километров) от места применения [3]. По последним научным данным при однократной обработке почвы глифосат и его метаболит АМФК обнаруживаются в почве в течение 2-х лет, а при многократных обработках – в течение 5 лет [4].

К настоящему времени многократно подтверждено негативное экологическое действие глифосата [5–7] и установлена необходимость его детоксикации. Современные научные исследования свидетельствуют о токсическом действии ГФ на живые организмы. В 2015 г. ВОЗ признала глифосат карциногенным для человека [1]. Для снижения негативных последствий многократного применения ГФ, восстановления биологической активности почвы и получения экологической продукции необходимы периодические ремедиации почв.

Почвенный глифосат устойчив к химическим и физическим методам воздействия. Микробные методы детоксикации считаются самыми эффективными, так как могут обеспечить безопасную детоксикацию гербицида [8–11]. К настоящему времени наибольшее число глифосат-утилизирующих бактерий обнаружено среди представителей рода *Pseudomonas* [1, 12, 13]. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas* широко распространены в почвах зоны умеренного климата. Наряду с представителями *Bacillus* и *Arthrobacter*, бактерии р. *Pseudomonas* считаются основными составляющими микрофлоры почв умеренной зоны.

Среди объектов хранения исследовательской коллекции ризосферных бактерий Института почвоведения и агрохимии имеется целый ряд представителей рода *Pseudomonas*, повышающих доступность нерастворимых фосфатов [14, 15]. Ценным свойством *Pseudomonas* spp. является их высокая антагонистическая активность по отношению к корневым фитопатогенам. Инокулянты на основе

*Pseudomonas* spp. действуют как эффективные биофунгициды и оказывают значимое фунгистатическое действие на корневой гнили [14]. По результатам наших исследований применение коллекционных штаммов *Pseudomonas* spp. в качестве инокулянтов обеспечивало гормональный эффект: увеличение объема корней на 14–30 %, массы корней – на 11–32 %, массы надземной части растения – на 6–19 % на ранних этапах онтогенеза [14, 15].

В процессе проведения скрининга исследовательской коллекции установлено новое ценное свойство представителей *Pseudomonas* sp. – способность утилизировать глифосат. В результате скрининга были отобраны эффективные штаммы р. *Pseudomonas*, способные метаболизировать глифосат как источник фосфора [16, 17].

Цель настоящей работы – установить влияние глифосат-утилизирующих фосфатрастворяющих ризобактерий р. *Pseudomonas* на фотосинтетический потенциал кукурузы в зависимости от содержания глифосата в почве.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объекты исследований – штаммы ризосферных фосфатрастворяющих ризобактерий из фонда исследовательской коллекции Института почвоведения и агрохимии: *Pseudomonas* sp. P-6, *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-15, *Pseudomonas* sp. P-25 и *Pseudomonas* sp. P-42. Исследования проведены путем постановки серии инокуляционных *in vitro* экспериментов.

**Методика инокуляционных *in vitro* экспериментов по оценке влияния глифосата на PGP-потенциал ризобактерий *Pseudomonas* spp.** Инокуляционные *in vitro* эксперименты проведены в чашках Петри, тест-культура – яровая пшеница. Поверхностно стерилизованные семена (10 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 30 минут) обрабатывали растворами гербицида (0,20 и 1,00 мкг/мл), просушивали стерильной фильтровальной бумагой. После этого семена тест-культуры инокулировали суспензиями исследуемых ризосферных бактерий. Длительность экспозиции семян в растворах гербицида – 2 часа, экспозиции семян в бактериальных суспензиях (инокуляция) также 2 часа. Обработанные семена раскладывали в чашки Петри (по 10 семян в каждую) на фильтровальную бумагу, увлажненную стерильной водопроводной водой (4 мл). Чашки Петри помещали в термостат при температуре 28 °С на 4–5 суток.

Бактериальные суспензии готовили путем смыва двухсуточных культур, выращенных на плотных питательных средах. Титры: 5,0–5,5 × 10<sup>7</sup> КОЕ/мл (OD<sub>650</sub> 0,700–0,750 на спектрофотометре UV/VISS-8001). Контроль – семена тест-культуры, выдержанные 2 часа в дистиллированной воде (C<sub>0</sub>), а также обработанные растворами глифосата (C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>) без инокуляции. Повторность в опытах пятикратная. В ходе экспериментов на 2-е сутки определяли всхожесть семян пшеницы, на 5-е сутки – длину надземной части (колеоптиле) и суммарную длину корней проростков.

**Методика проведения модельного инокуляционного эксперимента с тест-культурой в искусственно контролируемых условиях (почвенный микрокосм).** Для установления влияния ГФ-утилизирующих ризобактерий рода *Pseudomonas* (инокуляция семян) на физиологический статус растений и показатели активности фотосинтеза в условиях почвенного микрокосма проведен модельный эксперимент в дерново-подзолистой супесчаной почве (500 г) с искусственно созданными разными уровнями содержания глифосата: C<sub>0</sub> (без глифосата), C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>

и  $C_3$ . Для создания концентраций  $C_1$ ,  $C_2$  и  $C_3$  в почву вносили водные растворы гербицида Торнадо: 2,30 мг ГФ/кг, 7,70 мг ГФ/кг и 38,50 мг ГФ/кг почвы. Концентрация  $C_1$  соответствует внесению в почву 3,0 л/га, концентрация  $C_2$  – 10 л/га гербицида. Опытная концентрация  $C_3$  соответствует пятикратному превышению максимальной дозы 50 л/га при условии пересчета на слой пахотного горизонта 0–5 см. Внесение гербицида в почву проведено за 7 дней до посева семян тест-культур. Длительность эксперимента – 2,5 месяца, повторность четырехкратная.

В модельном эксперименте в качестве тест-культуры использовали кукурузу Фрода. Поверхностно стерилизованные (10 % раствор  $H_2O_2$ , 30 минут) семена кукурузы были инокулированы суспензиями бактерий *Pseudomonas* spp. P-6, P-7 и P-25 с титрами  $8,5\text{--}8,8 \times 10^7$  КОЕ/мл. Бактериальные суспензии готовили путем смыва двухсуточных культур, выращенных на плотной питательной среде. Контроль – семена без инокуляции. В каждый сосуд ( $\varnothing$  9 см,  $h$  = 11 см, объем почвы 500 г) высевали по 5 семян тест-культуры.

#### **Оценка влияния глифосата на фотосинтетический потенциал растений.**

Фотосинтетические показатели тест-культуры изучали в течение 2-х месяцев (от посева семян до уборки). Фотосинтетическую активность кукурузы оценивали по следующим показателям: динамика роста методом замеров, масса надземной части растений методом высушивания до постоянной массы [18], площадь листовой поверхности методом измерений с определением поправочного коэффициента (для кукурузы  $K = 0,75$ ). Содержание хлорофиллов в листьях определяли по методу Посыпанова [19]. По окончании эксперимента определены сырая и сухая масса корней растений кукурузы. Повторность в эксперименте четырехкратная.

**Методика определения содержания хлорофилла в листьях.** В соответствии с методом Г. С. Посыпанова [19] навеску листьев (0,2 г) растирали в фарфоровой ступке с добавлением отмытого речного песка, к полученной массе приливали 4–5 мл этилового спирта и продолжали растирание в течение нескольких минут. После отстаивания раствор фильтровали в мерную колбу объемом 25 мл, полученный фильтрат доводили до метки этиловым спиртом и определяли оптическую плотность экстрактов на спектрофотометре Metertech UV/VIS SP 8001.

Содержание хлорофилла а, хлорофилла b и каротиноидов в листьях растений определяли в вытяжках этилового спирта (96%) спектрофотометрическим методом (Metertech UV/VIS SP 8001) при длинах волн, соответствующих максимумам спектра поглощения исследуемых пигментов в указанном растворителе. Для хлорофилла а в вытяжке этилового спирта максимум поглощения находится при OD665, для хлорофилла b – при OD649 нм. Каротиноиды определяли при длине волны 441 нм. Концентрацию пигментов в экстракте рассчитывали по формулам [20]:  $C_a$ , (мг/л) =  $13,70 \cdot OD665 - 5,76 \cdot OD649$ ;  $C_b$ , (мг/л) =  $25,80 \cdot OD649 - 7,60 \cdot OD665$ , где OD665 – оптическая плотность раствора при длине волны 665 нм, OD649 – оптическая плотность раствора при длине волны 649 нм. Концентрацию каротиноидов (Скар., мг/л) рассчитывали по формуле: Скар. =  $4,695 \cdot OD441 - 0,268 \cdot (C_a + C_b)$ , где OD441 – оптическая плотность раствора при длине волны 441 нм;  $C_a + C_b$  – суммарное содержание хлорофиллов а и b в растворе, мг/л. Количественное содержание пигментов (мг/г сух. вещества) в экстракте рассчитывали по формуле:  $X = V \cdot C \times 100 : m \cdot 1000 \times (100 - W)$ ,  $V$  – объем спиртовой вытяжки, мл;  $C$  – концентрация пигмента в спиртовом растворе, мг/л;  $m$  – навеска, г;  $W$  – потеря веса при высушивании навески листьев, %.

В лабораторных исследованиях использовали гербицид Торнадо 500: в. р., 500 г/л глифосата кислоты (изопропиламинная соль). Изготовитель: АО Фирма «Август», Россия, ТУ 20.20.12-071-18015953-2017 г.

Для стерилизации химических реактивов и посуды используются стерилизатор паровой ГК-100-3, стерилизатор паровой ГК-10-1; облучатели ультрафиолетовые УГД-2, УГД-3.

Для культивирования бактерий и приготовления бактериальных суспензий используются: термостат ТПС – 1, шейкер орбитальный KS-501 digital IKA WERKE (GmbH & Co.KG), перемешивающее устройство ЛАБ-ПУ-01.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на международные научные данные о практически повсеместном присутствии остаточных количеств глифосата и его метаболита АМФК в почвах [1, 2], вопросы действия почвенного глифосата на развитие растений изучаются достаточно редко. В связи с этим в задачи наших исследований входило изучение влияния разных концентраций глифосата в почве на рост, развитие и фотосинтетический потенциал кукурузы.

**Влияние *Pseudomonas* spp. на всхожесть семян и развитие проростков пшеницы в зависимости от содержания глифосата в почве.** В задачи исследований входила оценка влияния концентрации глифосата на показатели всхожести семян тест-культуры (яровая пшеница), длины coleoptиле и суммарной длины корней проростков. Результаты эксперимента указывают на стрессовое действие глифосата, отмечено снижение процента всхожести семян, длины coleoptиле и суммарной длины корней проростков. Инокуляция семян штаммами *Pseudomonas* spp. P-6, P-7, P-15, P-25, P-42 оказывала значимое стимулирующее действие на фоне глифосатного стресса.

Среди представителей фосфатрастворяющих ризобактерий наибольший стимулирующий эффект оказывали штаммы *Pseudomonas* spp. P-6, P-7 и P-25: показатели всхожести повышались на 3–16 %, длина coleoptиле – на 0,14–0,60 см и длина корней проростка – на 0,21–2,36 см в зависимости от концентрации глифосата (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1

**Влияние ризобактерий р. *Pseudomonas* на показатели всхожести и развития проростков тест-культуры (яровая пшеница) в зависимости от концентрации глифосата**

Вариант	Всхожесть, %			Длина coleoptиле, см			Суммарная длина корней 1 растения, см		
	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>0</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
Контроль	87	77	67	3,19	2,84	2,37	10,29	8,80	6,05
<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	90	93	80	3,71	3,20	2,97	11,81	9,01	8,45
<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	87	80	77	3,79	3,08	2,95	12,16	9,15	8,41
<i>Pseudomonas</i> sp. P-15	80	70	60	3,54	2,82	2,78	10,56	8,10	6,28
<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	87	80	83	3,84	2,98	2,85	12,52	9,89	8,39
<i>Pseudomonas</i> sp. P-42	93	93	83	3,26	2,98	2,63	11,31	9,26	6,72
НСР <sub>0,95</sub> Факт. А (ГФ)	9,14			0,43			0,87		
Факт. В (инокуляция)	8,17			0,33			0,68		

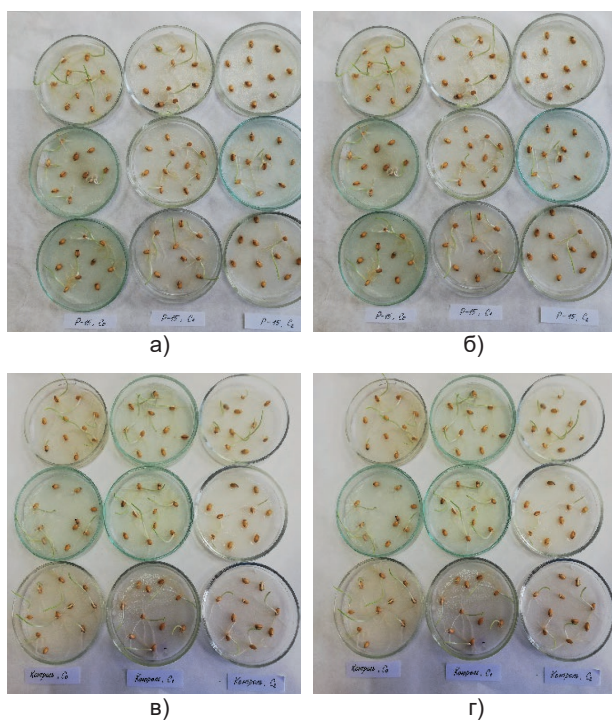


Рис. 1. Влияние ризобактерий на показатели всхожести и развития проростков тест-культуры (яровая пшеница) в зависимости от концентрации глифосата: а) *Pseudomonas* sp. P-6; б) *Pseudomonas* sp. P-15; в) *Pseudomonas* sp. P-25; г) контроль без инокуляции

**Влияние ГФ-утилизирующих ризобактерий р. *Pseudomonas* на показатели активности фотосинтеза растений кукурузы в зависимости от содержания глифосата в почве.** Для абсолютного большинства применяемых в настоящее время гербицидов основной мишенью являются процессы фотосинтеза в растениях. Основным механизмом действия глифосата (ГФ) на нежелательные растения является ингибирование фермента EPSPS в шикиматном пути биосинтеза ароматических аминокислот [21], вызывающее нарушение процесса биосинтеза белка.

Однако в современной научной литературе появляются исследования, подтверждающие действие глифосата на процессы фотосинтеза растений. В ряде научных исследований доказывается, что глифосат оказывает негативное действие на биосинтез хлорофиллов, каротиноидов и снижает их содержание в растениях [22–24]. Это актуализирует изучение влияния ГФ-утилизирующих ризосферных бактерий на рост, развитие и показатели фотосинтетической активности растений.

Модельный инокуляционный эксперимент в условиях почвенного микроекосма проведен со штаммами фосфатрастворяющих ризобактерий, показавших в предыдущем опыте лучшие результаты по действию на тест-культуру по показателям всхожести семян и развития проростков пшеницы. В инокуляционном эксперименте (рис. 2) с искусственно созданными уровнями внесения гербицида в почву изучены штаммы ризобактерий *Pseudomonas* sp. P-6, *Pseudomonas* sp. P-7 и *Pseudomonas* sp. P-25, получены данные по их влиянию на рост, развитие и показатели активности фотосинтеза растений кукурузы в зависимости от содержания глифосата в почве.

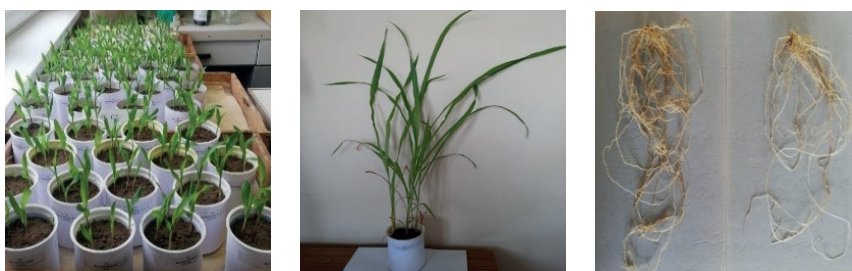


Рис. 2. Лабораторный эксперимент, тест-культура кукуруза

В результате эксперимента установлено, что повышение содержания глифосата в почве не оказывало существенного негативного действия на динамику линейного роста кукурузы Фрода (табл. 2, рис. 3). Стимулирующее действие на рост растений оказала инокуляция семян кукурузы штаммами фосфатрастворяющих ризобактерий. На начальном этапе роста наибольший положительный эффект от *Pseudomonas* spp. (8–18 %) отмечен на фоне  $C_0$ , ко времени уборки эффект от инокуляции *Pseudomonas* spp. составил 4–7 % и 2–12 % на фонах  $C_1$ – $C_3$  по сравнению с контрольными вариантами. По стимуляции роста лучшими инокулянтами для кукурузы были штаммы *Pseudomonas* sp. P-6 и *Pseudomonas* sp. P-25.

Таблица 2

**Влияние ризобактерий р. *Pseudomonas* на динамику линейного роста растений кукурузы в зависимости от содержания глифосата в почве**

$C_{ГФ}$	Инокуляция	Высота растений, см							
		16.05.23		25.05.23		06.06.23		26.06.23	
		см	%*	см	%*	см	%*	см	%*
$C_0$	Контроль	6,18	100	24,85	100	42,21	100	58,32	100
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	7,28	118	26,79	108	45,37	107	62,52	107
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	6,89	111	26,93	108	44,34	105	60,64	104
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	6,66	108	25,88	104	43,27	103	60,89	104
$C_1$	Контроль	6,11	100	23,77	100	43,77	100	59,96	100
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	5,91	97	25,17	106	45,32	104	62,36	104
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	6,51	107	26,04	110	47,43	108	65,78	110
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	6,39	105	27,42	115	46,71	107	63,20	105
$C_2$	Контроль	5,91	100	23,34	100	43,72	100	62,56	100
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	6,36	108	25,29	108	47,53	109	66,84	107
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	5,96	101	23,97	103	44,82	103	64,19	103
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	6,74	114	26,83	115	47,96	110	69,72	112
$C_3$	Контроль	6,89	100	26,16	100	44,72	100	60,20	100
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	7,40	107	30,59	117	51,08	114	66,21	110
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	7,29	106	28,04	107	48,00	107	63,02	105
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	6,55	95	28,00	107	49,05	110	65,48	109
НСП <sub>05</sub>	Фактор А (инокуляция)	0,38		1,78		2,68		2,56	
	Фактор В (доза ГФ)	0,38		1,78		2,68		2,56	

Примечание.  $C_0$  – без ГФ,  $C_1$  – 2,30 мг ГФ/кг (3,0 л/га),  $C_2$  – 7,70 мг ГФ/кг (10 л/га),  $C_3$  – 38,50 мг ГФ/кг (50 л/га); \*Действие инокуляции в % по отношению к контролю.



Рис. 3. Влияние ризобактерий р. *Pseudomonas* (контроль, штаммы P-6, P-7 и P-25) на рост кукурузы в зависимости от содержания ГФ в почве ГФ: а) – фон C<sub>0</sub> (4 сосуда слева) и C<sub>2</sub> (4 сосуда справа); б) фон C<sub>0</sub> (4 сосуда слева) и C<sub>3</sub> (4 сосуда справа)

Повышение содержания глифосата в почве практически не влияло на высоту растений кукурузы, но оказывало негативное действие на корневую систему. По данным модельного эксперимента повышение содержания глифосата в почве приводило к снижению сухой массы корней кукурузы (в расчете на 1 растение) от 0,34 г до 0,27 г на вариантах без инокуляции. Прием инокуляции семян ризобактериями р. *Pseudomonas* стимулировал развитие корневой системы, оказывая антистрессовое действие. Наиболее значимый антистрессовый эффект отмечен для штаммов *Pseudomonas* sp. P-6 и *Pseudomonas* sp. P-25 на фоне концентрации C<sub>2</sub> (7,70 мг ГФ/кг), соответствующей применению 10 л/га в полевых условиях. На фоне концентрации C<sub>3</sub> (38,50 мг ГФ/кг), соответствующей внесению 50 л/га, положительный эффект был получен от всех протестированных инокулянтов р. *Pseudomonas*. Антистрессовое действие фосфатрастворяющих ризобактерий *Pseudomonas* spp. усиливалось при повышении содержания глифосата в почве (табл. 3).

Таблица 3

**Влияние ризобактерий р. *Pseudomonas* на массу надземной части и корней кукурузы в зависимости от содержания глифосата в почве**

C <sub>ГФ</sub>	Инокуляция	Масса надземной части				Масса корней растений			
		сырая масса		сухая масса		сырая масса		сухая масса	
		г	%*	г	%*	г	%*	г	%*
C <sub>0</sub>	Контроль	3,67	100	0,58	100	2,35	100	0,34	100
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	4,06	111	0,68	117	2,89	123	0,41	121
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	3,96	108	0,65	112	2,39	102	0,36	106
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	4,11	112	0,73	126	2,48	106	0,37	109
C <sub>1</sub>	Контроль	3,46	100	0,57	100	2,22	100	0,30	100
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	3,56	103	0,59	104	2,27	102	0,31	103
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	3,68	106	0,59	104	2,24	101	0,31	103
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	3,97	115	0,63	111	2,27	102	0,30	100
C <sub>2</sub>	Контроль	3,75	100	0,51	100	1,94	100	0,28	100
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	4,27	114	0,60	118	2,38	123	0,37	132
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	4,29	114	0,63	124	2,13	110	0,28	100
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	4,13	110	0,61	120	2,07	107	0,34	121

Продолжение таблицы 3

C <sub>ГФ</sub>	Инокуляция	Масса надземной части				Масса корней растений			
		сырая масса		сухая масса		сырая масса		сухая масса	
		г	%*	г	%*	г	%*	г	%*
C <sub>3</sub>	Контроль	3,64	100	0,63	100	2,25	100	0,27	100
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	4,01	110	0,69	110	2,75	122	0,38	141
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	3,90	107	0,66	105	2,30	102	0,34	126
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	3,95	109	0,68	108	2,72	121	0,33	122
НСП <sub>05</sub> Фактор А (инокуляция)		0,48		0,04		0,14		0,02	
Фактор В (доза ГФ)		0,48		0,04		0,14		0,02	

Примечание. C<sub>0</sub> – без ГФ, C<sub>1</sub> – 2,30 мг ГФ/кг (3,0 л/га), C<sub>2</sub> – 7,70 мг ГФ/кг (10 л/га), C<sub>3</sub> 38,50 мг ГФ/кг (50 л/га); \*Действие по отношению к контролю.

Инокуляция семян кукурузы штаммами *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-6 и *Pseudomonas* sp. P-25 обеспечивала увеличение площади листовой поверхности на 4–9 % и сухой массы растений на 12–26 % по сравнению с вариантом без инокуляции на блоке без глифосата. При использовании штамма *Pseudomonas* sp. P-6 в качестве инокулянта площадь листьев кукурузы увеличивалась на 6–15 %, сухая масса – на 4–18 %; за счет применения штамма *Pseudomonas* sp. P-7 – на 6–23 % и 4–24 % и штамма *Pseudomonas* sp. P-25 – на 5–12 % и 8–20 % соответственно по отношению к контрольным вариантам (табл. 3, 4).

Таблица 4

**Влияние ризобактерий р. *Pseudomonas* на фотосинтетический потенциал растений кукурузы в зависимости от содержания глифосата в почве**

C <sub>ГФ</sub>	Инокуляция	Площадь листовой поверхности		Содержание (мг/г сух. в-ва)			
		см <sup>2</sup> /1 раст.	%	хлорофилл			каротиноиды
				a	b	a + b	
C <sub>0</sub>	Контроль	178,8	100	7,78	3,64	11,42	0,99
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	195,3	109	8,54	4,15	12,69	0,99
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	186,1	104	8,32	3,85	12,17	0,54
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	185,2	104	8,27	3,80	12,07	0,74
C <sub>1</sub>	Контроль	168,5	100	6,95	3,83	10,78	0,92
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	194,5	115	7,58	3,63	11,21	0,73
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	206,9	123	7,94	3,87	11,81	0,73
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	189,5	112	7,78	3,61	11,39	0,70
C <sub>2</sub>	Контроль	171,8	100	7,21	3,47	10,68	0,34
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	195,3	114	7,81	3,45	11,26	0,54
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	183,9	107	7,90	3,65	11,55	0,69
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	182,8	106	7,50	3,73	11,23	0,52
C <sub>3</sub>	Контроль	187,3	100	5,41	2,61	8,02	0,89
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	197,8	106	5,63	2,76	8,39	0,59
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	198,8	106	6,43	3,31	9,74	0,93
	<i>Pseudomonas</i> sp. P-25	196,0	105	5,93	2,91	8,84	0,95
НСП <sub>05</sub> Фактор А (инокуляция)		8,63		0,41	0,32	0,50	0,05
Фактор В (доза ГФ)		8,63		0,41	0,32	0,50	0,05



Таким образом, установлено положительное антистрессовое действие ризобактерий *Pseudomonas* spp. на активность процессов фотосинтеза у растений кукурузы. Под действием инокуляции отмечается рост содержания хлорофилла в листьях по сравнению с вариантами без применения ризобактерий на фонах С<sub>1</sub>, С<sub>2</sub> и С<sub>3</sub>. Прием инокуляции семян тест-культуры глифосат-утилизирующими *Pseudomonas* spp. оказывает антистрессовое действие в широком диапазоне содержания глифосата в почве.

Применение микробных инокулянтов с полезными свойствами оказывает разностороннее положительное влияние на растения. Среди основных полезных факторов при внесении микробных удобрений рассматриваются следующие – стимуляция ростовых процессов (гормональный эффект), повышение доступности элементов минерального питания, улучшение водного питания, антистрессовое действие, повышение иммунитета растений, фунгистатическое действие на развитие патогенных грибов.

Многие исследователи считают гормональный эффект и антистресс наиболее значимыми механизмами действия микробных инокулянтов на растения. Стимуляция развития корневой системы повышает способность инокулированных растений использовать элементы минерального питания и воду из почвы. Улучшение водного питания часто является одним из основных положительных факторов инокуляции.

Антистрессовое действие микробных инокулянтов на растения также считается одним из важных механизмов их взаимодействия. В литературе имеются сообщения, подтверждающие, что в стрессовых условиях инокуляция улучшает развитие растений благодаря продуцированию биологически активных веществ внесенными микроорганизмами [13]. Наиболее вероятно, что повышение урожайности, наблюдаемое при использовании микробных удобрений, обусловлено совместным действием вышеперечисленных факторов.

## ВЫВОДЫ

Проведена серия модельных инокуляционных экспериментов по культивированию кукурузы Фрода в условиях почвенного микрокосма с искусственно созданными уровнями содержания глифосата в почве: 0; 3; 10 и 50 л/га гербицида в полевых условиях. Результаты экспериментов показали стрессовое действие почвенного глифосата на развитие растений, отмечено снижение процента всхожести семян, замедление роста и снижение активности фотосинтеза. Прием инокуляции семян глифосат-утилизирующими ризобактериями *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-6 и *Pseudomonas* sp. P-25 оказывает полифункциональное антистрессовое действие на растение в широком диапазоне содержания глифосата в почве, которое проявляется в стимуляции роста, развития корневой системы, повышении фотосинтетического потенциала за счет увеличения ассимиляционной поверхности листьев и содержания хлорофиллов. Антистрессовое действие псевдомонад усиливается при повышении содержания глифосата в почве.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Recent advances in glyphosate biodegradation / H. Zhan [et al.] // Applied Microbiol. Biotech. – 2018. – Vol. 102. – P. 5033–5043.

2. Microbial degradation of glyphosate herbicides (review) / A. V. Sviridov [et al.] // Appl Biochem Microbiol. – 2015. – Vol. 51(2). – P. 188–195.
3. Nomura, N. S. The adsorption and degradation of glyphosate in five Hawaiian sugarcane soils / N. S. Nomura, H. W. Hilton // Weed Research. – 1977. – Vol. 17. – P. 113–121.
4. Duke, S. O. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide / S. O. Duke, S. B. Powles // Pest Manage Sci. – 2008. – Vol. 64(4). – P. 319–325.
5. Bai, S. H. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination / S. H. Bai, S. M. Ogbourne // Environ. Sci. Pollut. Res. – 2016. – Vol. 23(19). – P. 18988–19001.
6. Carlisle, S. M. Glyphosate in the Environment / S. M. Carlisle, J. T. Trevors // Water, Air and Soil Poll. – 1988. – Vol. 39. – P.409–420.
7. Жариков, М. Г. Эколого-токсикологическая оценка многолетнего применения глифосата на дерново-подзолистой почве и биоремедиация загрязненных территорий: дис. ... канд биол. наук: 03.01.06 / М. Г. Жариков; ВАК РФ. – М., 2012.
8. Кононова, С. В. Фосфонаты и их деградация микроорганизмами / С. В. Кононова, М. А. Несмеянова // Биохимия. – 2002. – Т. 67. Вып. 2. – С. 220–233.
9. Шушкова, Т. В. Биодеструкция глифосата почвенными бактериями: дис. ... канд. биол. наук: 03.01.06 / Т. В. Шушкова; ВАК РФ. – М., 2010.
10. Биодegradация фосфорорганических загрязнителей почвенными бактериями: биохимические аспекты и нерешенные проблемы / А. В. Свиридов [и др.] // Биотехнология. – 2020. – Т. 36, № 4. – С. 126–135.
11. Микробная деструкция органофосфонатов почвенными бактериями / И. Т. Ермакова [и др.] // Микробиология. – 2008. – Т. 77, № 5. – С. 689–695.
12. Metabolism of Glyphosate in *Pseudomonas* sp. strain Lbr. / G. S. Jacob [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 1988. – Vol. 54(12). – P. 2953–2958.
13. Kishore, G. M. Degradation of glyphosate by *Pseudomonas* sp. PG2982 via a sarcosine intermediate / G. M. Kishore, G. S. Jacob // J. Biol. Chem. – 1987. – Vol. 262(25). – P. 12164–12168.
14. Влияние фосфатмобилизирующих бактерий на ростовые процессы, урожайность и фитопатологическое состояние посевов зерновых культур на дерново-подзолистых супесчаных почвах / Н. А. Михайловская [и др.] // Почвоведение и агрохимия. – 2012. – № 1(48). – С. 136–149.
15. Активность фосфатмобилизации у ризобактерий / Н. А. Михайловская [и др.] // Почвоведение и агрохимия. – 2007. – № 1(38). – С. 225–231.
16. Скрининг зональных изолятов *Pseudomonas* spp. по устойчивости к глифосату и способности утилизировать его как источник углерода и фосфора / Н. А. Михайловская [и др.] // Почвоведение и агрохимия. – 2021. – № 1(38). – С. 225–231.
17. Скрининг фосфатрастворяющих ризобактерий *Pseudomonas* spp. по активности роста в зависимости от содержания глифосата в жидкой среде Дворкина-Фостера / Михайловская [и др.] // Почвоведение и агрохимия. – 2023. – № 1(70). – С. 136–148.
18. Лапа, В. В. Применение удобрений и качество урожая / В. В. Лапа, В. Н. Босак. – Минск, 2006. – 120 с.
19. Посыпанов, Г. С. Методы изучения биологической фиксации азота воздуха / Г. С. Посыпанов. – М.: Агропромиздат, 1991. – 299 с.
20. Lichtenthaler, H. K. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy / H. K. Lichtenthaler and, C. Bussman // Curr. Protoc. Food

Anal. Chem. – 2001. – P. 1–8.

21. *Haslam, E.* The shikimate pathway: biosynthesis of natural products series / E. Haslam // Elsevier, New York. – 2014.

22. *Fedtke, K.* Herbicides / K. Fedtke, S. Duke // Plant toxicology / Hock B, Elstner E, eds. – New York: Marcel Dekker. – 2005. – P. 247–330.

23. Glyphosate-Dependent Inhibition of Photosynthesis in Willow / M.P. Gomes [et al.] // Front. Plant Sci. – 2016. – Vol. 8. – P. 150–164.

24. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: an overview / M. P. Gomes [et al.] // J. Exp. Bot. – 2014. – Vol. 65, № 17. – P. 4691–4703.

### **EFFECT OF RHYZOBACTERIA *PSEUDOMONAS* SPP. ON PHOTOSYNTHETIC POTENTIAL OF MAIS UNDER DIFFERENT GLYPHOSATE CONTENT IN SOIL**

**N. A. Mikhailouskaya, S. A. Kasyuntchyk, T. B. Barashenko,  
T. V. Pogiritskaya, S. V. Dyusova**

#### **Summary**

Cultivation of *Zea Mais*, Frodo under soil microcosm conditions in model experiments with different glyphosate content in soil: C<sub>0</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> and C<sub>3</sub>, which corresponding the application of 0; 3,0; 10,0 and 50,0 liters of herbicide per hectare. Experimental data showed that seed inoculation by rhizobacteria *Pseudomonas* spp. provided anti-stress effect on cultivated plants at high diapason of glyphosate content in soil. Anti-stress action of inoculation procedure realized in plant growth promotion, root stimulation, as well as in the increase of leaf's assimilation area and chlorophylls content in leaves.

*Поступила 13.12.23*