

УДК 579.6

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ШТАММА *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 ДЛЯ ПРЕДПОСЕВНОЙ ОБРАБОТКИ СЕМЯН ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*Pisum sativum* L.) В ПРИСУТСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ГЛИФОСАТА

© 2024 г. Л. Р. Хакимова^{1, *}, О. В. Чубукова¹, З. Р. Вершинина^{1, 2}

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, Уфа, 450054 Россия

²Уфимский государственный нефтяной технический университет, Уфа, 450064 Россия

*e-mail: lili-nigmatullina@bk.ru

Поступила в редакцию 28.11.2023 г.

После доработки 21.02.2024 г.

Принята к публикации 28.02.2024 г.

Изучено влияние PGPB-штамма бактерий *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1, устойчивого к NiCl₂ (до 3 мМ), к Pb(CH₃COO)₂ (до 5 мМ) и глифосату (до 8 мг/мл), на растения *Pisum sativum* L. при разных концентрациях ТМ и гербицида. Установлено, что исследуемый штамм положительно влиял на длину корней проростков растений гороха в присутствии ТМ, что свидетельствует о повышении устойчивости растения к стрессу, вызванному воздействием никеля и свинца. Однако такой эффект не был зафиксирован в варианте эксперимента с добавлением глифосата, что подтверждало его высокую токсичность. Полученные результаты показывают, что штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 способствовал росту *Pisum sativum* L. при стрессовом воздействии никеля и свинца, что может быть использовано при разработке биопрепаратов комплексного действия, предназначенных как для защиты сельскохозяйственных растений от воздействия ТМ, так и для рекультивации загрязненных почв.

Ключевые слова: *Pseudomonas* sp., тяжелые металлы, глифосат, PGPB, *Pisum sativum* L., свинец, никель

DOI: 10.31857/S0555109924040071 EDN: SAOYUE

В эпоху глобальной индустриализации происходит быстрое и значительное загрязнение окружающей среды, в том числе сельскохозяйственных угодий [1]. Наиболее опасными отходами для человека являются ксенобиотики и тяжелые металлы (ТМ). К наиболее распространенным и токсичным относят свинец (Pb), никель (Ni), хром (Cr) и другие [2]. Многие из этих загрязнителей окружающей среды канцерогенны как для человека, так и для всей экосистемы. По мере поглощения организмом ТМ, они способны накапливаться в мозге, печени и почках человека [3]. Металлы необходимы для биологических процессов в организме, но их избыточное количество токсично. Угнетение роста растений происходит в результате снижения фотосинтеза, минерального питания и активности жизненно важных ферментов, что наносит огромный ущерб сельскому хозяйству, так как происходит снижение урожайности растений. Токсическое действие металлов влияет на развитие, обмен веществ, ингибируя цитоплазматические ферменты в растительных клетках и вызывая окислительный стресс в клеточных

структурах. Обнаружено, что вредные металлы накапливаются в почве, ингибируют рост популяций бактерий, препятствуют их симбиозу с растениями и значительно снижают урожайность растений [3]. Решением этой проблемы может стать использование ростостимулирующих бактерий (PGPB, Plant Growth Promoting Bacteria), которые не теряют свои свойства даже в присутствии токсинов. Биопрепараты на основе таких PGPB могут стать эффективным решением в переходе к органическому сельскому хозяйству [1].

Давно известно, что бактерии рода *Pseudomonas* имеют высокую PGPB активность, но, кроме того, имеют и повышенный биоремедиационный потенциал. Например, *Pseudomonas* sp. S2–3 значительно увеличивал физиологические характеристики растений сорго (*Sorghum bicolor* L.) в присутствии Cu и Zn [4]. *P. citronellolis* KM594397 показал высокую толерантность к As (V), при этом стимулировал рост растений нута (*Cicer arietinum* L.) [5]. *Pseudomonas* sp. NT27 увеличивал сухую массу

МЕТОДИКА

побегов и корней *Medicago sativa* L. в присутствии Cr(VI) по сравнению с неинкулированными контрольными растениями. При этом значительно увеличивалось содержание хлорофилла, и снижался уровень маркеров стресса (малонового диальдегида, перекиси водорода и пролина) в растениях [6]. Таким образом, РГРВ могут увеличивать рост и продуктивность растений через уменьшение токсического воздействия ТМ, и напрямую, через продукцию фитогормонов и факторов роста. Действительно, такие бактерии участвуют в стимулировании роста растений и снижении степени токсического воздействия ТМ на них [7].

Большой вред оказывают не только ТМ, но и ксенобиотики, к которым относится и гербицид глифосат. Глифосат (N-(фосфометил) глицин) является наиболее эффективным и широко используемым гербицидом во всем мире [8, 9]. Благодаря низкой стоимости и высокой эффективности, его производство и использование растет с каждым годом, составляя около 25% мирового рынка гербицидов [10]. Из-за повсеместного применения глифосата в борьбе с сорняками в сельском хозяйстве, его часто обнаруживают в воде, почве, воздухе и грунтовых водах, а также в продуктах питания [11]. Токсическое воздействие глифосата связывают с его влиянием на репродуктивную систему крыс, появлением врожденных дефектов и повышением риска метаболических патологий печени животных [12]. Кроме того, было установлено, что он существенно влияет на встречаемость патологий у крыс поколений F2 и F3, на которых не оказывалось постоянного прямого воздействия этого гербицида. Все это указывает на то, что глифосат является токсичным экополлютантом в пролонгированном периоде [13]. Также показано, что глифосат и продукты его разложения могут нарушать микробиоту кишечника млекопитающих, домашних птиц, рептилий, а также медоносных пчел [14–16].

Наиболее перспективной и экологичной стратегией удаления ксенобиотиков из окружающей среды является микробная деградация глифосата [17]. К микроорганизмам, способным эффективно разлагать глифосат, относятся и бактерии рода *Pseudomonas* [18, 19]. Показана возможность *Pseudomonas* sp. QJX-1 [20] и других штаммов псевдомонад (GA07, GA09 и GC04) использовать глифосат в качестве источников питания для роста [21]. У *Pseudomonas* sp. HA-09 описан ген устойчивости к глифосату *aroA* [22]. Все это дает возможность считать, что использование псевдомонад для биодegradации глифосата может быть эффективным методом утилизации токсичных соединений, присутствующих в окружающей среде.

Цель исследований – оценка влияния штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на рост растений гороха посевного при разных концентрациях NiCl_2 , $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ и глифосата.

Бактериальная обработка корней проростков гороха. Для визуализации способности *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 колонизировать корневые волоски растений гороха штамм трансформировали плазмидой pJN105TurboRFP. Для удобства детектирования бактерий штамм содержал ген флуоресцентного белка RFP (red fluorescent protein) [23]. Стерильные семена проращивали в течение 1 недели на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри. Затем проростки выдерживали при покачивании (25 об./мин) в бактериальной суспензии в 50 мМ фосфатном буфере (PBS, pH 7.2, “Merck”, Германия). Для приготовления суспензии использовали односуточные культуры бактерий, выращенные в жидкой среде LB (бактотриптон – 1%, дрожжевой экстракт – 0.5%, NaCl – 0.5%, агар-агар – 1%) и отмытые от PBS. Суспензию бактерий разбавляли до концентрации 10^5 КОЕ/мл. Растения выращивали в стерильных условиях 3 сут при 25°C. Затем проростки однократно отмывали стерильным PBS (5 мин при 25 об./мин) и нарезали корни на фрагменты длиной 10–15 мм для микроскопирования [24]. Далее флуоресцентно окрашенные бактерии наблюдали в флуоресцентном микроскопе AxioImager M1 (“CarlZeiss”, Германия). Для детекции RFP использовали набор светофильтров № 15 (возбуждение BP 546/12, испускание LP 590).

Выращивание штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1. на питательных средах с ТМ и глифосатом. Для определения минимальной ингибирующей концентрации ТМ и глифосата для исследуемого штамма был поставлен *in vitro* эксперимент на твердой среде LB. Исходные растворы ТМ – NiCl_2 и $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ готовили в дистиллированной воде и стерилизовали. Глифосат готовили из гербицида “Торнадо-500” (“Август”, Россия), в качестве исходного раствора использовали 50%-ный стерильный разведенный препарат. Далее культуру клеток выращивали в течение 24 ч на чашках Петри со средой LB с добавлениями NiCl_2 (1, 3 и 5 мМ), $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (1, 3, 5 и 8 мМ) и глифосата (3.0, 6.0, 8.0, 10.0 мг/мл) по отдельности. После инкубации в термостате в течение 24 ч при 28°C исследовали рост клеток. При таких же условиях был исследован рост *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1+ pJN105TurboRFP.

Обработка растений штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1. Семена растений гороха сорта Памяти Попова (Чишминский селекционный центр БНИИСХ УФИЦ РАН) стерилизовали в течение 1 мин в 70%-ном спирте и затем 15 мин в 15%-ном растворе гипохлорита натрия (“Содовая компания”, Россия) с добавлением нескольких капель Твин-20 [24]. Далее семена обрабатывали штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1/*Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 + pJN105TurboRFP и проращивали на фильтровальной бумаге в стерильной воде (контроль) и в различных концентрациях NiCl_2 (1 и 2 мМ),

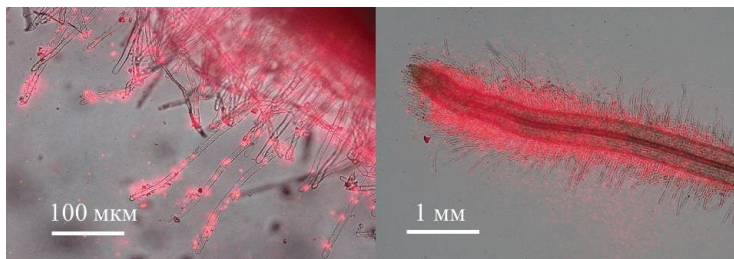


Рис. 1. Адгезия меченых RFP бактериальных клеток на поверхности корневых волосков проросших семян гороха под флуоресцентным микроскопом AxioImager M1 (“CarlZeiss”, Германия).

$Pb(CH_3COO)_2$ (1 и 2 мМ) и глифосата (3 и 6 мг/мл). Для инокуляции суспензию бактерий разбавляли до 10^5 КОЕ/мл стерильной жидкой средой LB. Для определения ростостимулирующего эффекта штамма у обработанных и необработанных (контрольных) растений измеряли длину корней через 7 сут культивирования. Для анализа было использовано по 50 растений в каждом варианте опыта при трехкратной повторности.

Статистическая обработка результатов. Данные представлены в виде средних арифметических значений ростовых ($n = 50$) параметров с доверительными интервалами. При сравнении групп растений, различающихся условиями выращивания, выявляли статистически значимые отличия изученных параметров по сравнению с контролем с учетом *t*-критерия Стьюдента для 95%-ного уровня значимости. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в исследовании принимался равным 0,05. Результаты исследований были обработаны с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Описание штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1. Защитный и ростостимулирующий эффекты достигались благодаря продукции целого ряда активных соединений, стимулирующих рост растений, например, фитогормонов и сидерофоров [1]. Ранее для штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 были описаны выделение, идентификация с помощью секвенирования нуклеотидных последовательностей фрагментов консервативного гена 16S рРНК и гена *rpoD*, кодирующего бактериальный фактор инициации транскрипции [25]. Также была описана способность штамма синтезировать сидерофоры и ИУК, способность расти при концентрации 1 мМ $CdCl_2$ в среде, а также улучшение энергии прорастания семян и рост растений *Medicago sativa* L. и *Pisum sativum* L. при стрессовом воздействии 0.5 мМ кадмия в среде [23, 25–27].

Для исследования способности штамма к поверхностной колонизации корней растений гороха, бактерии были трансформированы вектором pJN105TurboRFP для их визуализации с помощью

флуоресцентного микроскопа [23]. Анализ уровня колонизации после 3 сут совместного культивирования показал формирование на поверхности корневых волосков проростков гороха бактериальных агрегаций, микроколоний и биопленок (рис. 1).

Рост штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1. на питательных средах с ТМ и глифосатом. Микроорганизмы могут по-разному переносить токсичность металлов [3]. Устойчивые к воздействию ТМ штаммы бактерий, обладающие ростостимулирующим действием, имеют особую ценность. В рамках нашего исследования был изучен рост штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на средах с добавлением различных концентраций ТМ и гербицида. Показано, что на средах с добавлением $NiCl_2$ до 3 мМ он способен активно расти, а при концентрации 5 мМ роста не было (рис. 2а). При посеве штамма на среды с различными концентрациями $Pb(CH_3COO)_2$ было показано, что он был способен расти на среде LB с добавлением 3 мМ $Pb(CH_3COO)_2$, а при внесении 5 мМ было заметно значительное угнетение роста бактерий, а при 8 мМ роста уже практически не наблюдалось (рис. 2б). На средах с добавлением глифосата *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 рос при концентрации до 6 мг/мл, ингибировался при 8 мг/мл, при 10 мг/мл роста бактерий не было (рис. 2в).

Результаты показали достаточно высокую устойчивость исследуемого штамма к токсическому воздействию ТМ и глифосата. Наибольшую токсичность при меньшей концентрации показал $NiCl_2$.

Таким же образом была проведена оценка устойчивости к ТМ и глифосату модифицированного штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 с плазмидой pJN105TurboRFP, который имел яркую розовую окраску при росте на среде. На рис. 3 показано, что полученный трансформированный штамм не терял своей устойчивости к исследуемым токсинам и показал такие же результаты, как и нетрансформированный штамм.

Бактерии могут сорбировать, поглощать либо окислять в более мобильную соль ТМ из окружающей среды. Например, устойчивый к свинцу психротрофный штамм *Pseudomonas* sp. I3 служил биосорбентом для удаления $Pb(II)$ из сточных вод, при этом минимальная ингибирующая

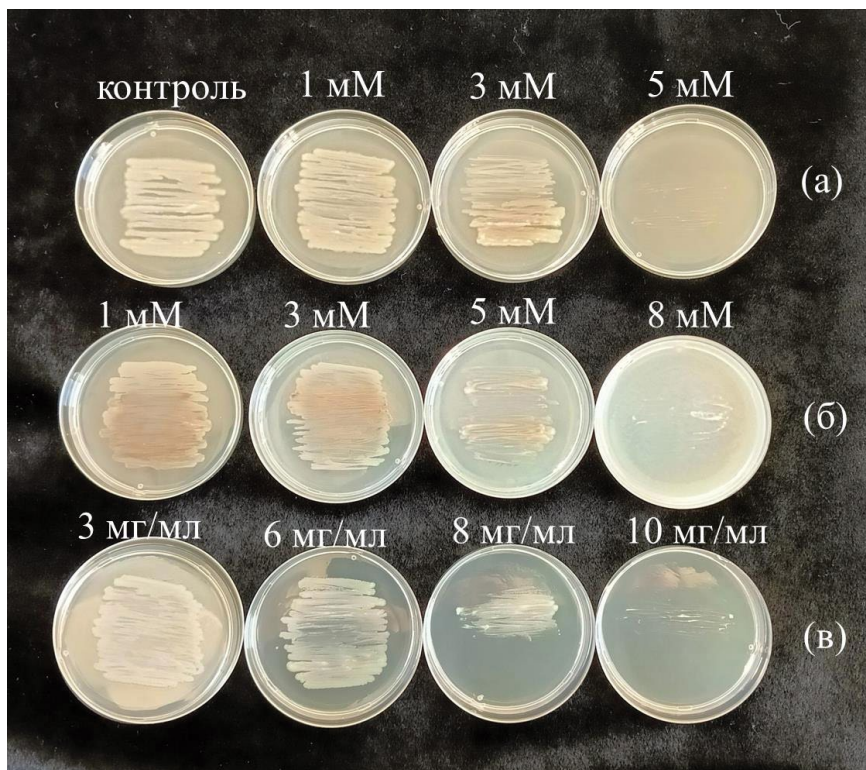


Рис. 2. Рост штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 при различных концентрациях NiCl_2 (а) и $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (б) и на глифосате (в).

концентрация ТМ составила 7.5 мМ [28]. Другие исследования показали, что фосфатмобилизующий штамм *P. rhodesiae* НР-7 имел высокую эффективность при рекультивации почв, загрязненных свинцом [29]. Описаны исследования, где штамм *P. hibiscicola* L1 одновременно удалял нитраты и Ni(II) из сточных вод [30]. Псевдомонады показывали самую высокую способность к поглощению никеля из среды по сравнению с бактериями – представителями других родов [31], а изоляты, выделенные из ила и сточных вод, имели множественную устойчивость к ТМ, в том числе к никелю в концентрации до 160 мкг/мл [32]. Фосфатмобилизующие изоляты, принадлежащие к роду *Pseudomonas* sp., показали высокую устойчивость к глифосату и способность метаболизировать данный гербицид [33].

Анализ влияния *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на рост растений гороха в присутствии ТМ и глифосата. Для анализа влияния штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1/*Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1+pJN105TurboRFP на рост и развитие растений гороха, была проведена обработка семян бактериями и измерение длины корней проростков гороха в процессе роста при воздействии стресса. Обработка семян растений гороха исходным и трансформированным штаммами показала увеличение длины корней на 32.3%. Присутствие NiCl_2 оказало негативное влияние на рост растений, длина корней проростков уменьшалась

относительно контроля в присутствии 1 и 2 мМ NiCl_2 на 62.7 и 67.6% соответственно. У инокулированных псевдомонадами растений длина корней уменьшалась на 49.9 и 54.9% соответственно относительно контроля (рис. 4). Штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1, также как и рекомбинантный, сохраняли свои ростостимулирующие свойства даже при токсическом влиянии ТМ на семена гороха, что может свидетельствовать о защитном действии бактерий на растения при стрессе на начальном этапе своего роста.

По литературным данным известно, что применение ростостимулирующих бактерий *P. fluorescens* 20, *P. fluorescens* 21 и *P. putida* 23 в присутствии никеля (300 мг/кг в почве) значительно уменьшало токсическое воздействие на растения яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) [34]. Бактериальные штаммы рода *Pseudomonas* увеличивали биомассу растений нута (*Cicer arietinum* L.) в вегетационном опыте при концентрации никеля до 2 мМ [35]. Применение *Pseudomonas* sp. SRI2 также значительно увеличило биомассу горчицы сарептской (*Brassica juncea* L.) при выращивании на загрязненных никелем почвах [36].

Анализ влияния штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1/*Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 + pJN105TurboRFP на рост и развитие растений гороха при стрессовом воздействии $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ показал, что при концентрации 1 и 2 мМ этого ТМ длина корней

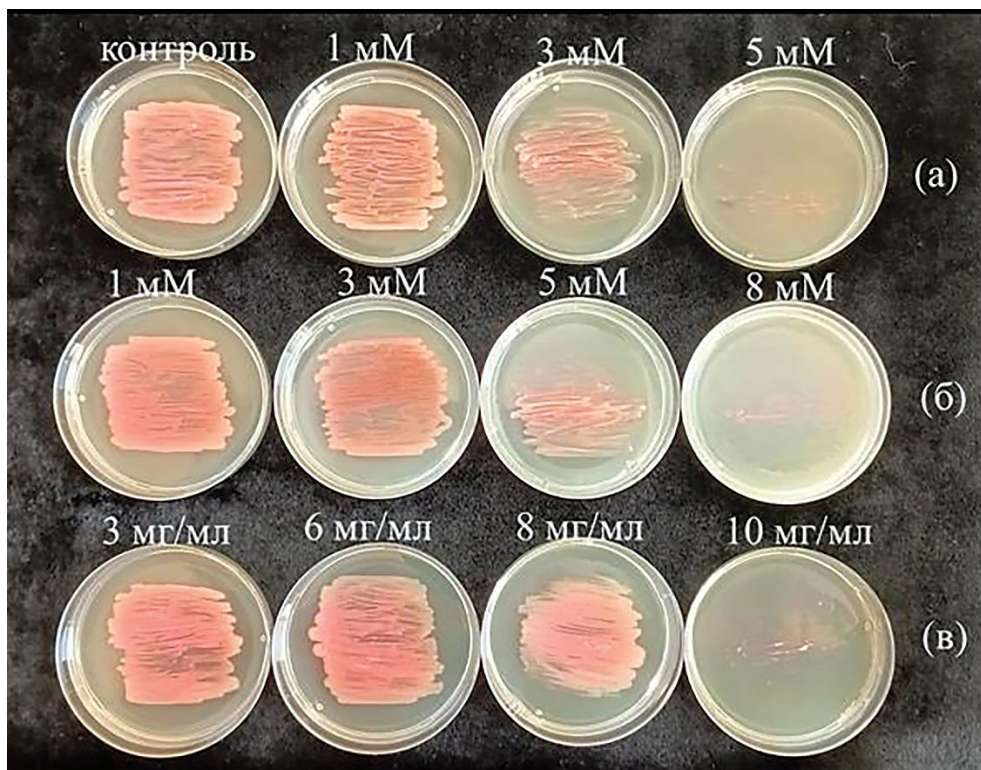


Рис. 3. Рост штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1, трансформированного вектором рJN105TurboRFP при различных концентрациях NiCl_2 (а) на $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (б) и глифосата (в).

проростков уменьшалась относительно необработанных контрольных растений на 53.5 и 60.5%, а у инокулированных псевдомонадами растений длина корней уменьшалась на 13.9 и 36.5% соответственно (рис. 5).

Полученные результаты показали, что инокуляция псевдомонадами семян гороха оказывала положительное влияние на рост корней проростков, что может указывать на защитные свойства бактерий.

Установлено, что инокуляция ростостимулирующим штаммом *P. oitidis* SMHMP23, способным мобилизовать Ni и Pb в почве, значительно увеличивала рост *Brassica juncea* L. [37]. Ростостимулирующий штамм *Pseudolabrys taiwanensis* WRS8 увеличивал биомассу растений кориандра (*Coriandrum sativum* L.) на 25–48%, при этом снижал содержание свинца и кадмия в съедобных частях на 40–59% по сравнению с контролем [38].

Учитывая широкий метаболический потенциал *Pseudomonas* sp., актуально изучение их взаимодействия и с гербицидами. Применение глифосата под разными коммерческими названиями привело к практически повсеместному присутствию его остатков в окружающей среде.

В работе установлено, что штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 был способен расти на питательной среде с добавлением глифосата в концентрации до 6 мг/мл, значительно тормозился при 8 мг/мл,

а при 10 мг/мл роста бактерий не наблюдалось. Для изучения влияния штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на рост и развитие растений гороха, была проведена обработка семян при стрессовом воздействии глифосата.

Глифосат значительно ингибировал рост и энергию прорастания семян гороха. Так, в присутствии глифосата 3 и 6 мг/мл длина корней проростков уменьшалась относительно контроля на 83 и 84.6%, а у инокулированных бактериями растений длина корней уменьшилась на 74.4 и 76.7%, соответственно (рис. 6).

Даже визуально глифосат показал самое сильное ингибирование роста семян гороха по сравнению с ТМ, при этом обработка исследуемым штаммом бактерий, устойчивым к таким концентрациям гербицида, не оказывала значительного положительного эффекта на рост растений. Полученные результаты показывают, что штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1, несмотря на устойчивость к токсическому действию глифосата, не способен нейтрализовать негативное действие гербицида на растения.

Во всех исследованиях показано, что рекомбинантный штамм имел такие же свойства, как и исходный, полученные данные не имели достоверных различий от результатов, показанных нетрансформированным штаммом.

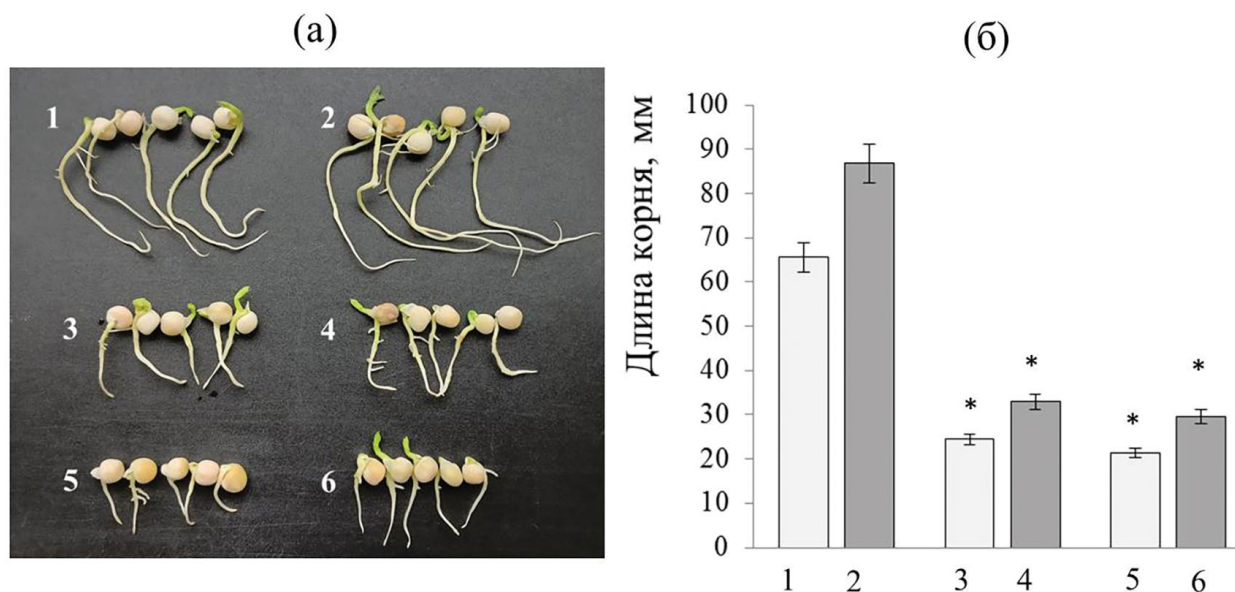


Рис. 4. Растения гороха (а) и длина корней проростков (б) при стрессовом воздействии NiCl_2 : 1 – необработанные семена; 2 – обработанные псевдомонадами семена; 3 – необработанные семена в присутствии 1 мМ NiCl_2 ; 4 – обработанные псевдомонадами семена в присутствии 1 мМ NiCl_2 ; 5 – необработанные семена в присутствии 2 мМ NiCl_2 ; 6 – обработанные псевдомонадами семена в присутствии 2 мМ NiCl_2 .
* Статистически значимые отличия от контроля ($p < 0.05$).

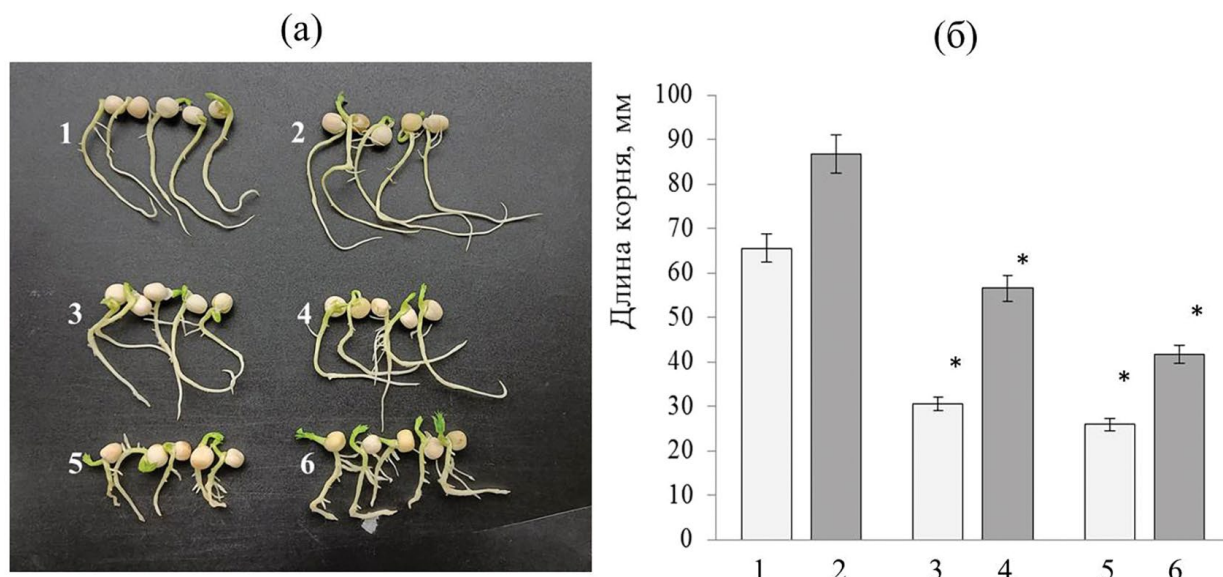


Рис. 5. Растения гороха (а) и длина корней проростков (б) при стрессовом воздействии $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$: 1 – необработанные семена; 2 – обработанные штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 семена; 3 – необработанные семена в присутствии 1 мМ $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; 4 – обработанные псевдомонадами семена в присутствии 1 мМ $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; 5 – необработанные семена в присутствии 2 мМ $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; 6 – обработанные псевдомонадами семена в присутствии 2 мМ $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$.
* Статистически значимые отличия от контроля ($p < 0.05$).

Таким образом, устойчивость растений к токсическому действию ТМ могла быть обусловлена более эффективным ростом корней обработанных растений за счет положительного действия веществ, выделяемых РГРВ, и снижению концентраций и накопления ТМ в корневой системе растений. По-видимому,

способность бактерий колонизировать поверхность корней имела большое значение для снижения токсичности ТМ для растений и окружающей среды.

Бактерии имеют ряд преимуществ перед традиционными методами восстановления окружающей среды, включая улучшение качества почвы,

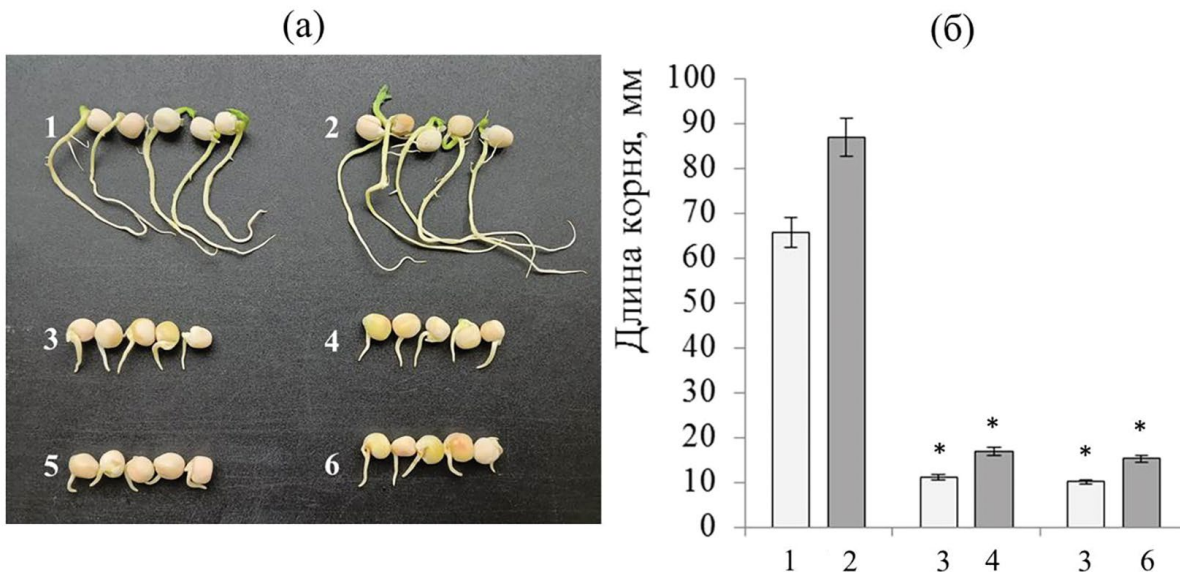


Рис. 6. Рост растений гороха (а) и длина корней проростков (б) при стрессовом воздействии глифосата: 1 – необработанные семена; 2 – обработанные штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 семена; 3 – необработанные семена в присутствии 3 мг/мл глифосата; 4 – обработанные псевдомонадами семена в присутствии 3 мг/мл глифосата; 5 – необработанные семена в присутствии 6 мг/мл глифосата; 6 – обработанные псевдомонадами семена в присутствии 6 мг/мл глифосата.

* Статистически значимые отличия от контроля ($p < 0.05$).

ускорение развития растений и т.д. [3]. Полученные в настоящем исследовании результаты подтвердили способность штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 как РГРВ, способствовать росту и развитию семян гороха *Pisum sativum* L. при стрессовом воздействии ТМ, что может быть использовано для создания биопрепаратов комплексного действия, предназначенных как для защиты культурных растений от воздействия ТМ, так и для рекультивации сельскохозяйственных загрязненных почв.

Работа была выполнена с привлечением приборного парка ЦКП “Биомика” (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП “Агидель”) и УНУ “КОДИНК”.

ФИНАНСИРОВАНИЕ. Работа была выполнена в рамках госзадания (тема № 122041400162-3).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коршунова Т.Ю., Бакаева М.Д., Кузина Е.В., Рафикина Г.Ф., Четвериков С.П., Четверикова Д.В., Логинов О.Н. // Прикл. биохимия и микробиология. 2021. V. 57. № 3. P. 211–227. <https://doi.org/10.31857/S0555109921030089>
2. Ojuederie O.B., Babalola O.O. // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2017. V. 14. № 12. P. 1504. <https://doi.org/10.3390/ijerph14121504>
3. Saharan B.S., Chaudhary T., Mandal B.S., Kumar D., Kumar R., Sath P.K., Duhan J.S. // J. Xenobiot. 2023. V. 13. № 2. P. 252–269. <https://doi.org/10.3390/jox13020019>
4. Wu Z., Kong Z., Lu S., Huang C., Huang S., He Y., Wu L. // J. Gen. Appl. Microbiol. 2019. V. 65. № 5. P. 254–264. <https://doi.org/10.2323/jgam.2018.11.004>
5. Adhikary A., Kumar R., Pandir R., Bhardwaj P., Wusirika R., Kumar S. // Plant Physiol. Biochem. 2019. V. 142. P. 179–192. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.07.006>
6. Tirry N., Kouchou A., El Omari B., Ferioun M., El Ghachtouli N. // J. Genet. Eng. Biotechnol. 2021. V. 19. № 1. P. 149. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00254-8>
7. Tahri Joutey N., Tirry N., Bahafid W., Sayel H., El Ghachtouli N. Bioremediation. Plant Growth Promoting Bacteria in Heavy Metals Bioremediation // Ed. M. Kuddus. Adv. Res. Appl. Nov. Sci. Publ, 2018. 185–211 p.
8. Maggi F., la Cecilia D., Tang F.H.M., McBratney A. // Sci. Total Environ. 2020. V. 717. P. 137167. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137167>
9. Tang F.H.M., Lenzen M., McBratney A., Maggi F. // Nat. Geosci. V. 2021. № 14. 206–210. <https://doi.org/10.1038/s41561-021-00712-5>
10. Wang L., Deng Q., Hu H., Liu M., Gong Z., Zhang S. et al. // J. Hematol. Oncol. 2019. V. 12. № 70. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0767-9>
11. Zoller O., Rhyn P., Rupp H., Zarn J.A., Geiser C. // Food Addit. Contam: Part B. 2018. V. 11. № 2. P. 83–91. <https://doi.org/10.1080/19393210.2017.1419509>

12. *Li J., Chen W. J., Zhang W., Zhang Y., Lei Q., Wu S. et al.* // *J. Agric. Food Chem.* 2022. V. 70. № 43. P. 13945–13958.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c05612>
13. *Kubsad D., Nilsson E.E., King S.E., Sadler-Riggelman I., Beck D., Skinner M.K.* // *Sci. Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 6372.
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-42860-0>
14. *Aitbali Y., Ba-M'hamed S., Elhidar N., Nafis A., Sora N., Bennis M.* // *Neurotoxicol. Teratol.* 2018. V. 67. P. 44–49.
<https://doi.org/10.1016/j.ntt.2018.04.002>
15. *Kittle R.P., McDermid K.J., Muehlstein L., Balazs G.H.* // *Mar. Pollut. Bull.* 2018. V. 127. P. 170–174.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.11.030>
16. *Blot N., Veillat L., Rouz R., Delatte H.* // *PLoS One.* 2019. V. 14. № 4. e0215466.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215466>
17. *Castrejón-Godínez M.L., Tovar-Sánchez E., Valencia-Cuevas L., Rosas-Ramírez M.E., Rodríguez A., Mussali-Galante P.* // *Microorganisms.* 2021. V. 9. № 11. P. 2322.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9112322>
18. *Rossi F., Carles L., Donnadieu F., Batisson I., Artigas J.* // *J. Hazard. Mater.* 2021. V. 420. P. 126651
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126651>
19. *Masotti F., Garavaglia B.S., Piazza A., Burdisso P., Altabe S., Gottig N., Ottado J.* // *Sci. Total Environ.* 2021. V. 774. P. 145761.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145761>
20. *Yu J., Jin B., Ji Q., Wang H.* // *J. Hazard Mater.* 2023. V. 448. P. 130902.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130902>
21. *Zhao H., Tao K., Zhu J., Liu S., Gao H., Zhou X.* // *J. Gen. Appl. Microbiol.* 2015. V. 61. № 5. P. 165–170.
<https://doi.org/10.2323/jgam.61.165>
22. *Ghaderitabar H., Mousavi A., Hatef Salmanian A., Hadi F.* // *Iran J. Biotechnol.* 2020. V. 18. № 3. e2597.
<https://doi.org/10.30498/IJB.2020.204133.2597>
23. *Khakimova L., Chubukova O., Vershinina Z., Maslennikova D.* // *BioTech.* 2023. V. 12. № 5.
<https://doi.org/10.3390/biotech12010005>
24. *Вершинина З.Р., Чубукова О.В., Никоноров Ю.М., Хакимова Л.Р., Лавина А.М., Каримова Л.Р. и др.* // *Микробиология.* 2021. V. 90. № 2. P. 191–203.
<https://doi.org/10.31857/S0026365621020154>
25. *Чубукова О.В., Хакимова Л.Р., Акимова Е.С., Вершинина З.Р.* // *Микробиология.* 2022. V. 91. № 5. P. 537–546.
<https://doi.org/10.31857/S0026365622100196>
26. *Хакимова Л.Р., Чубукова О.В., Мурясова А.Р., Сумороз Е.В., Чумакова А.К., Вершинина З.Р.* // *Таврический вестник аграрной науки.* 2022. № 2(30). P. 155–163.
27. *Хакимова Л.Р., Чубукова О.В., Мурясова А.Р., Вершинина З.Р.* // *Биомика.* 2022. V. 14. № 2. P. 101–110.
<https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2022-7>
28. *Li D., Xu X., Yu H., Han X.* // *J. Environ. Manage.* 2017. V. 196. P. 8–15.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.02.076>
29. *Li J., Bai R., Chen W., Ren C., Yang F., Tian X., Xiao X., Zhao F.* // *J. Hazard Mater.* 2023. V. 447. P. 130772.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130772>
30. *An Q., Deng S., Liu M., Li Z., Wu D., Wang T., Chen X.* // *J. Environ. Manage.* 2021. V. 299. P. 113641.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113641>
31. *Knuutinen J., Bomberg M., Ketell M., Lusa M.* // *Front Microbiol.* 2019. V. 10. P. 2677.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02677>
32. *Fawwaz Alfarras A., Hamid Al-Fahdawi M.* // *Arch. Razi Inst.* 2022. V. 77. № 3. P. 1041–1047.
<https://doi.org/10.22092/ARI.2022.357399.2036>
33. *Михайловская Н.А., Барашенко Т.Б., Погирницкая Т.В., Дюсова С.В.* // *Почвоведение и агрохимия.* 2022. № 2. P. 110–120.
34. *Шаббаев В.П., Остроумов В.Е.* // *Агрохимия.* 2021. № 11. P. 87–94.
<https://doi.org/10.31857/S0002188121090106>
35. *Tank N.M., Saraf M.* // *J. Basic Microbiology.* 2009. V. 49. № 2. P. 195–204.
<https://doi.org/10.1002/jobm.200800090>
36. *Ma Y., Rajkumar M., Freitas H.* // *Chemosphere.* 2009. V. 75. № 6. P. 719–725.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.01.056>
37. *Sharma S., Saraf M.* // *Biol. Futur.* 2023. V. 74. P. 3309–3325
<https://doi.org/10.1007/s42977-023-00179-y>
38. *Ge Y., Wen Z., He L., Sheng X.* // *Environ. Sci. Pollut Res. Int.* 2023. V. 30. № 31. P. 76911–76922.
<https://doi.org/10.1007/s11356-023-27967-2>

Use of Strain *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 for Pre-Sowing Treatment of Pea Seeds (*Pisum sativum* L.) in the Presence of Heavy Metals and Glyphosate

L. R. Khakimova^{a, *}, O. V. Chubukova^a, Z. R. Vershinina^{a, b}

^a*Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia*

^b*Ufa State Petroleum Technological University (USPTU), Ufa, 450064 Russia*

*e-mail: lili-nigmatullina@bk.ru

The effect of the PGPB strain of bacteria *Pseudomonas* sp. was studied. OBA 2.4.1, resistant to NiCl₂ (up to 3 mM), Pb(CH₃COO)₂ (up to 5 mM) and glyphosate (up to 8 mg/ml), on *Pisum sativum* L. plants at different concentrations of HMs and herbicide. It was found that the strain under study had a positive effect on the length of the roots of pea plant seedlings in the presence of HM, which indicates an increase in the plant's resistance to stress caused by exposure to nickel and lead. However, this effect was not recorded in the experimental version with the addition of glyphosate, which confirmed its high toxicity. The results obtained indicate that the strain *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 promoted the growth of *Pisum sativum* L. under stress exposure to nickel and lead, which can be used in the development of complex-action biological products intended both to protect agricultural plants from the effects of heavy metals and to reclaim contaminated soils.

Keywords: *Pseudomonas* sp., heavy metals, glyphosate, PGPB, *Pisum sativum* L., lead, nickel