

КАТАБОЛИЗМ ГЛИФОСАТА У СИМБИОТИЧЕСКИХ РИЗОБАКТЕРИЙ *RHIZOBIUM TRIFOLII*

**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 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. Chauhan, 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 аминотетилфосфоновая кислота вызывает нарушения жизненно важных процессов репарации ДНК и синтеза мРНК в растительных и животных организмах [1].

В настоящее время детоксикация глифосата и аминотетилфосфоновой 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 C–P лиазный мультиферментный комплекс, расщепляющий фосфоновую C–P связь с образованием экологически приемлемых продуктов [1, 3, 4].

Несмотря на то, что способность к биодegradации 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 катаболизма (разложения) у бактерий разной таксономической принадлежности. По современным представлениям способность к биодegradации глифосата в почве и воде проявляют бактерии разных родов. Глифосат-утилизующие 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 азотфиксирующей активностью, оказывают гормональное воздействие на растения, эффективно растворяют трехзамещенные фосфаты кальция. В серии *in vitro* экспериментов установлено, что симбиотические (*Rhizobium* sp.) диазотрофы способны метаболизировать гербицид глифосат в качестве источника фосфора [18]. Это предполагает безопасную детоксикацию гербицида.

Цель исследований – изучение катаболизма 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 биодegradации 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 $1,5 \cdot 10^8$ 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, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 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; (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_1 и C_2) 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_1 и C_2).

Для изучения биодеструкции ГФ методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) использовали бесклеточные экстракты *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 R_f 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 Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ на алюминиевой подложке с силикагелем в качестве сорбента при вертикальном элюировании в системе растворителей изопропанол : 5% водный NH_4OH 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_{710}) 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 гексозы, 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 бактериоиды 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 R_f (коэффициент хроматографической подвижности).

Величина R_f – 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 R_f находятся в пределах от 0 до 1. Величина R_f является характеристикой конкретного химического соединения, на конкретном сорбенте, в конкретной системе растворителей и в конкретных условиях эксперимента [22–25]. Для идентификации веществ по значению R_f 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 Сорбфил в системе изопропанол : 5% водный NH_4OH (1 : 1, V/V)

Продукты катаболизма	R_f (хроматографическая подвижность)
Глицин	$0,64 \pm 0,025$
Саркозин	$0,54 \pm 0,022$
Глифосат (ГФ)	$0,33 \pm 0,010$
Аминометилфосфоновая кислота (АМФК)	$0,25 \pm 0,010$

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 аминокислот метилфосфоновая кислота ($R_f = 0,25 \pm 0,01$) 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.).

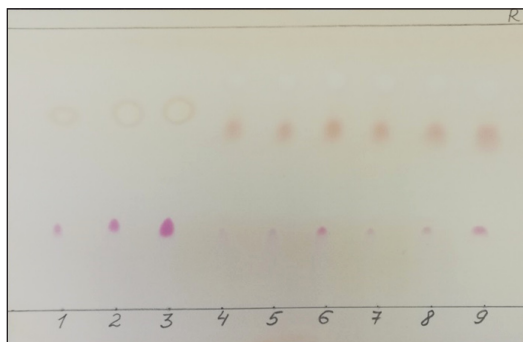


Рис. Хроматограмма бесклеточных экстрактов *Rhizobium* sp. R-45 (4–5), *Rhizobium* sp. R-63/3 (6–7) и *Rhizobium* sp. R-107 (8–9) на пластине Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ в системе растворителей изопропанол : 5%-ный раствор аммиака после 4 недель инкубации в жидкой среде с дозами ГФ 1,0 и 2,0 мг ГФ/мл; вещества-свидетели: 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 ₁	C ₂
<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 биodeградация ГФ исследованными симбиотическими бактериями *Rhizobium trifolii* по-видимому, незначительная, так как на хроматограммах визуализируются остаточные количества гербицида.

Конечным продуктом биodeградации 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.

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_{710}) и содержание неорганического фосфата (Pi) в бесклеточной КЖ *Rhizobium trifolii* при разной концентрации глифосата в среде

Штамм	Оптическая плотность (OD_{710})			Содержание неорганического фосфата (Pi), мг/л			
	1	2	3	1	2	3	среднее
С _{ГФ} 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
С _{ГФ} 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
НСП ₀₅ фактор А (штамм)							0,54
фактор В (С _{ГФ})							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 $C_3H_8NO_5P$). 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	
С _{ГФ} , 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

B 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. Биodeградация 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. Несмеянова // 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. Séralini, G. Differential Effects of Glyphosate and Roundup on Human Placental Cells and Aromatase / G. Séralini, 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 / Klingmüller, W. (Ed.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. – 1988. – P. 150–158.
17. Inoculation of rice with *Azospirillum brasilense* in EGYPT: results of five different trials between 1985 and 1990 / N. Omar [et al.] // *Symbiosis*. – 1992. – Vol. 13. – P. 281–289.
18. Скрининг азотфиксирующих бактерий по способности метаболизировать гербицид глифосат как источник фосфора / Н. А. Михайловская, 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-bobovyh.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