
БІОРІЗНОМАНІТТЯ ТА БІОБЕЗПЕКА ЕКОСИСТЕМ

УДК 579.64 + 579.2 + 631.348

ФОРМИРОВАНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА РИЗОСФЕРЫ РАСТЕНИЙ СОИ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ГЛИФОСАТА

И.С. Бровко, Л.В. Титова, Г.А. Иутинская

Институт мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

*Вивчено вплив раундапу на динаміку чисельності мікроорганізмів основних еколого-трофічних груп у ризосфері сої різних генотипів. Встановлено, що за вирощування сої як на чорноземному ґрунті, так і на торфосуміші використання раундапу впливало на деякі найбільш чутливі групи мікроорганізмів, що зумовлювало зміни їх чисельності і співвідношення в мікробному ценозі ризосфери. Найбільш чутливими до негативного впливу раундапу були олігоазотрофні мікроорганізми. В чорноземі, порівняно з торфосумішшю, склались сприятливіші умови для розвитку ризосферних мікроорганізмів, їх чисельність на контролі та у дослідних варіантах була вищою в 1,2–16,5 рази. Інокуляція насіння сої промисловим штамом *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035 сприяла зменшенню негативного впливу раундапу на мікробіоценоз ризосфери і активізацію розвитку педотрофних та фосфатмобілізувальних бактерій.*

Ключові слова: генотипи сої, ризосфера, мікробіоценоз, гліфосат.

Жизнедеятельность растений тесно связана с микроорганизмами, которые заселяют их поверхность и прикорневую зону. Полезные с агрономической точки зрения бактерии, развиваясь в фитосфере, способны осуществлять биологическую азотфиксацию, трансформировать тяжело растворимые фосфаты почвы в доступную растениям форму, снабжать фитопартнера собственными биологически активными соединениями, защищать корневую систему от агрессии патогенных микроорганизмов. Это способствует улучшению минерального питания растений, повышению их иммунного статуса и физиологической активности, что в итоге выражается в увеличении продуктивности и улучшении качества урожая. Сложная мобильная система микробно-растительных взаимоотношений зависит как от природных, так и антропогенных факторов, в частности, от типа почвы, вида растений и применяемых

агротехнологий [1]. Известно нецелое влияние гербицидов на биологию и экологию ризосферных микроорганизмов [2, 3]. Под влиянием этих факторов изменяется биологическая активность микробиоценоза, его состав и соотношение эколого-трофических групп микроорганизмов, которые во многом обеспечивают плодородие почвы.

Целью работы было изучить влияние пестицидной нагрузки на динамику численности микроорганизмов основных трофических групп в ризосфере сои разных генотипов на различных почвосубстратах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования были: высокоэффективный штамм ризобий сои *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035 (из коллекции отдела общей и почвенной микробиологии Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины), а также микробиота ризосферы

сои разных генотипов – сортов Подольская 416, Черемош и линии глифосат-толерантной сои (ГТС) 40-3-2, созданной компанией Monsanto Canada Inc. Также в работе использовали неселективный системный гербицид сплошного действия – раундап (Monsanto Canada Inc.), действующим веществом которого является глифосат (N-фосфонометил)-глицин.

Исследования проводили в вегетационном домике института в керамических сосудах объемом 3 л на двух почвосубстратах: черноземе типичном глубоком, малогумусном, крупно-пылевато суглинистом (полей Белоцерковского опытно-селекционного отделения Института биоэнергетических культур и сахарной свеклы НААН, длительное время обрабатываемых гербицидом раундап) и торфосмеси (ЗАТ НВФ ДП «Гаврощина торф»). Схема исследований состояла из следующих вариантов: инокуляция семян; инокуляция семян и обработка растений гербицидом; обработка гербицидом неинокулированных растений; контроль (без инокуляции и без обработки гербицидом). Бактериальная нагрузка при инокуляции составляла 10^7 кл./семя. В вариантах с обработкой гербицидом коммерческий препарат раундап использовали согласно инструкции фирмы-производителя.

Количество микроорганизмов основных эколого-трофических групп (педотрофных, прототрофных, олигоазотрофных и фосфатмобилизирующих) в ризосферной зоне сои изучали традиционными методами почвенной микробиологии с использованием агаризованных селективных питательных сред [4] в фазу бутонизации – начала цветения и в конце вегетационного периода при уборке урожая.

Статистическую обработку данных проводили при помощи стандартных компьютерных программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Культивирование генетически модифицированных (ГМ) растений связано с усилением химического воздействия на окружающую среду и генетический аппарат живых организмов, так как создание

устойчивых к гербицидам сортов влечет за собой увеличение объемов используемых химических средств борьбы с сорняками, что приводит к возрастанию пестицидной нагрузки, накоплению токсикантов в продукции агропроизводства и к изменениям в популяционно-генетической структуре агроценозов.

При исследовании ризосферной микробиоты глифосат-толерантной сои на черноземе малогумусном, длительное время обрабатываемом раундапом, нами установлено активное развитие педотрофов и олигоазотрофов в фазе бутонизации – начала цветения (рис. 1, I-A).

Более многочисленными педотрофные микроорганизмы были в обоих вариантах с инокуляцией и в контроле, а в варианте с обработкой гербицидом неинокулированных растений численность этих микроорганизмов была почти в 3 раза меньше контрольной величины. Вариант с инокуляцией и применением раундапа отличался лучшим развитием фосфатмобилизирующих микроорганизмов: их количество было выше относительно других вариантов в 1,5–2,8 раза. Инокуляция способствовала лучшему развитию фосфатмобилизирующих микроорганизмов. Также зафиксирована активизация их роста в ризосфере инокулированных и неинокулированных растений ГТС на фоне применения раундапа. Возможно, повышенная численность устойчивых к глифосату форм, возникших при многолетней селекции в присутствии гербицида в почве, способствовала нивелированию его отрицательного влияния на эту микробиоту.

В конце онтогенеза глифосат-толерантной сои в вариантах без применения раундапа зафиксировано усиление развития педотрофных микроорганизмов по сравнению с предыдущей фазой: в 1,8 раза в варианте с инокуляцией и в 1,3 раза – без нее (рис. 1, I-B). Одновременно в вариантах с раундапом их количество значительно сократилось (соответственно в 4,6 и 8,2 раза). Численность микроорганизмов всех остальных эколого-трофических групп существенно снизилась во всех вариантах. Однако следует подчеркнуть,

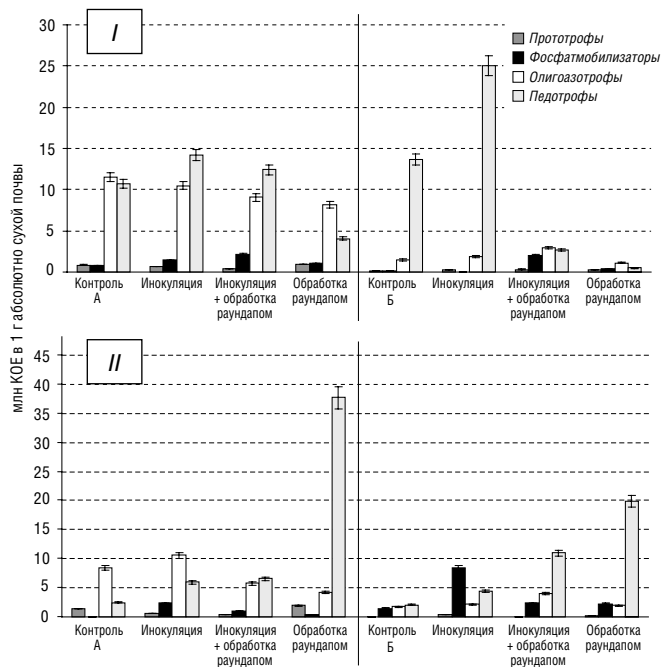


Рис. 1. Количество микроорганизмов основных эколого-трофических групп в ризосфере глифосат-толерантной сои (I) и сои сорта Подольская 416 (II) при выращивании на черноземе типичном глубоком, малогумусном, крупнопылеватом сулинстом: А – фаза бутонизации – начала цветения, Б – фаза сбора урожая

что к концу вегетации трансгенной сои на черноземе малогумусном количество фосфатмобилизирующих микроорганизмов в варианте с инокуляцией и применением гербицида оставалось на уровне значения предыдущей фазы развития и превышало показатели других вариантов, где их численность значительно сокращалась (в 2,9–7,0 раз).

Изучение влияния промышленного штамма *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035 на ризосферный микробиоценоз при культивировании сои сорта Подольская 416 на черноземной малогумусной почве показало, что в обе фазы онтогенеза ризосферная микробиота была, в основном, более активной в вариантах с инокуляцией, особенно фосфатмобилизирующие и олигоазототрофные микроорганизмы (рис. 1, II). Хотя при этом к концу вегетационного

периода растения в вариантах с раундапом были угнетены, следует отметить максимальную активизацию педотрофов в варианте с обработкой раундапом неинокулированных растений в обе фазы их развития. В конце вегетационного периода наблюдали также усиление роста фосфатмобилизирующих микроорганизмов во всех вариантах.

Сравнительным анализом структуры микробиоценозов ризосферы двух генотипов сои (ГТС и Подольской 416) на черноземе с многолетним использованием раундапа установлено, что педотрофные и олигоазототрофные микроорганизмы составляли активные группы в ризосфере сои обоих генотипов в течение всего вегетационного периода. В варианте с обработкой гербицидом неинокулированных растений в конце вегетации было зафиксировано угнетение развития прототрофов, олигоазототрофов и педотрофов в корневой зоне растений обоих генотипов по сравнению с предыдущей фазой онтогенеза.

В опытах, проведенных на торфосмеси, численность микроорганизмов как в контрольных, так и в опытных вариантах была ниже, чем в черноземной почве в 1,2–16,5 раза. Это свидетельствует о том, что в черноземе по сравнению с торфосмесью складывались более благоприятные условия для развития ризосферных микроорганизмов.

При выращивании ГТС на торфосмеси педотрофы и фосфатмобилизаторы были менее активными, чем на черноземной малогумусной почве с многолетним применением глифосата (рис. 2, I), при этом преобладали прототрофные и олигоазототрофные микроорганизмы.

Более высокая численность микроорганизмов в черноземе может быть обус-

ловлена способностью некоторых почвенных бактерий к биодеградации глифосата [5–7], а также горизонтальным переносом генов или мутациями в геноме, приводящими к снижению чувствительности этих микроорганизмов к гербициду при длительном его применении [8]. При выращивании ГТС на торфосмеси получены закономерности развития ризосферных фосфатмобилизирующих микроорганизмов, аналогичные таким на черноземе малогумусном. Лучшие условия для их роста сохранялись в течение всего вегетационного периода в варианте с инокуляцией производственным штаммом и применением раундапа (рис. 2, I). Олигоазотрофные микроорганизмы составляли одну из активных групп ризосферного микробиоценоза ГТС. В фазе бутонизации – начала цветения высокую их численность наблюдали в контрольном варианте и в варианте с обработкой раундапом инокулированных растений (рис. 2, I-A), а в конце вегетации – в обоих вариантах с инокуляцией (рис. 2, I-B). При этом обработка раундапом способствовала активизации олигоазотрофов в ризосфере инокулированной ГТС в обе фазы онтогенеза. В конце вегетации в ризосфере ГТС на торфосубстрате активизировались фосфатмобилизирующие и педотрофные микроорганизмы. В вариантах без инокуляции произошло значительное сокращение количества прототрофов и олигоазотрофов по сравнению с предыдущей фазой (рис. 2, I-B). В фазу сбора урожая зафиксировано также увеличение численности фосфатмобилизирующих микроорганизмов во всех вариантах, кроме варианта с обработкой раундапом неинокулированных растений.

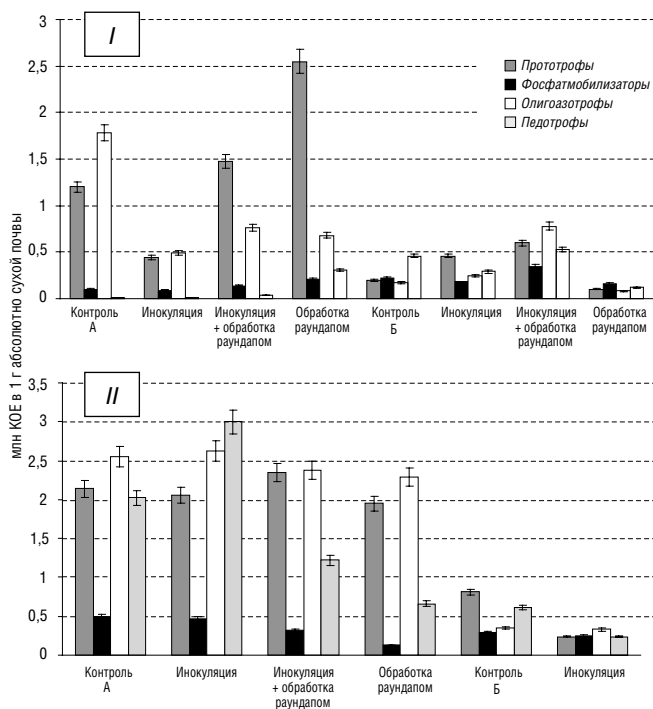


Рис. 2. Количество микроорганизмов основных эколого-трофических групп в ризосфере глифосат-толерантной сои (I) и сои сорта Черемош (II) при выращивании на торфосмеси: А – фаза бутонизации – начала цветения, Б – фаза сбора урожая

В этом варианте численность микробиоты всех исследуемых эколого-трофических групп значительно сократилась по сравнению с предыдущей фазой.

При выращивании сои сорта Черемош на торфосмеси в фазу бутонизации – начала цветения численность ризосферных микроорганизмов была выше по сравнению с соответствующими вариантами ГТС-растений. При применении раундапа на растениях сорта Черемош в течение вегетации наблюдали угнетение в их развитии, а к концу вегетации – гибель. В фазу бутонизации – начала цветения в вариантах без применения раундапа в ризосфере инокулированных растений по сравнению с растениями на контроле возрастала численность олигоазотрофных и педотрофных микроорганизмов. При-

менение раундапа вызывало достоверное снижение численности микроорганизмов указанных выше групп как по сравнению с инокулированными, так и контрольными растениями. Наблюдали также отрицательное влияние раундапа на численность фосфатмобилизирующих бактерий. В конце вегетационного периода в ризосфере инокулированных и контрольных растений зафиксировано уменьшение количества микроорганизмов всех исследуемых групп по сравнению с фазой бутонизации – начала цветения.

ВЫВОДЫ

При выращивании сои разных генотипов как на черноземной почве, так и на торфосмеси применение раундапа влияло на отдельные наиболее чувствительные группы микроорганизмов, снижая их численность и изменяя соотношение в микробном ценозе. Инокуляция семян сои промышленным штаммом *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6035 уменьшала отрицательное влияние раундапа и способствовала активизации развития и увеличению численности педотрофных и фосфатмобилизирующих бактерий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Genetic diversity and dynamics of *Sinorhizobium meliloti* populations nodulating different alfalfa cultivars in Italian soils / M. Carelli, S. Gnocchi, S. Fancelli et al. // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – Vol. 66. – P. 4785–4789.
2. Glyphosate affects micro-organisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans / L.H.S. Zobiolo, R.J. Kremer, R.S. Oliveira, J. Constantin // Journ. of App. Microbiol. – 2011. – Vol. 110, no. 1. – P. 118–127.
3. *Chakravarty P.* Non-target effect of herbicides: I. effect of glyphosate and hexazinone on soil microbial activity. Microbial population, and in-vitro growth of ectomycorrhizal fungi / P. Chakravarty, L. Chatarpaul // Issue Pesticide Science. – 1990. – Vol. 28, no. 3. – P. 233–241.
4. *Теппер Е.З.* Практикум по микробиологии: учебное пособие для вузов / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева; под ред. В.К. Шильниковой. – 6 изд., стереотип. – М.: Дрофа, 2005. – 256 с.
5. Metabolism of glyphosate in *Pseudomonas* sp. Strain LBr / G.S. Jacob, J.R. Garbow, L.E. Hallas et al. // Appl. Environ. Microbiol. – 1988. – Vol. 54, no. 12. – P. 2953–2958.
6. *Ермакова И.Т.* Микробная деструкция органофосфонатов почвенными бактериями / И.Т. Ермакова, Т.В. Шушкова, А.А. Леонтьевский // Микробиология. – 2008. – Т. 77, № 5. – С. 689–695.
7. Phyto-Microbial degradation of glyphosate in Riyadh area / A. Abdel-Megeed, M.W. Sadik, H.O. Al-Shahrani, M.M. Ali // Internat. J. of Microbiology Research. – 2013. – Vol. 5, no. 5. – P. 458–466.
8. Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup Ready crops / T. Funke, H. Han, M.L. Healy-Fried et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – Vol. 103. – P. 13010–13015.

REFERENCES

1. *Carelli M., Gnocchi S., Fancelli S., Mengoni A., Paffetti D., Scotti C., Bazzicalupo M.* (2000). Genetic diversity and dynamics of *Sinorhizobium meliloti* populations nodulating different alfalfa cultivars in Italian soils. Appl. Environ. Microbiol. Vol. 66, pp. 4785–4789 (in English).
2. *Zobiolo L.H.S., Kremer R.J., Oliveira R.S., Constantin J.* (2011). Glyphosate affects microorganisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans. Journ. of app. microbiol. Vol. 110, no. 1. pp. 118–127 (in English).
3. *Chakravarty P., Chatarpaul L.* (1990). Non-target effect of herbicides: I. effect of glyphosate and hexazinone on soil microbial activity. Microbial population, and in-vitro growth of ectomycorrhizal fungi, Issue Pesticide Science, Vol. 28, no. 3, pp. 233–241 (in English).
4. *Tepper Ye.Z., Shilnikova V.K., Pereverzeva G.I.* (2005). Praktikum po mikrobiologii: uchebnoe posobie dlya vuzov [Workshop on microbiology: a textbook for high schools]. Moscow: Drofa, stereotip, Iss. 6, 256 p. (in Russian).
5. *Jacob G.S., Garbow J. R., Hallas L.E., Kimak N.M., Kishore G.M., Shaefer J.* (1988). Metabolism of glyphosate in *Pseudomonas* sp. Strain LBr. Appl. Environ. Microbiol, Vol. 54, no. 12, pp. 2953–2958 (in English).
6. *Yermakova I.T., Shushkova T.V., Leontevskiy A.A.* (2008). Mikrobnaya destruktziya organofosfonatov pochvennymi bakteriyami [Microbial degradation of organophosphonates by soil bacteria]. Mikrobiologiya [Microbiology], Vol. 77, no. 5, pp. 689–695 (in Russian).
7. *Abdel-Megeed A., Sadik M. W., Al-Shahrani H.O., Ali M.M.* (2013). Phyto-Microbial degradation of glyphosate in Riyadh area. Internat. J. of Microbiology Research, vol. 5, no. 5, pp. 458–466 (in English).
8. *Funke T., Han H., Healy-Fried M.L., Fischer M. and Schunbrunn E.* (2006). Molecular basis for the herbicide resistance of Roundup Ready crops. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 103, pp. 13010–13015 (in English).