УДК 579.64
EDN AJPFYR

Хакимова Л. Р.[1,2], Чубукова О. В.[1,2], Мурясова А. Р.[2], Симороз Е. В.[2], Чумакова А. К.[2], Вершинина З. Р. [1,2]

ВЛИЯНИЕ *PSEUDOMONAS SPP.* НА РАСТЕНИЯ ЛЮЦЕРНЫ *MEDICAGO SATIVA* L. ПРИ ИНГИБИРУЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ СОЛЕЙ КАДМИЯ

ФГБУН УФИЦ «Институт биохимии и генетики Российской академии наук»;
ФГБОУ ВО «Уфимский государственный нефтяной технический университет»

Реферат. *Ризобактерии, способствующие росту растений (PGPR), обладают значительным потенциалом улучшения развития растений, а также способствуют их устойчивости к экологическим стрессам. Целью данной работы было определение концентрации кадмия, при котором происходит ингибирование прорастания семян и роста люцерны посевной (Medicago sativa L.), а также анализ влияния Pseudomonas spp. на растения при разных концентрациях кадмия. Исследования проводили в 2021–2022 гг. Выявлено, что при $CdCl_2$ 100, 200, 300 и 400 мкМ происходит разная степень угнетения проростков люцерны, а на 500 мкМ идет явное ингибирование развития растений, где длина проростков уменьшилась в 4,7 (на 78,8 %) раз по сравнению с контрольными, проросшими в стерильной воде. Изначально были рассмотрены четыре штамма, относящиеся к роду Pseudomonas – OBA 2.4.1, OBA 2.9, GOR 4.17 и STA 3, выделенные из ризосферы растений остролодочника башкирского (Oxytropis baschkirensis), козлятника восточного (Galega orientalis), стальника колючего (Ononis spinosa). Последовательности ДНК данных бактерий были депонированы под номерами OK039351, OK040062, OM835809, OM846603 соответственно. Но для дальнейшего анализа влияния Pseudomonas spp. на семена при разных концентрациях кадмия был выбран наиболее эффективный штамм Pseudomonas sp. OBA 2.4.1, который повысил прорастание семян на 15 %, остальные штаммы – на 3–9 %. В результате обработка Pseudomonas sp. OBA 2.4.1. показала положительное влияние на проростки люцерны на разных концентрациях солей кадмия. Так, выращивание при $CdCl_2$ 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 контроля. Данное исследование подтверждает потенциал использования ризосферных штаммов Pseudomonas sp. для применения в сельском хозяйстве и биоремедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами.*

Ключевые слова: *Pseudomonas spp., Medicago sativa L., PGPR бактерии, тяжелые металлы, кадмий.*

Для цитирования: *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.*

For citation: *Khakimova L. R., Chubukova O. V., Muryasova A. R., Simoroz E. V., Chumakova A. K., Vershinina Z. R. Impact of Pseudomonas spp. on Medicago sativa L. plants under the inhibitory effect of cadmium salts // Taurida Herald of the Agrarian Sciences. 2022. No. 2(30). P. 155–163. EDN: AJPFYR.*

Введение

В современном мире интенсивная урбанизация привела к развитию промышленности, и следствием этого стало загрязнение почв тяжелыми металлами (ТМ), что представляет собой угрозу экосистемам, сельскому хозяйству и здоровью человека [1]. Сельское хозяйство испытывает проблемы в связи с накоплением ТМ в

почвах, что вызывает ингибирование роста растений и снижает их урожайность. Больше всего распространены такие ТМ как свинец (Pb), кадмий (Cd), хром (Cr), ртуть (Hg), мышьяк (As) и т.д. [2, 3]. Загрязненную почву можно восстановить с помощью фитоэкстракции, используя способность растений поглощать и накапливать металлы из почвы [3]. Этот способ считается недорогой альтернативой в сочетании с доступными традиционными методами восстановления почв [4]. В таких процессах важную роль играют PGPR бактерии (ризобактерии, способствующие росту растений), которые могут существенно влиять на эффективность фитоэкстракции. К таким бактериям относятся ризосферные штаммы *Pseudomonas putida, P. aeruginosa, Azospirillum brasilense, Serratia liquefaciens, Enterobacter cloacae* и другие [5]. Микроорганизмы обладают несколькими механизмами, с помощью которых они снижают токсичность ТМ, например, превращение ионов металлов в менее токсичные формы, а также осаждение, адсорбция или биометилирование [6]. Кроме того, обработка полезными ризосферными микроорганизмами оказывает и другие положительные эффекты на растения: уменьшение стресса и увеличение производства биомассы [7].

Люцерна посевная (*Medicago sativa* L.) – травянистое растение из семейства Бобовые (Fabaceae), являющееся не только высокобелковым кормом и восстановителем плодородия почв, но и растением-исключателем, у которого ТМ накапливаются преимущественно в корневой системе [8, 9]. Люцерна считается отличным кормом с высокой продуктивностью биомассы и низкой восприимчивостью к экологическим стрессам, таким как засоленность, понижение температуры, засуха [10, 11] и при этом участвует в восстановлении загрязненных почв [12, 13]. Кроме того, люцерну широко используют для фиторемедиации нефтезагрязненных территорий. Она имеет развитую корневую систему, также в ее ризосфере обитает множество микроорганизмов, в том числе PGPR бактерии и микроорганизмы-деструкторы нефти и нефтепродуктов. При выращивании люцерны посевной почва обогащается азотом, что является важным условием для ее восстановления [14]. Кроме того, *Medicago sativa* L. входит в Атлас растений фиторемедиантов (2015), где описывается как хорошее кормовое растение, имеющее свойства медоноса, улучшающее плодородие и структуру почвы, устойчивое ко многим ТМ, в том числе и к кадмию [15].

Таким образом, использование люцерны посевной в агротехнологиях ведет к достижению двух целей: использование в качестве корма для животных и уменьшение нагрузки почвы ТМ.

Известно, что кадмий вреден для здоровья человека. В основном он попадает в организм путем потребления сельскохозяйственной продукции. Следовательно, повышение концентрации кадмия в сельскохозяйственных почвах значительно увеличивает риск его накопления в организме человека [16]. Исследования показывают, что уровень кадмия в некоторых пищевых продуктах, выращенных на почвах с загрязнением, превышают нормативные пределы для здоровья [17]. Эта серьезная экологическая проблема подчеркивает необходимость развития способов по очистке почв, загрязненных кадмием.

Цель исследований – определение ингибирующей концентрации кадмия на рост растений люцерны посевной (*Medicago sativa* L.) и анализ влияния *Pseudomonas spp.* на растения при различных концентрациях кадмия.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в 2021–2022 гг. Объектом исследования были люцерна посевная (*Medicago sativa* L.) и четыре штамма *Pseudomonas sp.*: OBA 2.4.1, OBA 2.9, GOR 4.17, STA 3.

Для поиска новых штаммов почвенных бактерий, относящихся к роду *Pseudomonas sp.,* проведен скрининг 20 штаммов бактерий, выделенных из клубеньков бобовых растений Южного Урала. Для идентификации изолированных штаммов был секвенирован ген 16S рРНК данных бактерий. По результатам исследования были отобраны четыре штамма, относящиеся к роду *Pseudomonas*: OBA 2.4.1, OBA 2.9, GOR 4.17, STA 3, выделенные из ризосферы растений остролодочника башкирского (*Oxytropis baschkirensis*), козлятника восточного (*Galega orientalis*), стальника колючего (*Ononis spinosa*). Последовательности ДНК данных бактерий были депонированы в базе данных GenBank под номерами OK039351, OK040062, OM835809, OM846603 соответственно.

Семена растений люцерны стерилизовали в течение 1 мин в 70 % спирте, а после – 20 мин в 10 % растворе гипохлорита натрия [18]. Далее семена обработали штаммами *Pseudomonas spp.* и проращивали на фильтровальной бумаге в стерильной воде (контроль) и в различных концентрациях солей кадмия ($CdCl_2$): 10, 20, 40, 100, 200, 300, 400, 500 мкМ. Бактерии предварительно выращивали в жидкой среде LB (бактотриптон 1 %, дрожжевой экстракт 0,5 %, NaCl 0,5 %) при 28 °С. Для инокуляции суспензию бактерий разбавляли до 10^5 КОЕ/мл стерильной жидкой средой LB. Все морфометрические измерения проводили через три дня культивирования семян растений с *Pseudomonas spp*., энергию прорастания смотрели также через три дня. Для определения ростостимулирующего эффекта штаммов *Pseudomonas spp.* у опытных растений, инокулированных псевдомонадами, и у контрольных необработанных семян измеряли длину побега. Для анализа использовали по 50 растений в каждом варианте опыта при трехкратной повторности.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью Microsoft Office Excel 2010. Доверительные интервалы определяли для 95 % уровня значимости.

Результаты и их обсуждение

Семена люцерны, выращенные при концентрациях 10, 20 и 40 мкМ не показали статистически значимых различий в экспериментах на энергию прорастания и длину проростков в сравнении с контрольными, которые проращивались в стерильной воде. Начиная с концентрации $CdCl_2$ 100 мкМ, были выявлены различия в значениях длин проростков, которые уменьшились на 40,9 %, при 200 мкМ – на 52,3 %, при 300 мкМ – на 60,5 %, при 400 мкМ – на 68,4 %, при 500 мкМ – на 84,7 % относительно контроля (данные показаны на графике). Также при 500 мкМ $CdCl_2$ было визуально отчетливо заметно угнетение роста растений люцерны (рисунок 1).

При кадмиевом стрессе длина проростков уменьшалась с повышением концентрации $CdCl_2$. В результате при 500 мкМ $CdCl_2$ длина уменьшилась в 4,7 раз (на 78,8 %) по сравнению с контрольными семенами, проросшими в стерильной воде. Данный факт показывает негативное влияние ТМ на рост и развитие растений.

Для преодоления и уменьшения кадмиевого стресса активно применяют PGPR бактерии. В нашем исследовании рассматривали ростостимулирующие штаммы *Pseudomonas spp.* Проверено влияние всех четырех штаммов *Pseudomonas sp*. OBA 2.4.1, OBA 2.9, GOR 4.17 и STA 3 на энергию прорастания и стимуляцию роста растений люцерны. Так, контрольные растения имели длину проростков 30,6 мм, обработанные *Pseudomonas sp.* OBA 2.9 – 32,6 мм, *Pseudomonas sp.* GOR 4.17 – 32,1 мм, *Pseudomonas sp.* STA 3 – 31,9 мм, *Pseudomonas sp.* OBA 2.4.1 – 36,5 мм. Соответственно обработка штаммом *Pseudomonas sp.* OBA 2.4.1 увеличила длину проростков на 19,3 % относительно контрольных необработанных растений.

Для дальнейших исследований был выбран наиболее эффективный штамм *Pseudomonas sp.* OBA 2.4.1, который повысил энергию прорастания на 15 % в сравнении с необработанным контролем (рисунок 2). Кроме того, среди исследуемых штаммов *Pseudomonas sp.* OBA 2.4.1 проявил наибольшую устойчивость к росту на

средах с $CdCl_2$. Рост данного штамма ингибировался в присутствии 1,5 мМ $CdCl_2$ в среде, тогда как рост остальных штаммов заметно угнетался, начиная с 1 мМ $CdCl_2$ (рисунок 3).

Далее семена люцерны проращивали на различных концентрациях $CdCl_2$ с предварительной обработкой штаммом *Pseudomonas sp.* OBA 2.4.1.

Влияние *Pseudomonas sp.* OBA 2.4.1 на прорастание семян и рост люцерны посевной изучали при добавлении концентраций $CdCl_2$: 100, 200, 300, 400 и 500 мкМ. В результате обработка псевдомонадами привела к увеличению длины проростков как при кадмиевом стрессе, так и без него. Так, при прорастании на стерильной воде обработка бактериями привела к увеличению длины проростков люцерны в среднем на 19,3 % по сравнению с необработанными семенами. При выращивании на концентрации $CdCl_2$ 100 мкМ после обработки псевдомонадами 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 контроля.

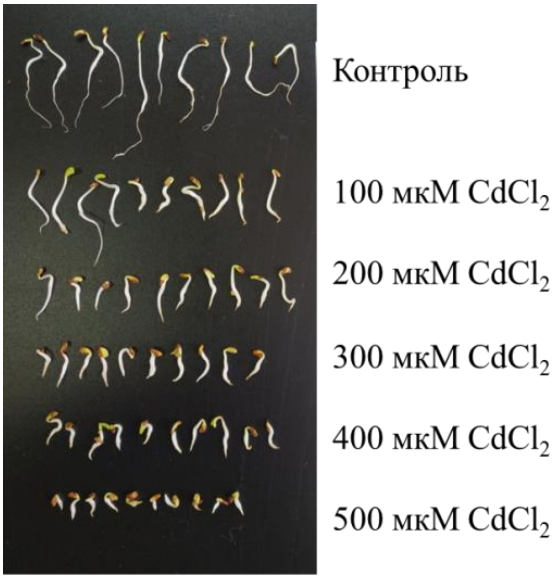


Рисунок 1 – Энергия прорастания семян люцерны на различных концентрациях кадмия

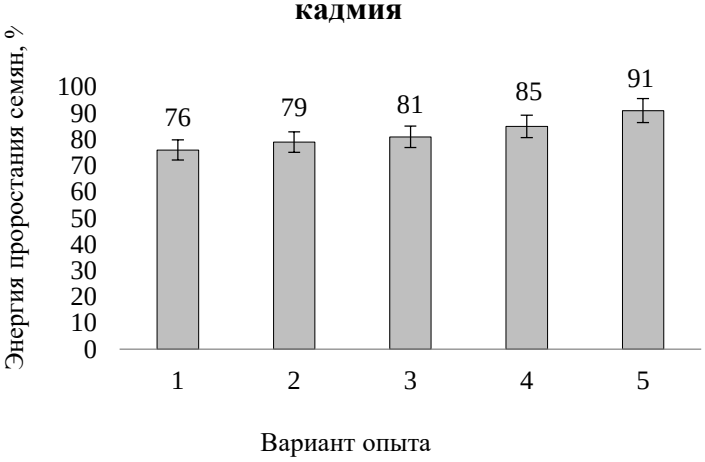


Рисунок 2 – Энергия прорастания семян люцерны при обработке разными штаммами *Pseudomonas spp.*

Примечание. *1 – контроль, 2 – Pseudomonas sp. OBA 2.9, 3 – Pseudomonas sp. GOR 4.17, 4 – Pseudomonas sp. STA 3, 5 – Pseudomonas sp. OBA 2.4.1.*

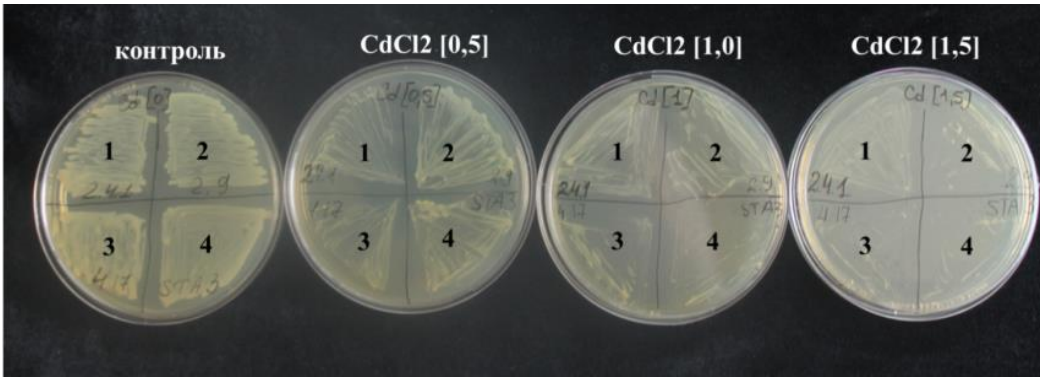
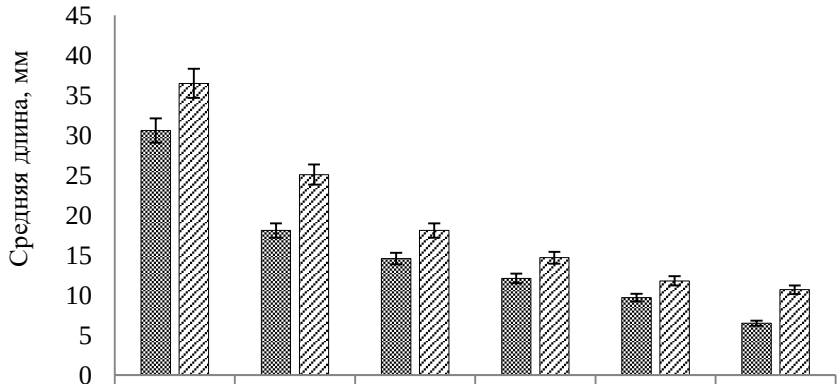


Рисунок 3 – Рост *Pseudomonas spp.* на средах с разной концентрацией $CdCl_2$

Примечание. *1 – Pseudomonas sp. OBA 2.4.1; 2 – Pseudomonas sp. OBA 2.9; 3 – Pseudomonas sp. GOR 4.17; 4 – Pseudomonas sp. STA 3.*

Полученные данные показали, что инокуляция бактериями семян люцерны оказывала положительное влияние не только на процент прорастания семян, но и на длину проростков, что может свидетельствовать о повышении устойчивости растения к кадмиевому стрессу на начальном этапе роста (рисунок 4).



	Контроль	[100] Cd	[200] Cd	[300] Cd	[400] Cd	[500] Cd
Без обработки	30,6	18,1	14,6	12,1	9,7	6,5
Обработка Ps. OBA 2.4.1	36,5	25,1	18,1	14,7	11,8	10,7

Рисунок 4 – Средняя длина проростков люцерны на разных концентрациях солей кадмия с обработкой *Pseudomonas sp.* OBA 2.4.1 и без обработки

Существуют исследования, показывающие положительное влияние обработки PGPR бактериями на рост растений на среде с ТМ. Так, у растений люцерны посевной, обработанных *Proteus sp.* DSP1, *Pseudomonas sp.* DSP17, *Ensifer meliloti* RhOL6 и RhOL8 и выращенных при добавлении смеси ТМ (Cu, Pb, Zn), длина побегов увеличилась с 22 % до 77 %, тогда как биомасса побегов увеличилась до 220 % по сравнению с неинокулированными растениями [19]. Более того, растения легче переносили стресс ТМ, и у них отсутствовали внешние признаки угнетения роста. Эти результаты доказывают, что обработка растений суспензиями ризобактерий ослабляла стресс, вызванный ТМ, улучшая все параметры роста, но урожайность инокулированных растений, выращенных в присутствии ТМ, практически не имела существенных различий по сравнению с необработанными контролями [20]. Также существуют другие исследования о положительном влиянии инокуляции металлорезистентными бактериями на растения, культивируемые при присутствии ТМ

в среде. Например, культивирование *Atriplex halimus* и *Arthrocnemum macrostachyum* в отложениях, загрязненных ТМ, показало снижение содержания хлорофилла и газообмена в растениях, в то время как инокуляция бактериями улучшала данные показатели [21–23]. Этот эффект можно объяснить несколькими механизмами: бактерии могут улучшать питание растений за счет растворения фосфатов, железа, фиксации азота и т. д., и, кроме того, они могут стимулировать рост растений за счет секреции ауксинов или уменьшать стресс растений благодаря активности АСК-дезаминазы [24–26].

Выводы

В данном исследовании рассмотрено влияние *Pseudomonas spp.* на энергию прорастания и рост люцерны при различных концентрациях $CdCl_2$. Показано, что предпосевная обработка семян люцерны PGPR бактериями *Pseudomonas sp.* OBA 2.4.1 повышает энергию прорастания на 15 % в сравнении с необработанным контролем, увеличивает длину проростков на 38,6 % в присутствии 100 мкМ $CdCl_2$, 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 контроля. Таким образом, по результатам исследования можно сделать вывод, что обработка устойчивыми к ТМ бактериями может увеличить стрессоустойчивость растений при его росте в присутствии ТМ. Данное исследование подтверждает потенциал использования ризосферных штаммов *Pseudomonas sp.* для применения в сельском хозяйстве и биоремедиации почв, загрязненных ТМ.

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/References

1. Shah V., Daverey A. Phytoremediation: a multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil // Environmental Technology & Innovation. 2020. Vol. 218. Art. No. 100774. DOI: 10.1016/j.eti.2020.100774.
2. Jadia C. D., Fulekar M. H. Phytoremediation of heavy metals: recent techniques // African Journal of Biotechnology. 2009. Vol. 8(6). P. 921–928.
3. Tirry N., Kouchou A., El Omari B., Ferioun M., El Ghachtouli N. Improved chromium tolerance of *Medicago sativa* by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 2021. Vol. 19(1). P. 149. DOI: 10.1186/s43141-021-00254-8.
4. Sarma H. Metal hyperaccumulation in plants: a review focusing on phytoremediation technology // J. Environ. Sci. Technol. 2011. Vol. 4(2). P. 118–138. DOI: 10.3923/jest.2011.118.138.
5. Bhattacharyya P. N., Jha D. K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture // World J. Microbiol. Biotech. 2012. Vol. 28(4). P. 1327–1350. DOI: 10.1007/s11274-011-0979-9.
6. Rajkumar M., Prasad M. N. V., Sandhya S., Freitas H. Climate change driven plant-metal-microbe interactions // Environ. Int. 2013. Vol. 53. P. 74-86. DOI:10.1016/j.envint.2012.12.009.
7. Etesami H. Bacterial mediated alleviation of heavy metal stress and decreased accumulation of metals in plant tissues: mechanisms and future prospects // Ecotoxicol. Environ. Saf. 2018. Vol. 147. P. 175–191. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2017.08.032.
8. Pajuelo E., Carrasco J.A., Romero L. C., Chamber M.A., Gotor C. Evaluation of the metal phytoextraction potential of crop legumes. Regulation of the expression of O-acetylserine (thiol)lyase under metal stress // Plant Biol. 2007. Vol. 9. P. 672–681. DOI: 10.1055/s-2007-965439.
9. Peralta J. R., Gardea-Torresdey J. L., Tiemann K. J., Gomez E., Arteaga S., Rascon E., Parsons J.G. Uptake and effects of five heavy metals on seed germination and plant growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.) // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2001. Vol. 66. P.727–734. DOI: 10.1007/s001280069.
10. Bertrand A., Dhont C., Bipfubusa M., Chalifour F-P., Drouin P., Beauchamp C. J. Improving salt stress responses of the symbiosis in alfalfa using salt-tolerant cultivar and rhizobial strain // Appl. Soil Ecol. 2015. Vol. 87. P. 108–117. DOI: 10.1016/j.apsoil.2014.11.008.
11. Wang X., Geng S., Ri Y-J., Cao D., Liu J., Shi D., Yang C. Physiological responses and adaptive strategies of tomato plants to salt and alkali stresses // Sci. Hortic. 2011. Vol. 130(1). P. 248–255. DOI: 10.1016/j.scienta.2011.07.006.

12. Wang X., Song Y., Ma Y., Zhuo R., Jin L. Screening of Cd tolerant genotypes and isolation of metallothionein genes in alfalfa (*Medicago sativa* L.) // Environ. Pollut. 2011. Vol. 159(12). P.3627–3633. DOI: 10.1016/j.envpol.2011.08.001.

13. Zribi K., Djébali N., Mrabet M., Khayat N., Smaoui A., Mlayah A., Aouani M. E. Physiological responses to cadmium, copper, lead, and zinc of *Sinorhizobium* sp. strains nodulating *Medicago sativa* grown in Tunisian mining soils // Ann. Microbiol. 2012. Vol. 62(3). P. 1181–1188. DOI: 10.1007/s13213-011-0358-7.

14. Muratova A. Yu., Turkovskaya O. V., Hübner T., Kuschk P. Studies of the efficacy of alfalfa and reed in the phytoremediation of hydrocarbon-polluted soil // Applied Biochemistry and Microbiology. 2003. Vol. 39 (6). P. 599–605. DOI: 10.1023/A:1026238720268.

15. Panchenko L. V., Muratova A. Yu., Dubrovskaya E. V., Golubev S. N., Berezutsky M. A., Turkovskaya O. V. Atlas of phytoremediant plants // Executive editor Panchenko L.V. Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, RAS. Saratov: Nauchnaya kniga, 2015. P. 239.

16. McLaughlin M.J., Parker D.R., Clarke J.M. Metal and micronutrients – food safety issues // Field Crop. Res. 1999. Vol. 60. P. 143–163. DOI: 10.1016/S0378-4290(98)00137-3.

17. Demirezen D., Aksoy A. Heavy metal levels in vegetables in Turkey are within safe limits for Cu, Zn, Ni and exceeded for Cd and Pb // J. Food Qual. 2006. Vol. 29. P. 252–265. DOI: 10.1111/j.1745-4557.2006.00072.x.

18. Vershinina Z. R., Chubukova O. V., Nikonorov 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. Vol. 90 (2). P. 198–209. DOI: 10.1134/S0026261721020144.

19. Konkolewska A., Piechalak A., Ciszewska L. [et al.]. Combined use of companion planting and PGPR for the assisted phytoextraction of trace metals (Zn, Pb, Cd) // Environ Sci. Pollut. Res. 2020. Vol. 27(12). P. 13809–13825. DOI: 10.1007/s11356-020-07885-3.

20. 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. Vol. 7(7). P. 212. DOI: 10.3390/microorganisms7070212.

21. 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. Vol. 117. P. 340–347. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2017.02.008.

22. 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 *Spartinadensi floraunder* metal stress // Plant Biol. 2018. Vol. 20. P. 497–506. DOI: 10.1111/plb.12693.

23. 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. Vol. 132. P. 675–682. DOI: 10.1016/j.plaphy.2018.08.025.

24. 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. Vol. 14. P. 35–54. DOI: 10.3844/ajabssp.2019.35.54.

25. Glick B. R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world // Microbiol. Res. 2014. Vol. 169. P. 30–39. DOI: 10.1016/j.micres.2013.09.009.

26. Goswami D., Thakker J.N., Dhandhukia P.C. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a review // Cogent Food Agric. 2016. Vol. 2. Art. No. 1127500. DOI: 10.1080/23311932.2015.1127500.

UDC 579.64

Khakimova L. R., Chubukova O. V., Muryasova A. R., Simoroz E. V., Chumakova A. K., Vershinina Z. R.

IMPACT OF *PSEUDOMONAS SP.* ON *MEDICAGO SATIVA* L. PLANTS UNDER THE INHIBITORY EFFECT OF CADMIUM SALTS

Summary. *Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) have significant potential to improve plant development contributing to plant resistance to environmental stresses. The aim of this work was twofold: determine the concentration of cadmium at which inhibition of seed germination and growth of alfalfa (Medicago sativa L.) occurs; analyze the effect of Pseudomonas spp. on plants at different cadmium concentrations. The studies were carried out in 2021–2022. It was found that at* $CdCl_2$ *100, 200, 300 and 400 µM, different degrees of*

suppression of alfalfa seedlings occur. At 500 μM, there is a clear inhibition of plant development: the length of seedlings decreased by 4.7 times or 78.8 % compared to the control (seeds germinated in sterile water). Initially, four strains belonging to the genus Pseudomonas were considered: OBA 2.4.1, OBA 2.9, GOR 4.17, and STA 3. They were isolated from the Oxytropis baschkirensis, Galega orientalis, and Ononis spinosa rhizosphere. The DNA sequences of these bacteria were deposited under the numbers OK039351, OK040062, OM835809, OM846603, respectively. For further analysis of the impact of Pseudomonas spp. on seeds at different concentrations of cadmium, the most effective strain of Pseudomonas sp. – OBA 2.4.1 has been chosen. It increased seed germination by 15%, while other strains showed results at the level of 3–9%. As a result, the treatment with Pseudomonas sp. OBA 2.4.1 showed a positive effect on alfalfa seedlings at different concentrations of cadmium salts. Thus, in plants growing at 100 μM $CdCl_2$, the length of seedlings increased by 38.6 %, at 200 μM – by 23.9 %, at 300 μM – by 21.5 %, at 400 μM – by 21.6 %, at 500 μM – by 64.6 % compared to control. This study confirms the potential of using rhizospheric strains of Pseudomonas sp. in agriculture and bioremediation of soils contaminated with heavy metals.

Keywords: *Pseudomonas spp., Medicago sativa L., PGPR bacteria, heavy metals, cadmium.*

Хакимова Лилия Ралисовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»;450054, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, пр. Октября, 71, лит. 1Е; доцент кафедры «Школа молекулярных технологий», ФГБОУ ВО «Уфимский государственный нефтяной технический университет»;450064, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail: lili-nigmatullina@bk.ru.

Чубукова Ольга Вячеславовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, пр. Октября, 71, лит. 1Е; доцент кафедры «Школа молекулярных технологий», ФГБОУ ВО «Уфимский государственный нефтяной технический университет»; 450064, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail: chubukova@bk.ru.

Мурясова Айгуль Рависовна, магистр, ФГБОУ ВО «Уфимский государственный нефтяной технический университет»; 450064, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail: aigul.ravisovna@bk.ru.

Симороз Евгения Валерьевна, магистр, ФГБОУ ВО «Уфимский государственный нефтяной технический университет»; 450064, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail:5a-shk17@mail.ru.

Чумакова Анна Константиновна, магистр, ФГБОУ ВО «Уфимский государственный нефтяной технический университет»; 450064, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail: ankch1999@gmail.com.

Вершинина Зиля Рифовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, пр. Октября, 71, лит. 1Е; доцент кафедры «Школа молекулярных технологий», ФГБОУ ВО «Уфимский государственный нефтяной технический университет»; 450064, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1; e-mail: zilyaver@mail.ru.

Khakimova Liliya Ralisovna, Cand. Sc. (Biol.), researcher of the Laboratory of bioengineering of plants and microorganisms, Institute of Biochemistry and Genetics – separate structural unit of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences (UFRC RAS); 71 (letter “1E”), prospect Oktyabrya, Ufa, Republic of Bashkortostan, 450054, Russia; Associate Professor of the Chair of “School of Molecular Technologies”, FSBEI HE “Ufa State Petroleum Technological University” (USPTU); 1, Kosmonavtov str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450064, Russia; e-mail: lili-nigmatullina@bk.ru.

Chubukova Olga Vyacheslavovna, Cand. Sc. (Biol.), researcher of the Laboratory of bioengineering of plants and microorganisms, Institute of Biochemistry and Genetics – separate structural unit of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences (UFRC RAS); 71 (letter "1E"), prospect Oktyabrya, Ufa, Republic of Bashkortostan, 450054, Russia; Associate Professor of the Chair of "School of Molecular Technologies", FSBEI HE "Ufa State Petroleum Technological University" (USPTU); 1, Kosmonavtov str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450064, Russia; e-mail: chubukova@bk.ru.

Muryasova Aigul Ravisovna, Master's Degree student, FSBEI HE "Ufa State Petroleum Technological University" (USPTU); 1, Kosmonavtov str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450064, Russia; e-mail: aigul.ravisovna@bk.ru.

Simoroz Evgeniya Valeryevna, Master's Degree student, FSBEI HE "Ufa State Petroleum Technological University" (USPTU); 1, Kosmonavtov str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450064, Russia; e-mail: 5a-shk17@mail.ru.

Chumakova Anna Konstantinovna, Master's Degree student, FSBEI HE "Ufa State Petroleum Technological University" (USPTU); 1, Kosmonavtov str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450064, Russia; e-mail: ankch1999@gmail.com.

Vershinina Zilya Rifovna, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher of the Laboratory of bioengineering of plants and microorganisms, Institute of Biochemistry and Genetics – separate structural unit of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences (UFRC RAS); 71 (letter "1E"), prospect Oktyabrya, Ufa, Republic of Bashkortostan, 450054, Russia; Associate Professor of the Chair of "School of Molecular Technologies", FSBEI HE "Ufa State Petroleum Technological University" (USPTU); 1, Kosmonavtov str., Ufa, Republic of Bashkortostan, 450064, Russia; zilyaver@mail.ru.

Дата поступления в редакцию – 04.04.2022.
Дата принятия к печати – 20.05.2022.