

The standard removal from 1 ton of hybrid winter rye grain and the corresponding amount of straw on medium-cultivated sod-podzolic sandy loam soil was: nitrogen – 15,6 kg, phosphorus – 6,3 kg, potassium – 14,8 kg: on highly cultivated light loamy soil it was higher and amounted to: nitrogen – 18.3 kg/t, phosphorus – 8,2 kg/t, potassium – 16,8 kg/t.

Поступила 08.12.25

УДК 631.847.22

БИОДЕГРАДАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИХ РИЗОБАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS* spp. ПО ОТНОШЕНИЮ К ГЛИФОСАТУ

**Н. А. Михайловская¹, С. С. Романенко¹, Т. В. Погирницкая¹,
Т. Б. Барашенко¹, С. В. Дюсова¹, А. Л. Новик²**

*¹Институт почвоведения и агрохимии,
г. Минск, Беларусь*

*²Белорусский национальный технический университет,
г. Минск, Беларусь*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время гербицид глифосат (ГФ) широко применяется во всем мире. Общепринятым является мнение, что в почве глифосат быстро инактивируется из-за связывания с глинистыми частицами, а также железом и алюминием в составе оксидов и гидроксидов [1]. Однако ряд исследований показывают, что существует реальная опасность отрицательного последствия глифосата на человека и природу.

При деградации около 70 % глифосата образуется аминотетрагидрофурановая кислота (АМФК), которая также обладает гербицидным действием, а ее токсическое действие на человека в несколько раз сильнее, чем самого глифосата. В тканях сельскохозяйственных животных, получавших на корм устойчивые к действию гербицида генно-модифицированные кормовые культуры, зарегистрировано от 0,05 до 1,6 мг/кг глифосата. Особенно высокая концентрация его обнаруживается в почках и печени [2].

В опытах как на клеточных культурах, так и на животных (*in vivo*) была установлена способность даже небольших концентраций глифосата вызывать окислительный (оксидативный) стресс. Это связано со способностью ГФ связывать ряд ионов (марганца, меди, кобальта, железа, цинка, кальция и магния), что ведет к нарушению функций митохондрий, нарушению процесса окислительного фосфорилирования и образованию больших количеств активных форм кислорода [3].

Целый ряд эпидемиологических исследований выявил тесную корреляцию между возросшим применением глифосата и повышением частоты выявления таких нарушений со стороны нервной системы, как развитие аутизма и старческого слабоумия. Авторы связывают это со способностью глифосата вызывать

состояние окислительного стресса не только в периферических органах, но и в клетках головного мозга [4].

Фитотоксичность аминотетилфосфоновой кислоты также была неоднократно подтверждена. Установлено, что АМФК ингибирует биосинтез хлорофилла и нарушает проводимость устьиц [5]. Также, согласно проведенным биоинформатическим оценкам, большинство прокариот может угнетаться глифосатом [6]. Изменения в составе микробного сообщества впоследствии оказывают влияние на экологические функции микроорганизмов в почве, включая круговорот биофильных элементов, образование почвенных агрегатов и биодegradацию органических соединений. Поэтому такое воздействие на микроорганизмы отражается на плодородии почвы и урожайности сельскохозяйственных культур [1].

Глифосат – слабая органическая кислота, молекула которой состоит из фосфометильной и глициновой части. Она устойчива к фотолизу и гидролизу, однако хорошо подвергается аэробному и анаэробному микробиологическому разложению. ГФ в почве увеличивает количество микроорганизмов, способных его метаболизировать, и уменьшает количество сапрофитных грибов, которые разлагают растительные остатки.

Бактерии способны метаболизировать ГФ с помощью ферментативных систем C–P лиазы и фермента оксидоредуктазы до безопасных веществ (саркозин, фосфат и глиоксилат) путем расщепления связей углерод-фосфор и карбоксиметил-азот глифосата и использовать его фосфатные, азотные и углеродные ионы в качестве питания [7]. Преимущественная деградация глифосата с образованием АМФК широко распространена в пахотных почвах, что связано с присутствием в них легкодоступных источников фосфора, вносимых с удобрениями, в то время как микробиологическое разрушение связи C–P наблюдается в условиях низкой концентрации доступных фосфатов [8].

Для снижения негативных последствий многократного применения ГФ необходима периодическая ремедиация активными деструкторами [9–12]. Применение бактерий-деструкторов, способных разлагать ГФ до безопасных химических продуктов, обосновано с экологических и экономических позиций. Безопасная детоксикация ГФ предполагает применение бактериальных деструкторов, использующих ГФ как источник фосфора, при этом фосфоновая C–P связь в молекуле гербицида разрушается с образованием неорганического фосфата. Такие бактериальные деструкторы имеют активные C–P лиазные ферментные системы [10, 11]. В пределах одного рода бактерий только отдельные штаммы имеют активные C–P лиазы и способны обеспечивать детоксикацию ГФ.

Мировые исследования подтверждают существование фосфатнезависимой C–P лиазы у многих штаммов глифосатутилизирующих бактерий. Большинство исследователей ставят бактерии рода *Pseudomonas* sp. на передний план в разложении ГФ [13–18].

В ходе поиска биодеструкторов и путей деградации ГФ и АМФК среди ризосферных бактерий, имеющих в исследовательской коллекции Института почвоведения и агрохимии, было выявлено, что ризобактерии рода *Pseudomonas*, которые проявляют способность растворять труднодоступные (трехзамещенные) почвенные фосфаты, характеризуются деструктивной активностью по отношению к глифосату.

Цель исследований – изучение биодegradационного потенциала фосфатмобилизирующих штаммов ризосферных бактерий *Pseudomonas* spp. по отношению к глифосату с оценкой их деструктивной активности.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований служили ранее отобранные наиболее активные ГФ-утилизирующие коллекционные штаммы ризосферных бактерий р. *Pseudomonas* spp. (*Pseudomonas* sp. P-6, *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-11, *Pseudomonas* sp. P-15 и *Pseudomonas* sp. P-42) из фонда исследовательской коллекции.

Для определения продуктов биodeградации глифосата проведены *in vitro* эксперименты по культивированию фосфатмобилизующих ризобактерий в модифицированной жидкой питательной среде Дворкина-Фостера с разным содержанием гербицида в качестве источника фосфора. Состав среды (г/л): глюкоза – 5,0 г/л, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,375, MgSO_4 – 0,075, CaCO_3 – 0,03, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001; H_3BO_3 – 0,000001, MnSO_4 – 0,000001; дрожжевой экстракт – 0,0053; трис-буфер – 6,05; (рН до 7,0; автоклавирование при 121 °С, 1,5 атм., 15 мин.). Стерильный 10%-й раствор глюкозы (0,5 атм, 15 мин.) и 50%-й раствор Торнадо (110 °С, 20 мин) готовили отдельно и вносили в питательную среду непосредственно перед использованием.

В ходе исследований в три конические колбы (V 500 мл) с 300 мл жидкой питательной среды вносили разные дозы гербицида Торнадо (C_1 , C_2 и C_3) из расчета до конечной концентрации 1,0, 2,0 и 3,0 мг/мл. В колбы прибавляли по 5,0 мл исследуемой посевной бактериальной культуры, тщательно перемешивали. Инокулированную среду разливали в три стерильные конические колбы объемом 250 мл по 100 мл в каждую (повторность в опыте трехкратная). Культуры бактерий инкубировали в термостате при температуре 28 °С с периодическим перемешиванием на шейкере орбитальном KS-501 digital IKA WERKE (GmbH&Co.KG) при 80 об/мин) в течение двух недель. Контроль: среда без внесения гербицида и среда с внесением ГФ (C_1 , C_2 и C_3).

В качестве посевного материала использовали двухсуточные культуры отобранных ранее наиболее активных по утилизации ГФ коллекционных штаммов ризобактерий *Pseudomonas* spp. (P-6, P-7, P-11, P-15 и P-42), выращенных на плотном агаре. Бактериальные культуры смывали физиологическим раствором и разбавляли до концентрации $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл.

Для изучения биодеструкции ГФ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) использовали бесклеточные экстракты *Pseudomonas* spp., полученные путем центрифугирования культуральных жидкостей ризобактерий при 5000 об/мин в течение 30 мин и фильтровании надосадочных жидкостей через мембранный фильтр с диаметром пор 0,2 мкм.

Хроматографическую подвижность R_f глифосата и продуктов его деградации ризосферными бактериями *Pseudomonas* spp. (P-6, P-7, P-11, P-15, P-42) определяли на пластинках Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ на алюминиевой подложке с силикагелем в качестве сорбента при вертикальном элюировании в системе растворителей изопропанол : 5%-й водный NH_4OH в соотношении 1 : 1 (V/V).

Для мониторинга жизнеспособности ризобактерий в *in vitro* экспериментах проводили определение оптической плотности инкубационной смеси (OD при $\lambda = 500$ нм) на спектрофотометре UV/VIS SP 8001. После окончания эксперимента определяли жизнеспособность клеток бактерий. Для этого проводили посев соответствующих разведений культуральной жидкости бактерий (разные concentra-

ции ГФ) на картофельный агар. Результаты считали достоверными при отклонении величин в пределах $\pm 5\%$.

В целях определения активности деструкции глифосата штаммами *Pseudomonas* sp. P-6, *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-11, *Pseudomonas* sp. P-15 и *Pseudomonas* sp. P-42 проведены лабораторные эксперименты по культивированию ризобактерий в жидкой среде Дворкина-Фостера с содержанием 300 мг ГФ/л и 500 мг ГФ/л (0,3 мг ГФ/мл и 0,5 мг ГФ/мл) в качестве источника фосфора. Оценку деструктивной активности ризобактерий *Pseudomonas* spp. осуществляли по накоплению неорганического фосфата (Pi) в бесклеточной культуральной жидкости (БКЖ). Концентрацию неорганического фосфора определяли по методу Мэрфи и Райли [19]. В мерные колбы (объем 50 мл) отбирали по 2 мл БКЖ и доводили до метки дистиллированной водой. Тщательно перемешивали. Для определения содержания неорганического фосфата в пробирки отбирали по 5 мл разбавленной БКЖ, приливали 1 мл окрашивающего раствора и выдерживали 10 минут при комнатной температуре для полного развития окраски. Оптическую плотность (OD_{710}) окрашенного раствора измеряли на спектрофотометре Metertech UV-VISSP 8001. В присутствии неорганического фосфата раствор окрашивается в голубой цвет с фиолетовым оттенком.

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.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовательской коллекции ризобактерий Института почвоведения и агрохимии имеются штаммы фосфатмобилизующих бактерий рода *Pseudomonas*. Коллекционные ризобактерии этой группы микроорганизмов обладают PGP-потенциалом (ростостимулирующим эффектом на растения), способны к растворению ортофосфата кальция и обладают фунгистатическим действием против корневых гнилей. Действие отдельных штаммов *Pseudomonas* spp. (P-6, P-7, P-16, P-25 и P-28) на растения изучены в полевых, вегетационных и модельных лабораторных опытах. Установлено, что они повышают урожайность сельскохозяйственных культур, улучшают качество продукции, оказывают положительное влияние на фотосинтетический потенциал растений [20, 21].

В серии лабораторных *in vitro* исследований установлено, что фосфатрастворяющие ризобактерии *Pseudomonas* spp. способны расти на твердых и в жидких питательных средах в присутствии глифосата, как источника фосфора, и способны к его утилизации. Наибольшей активностью обладали штаммы *Pseudomonas* sp. P-6, *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-11, *Pseudomonas* sp. P-15 и *Pseudomonas* sp. P-42, которые и были отобраны для дальнейшей работы [22]. Для установления продуктов биodeградации глифосата этими штаммами ризобактерий и количественной оценки их деструктивной активности проведена серия лабораторных экспериментов.

Необходимо отметить сложность проблемы идентификации глифосата в смесях, которая обусловлена его химическими свойствами. Молекула глифосата содержит фрагмент фосфоновой кислоты, фрагмент карбоновой кислоты и аминогруппу. Глифосат проявляет свойства трех классов химических соединений, что усложняет

его идентификацию. В молекулах ГФ и АМФК отсутствуют хромофоры, поэтому невозможно использование спектральных методов для определения этих веществ в видимой части спектра. В настоящее время основными методами идентификации глифосата являются хроматография (жидкостная, газовая, ионная), сочетание хроматографии с масс-спектрометрией и тонкослойная хроматография [23].

Хроматография в тонком слое сорбента является доказательным экспресс-методом разделения и идентификации малых количеств органических соединений и широко используется, в том числе для идентификации продуктов катаболизма глифосата в культуральной жидкости ГФ-утилизирующих ризобактерий [24, 25]. Важным показателем в тонкослойной хроматографии является величина R_f -коэффициент подвижности, который представляет собой отношение расстояния, пройденного пятном вещества, к расстоянию, пройденному фронтом растворителя от линии старта. По этому критерию проводят распознавание компонентов в смеси.

Глифосат и продукты его деградации по химической классификации относятся к аминам. Для их обнаружения ТСХ-пластину опрыскивали раствором нингидрина в ацетоне (0,25 %), нагревали в течение 1–2 мин при 80 °С [24, 26]. Сначала на хроматограмме проявляются первичные амины (глицин и аминометилфосфоновая кислота), а потом – вторичные амины (глифосат и саркозин). Наибольшей хроматографической подвижностью в системе «изопропанол – 5%-й раствор аммиака» обладает глицин, а наименьшей – аминометилфосфоновая кислота.

В результате проведения экспериментов получены хроматограммы бесклеточных экстрактов ризобактерий *Pseudomonas* spp. после двух недель инкубации при содержании ГФ в среде 1,0, 2,0 и 3,0 мг/мл. Анализ ТСХ-хроматограмм (рис.) показывает, что протестированные штаммы ризобактерий *Pseudomonas* spp. (P-6, P-7, P-11, P-15, P-42) нашей коллекции разлагают глифосат, в культуральной жидкости он практически отсутствует. Аминометилфосфоновой кислоты ($R_f = 0,25 \pm 0,01$) среди продуктов катаболизма не обнаружено. На ТСХ-хроматограмме регистрируется новое вещество с более высокой хроматографической подвижностью, R_f которого выше, чем глифосата ($R_f = 0,33 \pm 0,010$) и близкое к саркозину (метилглицину, $R_f = 0,54 \pm 0,022$).

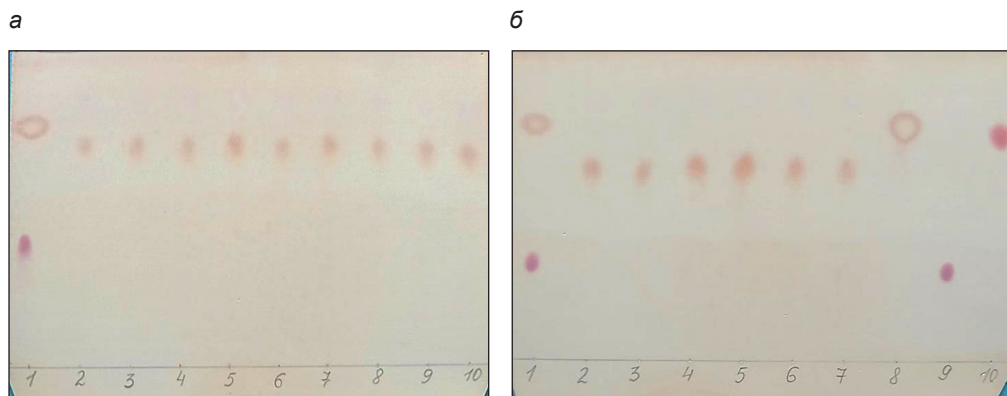


Рис. ТСХ-хроматограммы БКЖ штаммов *Pseudomonas* sp. P-6 (2–4 а), *Pseudomonas* sp. P-7 (5–7 а), *Pseudomonas* sp. P-11 (8–10 а), *Pseudomonas* sp. P-15 (2–4 б) и *Pseudomonas* sp. P-42 (5–7 б); вещества-свидетели: глифосат + глицин (1 а, 1 б), глицин (8 б), глифосат (9 б)

Исходя из анализа хроматограмм БКЖ штаммов *Pseudomonas* spp. следует, что отобранные пять штаммов ГФ-утилизирующих ризобактерий метаболизируют глифосат до безопасного метилглицина без образования АМФК, что, судя по всему, связано с разрывом фосфоновой связи в молекуле гербицида благодаря С–Р лиазной активности рассматриваемых нами штаммов.

В процессе катаболизма глифосата по фосфоновой С–Р связи в культуральной жидкости бактерий накапливался неорганический фосфор (Pi), содержание которого дает возможность дать количественную оценку деструктивной активности штаммов *Pseudomonas* spp. (P-6, P-7, P-11, P-15, P-42) нашей коллекции. В целях определения деструктивной активности ризобактерий по накоплению неорганического фосфата (Pi) выполнены лабораторные эксперименты по культивированию коллекционных ризобактерий *Pseudomonas* spp. в жидкой среде Дворкина-Фостера с разным содержанием глифосата (C₁ – 300 мг/л и C₂ – 500 мг/л) в качестве источника фосфора.

Содержание неорганического фосфата в БКЖ по методу Мэрфи и Райли проводили с использованием традиционного колориметрического метода. Показатели оптической плотности (OD₇₁₀) БКЖ ГФ-утилизирующих бактерий *Pseudomonas* sp. P-6, *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-11, *Pseudomonas* sp. P-15 и *Pseudomonas* sp. P-42 приведены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели оптической плотности (OD₇₁₀) БКЖ ризобактерий *Pseudomonas* spp.

Штамм	C _{ГФ} мг/л	OD ₇₁₀			
		1	2	3	4
<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	300	0,078	0,073	0,079	0,073
	500	0,106	0,105	0,113	0,113
<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	300	0,072	0,072	0,067	0,068
	500	0,113	0,111	0,106	0,115
<i>Pseudomonas</i> sp. P-11	300	0,089	0,082	0,097	0,071
	500	0,127	0,129	0,119	0,117
<i>Pseudomonas</i> sp. P-15	300	0,071	0,073	0,079	0,079
	500	0,104	0,109	0,121	0,123
<i>Pseudomonas</i> sp. P-42	300	0,086	0,085	0,115	0,113
	500	0,120	0,118	0,136	0,134

В таблице 2 приведены количественные данные (мг/л) по содержанию неорганического фосфата (Pi) в БКЖ штаммов *Pseudomonas* spp., рассчитанные по калибровочному графику с учетом разбавления и использования калибровочного коэффициента (K = 1,1) для спектрофотометра Metertech UV/VIS SP 8001 и в пересчете на 1 л объема. Результаты считали достоверными при отклонении величин в пределах ± 5 %.

Таблица 2

Содержание неорганического фосфата (Pi) в БКЖ ГФ-утилизирующих бактерий *Pseudomonas* spp.

Штамм	C _{ГФ} мг/л	Содержание неорганического фосфата (Pi), мг/л				
		1	2	3	4	среднее
<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	300	21,5	20,1	21,7	20,1	20,9
	500	29,2	28,9	31,1	31,1	30,1

Штамм	C _{ГФ} мг/л	Содержание неорганического фосфата (Pi), мг/л				
		1	2	3	4	среднее
<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	300	19,8	19,8	18,4	18,7	19,2
	500	31,1	30,5	29,2	31,6	30,6
<i>Pseudomonas</i> sp. P-11	300	24,5	22,6	26,7	19,5	23,3
	500	34,9	35,5	32,7	32,2	33,8
<i>Pseudomonas</i> sp. P-15	300	19,5	20,1	21,7	21,7	20,8
	500	28,6	30,0	33,3	33,8	31,4
<i>Pseudomonas</i> sp. P-42	300	23,7	23,4	31,6	31,1	27,5
	500	33,0	32,5	37,4	36,9	35,0
HCP _{0,5} фактор А (штамм) – 2,19 фактор В (C _{ГФ}) – 1,39 фактор АВ – 3,10						

На основании количественных данных по содержанию неорганического фосфата (Pi) в БКЖ и с учетом химического состава глифосата рассчитаны показатели деструктивной активности пяти штаммов ризобактерий *Pseudomonas* spp. Установлено, что при концентрации глифосата 300 мг/л деструктивная активность *Pseudomonas* sp. P-6, *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-11, *Pseudomonas* sp. P-15 и *Pseudomonas* sp. P-42 находилась в диапазоне 45,8–65,6 %. (табл. 3).

Таблица 3

Деструктивная активность ГФ-утилизирующих штаммов бактерий *Pseudomonas* spp. при исходной концентрации глифосата 300 мг/л

Штамм	Накопление неорганического фосфата (Pi) за 7 дней инкубации, мг/л	Разложилось глифосата, мг/л	Деструктивная активность, %
<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	20,9	149,6	49,9
<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	19,2	137,4	45,8
<i>Pseudomonas</i> sp. P-11	23,3	166,7	55,6
<i>Pseudomonas</i> sp. P-15	20,8	148,9	49,6
<i>Pseudomonas</i> sp. P-42	27,5	196,8	65,6

При концентрации глифосата 500 мг/л активность деструкции ГФ пятью штаммами ризобактерий *Pseudomonas* spp. (P-6, P-7, P-11, P-15, P-42) находилась в пределах 43,1–50,1 % (табл. 4).

Таблица 4

Деструктивная активность ГФ-утилизирующих штаммов бактерий *Pseudomonas* spp. при исходной концентрации глифосата 500 мг/л

Штамм	Накопление неорганического фосфата (Pi) за 7 дней инкубации, мг/л	Разложилось глифосата, мг/л	Деструктивная активность, %
<i>Pseudomonas</i> sp. P-6	30,1	215,4	43,1
<i>Pseudomonas</i> sp. P-7	30,6	219,0	43,8
<i>Pseudomonas</i> sp. P-11	33,8	241,9	48,4
<i>Pseudomonas</i> sp. P-15	31,4	224,7	44,9
<i>Pseudomonas</i> sp. P-42	35,0	250,5	50,1

ВЫВОДЫ

Проведена серия *in vitro* экспериментов по культивированию ризобактерий *Pseudomonas* sp. P-6, *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-11, *Pseudomonas* sp. P-15 и *Pseudomonas* sp. P-42 исследовательской коллекции Института почвоведения и агрохимии в жидких средах с глифосатом как источником фосфора. Результаты экспериментов показали, что все пять штаммов ризобактерий проявляют биодеградационную способность по отношению к глифосату. Согласно данным планарной хроматографии процесс катаболизма глифосата осуществляется по саркозиновому пути без выявления токсичной аминотетилфосфоновой кислоты, с образованием безопасного метилглицина.

Деструктивная активность коллекционных штаммов *Pseudomonas* sp. P-6, *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-11, *Pseudomonas* sp. P-15 и *Pseudomonas* sp. P-42, рассчитанная по накоплению неорганического фосфата (Pi) в культуральной жидкости, при концентрации глифосата 300 мг/л составила 49,9 %, 45,8 %, 55,6 %, 49,6 % и 65,6 %, при концентрации глифосата 500 мг/л – 43,1 %, 43,8 %, 48,4 %, 44,9 % и 50,1 % соответственно. Штаммы этих ризосферных бактерий могут рассматриваться в качестве деструкторов глифосата для биоремедиации загрязненных природных объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Borggaard, O. K. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review / O. K. Borggaard, L. Gimsing // *Pest Management Science*. – 2008. – Vol. 64. – P. 441–456.
2. Bai, S. H. Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination / S. H. Bai, S. M. Ogbourne // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2016. – Vol. 23(19). – P. 18988–19001. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7425-3>
3. Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits, / R. Mesnage, N. Defarge, J. Spiroux de Vendomois, G.E. Sйralini // *Food and Chemical Toxicology*. – 2015. – Vol. 84. – P. 133–153. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.08.012>.
4. Swanson, N. L. Genetically engineered crops, glyphosate and the deterioration of health in the United States of America. / N. L. Swanson, A. Leu, J. Abrahamson, B. Wallet // *Journal of Organic Systems*. – 2014. – Vol. 9. – P. 6–37.
5. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: an overview / M. P. Gomes., E. Smedbol, A. Chalifour [et al.] // *Journal of Experimental Botany*. – 2014. – Vol. 65. – P. 4691–4703.
6. Antibacterial activity and mechanism of action of phosphonopeptides based on aminomethylphosphonic acid / F. R. Atherton, M. J. Hall, C. H. Hassall [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 1982. – Vol. 22. – P. 571–578.
7. Glyphosate: monograph / M. Watts, P. Clausen, A. Lyssimachou [et al.]. – Malaysia: Pesticide Action Network, 2016. – 95 p. – URL: <https://pan-international.org/wp-content/uploads/Glyphosate-monograph.pdf> (date of access: 14.04.2025).
8. Dick, R. E. Glyphosate-degrading isolates from environmental samples: occurrence and pathways of degradation / R. E. Dick, J. P. Quinn // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 1995. – Vol. 43. – P. 545–550.

9. Recent advances in glyphosate biodegradation / H. Zhan, Y. Feng, X. Fan, S. Chen // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2018. – Vol. 102. – P. 5033–5043.

10. Kamat, S. S. The enzymatic conversion of phosphonates to phosphate by bacteria / S. S. Kamat, F. M. Raushel // *Current Opinion in Chemical Biology*. – 2013. – Vol. 17. – № 4. – P. 589–596. – Doi: 10.1016/j.cbpa.2013.06.006.

11. Биодegradация фосфорорганических загрязнителей почвенными бактериями: биохимические аспекты и нерешенные проблемы / А. В. Свиридов, Т. В. Шушкова, Д. О. Эпиктетов [и др.] // *Биотехнология*. – 2020. – Т. 36, № 4. – С. 126–135. – Doi: 10.21519/0234-2758-2020-36-4-126-135.

12. Михайловская, Н. А. Глифосат и аминометилфосфоновая кислота в природных средах и их микробная трансформация (обзор) / Н. А. Михайловская // *Весті НАН Беларусі. Серыя аграрных навук*. – 2024. – Т. 62, № 2. – С. 114–125.

13. Kishore, G. M. Degradation of glyphosate by *Pseudomonas* SP-PG2982 via a sarcosine intermediate / G. M. Kishore, G. S. Jacob // *Journal of Biological Chemistry*. – 1987. – Vol. 262. – Iss. 25. – P. 12164–12168. – Doi: 10.1016/S0021-9258(18)45331-8.

14. Environmental health criteria 159. Glyphosate. International programme on chemical safety // IPCS INCHEM Home – URL: <https://incchem.org/documents/ehc/ehc/ehc159.htm> (date of access: 02.05.2025).

15. Glyphosate induced specific and widespread perturbations in the metabolome of soil *Pseudomonas* species / L. Aristilde, M. L. Reed, R. A. Wilkes [et al.] // *Frontiers in Environmental Science*. – 2017. – Vol. 5. – Doi: 10.3389/fenvs.2017.00034.

16. Groom, E. Control of glyphosate uptake and metabolism in *Pseudomonas* sp. 4ASW / E. Groom, J. P. Quinn // *FEMS Microbiology Letters*. – 1995. – Vol. 134. – Iss. 2–3. – P. 177–182. – Doi: 10.1111/j.1574-6968.1995.tb07934.x.

17. Мкрпума, Д. У. М. Е. Isolation, characterization and biodegradation assay of glyphosate utilizing bacteria from exposed rice farm / D. U. M. E. Мкрпума, V. O. E. Simeon // *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*. – 2015. – Vol. 5. – Iss. 5. – P. 96–109. – URL: <https://www.iiste.org/Journals/index.php/JBAH/article/download/20632/21566> (date of access: 05.05.2025).

18. Characterization of a New *Pseudomonas Putida* Strain Ch2, a Degradator of Toxic Anthropogenic Compounds Epsilon-Caprolactam and Glyphosate / T. Z. Esikova, T. O. Anokhina, N. E. Suzina [et al.] // *Microorganisms*. – 2023. – Vol. 11. – Iss. 3. – P. 650. – Doi: 10.3390/microorganisms11030650.

19. Murphy, J. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters / J. Murphy, J. P. Riley // *Analytica Chimica Acta*. – 1962. – Vol. 27. – P. 31–36. [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(00)88444-5)

20. Влияние фосфатмобилизирующих бактерий на ростовые процессы, урожайность и фитосанитарное состояние посевов зерновых культур на д-п супесчаных почвах / Н. А. Михайловская, И. М. Богдевич, О. Миканова [и др.] // *Почвоведение и агрохимия*. – 2012. – № 1(48). – С. 136–149.

21. Влияние ризобактерий р. *Pseudomonas* на фотосинтетический потенциал кукурузы в присутствии глифосата в почве / Н. А. Михайловская, С. А. Касьянчик, Т. Б. Барашенко [и др.] // *Почвоведение и агрохимия*. – 2023. – № 2(71). – С. 80–90.

22. Скрининг фосфатрастворяющих ризобактерий *Pseudomonas* spp. по активности культурального роста в зависимости от содержания глифосата в жидкой

среде Дворкина-Фостера / Н. А. Михайловская, С. А. Касьянчик, Т. Б. Барашенко [и др.] // Почвоведение и агрохимия. – 2023. – № 1(70). – С. 136–148.

23. Лапа, В. В. Способность калиймобилизирующих бактерий *Bacillus* метаболизировать гербицид глифосат с образованием метилглицина / В. В. Лапа, Н. А. Михайловская, Т. В. Погирницкая // Доклады НАН Беларуси. – 2025. – № 3 (69). – С. 258–264.

24. Zelenkova, N. F. Determination of glyphosate and its biodegradation products by chromatographic methods / N. F. Zelenkova, N. G. Vinokurova // Journal of Analytical Chemistry. – 2008. – Vol. 63. – № 9. – P. 871–874. <https://doi.org/10.1134/s106193480809013x>

25. Ragab, M. T. H. Thin-layer chromatographic detection of glyphosate herbicide (N-phosphonomethyl glycine) and its aminomethyl phosphonic acid metabolite / M. T. H. Ragab // Chemosphere. – 1978. – Vol. 7. – No 2. – P. 143–153. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(78\)90041-3](https://doi.org/10.1016/0045-6535(78)90041-3)

26. Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочник: в 2 т. / М. А. Клисенко, А. А. Калинина, К. Ф. Новикова, Г. А. Хохолькова. – М.: Агропромиздат, 1992. – Т. 2. – 416 с.

BIODEGRADATION POTENTIAL OF PHOSPHATE-MOBILIZING RHIZOBACTERIA *PSEUDOMONAS* SPP. TOWARDS GLYPHOSATE

N. A. Mikhailouskaya, S. S. Romanenko, T. V. Pogirnitskaya, T. B. Barashenko, S. V. Dyusova, A. L. Novik

Summary

A series of in vitro experiments were conducted cultivating phosphate-mobilizing rhizobacteria in a modified Dworkin-Foster liquid nutrient medium with varying concentrations of herbicide as a phosphorus source. Planar (thin-layer) chromatography was used to study glyphosate biodegradation. Experimental data indicate that *Pseudomonas* spp. (P-6, P-7, P-11, P-15, P-42) rhizobacteria from the collection of the Institute of Soil Science and Agrochemistry metabolize glyphosate to safe sarcosine (methylglycine, $R_f = 0,54 \pm 0,022$) and inorganic phosphate (Pi) without forming toxic aminomethylphosphonic acid. Using the data below on the inorganic phosphate (Pi) content in the cell-free culture fluid and taking into account the chemical composition of glyphosate, the destructive activity indices were calculated. At glyphosate concentrations of 300 mg/l, the destructive activity of *Pseudomonas* sp. P-6, *Pseudomonas* sp. P-7, *Pseudomonas* sp. P-11, *Pseudomonas* sp. P-15 and *Pseudomonas* sp. P-42 sources in some cases was 45,8–65,6 %. At glyphosate concentrations of 500 mg/l, the activity of GP destruction by strains of rhizobacteria *Pseudomonas* spp. (P-6, P-7, P-11, P-15, P-42) was within 43,1–50,1 % and was respectively: 43,1 %; 43,8 %; 48,4 %; 44,9 % and 50,1 %.

Поступила 05.11.25