



ВЛИЯНИЕ ШТАММА *PSEUDOMONAS* SP. ОВА 2.4.1 НА РАСТЕНИЯ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.) ПРИ ИНГИБИРУЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ КАДМИЯ

*Хакимова Л.Р.^{1,2}, Чубукова О.В.^{1,2}, Мурясова А.Р.², Вершинина З.Р.^{1,2}

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, пр. Октября 71, лит. 1Е.

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уфимский государственный нефтяной технический университет», кафедра «Школа молекулярных технологий», Россия, 450064, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1.
E-mail: lili-nigmatullina@bk.ru

Резюме

Pseudomonas sp. обладают большим потенциалом как ризосферные бактерии, стимулирующие рост растений (PGPR) (в том числе и для получения микробиологических биопрепаратов) для защиты растений от фитопатогенов, тяжелых металлов, увеличения урожайности растений и роста растений в стрессовых условиях. Целью данной работы было определение ингибирующей концентрации солей кадмия на рост штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 и анализ его влияния на рост и прорастание семян растений гороха посевного (*Pisum sativum* L.) при разных концентрациях солей кадмия. Исследуемый штамм был идентифицирован как *Pseudomonas* sp., была показана его сидерофорная активность и способность к образованию биопленок. Кроме того, обработка данным штаммом семян растений гороха привела к увеличению средней длины проростков в 2,6 раз по сравнению с необработанными семенами. При выращивании семян гороха с обработкой псевдомонадами в присутствии 100 мкМ CdCl₂ длина проростков увеличилась на 62 %, при 200 мкМ – на 20 %, при 300 мкМ – на 36 %, при 400 мкМ – на 51 %, при 500 мкМ – на 118 % относительно контрольных инокулированных семян. Полученные результаты показывают, что штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 способствует улучшению роста и развития семян гороха *Pisum sativum* L. при кадмиевом стрессе, что может быть использовано с целью создания биопрепаратов комплексного воздействия, предназначенных как для защиты сельскохозяйственных растений от воздействия тяжелых металлов, так и для использования в биоремедиации.

Ключевые слова: *Pseudomonas*, PGPR, тяжелые металлы, кадмий, семейство Бобовые, *Pisum sativum* L., биопленки, фосфатмобилизация, сидерофорная активность, биоремедиация

Цитирование: Хакимова Л.Р., Чубукова О.В., Мурясова А.Р., Вершинина З.Р. Влияние штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на растения гороха посевного (*Pisum sativum* L.) при ингибирующем действии солей кадмия // *Biomics*. 2022. Т.14(2). С.101-110. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-7

© Авторы

THE EFFECT OF *PSEUDOMONAS* SP. ОВА 2.4.1 STRAIN ON PLANTS OF PEAS (*PISUM SATIVUM* L.) WITH THE INHIBITORY EFFECT OF CADMIUM SALTS

*Khakimova L.R.^{1,2}, Chubukova O.V.^{1,2}, Muryasova A.R.², Vershinina Z.R.^{1,2}

¹Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences,
71 Pr. Oktyabrya, Ufa, 450054, Russia

²Ufa State Petroleum Technological University, Department "School of Molecular Technologies",
1 Kosmonavtov str., Ufa, 450062, Russia,

Resume

Bacteria *Pseudomonas* sp. have great potential as rhizospheric bacteria that stimulate plant growth (PGPR) (including for obtaining microbiological biological products) to protect plants from phytopathogens, heavy metals, increase plant yield and plant growth under stress conditions. The purpose of this work was to determine the inhibitory concentration of cadmium salts on the growth of the strain *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 and to analyze its effect on the growth and germination of seeds of pea (*Pisum sativum* L.) at different concentrations of cadmium salts. The studied strain was identified as *Pseudomonas* sp., its siderophoric activity and the ability to form biofilms were shown. In addition, treatment with this strain of seeds of pea plants led to an increase in the average length of seedlings by 2.6 times compared with untreated seeds. When growing pea seeds with *Pseudomonas* treatment in the presence of 100 μM of CdCl_2 , the length of seedlings increased by 62%, at 200 μM – by 20%, at 300 microns – by 36%, at 400 μM – by 51%, at 500 μM – by 118% relative to control uninoculated seeds. The results obtained show that the strain *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 improves the growth and development of pea *Pisum sativum* under cadmium stress, which can be used to create complex biological products designed both to protect agricultural plants from the effects of heavy metals and for use in bioremediation.

Keywords: *Pseudomonas*, PGPR, heavy metals, cadmium, Legume family, *Pisum sativum* L., biofilms, phosphatmobilization, siderophoric activity, bioremediation

Citation: Khakimova L.R., Chubukova O.V., Muryasova A.R., Vershinina Z.R. The effect of *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 strain on plants of seed peas (*Pisum sativum* L.) with the inhibitory effect of cadmium salts. *Biomics*. 2022. V.14(1). P. 101-110. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-7 (In Russian)

© Authors

Введение

PGPR (от Plant Growth-Promoting Rhizobacteria – ризосферные бактерии, стимулирующие рост растений) включают в себя различные таксономические группы, которые обладают широким набором полезных для растений свойств. К таким PGPR бактериям относятся почвенные микроорганизмы рода *Pseudomonas*. Они активно колонизируют корни растений, стимулируют их рост, активируют иммунный ответ растений и подавляют почвенные фитопатогенные грибы и бактерии. Псевдомонады в отличие от других ризосферных бактерий имеют высокую скорость роста. Практический интерес представляют PGPR из рода *Pseudomonas*: *P. fluorescens*, *P. aureofaciens*, *P. chlororaphis*, *P. corrugate*, *P. putida* и другие. В настоящее время особо актуальны штаммы, имеющие прикладные значения, которые можно использовать в качестве ростостимулирующих агентов, а также в качестве защиты растений от негативного влияния тяжелых металлов (ТМ) на их рост, развитие и урожайность [Кочетков и др. (Kochetkov et al.), 2018].

Как известно кадмий (Cd) является токсичным ТМ для организма человека и значительно

снижает урожайность сельскохозяйственных культур. Биоремедиация с помощью PGPR является эффективной экологической мерой для улучшения очистки почв, загрязненной ТМ. Есть работы, показывающие положительное влияние Cd-Zn-толерантного PGPR *Bacillus* sp. штамма ZC3-2-1 на растения риса (*Oryza sativa*). Обработка данным штаммом значительно увеличила биомассу риса, но содержание Cd^{2+} и Zn^{2+} существенно не изменилось. Этот факт доказывает, что штамм *Bacillus* sp. ZC3-2-1 может повышать эффективность ремедиации почв, загрязненной Cd-Zn, способствуя фитоэкстракции и иммобилизации металла, что не влияет на содержание ТМ в пищевых продуктах [Liu et al., 2022].

В качестве растений-фиторемедиантов чаще всего рекомендуются растения семейства Крестоцветные (*Brassicaceae*), так как они имеют относительно высокую устойчивость к ТМ и способность к их аккумуляции [Gisbert et al., 2006; Vamerali et al., 2009; Dar et al., 2014]. Но главным их недостатком в применении для фиторемедиации является низкая скорость роста и низкий выход биомассы. В качестве альтернативы возможно рассмотреть растения из семейства Бобовые

(*Fabaceae*), которые быстро растут и набирают большую биомассу, но имеют относительно низкую толерантность к ТМ [Inouhe et al., 1994; Mazen, 1995]. Кроме того, они образуют азотфиксирующий симбиоз с клубеньковыми бактериями и ассоциативный симбиоз с PGPR, которые оказывают положительное влияние на рост и питание растений [Belimov et al., 2020]. Такие взаимодействия бобовых с полезными бактериями [Artursson et al., 2006; de-Bashan et al., 2012; Gomez-Sagasti, Marino, 2015; Ullah et al., 2014; Sharma, Archana, 2016] повышают адаптацию растений к стрессам, что дает возможность их использования для биоремедиации загрязненных почв [Belimov et al., 2020].

Цель исследований – определение ингибирующей концентрации солей кадмия на рост штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 и анализ его влияния на прорастание и рост семян гороха посевного (*Pisum sativum* L.) сорта Кельведонское чудо при различных концентрациях кадмия.

Материалы и методы.

Выделение штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1. Штамм *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 получен при выделении микроорганизмов из ризосферы остролодочника башкирского (*Oxytropis baschkiriensis*) с помощью гомогенизации образцов почв в стерильной среде LB (масс. % в водном растворе: бактотриптон – 1, дрожжевой экстракт – 0.5, NaCl – 0.5, агар – 1), дальнейшим пересевом и росте при 28°C [Desoky et al., 2020]. ДНК из бактерий выделяли лизированием клеток в 1% Triton X100 и 1%-ной суспензии Chelex100 [Чубукова и др. (Chubukova et al.), 2021].

Молекулярно-генетическая идентификация бактериальных штаммов. Для идентификации выделенных бактерий был амплифицирован ген 16S рРНК с использованием универсальных праймеров fd1 5'-cccgggatccaagcttaaggagggtgatccagcc-3' и rD1 5'-ccgaattcgctgcacaacagagtttgatcctggctcag-3' [Баймиев и др. (Baymiev et al.), 2019]. Для амплификации фрагмента гена *rpoD* были использованы праймеры PsEG30F5'-ATYGAAATCGCCAARCG-3' и PsEG790R5'-CGGTTGATKTCCTTGA-3' [Mulet et al., 2009; Чубукова и др. (Chubukova et al.), 2022].

Определение нуклеотидных последовательностей проводили на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3500 фирмы «Applied Biosystems, Inc.» (США) с использованием наборов «Big Dye Terminator v. 3.1». Анализ проводили с помощью пакета компьютерных программ Lasergene фирмы «DNASTAR, Inc.» (США). Нуклеотидные последовательности для сравнительного анализа были взяты из базы данных GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Компьютерный анализ

фрагментов последовательностей ДНК проводили с использованием метода множественного выравнивания Clustal W в программе Megalign Lasergene (DNASTAR, США).

Биопленкообразование на инертных поверхностях.

Для получения биопленок использовали среду LB с применением 24-луночных пластиковых планшетов (полистирол) («Corning Inc.», США). Для этого бактерии выращивали 24 ч в жидкой среде при 28°C и 140 об/мин. Культуру разводили до 10^6 КОЕ/мл и переносили по 1 мл в лунки планшета, инкубировали при температуре 28°C и 50 об./мин в течение 7 сут. Для определения относительных показателей плотности биопленки использовали метод окрашивания генцианом фиолетовым («Агат-Мед», Россия) [Вершинина и др. (Vershina et al.), 2021]. Оптическую плотность образцов измеряли с помощью прибора Enspire Model 2300 Multilabel Microplate Reader («Perkin Elmer», США).

Фосфатмобилизация и сидерофорная активность штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1.

Определение способности штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 к мобилизации неорганического фосфора проверяли на чашках со средой Муромцева (глюкоза 10 г/л, аспарагин 1 г/л, K_2SO_4 0.2 г/л, $MgSO_4$ 0.2 г/л, кукурузный экстракт 0.02 г/л, агар 20 г/л; pH 6.8), содержащей нерастворимый фосфат. В качестве источника фосфора в среду добавляли $Ca_3(PO_4)_2$ в концентрации 5 г/л [Егоршина и др. (Egorshina et al.), 2011]. Суточную культуру бактерий наносили в виде капли на поверхность агаризованной среды, инкубировали при температуре 28°C.

Минимальную среду с CAS-реактивом (синий агар) готовили как описано у Schwyna (1986) с некоторыми модификациями. Для приготовления 100 мл среды 6,5 г хромазуrola S растворяли в 5 мл воды и смешивали с 1 мл раствора, содержащего 1мМ $FeCl_3$ и 10мМ HCl. После этого к раствору хромазуrola добавляли 4 мл раствора, содержащего 7,3 мг НДТМА. Полученную смесь автоклавируют и добавляли в стерильную среду LB. На полученном «синем агаре» выращивали бактерии в течение 2 суток. Изменение окраски на желтую, оранжевую или розовую выявляло выделение сидерофоров.

Обработка растений штаммом *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1.

Семена растений гороха сорта Кельведонское чудо стерилизовали в течение 1 мин в 70% спирте, а после – 20 мин в 10% растворе гипохлорита натрия [Вершинина и др. (Vershina et al.), 2021]. Далее семена обрабатывали штаммом *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 и проращивали на фильтровальной бумаге в стерильной воде (контроль) и в различных концентрациях солей кадмия ($CdCl_2$): 100, 200, 300, 400, 500 мкМ. Для инокуляции суспензию бактерий разбавляли до 10^7 КОЕ/мл

стерильной жидкой средой LB. Все морфометрические измерения проводили через 7 дней культивирования семян растений с бактериями, энергию прорастания смотрели через 3 дня. Для определения ростостимулирующего эффекта штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 у семян, инокулированных псевдомонадами, и у контрольных необработанных семян измеряли длину побега. Для анализа было использовано по 50 растений в каждом варианте опыта при трехкратной повторности.

Статистическая обработка результатов. Результаты обрабатывали с использованием пакета Microsoft Office Excel 2010, доверительные интервалы определяли для 95% уровня значимости.

Результаты и обсуждение

На основе сравнительного анализа полученных нуклеотидных последовательностей фрагментов генов 16S рРНК и *rpoD* с уже известными аналогичными структурами из базы данных GenBank было установлено, что полученный штамм бактерий относится к роду *Pseudomonas* sp. [Чубукова и др. (Chubukova et al.), 2022]. Далее данный штамм был зарегистрирован в коллекции ризосферных микроорганизмов «Симбионт» ИБГ УФИЦ РАН как *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1.

Для успешной колонизации корней растений бактерии должны иметь ряд свойств, способствующих повышению их конкурентоспособности. Например, способность образовывать биопленки положительно сказывается на стратегии выживания бактерий. Есть работы, показывающие, что при образовании бактериями *P. aeruginosa* биопленки, они становились более устойчивыми к ионам ТМ (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+}) по сравнению с одиночными бактериями, благодаря

тому, что полимерные соединения связывают ионы металлов, предотвращая их попадание внутрь биопленки [Teitzel, Parsek, 2003; Пищик, 2016]. Исследуемый штамм *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 также имеет способность к биопленкообразованию (рис. 1), что характеризует его как PGPR с хорошей конкурентоспособностью.

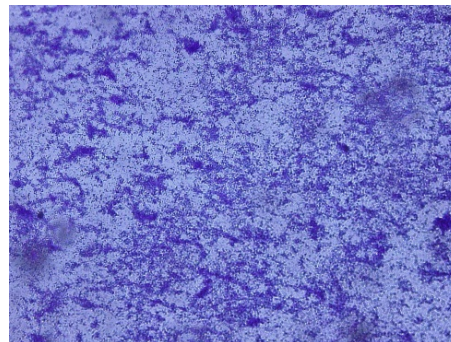


Рис. 1. Образование биопленки штаммом *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1

Fig. 1. Biofilm formation by *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1

Фосфатмобилизация и сидерофорная активность также показательны для PGPR. Мобилизация фосфатов помогает растениям усваивать фосфор, а выделяемые сидерофоры, подавляют рост патогенных грибов за счет уменьшения количества доступного для них железа в окружающей корни растений почве.

С помощью качественных реакций была обнаружена сидерофорная активность штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1, реакция на фосфатмобилизацию была отрицательной (рис. 2).

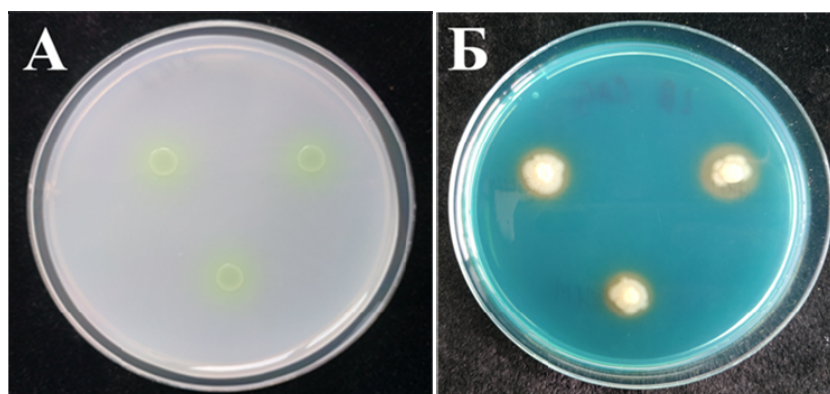


Рис. 2. Определение фосфатмобилизующей и сидерофорной активностей штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1: А – отрицательная реакция на фосфатмобилизацию; Б – положительная сидерофорная активность.

Fig. 2. Determination of phosphate mobilizing and siderophore activities of *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1: A - negative reaction to phosphate mobilization; B - positive siderophore activity.

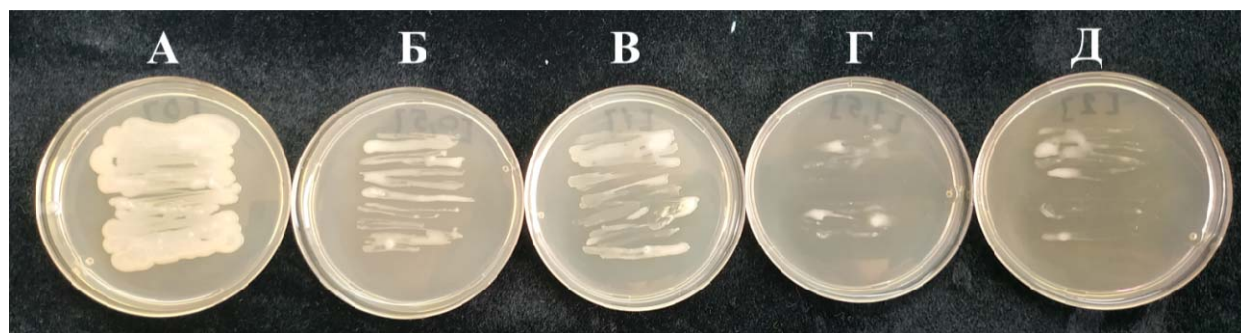


Рисунок 3. Рост штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 при стрессовом воздействии CdCl_2 :

А – контроль; Б – CdCl_2 0.5 мМ; В – CdCl_2 1 мМ; Г – CdCl_2 1.5 мМ; Д – CdCl_2 2 мМ.

Figure 3. Growth of *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 with CdCl_2 :

A – control; Б – CdCl_2 0.5 mM; В – CdCl_2 1 mM; Г – CdCl_2 1.5 mM; Д – CdCl_2 2 mM.

При посеве штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на различные концентрации CdCl_2 было выявлено заметное ингибирование роста в присутствии CdCl_2 до 1 мМ, при 1.5 и 2 мМ рост бактерий сильно угнетался (рис. 3).

Для проверки влияния штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на рост и развитие растений гороха, была проведена обработка семян и анализ морфометрических показателей проростков гороха

при стрессовом воздействии CdCl_2 . На рисунке 4 показан рост растений гороха в присутствии CdCl_2 в концентрациях 100, 200, 300, 400, 500 мкМ. Визуально угнетение роста семян начиналось при 300 мкМ CdCl_2 . Обработка штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 стимулировало рост семян гороха, в присутствии CdCl_2 наблюдалось постепенное ухудшение роста и развития проростков.



Рисунок 4. Рост растений гороха при стрессовом воздействии CdCl_2 :

А – без обработки бактериями; Б – обработка штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1.

Figure 4. Growth of pea plants with CdCl_2 :

A – without inoculation with bacteria; B – inoculation with *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1.

В результате инокуляция штаммом *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 привела к увеличению длины проростков как при кадмиевом стрессе, так и без него. При прорастании на стерильной воде

обработка бактериями привела к увеличению длины проростков гороха в среднем в 2,6 раз по сравнению с необработанными семенами (рис. 5).

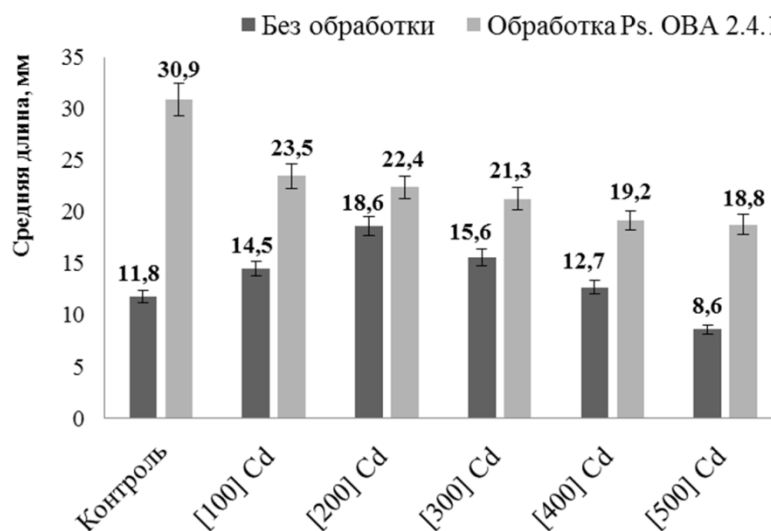


Рисунок 5. Средняя длина проростков растений гороха на разных концентрациях солей кадмия с обработкой *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 и без обработки.

Figure 4. Average length of seedlings of pea plants at different concentrations of CdCl₂ treated with *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 and without inoculation.

При выращивании на концентрации CdCl₂ 100 мкМ после обработки псевдомонадами длина проростков увеличилась на 62 %, при 200 мкМ – на 20 %, при 300 мкМ – на 36 %, при 400 мкМ – на 51 %, при 500 мкМ – на 118 % относительно контрольных неинокулированных семян.

Полученные данные показали, что инокуляция бактериями семян гороха оказывала положительное влияние на длину проростков, что может свидетельствовать о повышении устойчивости растения к кадмиевому стрессу на начальном этапе роста растений.

Ранее нами были проведены подобные опыты на растениях люцерны посевной (*Medicago sativa* L.), где штамм *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 показал себя как эффективный стимулятор роста в присутствии ТМ. Так при выращивании с добавлением CdCl₂ 100 мкМ длина проростков увеличилась на 38,6 %, при 200 мкМ – на 23,9 %, при 300 мкМ – на 21,5 %, при 400 мкМ – на 21,6 %, при 500 мкМ – на 64,6 % относительно контрольных неинокулированных растений [Хакимова и др. (Khakimova et al.), 2022].

Многие исследования показывают, что обработка PGPR положительно сказывается на растениях даже в присутствии ТМ в среде. Например, у растений люцерны посевной *Medicago sativa* L., обработанных PGPR и выращенных в присутствии Cu,

Pb и Zn, увеличивалась длина побегов на 22-77%, а биомасса побегов – до 220% по сравнению с необработанными растениями [Raklami et al., 2019; Konkolewska et al., 2020]. Обработка растений *Atriplex halimus* и *Arthrocnemum macrostachyum*, растущих в присутствии ТМ, показало улучшение их морфометрических показателей по сравнению с необработанными контролями. Это может быть связано с тем, что микроорганизмы улучшают питание растений за счет растворения фосфатов, железа, фиксации азота, и, кроме того, они могут стимулировать рост растений за счет секреции ауксинов [Glick, 2013; Goswami et al., 2016; Navarro-Torre et al., 2017; Paredes-Páliz et al., 2018; Mesnoua et al., 2018; Odoh et al., 2019].

Таким образом, устойчивость растений к токсическому действию кадмия может быть обусловлена более эффективным ростом корней, благодаря положительному действию веществ, выделяемых микроорганизмами, и уменьшением концентрации и аккумуляции ТМ в корневой системе растений. Преимущественная аккумуляция кадмия в корнях по сравнению с его аккумуляцией в надземных органах растений определяется барьерными функциями корневой системы растений по отношению к токсичным ТМ [Титов и др. (Titov et al.), 2007; Шабаяев и др. (Shabayev et al.), 2019].

Таким образом, был идентифицирован новый штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1, который показал себя как эффективный стимулятор роста семян гороха на начальных этапах развития растений при кадмиевом стрессе до 500 мкМ. Обработка штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 привела к увеличению длины проростков в 2,6 раз по сравнению с необработанными семенами.

Полученные данные демонстрируют возможность использования различных PGPR *Pseudomonas* spp. в агробиотехнологии в качестве ростостимулирующих агентов, которые могут способствовать улучшению роста и питания растений, что, в конечном итоге, может привести к увеличению их биомассы и продуктивности. Подобные свойства псевдомонад позволяют говорить о перспективах их применения в сельском хозяйстве, а также в экологии для использования в фиторемедиации почв, загрязненных кадмием.

Работа была выполнена в рамках госзадания (тема № АААА-А21-121011990120-7) с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и Программы создания и функционирования карбонового полигона на территории Республики Башкортостан «Евразийский карбоновый полигон» на 2022-2023 гг.

Литература

1. Баймиев Ан.Х., Акимова Е.С., Гуменко Р.С., Владимиров А.А., Чемерис А.В., Баймиев Ал.Х. Генетическое разнообразие и филогения клубеньковых бактерий, выделенных из клубеньков растений рода *Lupinaster*, произрастающих на Южном Урале // Генетика. 2019. Т. 55. С. 55–59. doi: 10.1134/S0016675819010028
2. Вершинина З. Р., Чубукова О. В., Никоноров Ю. М., Хакимова Л. Р., Лавина А. М., Каримова Л. Р., Баймиев Ан. Х., Баймиев А. Х. Влияние сверхэкспрессии гена *rosR* на образование биопленок бактериями *Rhizobium leguminosarum* // Микробиология. 2021. Т. 90. № 2. С. 191-203. doi: 10.31857/S0026365621020154
3. Егоршина А.А., Хайруллин Р.М., Лукьянцев М.А., Курамшина З.М., Смирнова Ю.В. Фосфат-мобилизующая активность эндофитных штаммов *Bacillus subtilis* и их влияние на степень микоризации корней пшеницы // Журн. Сибирского фед. ун-та. Биология. 2011. Т. 4. №2. С. 172–182.
4. Кочетков В.В., Анохина Т.О., Сиунова Т.В., Сизова О.И., Боронин А.М. Биологическое разнообразие PGPR *Pseudomonas* // Биологическая защита растений - основа стабилизации агроэкосистем. Становление и перспективы развития органического земледелия в Российской Федерации. 2018. С.115-118.
5. Пищик В.Н., Воробьев Н.И., Проворов Н.А., Хомяков Ю.В. Механизмы адаптации растений и микроорганизмов в растительно-микробных системах к тяжелым металлам // Микробиология. 2016. Т. 85. № 3. С. 231-247. doi: 10.7868/S0026365616030113
6. Титов А.Ф., Таланова В.В., Казнина Н.М., Лайдинен Г.Ф. Устойчивость растений к тяжелым металлам. Петрозаводск: КарНЦ РАН. 2007. 172 с.
7. Хакимова Л. Р., Чубукова О. В., Мурясова А. Р., Симороз Е. В., Чумакова А. К., Вершинина З. Р. Влияние *Pseudomonas* spp. на растения люцерны *Medicago sativa* L. при ингибирующем действии солей кадмия // Таврический вестник аграрной науки. 2022. № 2(30). С. 155–163. EDN: AJPFYR.
8. Хакимова Л.Р., Чубукова О.В., Вершинина З.Р., Масленникова Д.Р., Мурясова А.Р., Симороз Е.В., Чумакова А.К., Насырова К.Р. *Pseudomonas* spp. для стимуляции роста растений семейства пасленовые // Известия уфимского научного центра РАН. 2022. № 2. С. 24–28. doi: 10.31040/2222-8349-2022-0-2-24-28
9. Чубукова О.В., Вершинина З.Р., Матиязов Р.Т., Баймиев Ан.Х., Баймиев Ал.Х. Создание индуцируемой векторной системы на основе промотора гена *nodA* ризобий // Экологическая генетика. 2021. Т. 19. С. 13–21. doi: 10.17816/ecogen48646
10. Чубукова О.В., Хакимова Л.Р., Акимова Е.С., Вершинина З.Р. Филогения и свойства новых штаммов *Pseudomonas* sp. из ризосферы бобовых растений Южного Урала // Микробиология. 2022. Т. 91. № 5. С. 537-546. DOI: 10.31857/S0026365622100196
11. Шабаев В. П., Бочарникова Е. А., Остроумов В. Е. Растительные и почвенные механизмы устойчивости растений к токсическому действию кадмия при применении ростостимулирующей ризосферной бактерии в условиях загрязнения почвы тяжелым металлом // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. 2019. № 4. С. 400-406. doi: 10.1134/S0002332919040118
12. Artursson V., Finlay R.D., Jansson J.K. Interactions between Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Bacteria and Their Potential for Stimulating Plant Growth. Environ. Microbiol. 2006. V. 8. P. 1–10. doi: 10.1111/j.1462-2920.2005.00942.x
13. Belimov A.A., Shaposhnikov A.I., Azarova T.S., Makarova N.M., Safronova V.I., Litvinskiy V.A., Nosikov V.V., Zavalin A.A., Tikhonovich I.A. Microbial Consortium of PGPR, Rhizobia and Arbuscular Mycorrhizal Fungus Makes Pea Mutant SGECDt Comparable with Indian Mustard in Cadmium Tolerance and Accumulation // Plants (Basel). 2020. V. 9(8). P. 975. doi: 10.3390/plants9080975

14. Dar M.I., Khan F.A., Rehman F., Masoodi A., Ansari A.A., Varshney D., Naushin F., Naikoo M.I. Roles of Brassicaceae in Phytoremediation of Metals and Metalloids. In *Phytoremediation*; Ansari, A., Gill, S., Gill, R., Lanza, G., Newman, L., Eds.; Springer: Cham, Switzerland. 2014. p. 201–215. doi: 10.1007/978-3-319-10395-2_14
15. de-Bashan L.E., Hernandez J.-P., Bashan Y. The Potential Contribution of Plant Growth-Promoting Bacteria to Reduce Environmental Degradation - A Comprehensive Evaluation. *Appl. Soil Ecol.* 2012. V. 61. P. 171–189. doi:10.1016/j.apsoil.2011.09.003
16. Desoky E.S.M., Merwad A.R.M., Semida W.M., Ibrahim S.A., El-Saadony M.T., Rady M.M. Heavy metals-resistant bacteria (HM-RB): Potential bioremediators of heavy metals stressed *Spinacia oleracea* plant // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2020. V. 198. P. 110685. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110685
17. Gisbert C., Clemente R., Navarro-Aviñó J., Baixauli C., Ginér A., Serrano R., Walker D.J., Bernal M.P. Tolerance and accumulation of heavy metals by Brassicaceae species grown in contaminated soils from mediterranean regions of Spain // *Environ. Exp. Bot.* 2006. V. 56. P. 19–27. doi: 10.1016/j.envexpbot.2004.12.002
18. Glick B.R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world // *Microbiol. Res.* 2014. V. 169. P. 30–39. doi: 10.1016/j.micres.2013.09.009
19. Gomez-Sagasti M.T., Marino D. PGPRs and Nitrogen-Fixing Legumes: A Perfect Team for Efficient Cd Phytoremediation? // *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. P. 81. doi:10.3389/fpls.2015.00081
20. Goswami D., Thakker J.N., Dhandhukia P.C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review // *Cogent Food Agric.* 2016. V. 2. P. 1127500. doi: 10.1080/23311932.2015.1127500
21. Inouhe M., Ninomiya S., Tohoyama H., Joho M., Murayama T. Different Characteristics of Root in the Cadmium-Tolerance and Cd-Binding Complex Formation between Mono- and Dicotyledonous Plants // *J. Plant Res.* 1994. V. 107. P. 201–207. doi: 10.1007/BF02344245
22. Konkolewska A., Piechalak A., Ciszewska L., Antos-Krzemińska N., Skrzypczak T., Hanć A., Sitko K., Małkowski E., Barańkiewicz D., Małecka A. Combined use of companion planting and PGPR for the assisted phytoextraction of trace metals (Zn, Pb, Cd) // *Environ Sci Pollut Res Int.* 2020. V. 27(12). P. 13809–13825. doi: 10.1007/s11356-020-07885-3.
23. Liu A., Wang W., Zheng X., Chen X., Fu W., Wang G., Ji J., Jin C., Guan C. Improvement of the Cd and Zn phytoremediation efficiency of rice (*Oryza sativa*) through the inoculation of a metal-resistant PGPR strain // *Chemosphere.* 2022. V. 302. P. 134900. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.134900
24. Mazen A.M.A. Assessment of Heavy Metal Accumulation and Performance of Some Physiological Parameters in *Zea Mays* L. and *Vicia Faba* L. Grown on Soil Amended by Sewage Sludge Resulting from Sewage Water Treatment in the State of Qatar // *Qatar Univ Sci. J.* 1995. V. 5. P. 353–359.
25. Mesnoua M., Mateos-Naranjo E., Pérez-Romero J.A., Barcia-Piedras J.M., Lotmani B., Redondo-Gómez S. Combined effect of Cr-toxicity and temperature rise on physiological and biochemical responses of *Atriplex halimus* L. // *Plant Physiol. Biochem.* 2018. V. 132. P. 675–682. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.08.025
26. Mulet M., Bennasar A., Lalucat J., García-Valdés E. An rpoD-based PCR procedure for the identification of *Pseudomonas* species and for their detection in environmental samples // *Mol. Cell Probes.* 2009. V. 23. P. 140–147. doi: 10.1016/j.mcp.2009.02.001
27. Navarro-Torre S., Barcia-Piedras J.M., Caviades M.A., Pajuelo E., Redondo-Gómez S., Rodríguez-Llorente I.D., Mateos-Naranjo E. Bioaugmentation with bacteria selected from the microbiome enhances *Arthrocnemum macrostachyum* metal accumulation and tolerance // *Mar. Pollut. Bull.* 2017. V. 117. P. 340–347. doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.02.008.
28. Odoh C.K., Eze C.N., Apki U.K., Unah V.U. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A novel agent for sustainable food production // *Am. J. Agric. Biol. Sci.* 2019. V. 14. P. 35–54. doi: 10.3844/ajabssp.2019.35.54
29. Paredes-Páliz K., Rodríguez-Vázquez R., Duarte B., Caviades M.A., Mateos-Naranjo E., Redondo-Gómez S., Caçador M.I., Rodríguez-Llorente I.D., Pajuelo E. Investigating the mechanisms underlying phytoprotection by plant growth-promoting rhizobacteria in *Spartina densiflora* under metal stress // *Plant Biol.* 2018. V. 20. P. 497–506. doi: 10.1111/plb.12693
30. Raklami A., Oufdou K., Tahiri A. I., Mateos-Naranjo E., Navarro-Torre S., Rodríguez-Llorente I. D., Meddich A., Redondo-Gómez S., Pajuelo E. Safe Cultivation of *Medicago sativa* in Metal-Polluted Soils from Semi-Arid Regions Assisted by Heat- and Metallo-Resistant PGPR // *Microorganisms.* 2019. V. 7(7). P. 212. doi: 10.3390/microorganisms7070212.
31. Schwynan B., Neilands J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores // *Anal. Biochem.* 1987. p. 47–56.
32. Sharma R.K., Archana G. Cadmium Minimization in Food Crops by Cadmium Resistant Plant Growth Promoting Rhizobacteria // *Appl. Soil Ecol.* 2016. V. 107. P. 66–78. doi:10.1016/j.apsoil.2016.05.009
33. Teitzel G.M., Parsek M.R. Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas*

- aeruginosa* // Appl. Environ. Microbiol. 2003. V. 69. № 4. P. 2313–2320. doi: 10.1128/AEM.69.4.2313-2320.2003
34. Ullah A., Heng S., Farooq M., Munis H., Fahad S., Yang X. Phytoremediation of Heavy Metals Assisted by Plant Growth Promoting (PGP) Bacteria: A Review // Environ. Exp. Bot. 2015. V. 117. P. 28–40. doi:10.1016/j.envexpbot.2015.05.001
35. Vamerali T., Bandiera M., Mosca G. Field Crops for Phytoremediation of Metal-Contaminated Land. A Review // Environ. Chem. Lett. 2009. V. 8. P. 1–17. doi: 10.1007/s10311-009-0268-0

References

- Artursson V., Finlay R.D., Jansson J.K. Interactions between Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Bacteria and Their Potential for Stimulating Plant Growth. *Environ. Microbiol.* 2006. V. 8. P. 1–10. doi: 10.1111/j.1462-2920.2005.00942.x
- Baymiev An.K., Akimova E.S., Gumenko R.S., Vladimirova A.A., Muldashev A.A., Chemeris A.V., Baymiev Al.K. Genetic diversity and phylogeny of root nodule bacteria isolated from nodules of plants of the *Lupinaster* genus inhabiting the southern Urals. *Russ. J. Genet.* 2019. V. 55. P. 45–51. doi: 10.1134/S1022795419010022
- Belimov A.A., Shaposhnikov A.I., Azarova T.S., Makarova N.M., Safronova V.I., Litvinskiy V.A., Nosikov V.V., Zavalin A.A., Tikhonovich I.A. Microbial Consortium of PGPR, Rhizobia and Arbuscular Mycorrhizal Fungus Makes Pea Mutant SGECDt Comparable with Indian Mustard in Cadmium Tolerance and Accumulation. *Plants (Basel)*. 2020. V. 9(8). P. 975. doi: 10.3390/plants9080975
- Chubukova O.V., Khakimova L.R., Akimova E.S., Vershinina Z.R. Phylogeny and Properties of New *Pseudomonas* spp. from the Rhizosphere of Southern Ural Leguminous Plants. *Microbiology (Mikrobiologiya)*. 2022. V. 91 (5). P. 537–546. DOI: 10.31857/S0026365622100196
- Chubukova O.V., Vershinina Z.R., Matnyazov R.T., Baymiev A.K., Baymiev A.K. Sozdaniye indutsiruyemoy vektornoy sistemy na osnove promotora gena *nodA* rizobiy. *Ekologicheskaya genetika*. 2021. V. 19. S. 13–21. doi: 10.17816/ecogen48646 [Creation of an inducible vector system based on the rhizobia *nodA* gene promoter] (In Russian).
- Dar M.I., Khan F.A., Rehman F., Masoodi A., Ansari A.A., Varshney D., Naushin F., Naikoo M.I. Roles of Brassicaceae in Phytoremediation of Metals and Metalloids. In *Phytoremediation*; Ansari, A., Gill, S., Gill, R., Lanza, G., Newman, L., Eds.; Springer: Cham, Switzerland. 2014. p. 201–215. doi: 10.1007/978-3-319-10395-2_14
- de-Bashan L.E., Hernandez J.-P., Bashan Y. The Potential Contribution of Plant Growth-Promoting Bacteria to Reduce Environmental Degradation - A Comprehensive Evaluation. *Appl. Soil Ecol.* 2012. V. 61. P. 171–189. doi:10.1016/j.apsoil.2011.09.003
- Desoky E.S.M., Merwad A.R.M., Semida W.M., Ibrahim S.A., El-Saadony M.T., Rady M.M. Heavy metals-resistant bacteria (HM-RB): Potential bioremediators of heavy metals stressed *Spinacia oleracea* plant. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2020. V. 198. P. 110685. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110685
- Gisbert C., Clemente R., Navarro-Aviñó J., Baixauli C., Ginér A., Serrano R., Walker D.J., Bernal M.P. Tolerance and accumulation of heavy metals by Brassicaceae species grown in contaminated soils from mediterranean regions of Spain. *Environ. Exp. Bot.* 2006. V. 56. P. 19–27. doi: 10.1016/j.envexpbot.2004.12.002
- Glick B.R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* 2014. V. 169. P. 30–39. doi: 10.1016/j.micres.2013.09.009
- Gomez-Sagasti M.T., Marino D. PGPRs and Nitrogen-Fixing Legumes: A Perfect Team for Efficient Cd Phytoremediation? *Front. Plant Sci.* 2015. V. 6. P. 81. doi:10.3389/fpls.2015.00081
- Goswami D., Thakker J.N., Dhandhukia P.C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food Agric.* 2016. V. 2. P. 1127500. doi: 10.1080/23311932.2015.1127500
- Inouhe M., Ninomiya S., Tohoyama H., Joho M., Murayama T. Different Characteristics of Root in the Cadmium-Tolerance and Cd-Binding Complex Formation between Mono- and Dicotyledonous Plants. *J. Plant Res.* 1994. V. 107. P. 201–207. doi: 10.1007/BF02344245
- Khakimova L. R., Chubukova O. V., Muryasova A. R., Simoroz E. V., Chumakova A. K., Vershinina Z. R. Vliyaniye *Pseudomonas* spp. na rasteniya lyutserny *Medicago sativa* L. pri ingibiruyushchem deystvii soley kadmiya. *Taurida Herald of the Agrarian Sciences*. 2022. No. 2(30). P. 155–163. EDN: AJPFYR. [Impact of *Pseudomonas* spp. on *Medicago sativa* L. plants under the inhibitory effect of cadmium salts] (In Russian).
- Khakimova L.R., Chubukova O.V., Vershinina Z.R., Maslennikov A. D.R., Muryasova A.R., Simoroz E.V., Chumakova A.K., Nasyrova K.R. *Pseudomonas* spp. dlya stimulyatsii rosta rasteniy semeystva paslenovyy // *Izvestiya ufiyskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2022. № 2. P. 24–28. doi: 10.31040/2222-8349-2022-0-2-24-28 [Growth-promoting pseudomonas spp. for plants of the Solanaceae family] (In Russian).
- Kochetkov V.V., Anokhina T.O., Siunova T.V., Sizova O.I., Boronin A.M. Biological diversity of PGPR *Pseudomonas*. *Biologicheskaya zashchita rasteniy - osnova stabilizatsii agroekosistem. Stanovleniye i perspektivy razvitiya organicheskogo zemledeliya v Rossiyskoy Federatsii*. 2018. S.115-118 [Biologicheskoye raznoobraziye PGPR *Pseudomonas*] (In Russian).

17. Konkolewska A, Piechalak A, Ciszewska L, Antos-Krzemińska N., Skrzypczak T., Hanć A., Sitko K., Małkowski E., Barańkiewicz D., Małecka A. Combined use of companion planting and PGPR for the assisted phytoextraction of trace metals (Zn, Pb, Cd). *Environ Sci Pollut Res Int*. 2020. V. 27(12). P. 13809-13825. doi: 10.1007/s11356-020-07885-3
18. Liu A., Wang W., Zheng X., Chen X., Fu W., Wang G., Ji J., Jin C., Guan C. Improvement of the Cd and Zn phytoremediation efficiency of rice (*Oryza sativa*) through the inoculation of a metal-resistant PGPR strain. *Chemosphere*. 2022. 1V. 302. P. 134900. doi: 10.1016/j.chemosphere.2022.134900
19. Mazen A.M.A. Assessment of Heavy Metal Accumulation and Performance of Some Physiological Parameters in *Zea Mays* L. and *Vicia Faba* L. Grown on Soil Amended by Sewage Sludge Resulting from Sewage Water Treatment in the State of Qatar. *Qatar Univ Sci. J*. 1995. V. 5. P. 353–359.
20. Mesnoua M., Mateos-Naranjo E., Pérez-Romero J.A., Barcia-Piedras J.M., Lotmani B., Redondo-Gómez S. Combined effect of Cr-toxicity and temperature rise on physiological and biochemical responses of *Atriplex halimus* L. *Plant Physiol. Biochem*. 2018. V. 132. P. 675–682. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.08.025
21. Mulet M., Bennasar A., Lalucat J., García-Valdés E. An rpoD-based PCR procedure for the identification of *Pseudomonas* species and for their detection in environmental samples. *Mol. Cell Probes*. 2009. V. 23. P. 140–147. doi: 10.1016/j.mcp.2009.02.00
22. Navarro-Torre S., Barcia-Piedras J.M., Caviedes M.A., Pajuelo E., Redondo-Gómez S., Rodríguez-Llorente I.D., Mateos-Naranjo E. Bioaugmentation with bacteria selected from the microbiome enhances *Arthrocnemum macrostachyum* metal accumulation and tolerance. *Mar. Pollut. Bull.* 2017. V. 117. P. 340–347. doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.02.008
23. Odoh C.K., Eze C.N., Apki U.K., Unah V.U. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A novel agent for sustainable food production. *Am. J. Agric. Biol. Sci.* 2019. V. 14. P. 35–54. doi: 10.3844/ajabssp.2019.35.54
24. Paredes-Páliz K., Rodríguez-Vázquez R., Duarte B., Caviedes M.A., Mateos-Naranjo E., Redondo-Gómez S., Caçador M.I., Rodríguez-Llorente I.D., Pajuelo E. Investigating the mechanisms underlying phytoprotection by plant growth-promoting rhizobacteria in *Spartinadensiflora* under metal stress. *Plant Biol*. 2018. V. 20. P. 497–506. doi: 10.1111/plb.12693
25. Pishchik V.N., Vorob'ev N.I., Provorov N.A., Khomyakov Yu.V. Mechanisms of Plant and Microbial Adaptation to Heavy Metals in Plant–Microbial Systems. *Microbiology*. 2016. V. 85 (3). P. 257–271. doi: 10.1134/S0026261716030097.
26. Raklami A., Oufdou K., Tahiri A. I., Mateos-Naranjo E., Navarro-Torre S., Rodríguez-Llorente I. D., Meddich A., Redondo-Gómez S., Pajuelo E. Safe Cultivation of *Medicago sativa* in Metal-Polluted Soils from Semi-Arid Regions Assisted by Heat- and Metallo-Resistant PGPR // *Microorganisms*. 2019. V. 7(7). P. 212. doi: 10.3390/microorganisms7070212
27. Schwynan B., Neillands J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem*. 1987. p. 47–56.
28. Shabayev V.P., Ostroumov V.E., Bocharnikova E.A. Plant and soil mechanisms of plant resistance to Cd toxicity under application of plant growth promoting rhizobacterium in soil contaminated with heavy metal. *Biology Bulletin*. 2019. T. 46. № 4. C. 381–386.
29. Sharma R.K., Archana G. Cadmium Minimization in Food Crops by Cadmium Resistant Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Appl. Soil Ecol*. 2016. V. 107. P. 66–78. doi:10.1016/j.apsoil.2016.05.009
30. Teitzel G.M., Parsek M.R. Heavy metal resistance of biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol*. 2003. V. 69(4). P. 2313–2320. doi: 10.1128/AEM.69.4.2313-2320.2003
31. Titov A.F., Talanova V.V., Kaznina N.M., Laydinen G.F. Ustoychivost' rasteniy k tyazhelym metallam. Petrozavodsk. 2007. 172 p. (In Russian).
32. Ullah A., Heng S., Farooq M., Munis H., Fahad S., Yang X. Phytoremediation of Heavy Metals Assisted by Plant Growth Promoting (PGP) Bacteria: A Review. *Environ. Exp. Bot*. 2015. V. 117. P. 28–40. doi:10.1016/j.envexpbot.2015.05.001
33. Vamerali T., Bandiera M., Mosca G. Field Crops for Phytoremediation of Metal-Contaminated Land. A Review. *Environ. Chem. Lett*. 2009. V. 8. P. 1–17. doi: 10.1007/s10311-009-0268-0
34. Vershinina Z.R., Chubukova O.V., Nikonov Y.M., Khakimova L.R., Lavina A.M., Karimova L.R., Baymiev A.K. Effect of *rosr* gene overexpression on biofilm formation by *Rhizobium leguminosarum*. *Microbiology (Mikrobiologiya)*. 2021. V. 90 (2). P. 191–203. doi: 10.1134/S0026261721020144
35. Yegorshina A.A., Khayrullin R.M., Lukyantsev M.A., Kuramshina Z.M., Smirnova YU.V. Fosfat-mobilizuyushchaya aktivnost' endofitnykh shtammov *Bacillus subtilis* i ikh vliyaniye na stepen' mikorizatsii korney pshenitsy. *Journal of Siberian Federal University. Biology*. 2011. V. 4. P. 172–182. [Phosphate-Mobilizing Activity of the Endophytic *Bacillus subtilis* Strains and their Effect on wheat Roots Micorrrhization Ratio] (In Russian).