

## КАТАБОЛИЗМ ГЛИФОСАТА У СИМБИОТИЧЕСКИХ РИЗОБАКТЕРИЙ *RHIZOBIUM TRIFOLII*

Н. А. Михайлова<sup>1</sup>, С. С. Романенко<sup>1</sup>, Т. В. Погирницкая<sup>1</sup>,  
Т. Б. Барашенко<sup>1</sup>, С. В. Дюсова<sup>1</sup>, А. Л. Новик<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Белорусский государственный технологический университет,  
г. Минск, Беларусь

### ВВЕДЕНИЕ

Применение глифосата (ГФ) в качестве гербицида обусловлено его эффективностью, невысокой стоимостью и созданием устойчивых к ГФ сортов основных сельскохозяйственных культур. Однако международные научные данные свидетельствуют, что глобальное использование гербицида привело к практически повсеместному присутствию остаточных количеств глифосата и его основного метаболита, аминометилфосфоновой кислоты (АМФК), в окружающей среде: в воздухе, в почвах, природных водах и в продукции растениеводства. В настоящее время, по мере совершенствования методов исследований и роста их количества, уже невозможно утверждать, что применение глифосата не влияет или оказывает незначительное воздействие на окружающую среду и здоровье человека [1, 2]. Однако противоречия при оценке экологической опасности глифосата по-прежнему сохраняются.

Главным аргументом в пользу безопасности ГФ считалось быстрое снижение его концентрации в почве, однако сейчас установлено, что это связано с трансформацией гербицида в основной метаболит, АМФК, который сильнее адсорбируется почвой, медленнее разлагается и более опасен, чем собственно гербицид [3, 4]. В качестве аргументов в защиту безопасности ГФ и АМФК приводятся такие факторы, как отсутствие летучести и сильная адсорбция к почвенным компонентам. Принцип действия глифосата [5], как ингибитора клеточного биосинтеза ароматических аминокислот в шикиматном пути, также приводится как аргумент в пользу безопасности гербицида, на том основании, что у человека и животных этот путь биосинтеза отсутствует.

В последние десятилетия число научных публикаций, подтверждающих негативный экологический эффект и токсическое действие глифосата и аминометилфосфоновой кислоты на живые организмы, значительно возросло. В соответствии с современными научными данными глифосат рассматривается как опасный загрязнитель, приносящий хронический отдаленный вред живым организмам и окружающей среде [1, 3, 6].

К настоящему времени выявлен широкий спектр воздействий глифосата на здоровье человека. По данным G. Chaufan, I. Coalova, M. Molina глифосат и его коммерческие формы оказывают цитотоксическое действие на клетки человека и вызывают их апоптоз [7]. Установлено негативное действие на репродуктивное здоровье человека, глифосат вызывает апоптоз и некроз эмбриональных и плацентарных клеток [8, 9]. Исследования C. Gasnier, C. Dumont, N. Benchour

и др. показали, что ГФ-содержащие гербициды приводят к эндокринным нарушениям у человека [10]. Установлено негативное действие глифосата на эритроциты крови [11]. В исследованиях A. DeRoos, A. Blair, J.A. Rusieck и др. установлена повышенная распространенность онкологических заболеваний среди работников, непосредственно выполняющих обработки глифосатом [12]. В ряде научных исследований отмечается, что аминометилфосфоновая кислота вызывает нарушения жизненно важных процессов репарации ДНК и синтеза мРНК в растительных и животных организмах [1].

В настоящее время детоксикация глифосата и аминометилфосфоновой кислоты в окружающей среде представляет глобальную проблему. По современным представлениям самыми эффективными являются микробные методы разложения глифосата и АМФК [3, 4]. Для решения проблемы детоксикации необходимы поиски бактериальных деструкторов, разлагающих глифосат и АМФК до экологически безопасных конечных продуктов. Это подразумевает, что целевые объекты должны утилизировать гербицид как источник фосфора. Установлено, что именно такие бактерии имеют активный С-Р лиазный мультиферментный комплекс, расщепляющий фосфоновую С-Р связь с образованием экологически приемлемых продуктов [1, 3, 4].

Несмотря на то, что способность к биодеградации глифосата проявляют бактерии разных родов, коммерческие препараты для безопасной детоксикации ГФ пока не разработаны из-за высокого уровня штаммовой специфичности, связанной с различием путей его кatabолизма (разложения) у бактерий разной таксономической принадлежности. По современным представлениям способность к биодеградации глифосата в почве и воде проявляют бактерии разных родов. Глифосат-утилизирующие бактерии распространены среди pp. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* [3, 13, 14], *Azospirillum* [14–17], *Arthrobacter* [3], *Flavobacterium* sp. [3] и некоторых других.

Симбиотические бактерии *Rhizobium* sp. исследовательской коллекции Института почвоведения и агрохимии характеризуются комплексом полезных свойств: обладают азотфиксацией активностью, оказывают гормональное воздействие на растения, эффективно растворяют трехзамещенные фосфаты кальция. В серии *in vitro* экспериментов установлено, что симбиотические (*Rhizobium* sp.) diazотрофы способны метаболизировать гербицид глифосат в качестве источника фосфора [18]. Это предполагает безопасную детоксикацию гербицида.

Цель исследований – изучение катализма гербицида глифосат у штаммов клубеньковых ризобактерий *Rhizobium trifolii* с оценкой их деструктивной активности.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объекты исследований – штаммы симбиотических бактерий *Rhizobium trifolii* (*Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3) из фонда исследовательской коллекции.

Для определения продуктов биодеградации глифосата проведены *in vitro* эксперименты по культивированию ризобактерий *Rhizobium trifolii* в модифицированной жидкой питательной среде Дворкина-Фостера с разным содержанием гербицида (0,3–2,0 мг/мл) в качестве источника фосфора.

Для проведения лабораторных экспериментов по культивированию коллекционных ризобактерий *Pseudomonas* spp. в жидкой среде Дворкина-Фостера при разных концентрациях глифосата в качестве источника фосфора готовили инокулянты: штаммы ризобактерий *Rhizobium trifolii* (*Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3) высевали на агаризованную гороховую среду в пробирки и выдерживали в термостате при температуре 25°C в течение трех суток. Бактериальные культуры смывали физиологическим раствором и разбавляли до концентрации 1,5·10<sup>8</sup> КОЕ/мл.

В лабораторных экспериментах с ризобактериями *Rhizobium trifolii* (R-45, R-107 и R-63/3) использовали жидкую модифицированную минеральную среду Дворкина-Фостера [19] следующего состава (г/л): глюкоза – 5,0 г/л, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 0,375, MgSO<sub>4</sub> – 0,075, CaCO<sub>3</sub> – 0,03, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O – 0,001; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> – 0,000001, MnSO<sub>4</sub> – 0,000001; дрожжевой экстракт – 0,0053; трис-буфер – 6,05; (pH до 7,0).

Источником фосфора в лабораторных исследованиях служил глифосат в составе гербицида Торнадо 500:в.р., 500 г/л (изопропиламинная соль). Изготовитель: АО Фирма «Август», Россия, ТУ 20.20.12-071-18015953-2017 г.

**Лабораторный эксперимент 1.** В две конические колбы (V 500 мл) с 300 мл жидкой питательной среды Дворкина-Фостера вносили разные дозы гербицида Торнадо (C<sub>1</sub> и C<sub>2</sub>) из расчета до конечной концентрации 1,0 и 2,0 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 3-кратная). Культуры бактерий инкубировали в термостате при температуре 25°C с периодическим перемешиванием на шейкере орбитальном KS-501 digital IKA WERKE (GmbH&Co.KG) при 80 об/мин) в течение четырех недель. Контроль: среда без внесения гербицида и среда с внесением ГФ (C<sub>1</sub> и C<sub>2</sub>).

Для изучения биодеструкции ГФ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) использовали бесклеточные экстракти *Rhizobium trifolii* 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 Rf глифосата и продуктов его деградации ризосферными бактериями *Rhizobium trifolii* (*Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3) определяли на пластинах Сорб菲尔 ПТСХ-АФ-А-УФ на алюминиевой подложке с силикагелем в качестве сорбента при вертикальном элюировании в системе растворителей изопропанол : 5% водный NH<sub>4</sub>OH в соотношении 1 : 1 (V/V).

Для мониторинга роста *Rhizobium trifolii* в *in vitro* экспериментах проводили определение биомассы бактерий по оптической плотности инкубационной смеси (OD при  $\lambda = 500$  нм) на спектрофотометре UV/VIS SP 8001 и жизнеспособности клеток бактерий методом предельных разведений с высевом соответствующих разведений на картофельный агар. Результаты считали достоверными при отклонении величин в пределах  $\pm 5\%$ .

**Лабораторный эксперимент 2.** Активность деструкции глифосата у штаммов *Rhizobium trifolii* (*Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3) изучена в лабораторном эксперименте по культивированию ризобактерий в жидкой среде Дворкина-Фостера с содержанием 0,3 мг ГФ/мл и 0,5 мг ГФ/мл в качестве источника фосфора. Продолжительность эксперимента – 7 суток. Повторность

опыта – 3-кратная. Оценку деструктивной активности ризобактерий *Rhizobium trifolii* осуществляли по накоплению неорганического фосфата (Pi) в БКЖ. Концентрацию Pi определяли по методу Мэрфи и Райли [20]. В мерные колбы (объем 50 мл) отбирали по 2 мл бесклеточной культуральной жидкости (БКЖ) и доводили до метки дистиллированной водой. Тщательно перемешивали. Для определения содержания неорганического фосфата в пробирки отбирали по 5 мл разбавленной бесклеточной КЖ, приливали 1 мл окрашивающего раствора и выдерживали 10 мин при комнатной температуре для полного развития окраски. В присутствии неорганического фосфата раствор окрашивается в голубой цвет с фиолетовым оттенком. Оптическую плотность (OD<sub>710</sub>) окрашенного раствора измеряли на спектрофотометре Metertech UV-VISSP 8001.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Метаболизирующие глифосат бактерии выделяют не только из загрязненных почв, но и на территориях, где глифосат никогда не применяли. Деструкторы глифосата выявлены как среди грамположительных, так и среди грамотрицательных бактерий [1, 3, 4].

Клубеньковые бактерии рода *Rhizobium* представляют собой грамотрицательные неспорообразующие подвижные палочки размером от 0,5 до 3 мкм. Колонии ризобактерий округлой формы, имеют слизистую консистенцию, полупрозрачные. Слизь, вырабатываемая клубеньковыми бактериями, представляет собой комплексное соединение полисахаридного типа, в состав которого входят геккозы, пентозы и уроновые кислоты. Клубеньковые бактерии – микроаэрофилы (развиваются при незначительных количествах кислорода в среде), однако для роста предпочитают аэробные условия. В лабораторных условиях клубеньковые бактерии хорошо растут при температуре 25 градусов на средах Фреда, Норриса, бобовой (гороховой), маннитно-дрожжевой [21].

Клубеньковые бактерии могут жить свободно в почве, но обычно вступают в симбиоз с бобовыми растениями. При проникновении в корневой волосок, они вызывают активное деление клеток корня, что приводит к появлению клубенька. Клубеньки, образованные активными *Rhizobium*, содержат пигмент леггемоглобин и поэтому имеют розоватый цвет. При старении бактерии теряют подвижность, сильно разбухают и образуют крупные клетки-бактероиды. В бактероиды превращается лишь часть клубеньковых бактерий, большинство же остается в клубеньке в недифференцированном состоянии и после его отмирания переходит в почву.

Внедряясь в корневую систему, микроорганизмы питаются органическими соединениями, синтезированными растениями. Кроме свободного азота, клубеньковые бактерии способны усваивать азот из минеральных соединений: аммонийных солей, нитратов, аминокислот и др. Для питания в качестве источника углерода бактерии используют моносахариды, дисахариды, некоторые полисахариды, а также органические кислоты и спирты. В свою очередь растения получают от симбиотических микроорганизмов ряд необходимых им веществ. Благодаря симбиозу становятся возможными фиксация молекулярного азота и частичное удовлетворение потребности растений в этом элементе. Эффективная азотфиксация создается при определенном комплексе факторов: оптимальные параметры влажности, кислотности и обеспеченности почвы элементами питания для растений

(Р, К, микроэлементы) и других условий. Небольшие дозы азотных удобрений действуют благоприятно, высокие – подавляют азотфиксацию [21].

Поиск деструкторов и путей деградации ГФ и АМФК среди коллекционных симбиотических диазотрофов *Rhizobium* sp. остается актуальным и перспективным. Пути катаболизма глифосата у *Rhizobium trifolii* (*Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3) изучены в серии *in vitro* экспериментов, включающих культивирование ризобактерий в жидких питательных средах с содержанием глифосата 1,0 и 2,0 мг/мл. Идентификацию продуктов катаболизма глифосата проводили в бесклеточных экстрактах культуральной жидкости ризобактерий. Продукты катаболизма глифосата у ризобактерий *Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3 идентифицированы с применением метода тонкослойной хроматографии (ТСХ).

Тонкослойная хроматография – самый распространенный метод идентификации химических веществ в смесях, который постоянно применяется в химических и биохимических лабораториях [22–25]. Критериями идентификации индивидуальных веществ в методе ТСХ являются визуальная оценка (сравнение с веществом-свидетелем) и расчет величины *Rf* (коэффициент хроматографической подвижности).

Величина *Rf* – отношение расстояния, пройденного фронтом пятна компонента разделяемой смеси (от старта до центра пятна), к расстоянию, пройденному фронтом растворителя (от старта до границы фронта растворителя) – основная характеристика хроматографической подвижности веществ в методе ТСХ. Значения *Rf* находятся в пределах от 0 до 1. Величина *Rf* является характеристикой конкретного химического соединения, на конкретном сорбенте, в конкретной системе растворителей и в конкретных условиях эксперимента [22–25]. Для идентификации веществ по значению *Rf* используют стандарты, коэффициент хроматографической подвижности, для которых известен (табл. 1). Стандарты наносят на линию старта рядом с разделяемой смесью, при этом процесс хроматографии проходит в одинаковых условиях.

Таблица 1

**Хроматографическая подвижность продуктов катаболизма глифосата на пластинах Сорб菲尔 в системе изопропанол : 5% водный  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1 : 1, V/V)**

Продукты катаболизма	<i>Rf</i> (хроматографическая подвижность)
Глицин	0,64 ± 0,025
Саркозин	0,54 ± 0,022
Глифосат (ГФ)	0,33 ± 0,010
Аминометилфосфоновая кислота (АМФК)	0,25 ± 0,010

При тестировании штаммов *Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3 на способность к деградации глифосата методом ТСХ установлено, что их культивирование в жидкой среде с содержанием в качестве источника фосфора глифосата 1,0 мг ГФ/мл и 2,0 мг ГФ/мл (эксперимент 1) приводит к разложению гербицида. Анализ результатов тонкослойной хроматографии бесклеточной КЖ штаммов *Rhizobium trifolii* (R-45, R-107 и R-63/3) показал, что после четырех недель инкубации ризобактерий в жидкой среде с гербицидом среди продуктов катаболизма аминометилфосфоновая кислота (*Rf* = 0,25 ± 0,01) не обнаружена. На хроматографи-

ческой пластине визуализируются пятна ( $R_f = 0,52 \pm 0,012$ ), расположенные ниже глицина и предположительно соответствующие безопасному саркозину (метилглицину), что свидетельствует о наличии С-Р лиазной активности у исследуемых штаммов *Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3. На пластине также фиксируются пятна остаточных количеств глифосата, особенно в образцах с повышенной концентрацией ГФ (табл. 1, рис.).

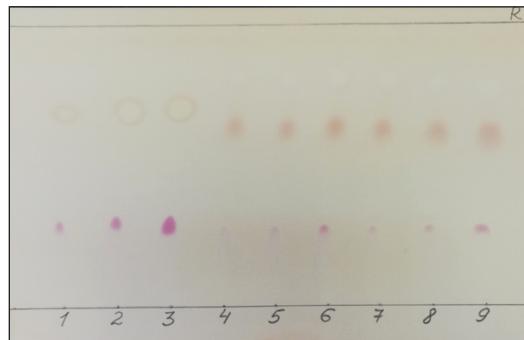


Рис. Хроматограмма бесклеточных экстрактов *Rhizobium* sp. R-45 (4–5), *Rhizobium* sp. R-63/3 (6–7) и *Rhizobium* sp. R-107 (8–9) на пластине  
Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ в системе растворителей изопропанол : 5%-ный раствор  
аммиака после 4 недель инкубации в жидкой среде с дозами ГФ 1,0 и 2,0 мг ГФ/мл;  
вещества-свидетели: глифосат + глицин (1–3)

В течение двух недель эксперимента жизнеспособность протестированных штаммов ризобактерий *Rhizobium* sp. при культивировании в жидкой среде с разным содержанием ГФ сохранялась, но при этом рост биомассы был незначительным (табл. 2).

Таблица 2  
Показатели оптической плотности (OD) культуральной жидкости ризобактерий  
*Rhizobium* sp. в жидкой среде с разным содержанием глифосата  
в течение двух недель инкубации

Штамм	OD ( $\lambda = 500$ нм)	
	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>
<i>Rhizobium</i> sp. R-45	0,073–0,081	0,099–0,112
<i>Rhizobium</i> sp. R-63/3	0,085–0,109	0,102–0,124
<i>Rhizobium</i> sp. R-107	0,070–0,081	0,086–0,104
Контроль среды	0,048–0,051	0,048–0,052

Ризобактерии исследовательской коллекции *Rhizobium trifolii* также разлагают глифосат без образования аминометилфосфоновой кислоты, что косвенно предполагает наличие С-Р лиазной активности у бактерий *Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3. Однако биодеградация ГФ исследованными симбиотическими бактериями *Rhizobium trifolii* по-видимому, незначительная, так как на хроматограммах визуализируются остаточные количества гербицида.

Конечным продуктом биодеградации глифосата является неорганический фосфат (Pi), по накоплению которого можно количественно оценить деструктивную активность штаммов *Rhizobium trifolii* [5; 6]. Количественные данные (мг/л) по со-

держанию неорганического фосфата (Pi) в бесклеточной КЖ штаммов *Rhizobium trifolii* рассчитаны по калибровочному графику с учетом разбавления, использования калибровочного коэффициента (K=1,1) для спектрофотометра Metertech UV/VIS SP 8001 и в пересчете на 1000 мл объема.

В *in vitro* экспериментах по культивированию бактерий *Rhizobium trifolii* (R-45, R-107 и R-63/3) в жидкой среде Дворкина-Фостера с содержанием 300 мг и 500 мг/л (эксперимент 2) глифосата в качестве источника фосфора по показателям оптической плотности рассчитано содержание неорганического фосфата (Pi) в бесклеточной культуральной жидкости ризобактерий (табл. 3).

Таблица 3

**Показатели оптической плотности (OD<sub>710</sub>) и содержание неорганического фосфата (Pi) в бесклеточной КЖ *Rhizobium trifolii* при разной концентрации глифосата в среде**

Штамм	Оптическая плотность (OD <sub>710</sub> )			Содержание неорганического фосфата (Pi), мг/л			
	1	2	3	1	2	3	среднее
C <sub>ГФ</sub> 300 мг/л							
<i>Rh. trifolii</i> R-45	0,068	0,065	0,062	10,4	10,0	9,5	10,0
<i>Rh. trifolii</i> R-107	0,075	0,070	0,075	11,5	10,7	11,5	11,2
<i>Rh. trifolii</i> R-63/3	0,118	0,120	0,115	18,1	18,4	17,7	18,1
C <sub>ГФ</sub> 500 мг/л							
<i>Rh. trifolii</i> R-45	0,112	0,110	0,108	17,2	16,9	16,6	16,9
<i>Rh. trifolii</i> R-107	0,110	0,112	0,115	16,9	17,2	17,7	17,3
<i>Rh. trifolii</i> R-63/3	0,165	0,168	0,169	25,3	25,8	25,9	25,7
НСР <sub>05</sub> фактор А (штамм)							0,54
фактор В (C <sub>ГФ</sub> )							0,44
фактор АВ							0,77

Показатели деструктивной активности штаммов бактерий *Rhizobium trifolii* рассчитаны на основании количественных данных по содержанию неорганического фосфата (Pi) в бесклеточной культуральной жидкости с учетом химического состава глифосата (изопропиламинная соль C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>NO<sub>5</sub>P). Установлено, что деструктивная активность ГФ-утилизирующих бактерий *Rhizobium trifolii* при исходной концентрации глифосата 300 мг/л находилась в пределах 23,9–43,2 %, при концентрации 500 мг/л – в пределах 24,2–36,8 %. Активность деструкции глифосата зависела от штамма бактерий; большей активностью обладал штамм *Rhizobium trifolii* R-63/3 (табл. 4).

Таблица 4

**Деструктивная активность ГФ-утилизирующих бактерий *Rhizobium trifolii* при концентрации глифосата в среде 300 мг/л и 500 мг/л**

Показатель	<i>Rh. trifolii</i> R-45		<i>Rh. trifolii</i> R-107		<i>Rh. trifolii</i> R-63/3	
C <sub>ГФ</sub> , мг/л	300	500	300	500	300	500
Накопление неорганического фосфата (Pi) за 7 дней инкубации, мг/л	10,0	16,9	11,2	17,3	18,1	25,7
Разложилось глифосата, мг/л	71,6	121,0	80,2	123,9	129,6	184,0
Деструктивная активность, %	23,9	24,2	26,7	24,8	43,2	36,8

## ВЫВОДЫ

В *in vitro* экспериментах по культивированию *Rhizobium* sp. в жидких средах с глифосатом с последующим анализом бесклеточных экстрактов методом тонкослойной хроматографии установлено, что 3 штамма *Rhizobium trifolii* (*Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3) разлагают глифосат по фосфоновой С–Р связи, без образования токсичной аминометилфосфоновой кислоты с образованием безопасного метилглицина (саркозиновый путь катаболизма).

По содержанию неорганического фосфата (Pi) в бесклеточной культуральной жидкости рассчитана деструктивная активность коллекционных штаммов *Rhizobium trifolii* (*Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3). Активность деструкции штаммов симбиотических ризобактерий *Rhizobium trifolii* при концентрации глифосата 300 мг/л составила 23,9 %, 26,7 %, 43,2 %, при концентрации 500 мг/л – 24,2 %, 24,8 %, 36,8 % соответственно. Способность ризосферных бактерий *Rhizobium trifolii* исследовательской коллекции Института почвоведения и агрохимии метаболизировать гербицид глифосат по экологически безопасному пути свидетельствует об их перспективности в качестве инокулянтов, в особенности в условиях интенсивного применения гербицида глифосат.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Микробная деградация гербицида глифосата (обзор) / А. В. Свиридов, Т. В. Шушкова, И. Т. Ермакова [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2015. – Т. 51. – № 2. – С. 183–190.
2. Биодеградация фосфорорганических загрязнителей почвенными бактериями: биохимические аспекты и нерешенные проблемы / А. В. Свиридов, Т. В. Шушкова, Д. О. Эпиктетов, С. В. Тарлачков // Биотехнология. – 2020. – Т. 36. – № 4. – С. 126–135.
3. Recent advances in glyphosate biodegradation / H. Zhan, Y. Feng, X. Fan, S. Chen // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2018. – Vol. 102. – P. 5033–5043.
4. Кононова, С. В. Фосфонаты и их деградация микроорганизмами / С. В. Кононова, М. А. Несмиянова // Биохимия. – 2002. – Т. 67. Вып. 2. – С. 220–233.
5. Haslam, E. The shikimate pathway: biosynthesis of natural products series / E. Haslam. – Elsevier, New York. – 2014.
6. 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.
7. Chaufan, G. Glyphosate commercial formulation causes cytotoxicity, oxidative effects, and apoptosis on human cells: Differences with its active ingredient / G. Chaufan, I. Coalova, M. Molina // International Journal of Toxicology. – 2014. – Vol. 33(1). – P. 29–38.
8. Benachour, N. Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells / N. Benachour, G. Seralini // Chemical Research in Toxicology. – 2009. – Vol. 22. – P. 97–105.
9. Seralini, G. Differential Effects of Glyphosate and Roundup on Human Placental Cells and Aromatase / G. Seralini, S. Moslemi // Molecular and Cellular Endocrinology. – 2018. – Vol. 178(1–2). – P. 117–131.

10. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines / C. Gasnier, C. Dumont, N. Benachour, E. Clair [et.al.] // *Toxicology*. – 2009. – Vol. 262(3). – P. 184–191.
11. *Kwiatkowska, M.* The effect of metabolites and impurities of glyphosate on human erythrocytes / M. Kwiatkowska, B. Huras, B. Bukowska // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. – 2014. – Vol. 109. – P. 34–43.
12. Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in agricultural health study / A. DeRoos, A. Blair, J.A. Rusiecki, J.A. Hoppin [et.al.] // *Environmental Health Perspectives*. – 2005. – Vol. 113. – P. 49–54.
13. Degradation of the Herbicide Glyphosate by Members of the Family Rhizobiaceae / C.-M. Liu, P. A. McLean, C. C. Sookdeo, F. C. Cannon // *Appl. and Environ. Microbiol.* – 1991. – Vol. 57(6). – P. 1799–1804.
14. Towards sustainable maize production: Glyphosate detoxification by *Azospirillum* sp. and *Pseudomonas* sp. / C. Travaglia, O. Masciarelli, J. Fortuna, G. Marchetti [et al.] // *Crop Protection*. – 2015. – Vol. 77. – P. 102–109.
15. *Moneke, A. N.* Biodegradation of glyphosate herbicide in vitro using bacterial isolates from four rice field / A. N. Moneke, G. N. Okpala, C. U. Anyanwu // *Afr. J. Biotechnol.* – 2010. – Vol. 9(26). – P. 4067–4074.
16. *Gadkari, D.* Influence of herbicides on growth and nitrogenase activity of *Azospirillum* // *Azospirillum. IV. Genetics, Physiology, Ecology* / Klingmller, W. (Ed.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. – 1988. – P. 150–158.
17. Inoculation of rice with *Azospirillum brasiliense* in EGYPT: results of five different trials between 1985 and 1990 / N. Omar [et al.] // *Symbiosis*. – 1992. – Vol. 13. – P. 281–289.
18. Скрининг азотфикссирующих бактерий по способности метаболизировать гербицид глифосат как источник фосфора / Н. А. Михайлова, Т. Б. Барашенко, Т. В. Погирницкая, С. В. Дюсова // *Почвоведение и агрохимия*. – 2023. – № 2(71). – С.110–120.
19. *Dworkin, M.* Experiments with some microorganisms which utilized methane and hydrogen / M. Dworkin, J. W. Foster // *J. Bacteriol.* – 1958. – Vol. 75. – P. 592–603.
20. *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.
21. Клубеньковые бактерии бобовых <https://bio.niv.ru/doc/encyclopedia/life-of-plants/articles/1177/klubenkovye-bakterii-bobovyyh.htm> (дата обращения: 12.11.2025)
22. *Златкис, А.* Высокоэффективная тонкослойная хроматография / А. Златкис, А. Кайзер // *High-Performance Thin-Layer Chromatography*. – М. : МИР. – 1979. – 245 с.
23. *Клисенко, М. А.* Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде / М. А. Клисенко, А. А. Калинина, К. Ф. Новикова. – М. : Колос, 1992. – 567 с.
24. *Жебентяев, А. И.* Хроматографические методы анализа / А. И. Жебентяев – Витебск: ВГМУ. 2011. – 220 с.
25. *Touchstone, J. C.* Practice of thin layer chromatography / J. C. Touchstone. – University of Pennsylvania, Philadelphia. – 1992. – 354 p.

## GLYPHOSATE CATABOLISM IN SYMBIOTIC RHIZOBACTERIA *RHIZOBIUM TRIFOLII*

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

### Summary

*In vitro* laboratory experiments, strains of *Rhizobium trifolii* (*Rh. trifolii* R-45, *Rh. trifolii* R-107 и *Rh. trifolii* R-63/3) decompose glyphosate at the phosphonic C-P bond to form safe methylglycine (sarcosine).

The destruction activity of *Rhizobium trifolii* symbiotic rhizobacteria strains at a glyphosate concentration of 300 mg/l was 23,9%, 26,7%, 43,2%, at a concentration of 500 mg/l – 24,2%, 24,8%, 36,8%, respectively. The ability of *Rhizobium trifolii* rhizospheric bacteria to metabolize the herbicide glyphosate in an environmentally friendly way indicates their promise as inoculants, in particular in conditions of intensive use of the herbicide glyphosate.

УДК 631.82:633.358:631.445

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЦИНКОВОГО УДОБРЕНИЯ ПРИ ВОЗДЕЛЫВАНИИ ГОРОХА ПОСЕВНОГО НА РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ ОБЕСПЕЧЕННОСТИ ДЕРНОВО- ПОДЗОЛИСТОЙ СУПЕСЧАНОЙ ПОЧВЫ ЦИНКОМ

М. В. Рак, Е. Н. Пукалова, С. Г. Кудласевич,  
Л. Н. Гук, Е. И. Гутько

Институт почвоведения и агрохимии,  
г. Минск, Беларусь

### ВВЕДЕНИЕ

В агротехнике возделывания зернобобовых культур научно обоснованная система применения удобрений, наряду с другими агротехническими приемами, обеспечивает высокую и устойчивую продуктивность с хорошим качеством товарной продукции. Среди удобрений, оказывающих благоприятное действие на урожайность и качество зернобобовых культур, большое значение принадлежит микроудобрениям [1–5]. По обобщенным данным ряда опытов, цинк повышают урожайность гороха на 3,0–3,6 ц/га, содержание белка – на 0,4–1,2 %. При оптимальном количестве цинка в почве в биомассе гороха значительно увеличивается содержание азота и суммарный выход аминокислот, в т. ч. и незаменимых. Под действием цинка существенно увеличивается и сбор сырого протеина с биомассой бобовой культуры, что способствует улучшению качества растительной продукции [6–8].

При возделывании сельскохозяйственных культур в условиях Беларуси, среднее содержание цинка в зерне и семенах основной и побочной продукции