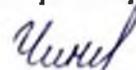


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Институт развития образования  
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

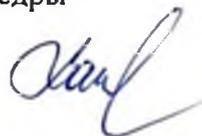
*На правах рукописи*



Чиникова Надежда Анатольевна

ХАРАКТЕРИСТИКА РОСТОСТИМУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ  
РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ

Научный руководитель:  
кандидат биологических наук, доцент кафедры  
фундаментальной  
и прикладной микробиологии



Хакимова Л.Р.

Уфа – 2024

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	7
1.1 Биоорганические удобрения.....	7
1.2 Микробные удобрения регулируют рост и устойчивость сельскохозяйственных культур.....	10
1.2.1 Ростостимулирующие бактерии.....	10
1.2.2 Солюбилизация фосфатов.....	14
1.2.3 Доступность железа для растений .....	15
1.3 Повышение устойчивости сельскохозяйственных культур к экологическому стрессу.....	16
1.3.1. Устойчивость растений к биотическому стрессу.....	16
1.3.2 Устойчивость растений к абиотическому стрессу .....	19
1.3.2.1 Засуха и засоление почв.....	19
1.3.2.2 Стресс вызванный тяжелыми металлами (ТМ).....	21
1.4 Биоремедиация почв .....	24
1.5 Бактерии родов <i>Stenotropomonas</i> и <i>Pseudomonas</i> для биоремедиации почв от ТМ .....	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	31
2.1 Объекты исследования .....	31
2.2 Реактивы и материалы .....	32
2.3 Состав использованных стандартных сред.....	32
2.4 Выделение ризосферных штаммов почвенных бактерий .....	33
2.4.1 Выделение чистых культур ризобактерий.....	33
2.4.2 Выделение и очистка ДНК бактерий .....	35
2.5 Идентификация, выделенных штаммов почвенных бактерий.....	35

2.6 Приготовление селективных питательных сред и посев бактерий .....	35
2.7 Определение фосфатомобилизирующей активности .....	36
2.8 Определение сидерофорной активности .....	36
2.9 Рост ризобактерий на питательных средах с ТМ .....	37
2.10. Определение ростовых параметров растений гороха ( <i>Pisum sativum</i> L.) при ингибирующем действии ТМ .....	38
2.11 Статистический анализ.....	39
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	40
3.1. Идентификация исследуемых ризосферных штаммов бактерий .....	40
3.2. Исследование свойств ризосферных бактерий.....	43
3.2.1. Биологические свойства ризосферных штаммов.....	43
3.2.2. Анализ роста ризосферных штаммов в присутствии ТМ .....	46
3.2.2.1 Устойчивость штаммов <i>Pseudomonas</i> sp. к стрессовым условиям	46
3.2.2.2 Устойчивость штаммов <i>Stenotrophomonas</i> sp. к стрессовым условиям .....	51
3.2.3. Анализ влияния <i>Pseudomonas</i> sp. ОВА 2.4.1 на рост растений гороха в присутствии ТМ .....	52
3.2.4. Анализ влияния <i>Stenotrophomonas</i> sp. на рост растений гороха в присутствии никеля .....	53
Заключение .....	57
Выводы .....	59
Список литературы .....	60

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Ежегодно уровень мирового населения растет, поэтому есть необходимость повышения производства продуктов питания. Удобрения синтезированные химическим путем уже долгое время используются для увеличения урожайности сельскохозяйственных культур растений, несмотря на их эффективность, такие удобрения наносят вред окружающей среде, а также здоровью людей. Для того чтобы сфера сельского хозяйства развивалась стабильно, в скором времени человечеству необходимо уменьшение объема используемых химических удобрений. Биоудобрения на основе микроорганизмов — это тип насыщенного питательными веществами и экологически чистого биологического удобрения, изготовленного из бактерий, стимулирующих рост растений (PGPR). Такие удобрения способны корректировать количество питательных веществ в почве и улучшать микробное разнообразие почвы. Данные процессы восстанавливают микробиом экосистемы, что содействует усвоению витаминов и минералов, регулирует рост и увеличивает устойчивость сельскохозяйственных культур к биотическим и абиотическим факторам стресса.

Высокая активность взаимодействия между микробами и корневой системой происходит в межкорневом пространстве (Kupre et al., 2022). PGPR обладают большим количеством функций, эти полезные бактерии играют важную роль в круговороте веществ в почве, разложении органических веществ, угнетении болезней, передающихся через почву, а также ускорение и увеличение роста агрокультур. Примерами являются биологическая фиксация азота, солюбилизация фосфатов, солюбилизация фосфора и калия, секреция гормонов, ингибирование патогенов, индукция устойчивости растений и т. д. (Larsen et al., 2015; Nyder et al., 2023). Растения также могут выделять вторичные метаболиты для питания микроорганизмов

в межкорневой зоне. Связь растений и полезных бактерий важна для поддержания постоянства благоприятной среды вокруг корневой системы растения. Это позволяет растению эффективно расти и развиваться. (Chamkhi et al., 2022). Микробные удобрения действительно играют важную роль в сельском хозяйстве, так как способствуют созданию богатого микробиома почвы и улучшают ее плодородие. Полезные микроорганизмы, такие как PGPR, помогают растениям лучше усваивать питательные вещества, увеличивают урожайность и повышают устойчивость к стрессам (Goyal et al., 2023). Использование микробных удобрений не только способствует повышению качества почвы, но также благотворно влияет на окружающую среду, поддерживая устойчивое сельское хозяйство (Bamdad et al., 2021). Благодаря экологической чистоте и возобновляемости, микробные удобрения являются привлекательным выбором для современных агрономов. Исследования в области микробных удобрений продолжаются, и их потенциал еще далеко не исчерпан. Применение таких удобрений при рекультивации почв также открывает новые перспективы для восстановления земель после истощительного использования. В целом, использование микробных удобрений является не только эффективным способом повышения урожайности, но и важным шагом к устойчивому сельскому хозяйству, бережному отношению к природным ресурсам и обеспечению продовольственной безопасности.

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. Бактерии рода *Pseudomonas* занимают особое положение, которое определяется не только его огромной хозяйственной ценностью, но и важной ценотической ролью. 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.

**Цель работы:** изучение ростостимулирующих свойств ризосферных бактерий из родов *Pseudomonas* и *Stenotrophomonas*.

**Задачи:**

1. Определение ростостимулирующих свойств исследуемых штаммов: фосфатрастворяющую и сидерофорную активности.
2. Анализ роста исследуемых штаммов в присутствии разных концентраций тяжелых металлов.
3. Исследование влияния наиболее перспективных штаммов на растения гороха (*Pisum sativum* L.) в присутствии разных концентраций тяжелых металлов.

**Практическая значимость.** Исследованы биологические свойства 6 штаммов *Pseudomonas* sp. и 2 штаммов *Stenotrophomonas* sp. Получен наиболее эффективный и перспективный ростостимулирующий штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1, который способен растворять неорганический фосфор и синтезировать сидерофоры. Данный штамм устойчив к  $\text{NiCl}_2$  до 3 мМ и к  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  до 3 мМ в питательной среде. Соответственно, возможно его применение в биоремедиации, а ростостимулирующий эффект положительно влияет на растения гороха, что показано в нашем исследовании.

# ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1. 1 Биоорганические удобрения

Биоорганические удобрения представляют собой ценный и эффективный источник питательных веществ для растений, важный компонент устойчивого сельского хозяйства. Сочетание органических материалов с полезными микроорганизмами делает их не только эффективным удобрением, но и натуральным фунгицидом, способствующим борьбе с болезнями растений.

Благодаря высокому содержанию органических веществ, биоорганические удобрения улучшают структуру почвы, увеличивают ее плодородие, обогащают ее микроорганизмами и способствуют созданию благоприятного микробиома. Это, в свою очередь, благоприятно влияет на рост и развитие растений, увеличивает урожайность и повышает устойчивость к стрессам. Важно отметить, что биоорганические удобрения являются экологически безопасным и устойчивым вариантом удобрений, способствующим сохранению биоразнообразия и здоровья почвенной экосистемы. Их использование не только позволяет повысить урожайность сельскохозяйственных культур, но и содействует сохранению окружающей среды и обеспечению продовольственной безопасности (Yap, Al-Mutairi, 2023). В последние годы увеличение отходов привели к упадку индустрии сельского хозяйства, что влияет на здоровье планеты и населения. Благодаря биоудобрениям и агрокультурным приемам, можно уменьшить угрозу почвенной среде, создаваемую чрезмерным количеством химических удобрений, что способствует разработке биоорганических удобрений (Kiruba, Saeid, 2022). Биоудобрения являются важным элементом в современном сельском хозяйстве благодаря своей уникальной комбинации преимуществ. Они обладают не только эффективностью традиционных органических удобрений, но и включают в себя полезные микроорганизмы, которые способствуют более эффективному усвоению питательных веществ

растениями (Mitter et al., 2021). Было обнаружено, что биоорганические удобрения играют важную роль благодаря их способности улучшать качество почвы. Они содержат органические вещества, которые способствуют увеличению содержания гумуса в почве, улучшению структуры почвенных агрегатов и сохранению влаги (Daniel et al., 2022). Также было доказано, что биоорганические удобрения увеличивают микробиоту почвы и способствуют круговороту углерода и азота в почве по сравнению с химическими удобрениями. Особой функцией биоорганических удобрений является увеличения количества почвенных микроорганизмов, а так же заселение в больших количествах межкорневой области, то есть места, где микроорганизмы, почва и корни растений взаимодействуют друг с другом.

**Микробные агенты.** Микробные агенты, также известные как микробные инокулянты, определяются как биоудобрения, содержащие ряд живых микроорганизмов (O'Callaghan et al., 2022). Полезные бактерии с особыми функциями выделяют из бактерий, грибов, актиномицетов и водорослей для разработки микробных инокулянтов (Jack et al., 2020; Shahwar et al., 2023). В настоящее время большое внимание привлекли новые инокулянты, представленные PGPR. PGPR, такие как *Klebsiella*, *Azotobacter*, *Azoospirillum* и *Bacillus*, размножаются в межкорневой почве. *Bacillus* и *Pseudomonas* spp., выделенные из ризосферы, использовались для разработки микробных инокулянтов на основе идентификации разнообразия микроорганизмов (Comeau et al., 2021). Микробные инокулянты действительно играют важную роль в поддержании здоровья почвы и стимулировании роста растений. Они представляют собой набор полезных бактерий, способных производить гормональные вещества, необходимые для роста растений, а также устойчивости к стрессовым условиям. Важно отметить, что микробные инокулянты не являются патогенными для растений и экологически безопасны. Эти инокулянты способствуют

адаптации растений к окружающей среде, улучшают поглощение питательных веществ из почвы, стимулируют рост и развитие растений, а также могут даже детоксифицировать почву от вредных веществ, таких как ТМ, пестициды и фунгициды. Благодаря использованию методов биологического контроля, микробные инокулянты помогают восстанавливать естественные процессы в почве. Первоначальные исследования по применению микробных инокулянтов фокусировались на отдельных штаммах бактерий с уникальными функциями, которые могли положительно влиять на рост растений. Однако современные исследования стремятся к использованию многофункциональных комплексных инокулянтов, содержащих разнообразные полезные микроорганизмы для максимальной пользы для почвы и растений (Baez-Rogelio et al., 2016).

**Комплексное микробное удобрение.** Композиционное микробное удобрение объединяет множество полезных бактерий, из таких видов и родов как *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Azospirillum brasilense* и *Streptomyces*, синергически активировав такие характеристики, как солюбилизация фосфора и калия, а также фиксация азота посредством оптимального сочетания (Yang et al., 2020; Kaari et al., 2022). Сложные микробные удобрения обычно производятся на основе сельскохозяйственных отходов, таких как птичьи экскременты и солома, которые представляют собой ценные источники питательных веществ. Эти материалы используются в качестве основного сырья для производства удобрений, обогащенных полезными микроорганизмами. Добавление полезных микроорганизмов к этим отходам позволяет создавать комплексные удобрения, которые способствуют более эффективному усвоению питательных веществ растениями и улучшают структуру почвы (Ding et al., 2019; Zhou et al., 2021). Комплексные микробные удобрения включают в себя химические удобрения, органические удобрения и полезные микроорганизмы. Они способствуют устойчивому росту растений, обладая при этом эффективностью химических

удобрений и долговечностью органических удобрений. Это эффективно повышает урожайность почвы и поддерживает здоровые и процветающие культуры (Chojnaska et al., 2020). В этом случае полезные бактерии, содержащиеся в комплексном микробном удобрении, в результате метаболической активности микроорганизмов вырабатывают вторичные метаболиты, которые растворяют минеральные элементы в почве и способствуют росту сельскохозяйственных культур. Полезные микроорганизмы, связанные с корнями, колонизируются, создавая полезный микробиом. Далее он взаимодействует с выделениями ризосферы полезных микроорганизмов, вызывая выработку вторичных метаболитов в растениях, участвуя в защитных системах растений и производя регуляторы роста, которые способствуют росту растений и регулируют развитие сельскохозяйственных культур. Важные аспекты действия полезных микроорганизмов в сложных микробных удобрениях. Вторичные метаболиты, вырабатываемые этими микроорганизмами, играют ключевую роль в улучшении доступности минеральных элементов для растений. Они способствуют разложению органических веществ в почве, что приводит к высвобождению питательных элементов и их усвоению растениями.

## **1.2. Микробные удобрения регулируют рост и устойчивость сельскохозяйственных культур**

### **1.2.1. Ростостимулирующие ризобактерии**

Достаточное количество микроорганизмов возле корней ускоряет доставку питательных веществ в растения, защищает от инфекций, делает почву насыщенной витаминами и минералами, способствует быстрому росту и здоровью растения. PGPR являются полезными бактериями, способствующими ускорению развития растений, они повышают количество азота в почве, синтезируют ростовые стимуляторы, увеличивают доступность

питательных веществ для растений и защищать их от неблагоприятных погодных условий. Эти бактерии очень важны для сельского хозяйства, так как помогают сохранить урожай даже в стрессовых для растений условиях.

Таблица 1 – Виды ризобактерий, используемые в качестве PGPR

Виды микробных удобрений	Вид растений	Ростостимулирующие ризобактерии	Источник и
Биоорганическое удобрение	Латук	<i>Actinobacteria, Proteobacteria, Chloroflexi, Acidobacteria, Gemmatimonadota Ascomycota, and Basidiomycota</i>	Jin et al., 2022
Биоорганическое удобрение	Табак	<i>Actinobacteria, Chloroflexi, Proteobacteria, Acidobacteria, Firmicutes, Gemmatimonadota, Streptomyces Bacillus, Arthrobacter, and Paenibacillus</i>	Ma et al., 2018
Биоорганическое удобрение	Свекла, картофель, озимая пшеница	<i>Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, Arthrobacter, and Paenibacillus</i>	Jakienė et al., 2015; Li et al., 2021
Биоорганическое удобрение	Цветная капуста	<i>Proteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Gemmatimonadetes, Bacteroidetes, and Chloroflexi</i>	Xiao et al., 2022
Биоорганическое удобрение	Помидор	<i>Proteobacteria, Actinobacteriota, Bacteroidota, Firmicutes, Firmicutes, and Verrucomicrobiota</i>	Wang et al., 2021
Микробные инокулянты	Арбуз	<i>Proteobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria, Actinobacteria, and</i>	Zhao et al., 2018

		<i>Planctomycetes</i>	
Микробные инокулянты	Редис	<i>Proteobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria, Actinobacteria, and Planctomycetes</i>	Jatav et al., 2011
Микробные инокулянты	Рис	<i>Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Actinobacteria, Planctomycetes Ascomycota, and Chytridiomycota</i>	Xie et al., 2021
Микробные инокулянты	<i>Prunusdavi dana</i>	<i>Proteobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria, Gemmatimonadetes, Actinobacteria, Patescibacteria, Chloroflexi, Verrucomicrobia, Nitrospirae, Latescibacteria, and Rokubacteria</i>	Shi et al., 2022
Микробные инокулянты	Огурец	<i>Alphaproteobacteria, Actinobacteria, Acidobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Gemmatimonadetes, Bacteroidetes, Chloroflexi, Planctomycetes, Firmicutes, Verrucomicrobia, Nitrospirae, Armatimonadetes, Cyanobacteria, TM7, Fibrobacteres, and Chlorobi</i>	Simranjit et al. , 2019
Комплексное микробное удобрение	Соя	<i>nitrogen-fixing bacteria, phosphorus-solubilizing bacteria</i>	Fu et al., 2023
Комплексное микробное	Сахарный тростник	<i>Trichoderma harzianum, Gluconcetobacter diazotrophicus, and</i>	Shukla et al., 2020

удобрение		<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
-----------	--	--------------------------------	--

Поэтому, понимание взаимодействия между растениями и бактериями в корнях является ключевым аспектом для оптимизации сельскохозяйственного производства и улучшения качества почвы и растений (Meena et al., 2017). Механизмы прямого действия PGPR включают фиксацию азота, солюбилизацию минералов фосфора и калия, синтез растительных гормонов и т.д. (Stamenković et al., 2018).

Таблица 2 – Механизмы, с помощью которых различные полезные микроорганизмы регулируют рост сельскохозяйственных культур

Микроорганизмы	Виды растений	Механизм действия	Источники
<i>Pseudomonas</i> sp.	Кукуруза, маниока, яровая пшеница, помидоры	Стимуляция поглощения питательных веществ, регуляция уровня гормонов, ISR, активность АСС-дезаминазы, сидерофорная активность, фиксация азота, солюбилизация фосфора	Kannan et al., 2012; Travaglia et al., 2015
<i>Bacillus</i> sp.	Соя, восточные дыни, картофель, ячмень, кукуруза	Vocs, антибактериальное соединение, органические кислоты, экзополисахариды, различные ферменты, ISR	Ekin et al., 2009; Saxena et al., 2013; Kang et al., 2015
<i>Rhizobium</i> sp.	Соя, арахис,	Азотфиксация, экзополисахариды, солюбилизация фосфатов	Drew et al., 2012; Akhtar et

			al., 2013
<i>Azotobacter</i> sp.	Рис, помидоры, вигна,	Азотфиксация, растворенный фосфор и калий, синтез ИУК, сидерофорная активность	Banik et al., 2019; Ge et al., 2019; Puca et al., 2022
<i>Azospirillum</i> sp.	Огурец	сидерофорная активность, индол-3-уксусная кислота, ISR	Pereyra et al., 2023
<i>Pseudomonas</i> <i>putida</i>	Дыня	Различные ферменты, солюбилизация фосфора, сидерофорная активность	Abraham- Juarez et al., 2018
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	Табак	Растворенный фосфор и калий, гормон роста	Cao et al., 2020
<i>Bacillus aryab</i> <i>hattai</i>	Помидоры, кукуруза, фасоль	Гормон роста, солюбилизация фосфора	Goyal et al., 2021

### 1.2.2 Солюбилизация фосфатов

Фосфор является одним из трех основных питательных элементов, необходимых для здорового роста растений, наряду с азотом и калием. Он играет ключевую роль в различных физиологических процессах, таких как фотосинтез, дыхание, передача генетической информации и т.д.

Фосфор необходим для образования аденозинтрифосфата (АТФ) - основного источника энергии в клетках растений, а также для синтеза нуклеиновых кислот и фосфолипидов, важных для клеточных мембран. Он также способствует росту корней, улучшению цветения и плодоношения (Gupta et al., 2022). Длительное применение химических удобрений привело к тому, что сейчас более 70% фосфора в почве существует в неорганической форме, этот неорганический фосфор легко вступает в реакции с металлами

( $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) в результате образуется нерастворимый фосфат (Pan et al., 2023). Соответственно, для распада таких фосфатов в почве необходимо добавление полезных микроорганизмов. Известно, что рода бактерий и грибов, включая *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Penicillium*, *Aspergillus* и *Staphylococcus*, являющиеся типичными агентами, повышающими доступный фосфор в почве (Teng et al., 2019). Почвенные бактерии и грибы участвуют в процессе растворения почвенных фосфатов, проявляя различные механизмы действия. Некоторые из механизмов включают секрецию органических кислот полезными бактериями, образование хелатов, реакции ионного обмена (Timofeeva et al., 2022). Эти бактерии выделяют органические кислоты, снижающие кислотность почвы, тем самым повышая действенность фосфора в почве (Ahmad et al., 2023). Посредством таких фосфатрастворяющих (фосфатмобилизующих) микроорганизмов, вырабатывающих органические кислоты, секретлируемые ферменты, переносчики железа, ионы металлов в почве связываются с молекулами с образованием комплекса, который превращается в фосфат, который после всасывается корневой системой растений (Kalayu et al., 2019; Rawat et al., 2021). Они способствуют солюбилизации фосфатов, увеличивают его переработку растением и ускоряют физиологические процессы в жизненном цикле растений.

### 1.2.3 Доступность железа для растений

Железо является одним из ключевых микроэлементов, необходимых для оптимального роста и метаболизма растений. Оно играет важную роль в регуляции многих физиологических процессов, таких как дыхание, фотосинтез и азотфиксация, обеспечивая необходимые питательные вещества для развития растений. Однако из-за своей склонности к окислению железо часто образует нерастворимые оксиды в почве, что затрудняет его усвоение растениями (Ellermann, Arthur, 2016). Недостаточная

биодоступность многих неорганических железных минералов в ризосфере препятствует оптимальному росту и развитию растений. Однако благодаря различным механизмам PGPR способны увеличить доступность железа для растений. Это достигается в результате образования специализированных молекул, таких как переносчики железа, которые способствуют повышению растворимости железа в почве и его улучшенному усвоению растениями (Nosrati et al., 2018; Ferreira et al., 2019). Низкомолекулярные органические вторичные метаболиты, вырабатываемые особыми бактериями, называются переносчиками железа (Ghosh et al., 2020). Органические соединения в основном служат микроорганизмам в качестве хелаторов железа, способствуя их усвоению этого элемента. Посредством хелатирования железа и других тяжелых металлов эти хелаторы железа могут уменьшить воздействие тяжелых металлов на окружающую среду. Комплексы переносчиков железа формируются на клеточной мембране благодаря метаболитам, высвобождаемым самими переносчиками железа в процессе взаимодействия с  $Fe^{3+}$ . В итоге эти комплексы разрушаются до формы  $Fe^{2+}$ , которую растения могут поглотить и использовать для своего роста. Многие исследования дали подтверждение идеи о том, что ризобактерии, связанные с растениями, которые способствуют росту растений, также могут производить переносчики железа.

### **1.3 Повышение устойчивости сельскохозяйственных культур к экологическому стрессу**

#### **1.3.1. Устойчивость растений к биотическому стрессу**

В период неблагоприятных условий растения вырабатывают активные формы кислорода (АФК). Повышенное количество такого кислорода у агрокультур снижает продуктивность растений, вызывает разрушение клеточных органелл и, в конечном итоге, гибель клеток (Nadeem et al., 2014).

Растения подвергаются различным стрессорам, как живым (биотическим), так и неживым (абиотическим), во время процессов размножения, что приводит к уменьшению урожайности в сельском хозяйстве (Borah et al., 2023). Грибки, бактерии, вирусы, нематоды и другие биологические существа участвуют в биотическом стрессе (Aioub et al., 2022). Для сохранения экологического равновесия в сельском хозяйстве при неизбежном давлении на окружающую среду, необходимо принять действенные меры для смягчения воздействия различных аспектов окружающей среды (Shameer, Prasad, 2018). Использование методов и механизмов защиты помогает справиться растениям со стрессом (Bhat et al., 2022). С одной стороны, генетическая модификация сортов сельскохозяйственных культур способствует созданию устойчивых растений, которые могут лучше адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды. Однако следует учитывать, что процесс разработки новых устойчивых сортов занимает много времени и требует значительных финансовых вложений. В настоящее время основным методом смягчения экологического стресса растений является использование полезных микроорганизмов, способствующих росту растений, в корневой зоне почвы (Basu et al., 2021). PGPR передает антагонистические вещества в ризосферу посредством подавления роста патогенов и конкуренции за питательные вещества (Khoshruet al., 2020). PGPR в значительной мере оперирует различными метаболитами и летучими веществами для регулирования структуры почвенной микробиоты, подавления почвенных патогенов и улучшения общего состояния почвы. Например, эти полезные бактерии вырабатывают антибиотики, гидролитические ферменты и антимикробные соединения, которые способны сдерживать развитие вредных микроорганизмов, что в свою очередь помогает защитить растения от болезней. PGPR способствует увеличению роста и укреплению иммунной системы растений благодаря

многообразие механизмов действия, предоставляя эффективную альтернативу стандартным методам борьбы (Chandran et al., 2021).

### 1.3.2. Устойчивость растений к абиотическому стрессу

#### 1.3.2.1 Засуха и засоление почв

Из всех абиотических стрессов особенно важную роль играет засуха, оказывающая существенное воздействие на сельское хозяйство. Недостаток влаги сильно влияет на физиологические процессы растений, баланс воды и питательных веществ, а также на обычную метаболическую активность растений (Ahluwalia et al., 2021; Kour. Et al., 2022). В настоящее время существует несколько стратегий смягчения воздействия стресса, вызванного засухой. Одним из таких подходов является использование PGPR в качестве инокулянтов, что помогает компенсировать дефицит влаги и эффективно управлять ресурсами воды. Основным механизмом действия PGPR в условиях засухи заключается в регуляции растительных гормонов, выделении летучих соединений и изменении полисахаридов клеточных стенок, что оказывает влияние на нормальный рост сельскохозяйственных культур (Sati et al., 2023). Эти механизмы помощи помогают растениям выживать в условиях крайней засухи. Синтез фитогормонов бактерий родов *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Rhizobium*, направлен на стимуляцию роста растений и борьбу со стрессом, вызванным засухой (Bouremani et al., 2023). В условиях засухи внесение полезных микробных агентов может способствовать увеличению производства внеклеточных полисахаридов (ЭПС), стимулировать синтез пролина и активировать образование фенольных соединений. Кроме того, эти агенты способны регулировать рост и развитие растений, что помогает им бороться со стрессом, вызванным обезвоживанием (Rosa et al., 2023). Салициловая кислота (СК), в основном производимая фенольными соединениями микроорганизмов, играет важную роль в сигнализации в условиях засухи. Она эффективно

стимулирует активацию генов антиоксидантов и продукцию метаболитических генов, необходимых для регулирования процессов роста и развития растений. Действие салициловой кислоты способствует повышению устойчивости растений к стрессовым ситуациям, включая обезвоживание, и способствует их адаптации к экстремальным условиям окружающей среды (Khan et al., 2018). Например, при обработке *Pseudomonas putida* замечены улучшения в жизнеспособности проростков, сырой и сухой массе растений, содержании сухого вещества и урожайности зерна (Kálmán et al., 2023). Инокуляция пшеницы новыми изолятами PGPR, такими как *Bacillus subtilis* -FAB1 и *Pseudomonas aeruginosa* -FAP3, привела к стимуляции роста растений и успешной колонизации корней, что способствовало нормальному развитию растений. Эти результаты указывают на потенциальную пользу этих бактерий в условиях засухи, оказывая положительное воздействие на общее здоровье растений и их способность к адаптации к стрессовым условиям.

В последнее время проблема солевого стресса стала важным фактором, ограничивающим рост растений. Избыточное количество солей в почве приводит к образованию корки, что ухудшает способность растений эффективно использовать воду. Воздействие соли негативно влияет на развитие корневой системы растений, что в итоге оказывает воздействие на все процессы роста и метаболизма растений (Egamberdieva et al., 2019). Соленость непосредственно влияет на содержание хлорофилла и каротиноидов, разрушая ультраструктуру хлоропластов и, следовательно, снижая проницаемость устьиц. Это препятствует нормальному фотосинтезу в листьях. Увеличение концентрации активных форм кислорода в клетках растений происходит из-за накопления солей в почве, вызывая окислительный стресс у растений (Saghafi et al., 2019). Повышенное содержание соли может привести к накоплению ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  и одновременно затруднить поглощение ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$ , что может вмешаться в ионный баланс и гомеостаз растений (Isayenkov et al., 2019). Следовательно, необходимо принимать стратегические меры для уменьшения

негативного воздействия засоления на растения. Обширные исследования показывают, что использование PGPR способствует снижению потерь урожая, вызванных солевым стрессом. PGPR воздействует на физиологические и биохимические процессы растений при помощи различных механизмов, смягчая негативные последствия солевых стрессов на рост растений. Основные механизмы воздействия включают регулирование ионного баланса, синтез защитных веществ против осмотического стресса, активацию антиоксидантных ферментов и другие процессы, которые способствуют развитию сельскохозяйственных культур (Bhat et al., 2020). Защитные механизмы, обусловленные стрессом, улучшаются благодаря сложным сигнальным сетям, которые регулируются взаимодействием механизмов и микробиологии корневой зоны (Hoque et al., 2023). Исследования показали, что применение *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella* spp. для обработки рассады риса существенно повышает высоту растений, увеличивает длину корней, увеличивает сухую массу растений и способствует росту риса в условиях солевого стресса (Khumairah et al., 2022). Было обнаружено, что использование *Bacillus* spp. для изучения роста помидоров в условиях солевого стресса способствует формированию системной устойчивости у растений, что значительно влияет на разнообразие бактериального сообщества (Lee et al., 2021). Было отмечено, что штамм *Bacillus sphaericus* SQR9 вырабатывает спермидин, который способствует увеличению солеустойчивости у *Arabidopsis thaliana* и кукурузы (Chen et al., 2017). В результате использования PGPR возможно эффективное преодоление негативных эффектов солевого стресса, увеличение устойчивости растений к соли и стимуляция формирования систем устойчивости у растений.

### 1.3.2.2 Стресс, вызванный тяжелыми металлами (ТМ)

Помимо засухи и солевого стресса, загрязнение ТМ также негативно влияет на устойчивое развитие сельского хозяйства. Высокие концентрации ТМ, обусловленные различными антропогенными воздействиями, представляют опасность для здоровья почвы, что прямо сказывается на деятельности растений ферментов и цикле питательных веществ. В результате рост и развитие растений затруднены (Asad et al., 2019). Поэтому, крайне важно реализовать определенные стратегии по восстановлению загрязненной почвы. Использование микроорганизмов, в частности PGPR, для поддержки технологии биоремедиации привлекло широкое внимание общества (Zainab et al., 2021). Основная цель использования микробиологической очистки почвы от ТМ заключается в первоначальной иммобилизации ТМ, затем снижении их подвижности и, в конечном итоге, удалении из почвы. Среди основных ТМ можно выделить марганец, кадмий, железо и цинк; многие микроорганизмы способны абсорбировать эти металлы из почвы с помощью разнообразных механизмов. Накопление ТМ в загрязненной почве отрицательно отражается на росте растений, развитии корневой системы, фотохимических свойствах и усвоении питательных веществ (Ullah et al., 2021). Этот процесс в основном заключается в адсорбции некоторых поверхностных ТМ живыми микробными клетками и поверхностно-активными веществами. В то же время микроорганизмы активно растут и участвуют в метаболических процессах, в результате чего образуются определенные неорганические соли и метаболиты перекиси водорода. Эти вещества взаимодействуют с ионами ТМ, образуя осадки (Lal et al., 2018; Lee et al., 2023).

Таблица 3 – Механизмы действия полезных микроорганизмов для облегчения абиотического стресса сельскохозяйственных культур

Микроорганизмы	Вид растительный	Тип абиотического процесса	Механизм действия	Источник и
<i>Bacillus licheniformis</i> K11	Перец	Стресс от засухи	Ауксин и АСС-дезаминаза, продуцирующая PGPR <i>B. licheniformis</i> K11, могут снизить стресс от засухи в пострадавших от засухи регионах	Lim, Kim, 2013
<i>Bacillus subtilis</i> -FAB1, <i>Pseudomonas azotoformans</i> -FAP3	Пшеница	Стресс от засухи	Штаммы FAB1 и FAP3 демонстрируют уникальные многофункциональные свойства, стимулирующие рост растений, а также эффективную колонизацию корней и ризосферы, способствующую росту пшеницы во время засухи	Ansari et al., 2023
<i>Phyllobacterium brassicacearum</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Стресс от засухи	Бактерии стимулируют рост и развитие и координируют свои действия для повышения эффективности использования воды растениями	Bresson et al., 2013

<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus pumilus</i>	хлопок	Солевой стресс	<i>B. subtilis</i> и <i>B. pumilus</i> значительно повышают устойчивость растений хлопчатника к солевому стрессу	Акбар et al., 2022
<i>B. subtilis</i> CNBG- PGPR-1	Помидо р	Солевой стресс	CNMG-PGPR-1 значительно улучшил клеточный гомеостаз и эффективность фотосинтеза листьев, а также снизил ионную токсичность и осмотический стресс, вызванный солью в томатах	Feng et al., 2023
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	горчица	Солевой стресс	Два штамма повышают жизнеспособность клеток и уменьшают повреждение листьев и выработку супероксида	Khan et al., 2023
<i>Viridibacillus</i> sp.	Кукуруз а	ТМ	Инокуляция штаммом способствовала росту и развитию растений и облегчала воздействие стресса на растение	Becze et al., 2021
<i>Morganella morganii</i>	<i>Arabido psis thaliana</i>	ТМ	PGPR может защитить растения от токсичности Cd, а устойчивые к Cd штаммы ризобактерий	Naqqash et al., 2023

			могут восстанавливать участки, загрязненные ТМ и улучшать рост растений	
<i>Acinetobacter beijerinckii</i> , <i>Raoultella planticola</i>	соя	ТМ	Штамм PGPR способствует выработке антиоксидантов в организме хозяина и изменяет физиологические и метаболические реакции сои, позволяя ей лучше справляться с токсичностью хрома и мышьяка и хорошо расти в условиях стресса	Husna et al., 2023

#### 1.4 Биоремедиация почв

Почва – это результат долговременных процессов формирования, является ресурсом, который практически невозобновим, и неотъемлемым компонентом окружающей среды. Он служит фильтром и резервуаром для воды, обеспечивает воду и питательные вещества для роста растений и обеспечивает среду обитания для большого количества организмов. За счет стремительной гонки за увеличением урожайности применение химических удобрений, пестицидов и токсичных веществ в больших количествах привело к их накоплению в почве. Это, в свою очередь, привело к серьезному ухудшению экологической ситуации в различных уголках мира, а состояние здоровой почвы было почти безвозвратно потеряно. Восстановление здоровья почвы и решение экологических проблем, влияющих на текущее состояние почвы, являются важными усилиями.

Ранее практиковавшиеся традиционные стратегии восстановления включали применение физических и химических методов. Однако эти

методы имели свои ограничения, такие как высокие затраты, длительные сроки и потенциальное возникновение вторичного загрязнения почвы. В настоящее время одной из главных задач является разработка методов устойчивого восстановления экосистемы. В дополнение к традиционным подходам, микробная ремедиация стала современным, эффективным и устойчивым средством для восстановления здоровья почвы (Mehmood et al., 2020). Для восстановления загрязненной почвы часто применяют растения и микроорганизмы. Растения обычно используются за свою способность поглощать загрязняющие вещества, в то время как микроорганизмы преимущественно разлагают их. Биоремедиация, как технология восстановления, в основном ориентирована на использование микроорганизмов и считается экологически безопасным и устойчивым методом устранения загрязнителей в окружающей среде (Teng, Chen, 2020). Почвенный микробиом, который является важным элементом биоремедиации, играет важную роль в механизмах микробной ремедиации почвы (Liu et al., 2020). Суть технологии биоремедиации заключается в использовании способности микроорганизмов разлагать метаболиты и способствовать трансформации загрязняющих веществ в почве (Zheng et al., 2022). В современной сельскохозяйственной практике, основанной на использовании биотехнологии для восстановления почвы, применяется методика восстановления плодородия с помощью микробных удобрений, содержащих разнообразные полезные штаммы микроорганизмов. При устранении загрязнителей почвы учитывается взаимодействие между растениями, микроорганизмами и самой почвой, что способствует созданию благоприятной среды для здорового роста растений.

Микроорганизмы используют множество методов для биodeградации токсичных загрязнителей и остатков пестицидов в почве. В настоящее время биологические удобрения, содержащие ризобактерии, которые способствуют росту растений, являются ключевым инструментом для восстановления

здоровья и плодородия почвы (Batista, Singh 2021). В ближайшем будущем стратегия микробной реабилитации станет неотъемлемой методологией управления состоянием почвы. PGPR способствуют улучшению почвы, привлекая больше полезных микроорганизмов, что обеспечивает эффективное разложение накопившихся в ней токсичных веществ (Bhanse et al., 2022). Они могут преобразовывать токсичные органические соединения в не токсичные формы. Разложение органических загрязнителей микроорганизмами в основном происходит благодаря ферментам, которые расщепляют загрязнители и способствуют их превращению в почве (Alegbeleye et al., 2017). Кроме того, некоторые гидролитические ферменты могут снижать вред от токсичных молекул и действовать как биодegradаторы (Santillan et al., 2020). Использование симбиотических отношений между растениями, микроорганизмами и почвой может быть использовано для устранения загрязнителей в почве и содействия здоровому росту растений. Процесс обеззараживания почвы ТМ, используемый PGPR, включает в себя различные методы, включая хелатирование носителя железа, биологическую адсорбцию и биоразложение (Patel et al., 2016). Биоремедиация ТМ почвы происходит в первую очередь за счет взаимодействия межкорневых микроорганизмов с физико-химическими свойствами почвы, что, в свою очередь, регулирует рост растений и стимулирует детоксикацию ТМ в почве (Mishra et al., 2017). Почвенные микроорганизмы выделяют метаболиты, которые могут выделять переносчики железа и органические кислоты, которые способствуют хелатированию ионов токсичных металлов в почве и способствуют адсорбции ТМ (Fan et al., 2023). EPS, полученный с помощью PGPR, может адсорбировать ионы некоторых металлов, таких как  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$  и т. д., и в то же время он может разлагать полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) и алкановые соединения, тем самым разлагая загрязняющие вещества в почве (Morcillo et al., 2021). Используя полезные ризосферные микроорганизмы в почве для смягчения стресса от

ТМ, эти организмы могут накапливать, трансформировать и разлагать их в почве (Agarwal et al., 2023). Кроме того, органические кислоты, вырабатываемые микроорганизмами, реагируют с ионами металлов почвы, растворяя ионы ТМ (Ren et al., 2023). PGPR оказывают заметное влияние на свойства почвы. Эти организмы снижают токсичность почвы, повышают устойчивость растений к стрессорам и стимулируют рост растений (Cicatelli et al., 2019). Микробные удобрения не только резко сокращают применение химических удобрений, но и сводят к минимуму использование пестицидов (Hassen et al., 2018). Отчеты показали, что использование устойчивых межкорневых микроорганизмов, способствующих росту растений, можно использовать для преобразования химических пестицидов в нетоксичные химикаты посредством детоксикации, деградации, комплексообразования и активации с использованием собственного механизма действия микроорганизмов (Shahid et al., 2023).

### **1.5 Бактерии родов *Stenotropomonas* и *Pseudomonas* для биоремедиации почв от ТМ**

Бактериальный род *Stenotropomonas* считается потенциальным PGPR с полезными эффектами из-за его способности продуцировать сидерофоры, способности солиubilizировать фосфат и генерировать фитогормоны и спермидин (Ulrich et al., 2021). Этот род принадлежит к семейству *Xanthomonadaceae*, что является уточненным описанием семейства *Lysobacteraceae* (Cutiño-Jiménez et al., 2020). Семейство *Lysobacteraceae* (*Xanthomonadaceae*) охватывает разнообразную группу бактерий, в которую входят *Pseudoxanthomonas*, *Stenotropomonas*, *Xanthomonas* и *Xylella*. Это близкородственные бактериальные роды, которые образуют филогруппу, называемую XSXP (Bansal et al., 2021). Семейство *Xanthomonadaceae* также содержит патогенные для растений бактерии, а именно *Xanthomonas* и

*Xylella*, которые, как сообщается, наносят экономический ущерб некоторым сельскохозяйственным культурам (Parte, 2018).

Виды *Stenotropomonas* являются грамотрицательными и ассоциированы с широким спектром сред обитания, включая животных и растения (Hayward et al., 2010). Кроме того, является космополитной и повсеместно распространенной и встречается в различных средах обитания, в том числе в экстремальных, хотя, естественно, она связана с ризосферой растений и в основном способствует элементному круговороту серы и азота, а также разлагает сложные соединения и загрязняющие вещества, способствует росту растений (An and Berg, 2018; Pérez-Martínez et al., 2020). Более того, бактерия *S. maltophilia* является первым представителем этого рода, который является преобладающим видом, наблюдаемым у растений, воды, почвы, животных и человека (Wang et al., 2018).

Бактерии рода *Stenotropomonas* становятся все более популярными объектами исследования из-за их потенциального использования в качестве эффективных биоинокулянтов для стимулирования роста растений и борьбы с некоторыми заболеваниями продовольственных культур. Этот аспект вызывает растущий биотехнологический интерес (Ulrich et al., 2021). Кроме того, он обладает способностью к биозащите от патогенных для растений грибов и бактерий, а также устойчивостью к биотическому и абиотическому стрессу, чувствительности к кворуму и биоактивности против биопленок (Ulrich et al., 2021). Близкородственная *S. rhizophilia* обеспечивает замену биотехнологических применений без какого-либо вреда для здоровья человека (An and Berg, 2018).

Одной из групп очень важных бактерий, которая стала центром исследований по биологической борьбе с болезнями растений, является род *Pseudomonas* (палочковидные  $\gamma$ -протеобактерии и грамотрицательные бактерии, имеющие полярные жгутики) (Singh et al., 2013). Род *Pseudomonas* в основном используется в качестве инокулянта сельскохозяйственных

культур из-за его широкого распространения и разносторонних метаболических способностей, которые способствуют росту растений разными способами, включая активность деаминазы АСС, поглощение питательных веществ и антиоксидантную активность (Chandra et al., 2018). Отдельные штаммы *P. fluorescens* использовались в качестве инокулянтов семян на различных сельскохозяйственных культурах для стимуляции параметров роста и повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Эти бактериальные агенты быстро заселили корни картофеля, редиса и сахарной свеклы, что значительно увеличило урожайность растений (Saranraj et al., 2022). *P. fluorescens* может способствовать стимулированию процессов, связанных с ростом капусты, особенно путем стимулирования быстрого роста рассады и уменьшения стресса при пересадке (Karungi et al., 2010).

Представители *Pseudomonas* spp. имеют способность к фиксации азота (Singh et al., 2023). Также известно, что микробы, ассоциированные с рисом, пшеницей, кукурузой и бобовыми культурами, в основном обладают способностью к растворению фосфора (Gaba et al., 2023). Наряду с этим калий также необходим для развития и укоренения растений. Различные исследования подчеркнули роль *Pseudomonas* spp. в растворении сложных минералов почвы, включая алюмосиликат калия (Gupta et al., 2019; Gandhi et al., 2023).

В ризосфере бактерии вырабатывают фитогормоны, такие как ауксин, гиббереллины, абсцизовая кислота, этилен и цитокинины, которые стимулируют рост растений (Ali et al., 2022). Точно так же антибиотики представляют собой низкомолекулярные токсины, которые могут убивать или сопротивляться развитию других микроорганизмов (Bakker et al., 2013). Также было показано, что некоторые ризосферные бактерии продуцируют антибиотики, а также токсины (Nakkeeran et al., 2013), включая амфизин, феназин, 2–4-диацетилфлороглюцинол, пиолутеорин, пирролонитрин, цианистый водород (HCN), оомицин, полимиксин, циркулин, колистин,

тензин, трополон и циклические липопептиды (Ali et al., 2022). Виды *Pseudomonas* spp. обычно производят антибиотики, которые косвенно поддерживают стимуляцию роста растений (Kumudini et al., 2017). Различные исследования подчеркивают активную роль *Pseudomonas* spp. в подавлении различных грибковых патогенов (Wang et al., 2021; Win et al., 2022; Li et al., 2023), индуцировании системной устойчивости (Song et al., 2019), и продуцировании сигналов гибберелловой кислоты (ГК) и жасмоновой кислоты (ЖК) (Yang et al., 2019). Таким образом, многочисленные полезные свойства бактерий показывают потенциал *Pseudomonas* spp. против широкого спектра фитопатогенов и в разработке биоудобрений на их основе.

Также использование микробных удобрений на основе бактерии родов *Stenotrophomonas* и *Pseudomonas*, является экологически устойчивой сельскохозяйственной стратегией. Устанавливая взаимовыгодную модель взаимодействия между растениями-хозяевами, PGPR и почвой, эти взаимодействия регулируют рост растений, противостоят экологическому стрессу, реабилитируют загрязненную почву. Подводя итог, можно сказать, что чрезмерная зависимость от химических удобрений приводит к экологическому дисбалансу. Биологическое удобрение, состоящее из полезных штаммов PGPR, обладает многочисленными преимуществами. Это экономически эффективно, имеет значительный потенциал для улучшения роста растений, повышает устойчивость растений и служит ключевой стратегией устойчивого развития зеленого сельского хозяйства.

## Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Объекты исследования

Объектами исследования были бактерии из коллекции ризосферных микроорганизмов «Симбионт» ИБГ УФИЦ РАН:

1. *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1;
2. *Pseudomonas* sp. ОВА 2.9;
3. *Pseudomonas* sp. GOR 4.17;
4. *Pseudomonas* sp. СТА 3;
5. *Pseudomonas* sp. 17 НМ;
6. *Pseudomonas* sp.65 НМ;
7. *Pseudomonas* sp. 67 НМ;
8. *Stenotrophomonas* sp. ОВА 2.13;
9. *Stenotrophomonas* sp. ОВА 2.1.

Объектами исследования в данной работе были штаммы *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 и ОВА 2.9, *Stenotrophomonas* sp. ОВА 2.13 и ОВА 2.1 выделенные из ризосферы растений остролодочника башкирского (*Oxytropis baschkirensis*), GOR 4.17 – козлятника восточного (*Galega orientalis*), СТА 3 – стальника колючего (*Ononis spinosa*). Последовательности ДНК данных бактерий были депонированы в базе данных GenBank под номерами *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 – ОК039351, ОВА 2.9 – ОК040062, GOR 4.17 – OM835809, СТА 3 – OM846603 соответственно.

Последовательности исследованных штаммов были зарегистрированы в базе данных GenBank под номерами: *Pseudomonas* sp. 17 НМ– ON892076, 65 НМ – ON892493, 67 НМ – ON892495 и *Stenotrophomonas* sp. ОВА 2.13 зарегистрирована в базе данных GenBank под номером ОК039227.

## 2.2. Реактивы и материалы

- Бакто-триптон (Difco, США);  
Гексадецилтриметиламмоний бромид (HDTMA) (Sigma Aldrich, США);  
Глицерин (Serva, ФРГ);  
Дрожжевой экстракт (Difco, США);  
Кальций хлористый (Merck, ФРГ);  
Магний хлористый (Serva, ФРГ);  
Трис (гидроксиэтиламинометан) «тризма» или «Sigma 7-9» (Sigma, США);  
Хромазуrol S (Sigma Aldrich, США);  
ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислоты динатриевая соль) (Serva, ФРГ);  
Глюкоза  $C_6H_{12}O_6$  («Шосткинский завод химреактивов» ГОСТ 6038-79);  
 $MnSO_4$  (Уфа, ЗАО «Унихим» ГОСТ 453-77);  
 $NaHPO_4$  (Москва, «ОАО Реатекс» ГОСТ 4172-76);  
 $H_3BO_3$  (Уфа, ООО «ТК Реахим» ГОСТ 9656-75);  
 $MgSO_4$  (ОАО «Химический завод им. Л. Я. Карпова» ГОСТ 4523-77);  
 $K_2HPO_4$  (Санкт - Петербург, ООО «Альфа-Хим плюс» ГОСТ 2493-75);  
 $(NH_4)_2SO_4$  (Санкт - Петербург, ООО «НПФ Невский химик» ГОСТ 3769-78);  
 $NaCl$  (Уфа, ЗАО «Унихим»» ГОСТ 4233-77);  
 $CaCO_3$  (Москва, «ОАО Реатекс»» ГОСТ4530-76);

## 2.3. Составы использованных стандартных сред

Таблица 4 – Состав сред

питательная среда LB (жидкая), %	бактотриптон – 1, дрожжевой экстракт – 0.5, NaCl – 0.5
питательная среда	бактотриптон – 1, дрожжевой экстракт – 0.5, NaCl – 0.5, агар –1,5

LB (твердая), %	
Среда Муромцева, г	Глюкоза – 1 г, аспарагин – 0,1, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – 0,02, MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O – 0,04, дрожжевой автолизат – 0,05, агар – 1,7, ТКФ – 1
Среда с CAS-реактивом (синий агар)	100 мл среды 6,5 г хромазуrola S растворяли в 5 мл воды и смешивали с 1 мл раствора, содержащего 1мМ FeCl <sub>3</sub> и 10мМ HCl. После этого к раствору хромазуrola добавляли 4 мл раствора, содержащего 7,3 мг HDTMA

## 2.4. Выделение ризосферных штаммов почвенных бактерий

### 2.4.1. Выделение чистых культур ризобактерий

При выделении культур клубеньковых бактерий из клубеньков стандартным методом, основанным на растирании клубенька в дистиллированной воде после стерилизации ее поверхности и пересева получившейся суспензионной жидкости на твердую питательную среду (Vincent, 1970) часто приходится сталкиваться с контаминацией вследствие неполной стерилизации поверхности клубеньков. Этого можно избежать в случае минимализации контакта с поверхностью клубенька при посеве его содержимого. Поэтому поверхность клубеньков стерилизовали в растворе гипохлорита натрия. Затем клубеньки многократно отмывали стерильной водой, после чего дополнительно стерилизовали 70% спиртом.

Стерильными иглами от одноразовых шприцев для инъекций снимали кожицу с дистальной части клубенька. Затем другой стерильной иглой делали соскоб инфекционной зоны клубенька, где сконцентрированы недифференцированные бактериальные клетки и высевали на твердую питательную среду. Инкубировали при 28°C в термостате.

### **2.4.2. Выделение и очистка ДНК бактерий**

Для выделения высокомолекулярной бактериальной ДНК ризобактерий использовали метод Грэхэма (Graham, 1978) с некоторыми модификациями. Культуры бактерий выращивали в колбах Эрленмейера объемом 250 мл в 100 мл питательного бульона ТУ при постоянном встряхивании для обеспечения достаточной аэрации при 28°C в течение ночи. Клетки осаждали центрифугированием в течение 10 мин при 4000g, 4°C, суспендировали в 10 мл буфера следующего состава: 100 мМ трис-НСl, рН 8,5, 20 мМ этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), 15%-ная сахароза и 5 мг/мл лизоцима. После инкубации в течение 15 мин при 0°C, добавляли 10 мл лизирующего раствора (2%-ный додецилсульфат натрия) и 10 мг/мл протеиназы К) и инкубировали в течение 2 часов при 55°C. К полученному раствору добавляли равный объем смеси 80%-ного свежеперегнанного фенола (доведенного до рН8,0 с помощью трис-НСl, рН8,0), хлороформа и изоамилового спирта, взятых в соотношении 25:24:1, и проводили депотеинизацию и очистку ДНК как описано выше для ДНК растений.

Для рутинных ПЦР анализов использовали также быстрый метод выделения ДНК из бактерий лизированием клеток в 1% TritonX100 и 1% суспензии Chelex100 (Баймиев и др., 2011). Для этого в 1.5 мл пробирки со 100 мкл 1% TritonX100 и 1% суспензии Chelex100 помещали небольшое количество бактериальной массы и после суспензирования инкубировали при температуре 95°C 10 мин. Клеточный дебрис осаждали центрифугированием при 12000g в течение 3 мин. Надосадочную жидкость брали в качестве матрицы для ПЦР.

### **2.5. Идентификация, выделенных штаммов почвенных бактерий**

Для идентификации выделенных бактерий был амплифицирован ген 16S рРНК с использованием универсальных праймеров fD1 5'-CCCGGGATCCAAGCTTAAGGAGGTGATCCAGCC-3' и rD1 5'-

CCGAATTCGTCGACAACAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' (Баймиев и др., 2019). Для идентификации бактерий рода *Pseudomonas* амплификацию проводили с помощью праймеров PsEG30F5'-ATYGAAATCGCCAARCG-3' и PsEG790R5'-CGGTTGATKTCCTTGA-3' (Mulet et al., 2009; Чубукова и др., 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Компьютерный анализ фрагментов последовательностей ДНК проводили с использованием метода множественного выравнивания Clustal W в программе Megalign Lasergene (DNASTAR, США).

## **2.6. Приготовление селективных питательных сред и посев бактерий**

**Правила приготовления селективных сред.** Для приготовления селективных сред была подготовка необходимых реагентов и оборудования. После того как все составляющие среды и инструменты были чисты и готовы к использованию были измерены точные пропорции всех компонентов для приготовления среды в соответствии с рецептом. Далее производили диспенсирование и перемешивание компонентов среды, для обеспечения равномерного распределения всех ингредиентов. Необходимо было контролировать pH и стерилизацию сред. После приготовления хранили среды в оптимальной температуре и стерильных условиях для избежания загрязнения.

**Режимы автоклавирования.** Для автоклавирования селективных сред использовались следующие режимы:

Первый режим при 121°C, 15-20 минут. Это стандартный режим для автоклавирования сред. Однако всегда необходимо учитывать особенности конкретной среды и рекомендации производителя.

Второй режим при 134°C, 3-4 минуты. Данный режим используется для более строгой стерилизации селективных сред, для обеспечения минимального количества контаминации.

**Стандартный метод посева бактерий на чашки Петри.** Для доведения ризобактерий до единичных колоний (чистая культура) были сделаны серийные разведения суспензии и высеяны на поверхность агаризованной среды, инкубировали чашки при оптимальной температуре 28°C. По прошествии времени наблюдали за ростом колоний бактерий и проводили необходимые исследования. Стандартный метод посева на чашках Петри дает возможность эффективно изучать характеристики бактерий и проводить дальнейшие работ по изоляции чистых культур.

## **2.7. Определение фосфатмобилизующей активности**

Определение способности штаммов к мобилизации неорганического фосфора проверяли на чашках Петри со средой Муромцева, содержащей нерастворимый фосфат. В качестве источника фосфора в среду добавляли  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  в концентрации 5 г/л (Егоршина и др., 2011). Суточную культуру бактерий наносили в виде капли на поверхность агаризованной среды, инкубировали при температуре 28°C.

## **2.8. Определение сидерофорной активности**

Для определения способности синтезировать сидерофоры была использована среда с CAS-реактивом (синий агар). Для приготовления 100 мл среды 6,5 г хромазуrola S растворяли в 5 мл воды и смешивали с 1 мл раствора, содержащего 1мМ  $\text{FeCl}_3$  и 10мМ  $\text{HCl}$ . После этого к раствору

хромазуrolа добавляли 4 мл раствора, содержащего 7,3 мг НDTMA. Полученную смесь автоклавировали и добавляли в стерильную среду LB. На полученном «синем агаре» выращивали бактерии в течение 2-5 дней. Изменение окраски на желтую, оранжевую или розовую выявляло выделение сидерофоров.

## 2.9. Рост ризобактерий на питательных средах с ТМ

Определение минимальной ингибирующей концентрации ТМ для каждого бактериального штамма определяли по методике. Для этого культуру клеток выращивали в течение 24 часов на чашках Петри с средой LB, дополненную различными концентрациями ТМ (таблица 5). Растворы ТМ готовили в дистиллированной воде и стерилизовали в автоклаве, а затем добавляли в чашки с питательной средой. После инкубации в термостате в течение 24 часов при 28 °С исследовали рост клеток. Концентрация металла, при котором наблюдался рост, и за пределами которого не было роста клеток, считался минимальной ингибирующей концентрацией для исследуемого штамма.

Таблица 5 – Условия роста ризобактерий на ТМ

Условия для анализа влияния ТМ на ризобактерии	Количество мкл на 10 мл питательной среды
1 мМ NiCl <sub>2</sub>	100*
3 мМ NiCl <sub>2</sub>	300
5 мМ NiCl <sub>2</sub>	500
1 мМ Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	100
3 мМ Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	300
5 мМ Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	500
8 мМ Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	800

\* сток ТМ – 100мМ

## 2.10. Определение ростовых параметров растений гороха (*Pisum sativum* L.) при ингибирующем действии ТМ

В экспериментах по оценке влияния штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на рост и развитие семян гороха использовали сорт Кельведонское чудо. Семена стерилизовали в течение 2 мин в 70 % спирте и затем 15 минут в 15 % растворе гипохлорита натрия с добавлением нескольких капель Tween-20. Далее семена обработали штаммами ризобактерий и проращивали на фильтровальной бумаге в стерильной воде (контроль) и в различных концентрациях ТМ (таблица 6).

Таблица 6 – Условия роста семян гороха на среде с ТМ

Условия для анализа влияния ТМ на семена гороха + ризобактерии	Количество мкл на 50 мл питательной среды
0,5 мМ NiCl <sub>2</sub>	250
1 мМ NiCl <sub>2</sub>	500
0,1 мМ Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	50
0,5 мМ Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	250
1 мМ Pb (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	500

\* сток ТМ – 100мМ

Для инокуляции суспензию бактерий разбавляли до 10<sup>7</sup> КОЕ/мл стерильной жидкой средой LB. Все морфометрические измерения проводили через 7 дней культивирования семян растений с бактериями. Для определения ростостимулирующего эффекта ризобактерий 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.

## 2.11. Статистический анализ

На графиках и в таблицах представлены средние арифметические значения из  $n$ -числа повторностей (где  $n \geq 10$ ) и их стандартные отклонения. Для сравнения независимых выборок, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали параметрический критерий Стьюдента, значения  $t$ -критерия находили для 95 % уровня значимости.

Данные в таблицах и на диаграммах представляют средние арифметические величины и стандартные ошибки, количество повторений указано для каждого случая отдельно.

Результаты обработаны с использованием стандартных пакетов программы Microsoft Excel 2010.

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1. Идентификация исследуемых ризосферных штаммов бактерий

Был проведен сравнительный анализ полученных нуклеотидных последовательностей фрагментов генов 16S рРНК с уже известными аналогичными структурами из базы данных GenBank. Установлено, что изучаемые микроорганизмы относятся к роду *Pseudomonas* и *Stenotrophomonas*.

Показано, что штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 входит в отдельный кластер с типовым штаммом *P. fluorescens* IAM 12022 T, сходство с которым по гену 16S рРНК составило 99.7 %. Другие анализируемые штаммы вошли в общий кластер, в котором штамм *Pseudomonas* sp. GOR 4.17 показал на 16S рРНК-дендрограмме наибольший уровень сходства с видом *P. koreensis* LMG 21318T (99.2%), а штаммы *Pseudomonas* sp. ОВА 2.9 и СТА 3 образовали отдельную ветвь с близкородственным к виду *P. koreensis* типовым штаммом *P. jessenii* CIP 105274T (97.9 и 98.9% соответственно) (рисунок 1).

На древе сходства генов 16S рРНК штамм *Pseudomonas* sp. 17 НМ показал очень высокий уровень гомологии с типовыми штаммами *P. capeferrum* WCS358T и *P. putida* ATCC 12633T (99.4% и 99.6% , соответственно). Таким образом, на основании полученных данных штамм *Pseudomonas* sp. 17 НМ можно идентифицировать как *P. capeferrum*. Штамм *Pseudomonas* sp. 65 НМ на 16S рРНК-дендрограмме оказался наиболее близок к типовому штамму *P. silesiensis* A3T (99.7), а *Pseudomonas* sp. 67 НМ к типовому штамму *P. umsongensis* LMG 21317T (98.6%) (рисунок 2).

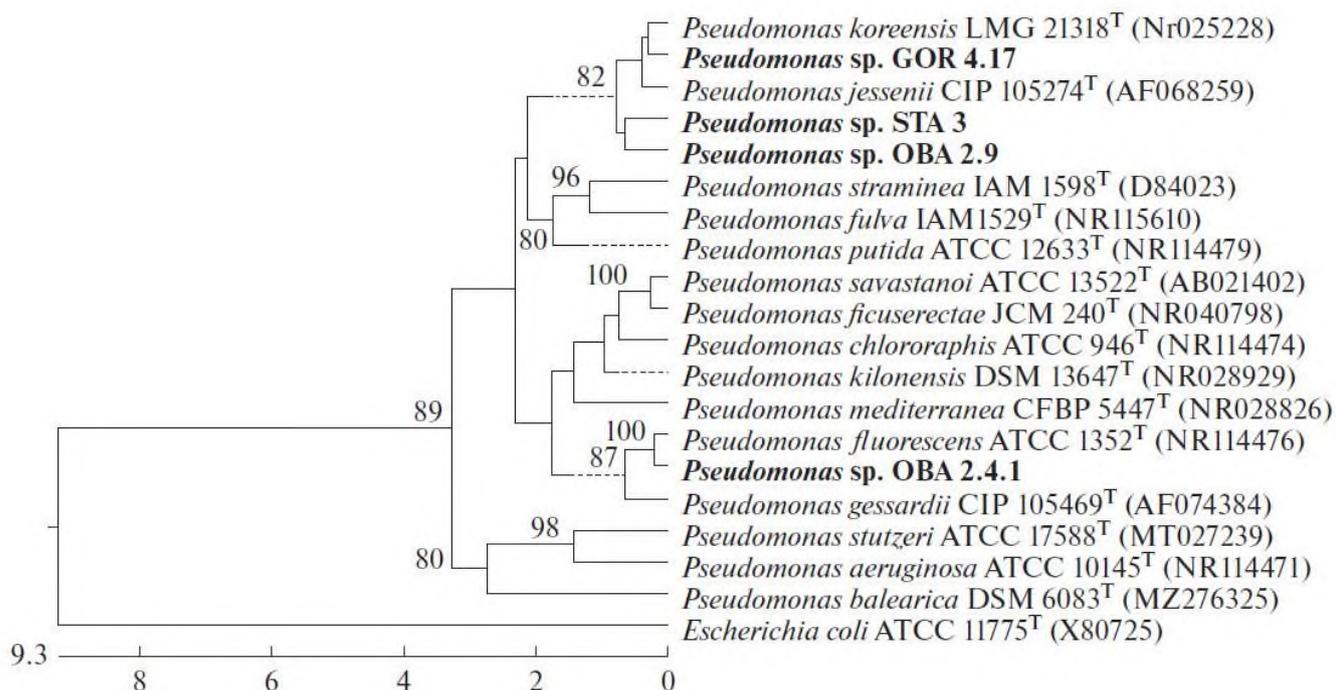


Рисунок 1. Филогенетическое древо бактерий, построенное на основании сравнительного анализа последовательностей гена 16S рРНК.

Цифрами показана статистическая достоверность порядка ветвления, определенная с помощью “bootstrap”-анализа (показаны величины показателя “bootstrap”-анализа от 80%). На горизонтальной оси приведен вес данного выравнивания, выраженный в количестве замен нуклеотидов ( $\times 100$ ). В качестве внешней группы использована нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК *E. coli* ATCC 11775T

В результате сравнительного анализа полученной нуклеотидной последовательности было построено филогенетическое древо, в котором показано, что остальные исследуемые штаммы относятся к роду *Stenotrophomonas*. На древе сходства генов 16S рРНК один штамм образует отдельную ветвь с типовым штаммом *S. rhizophila* JCM 13333T, уровень гомологии составил 99.9% (рисунок 3).

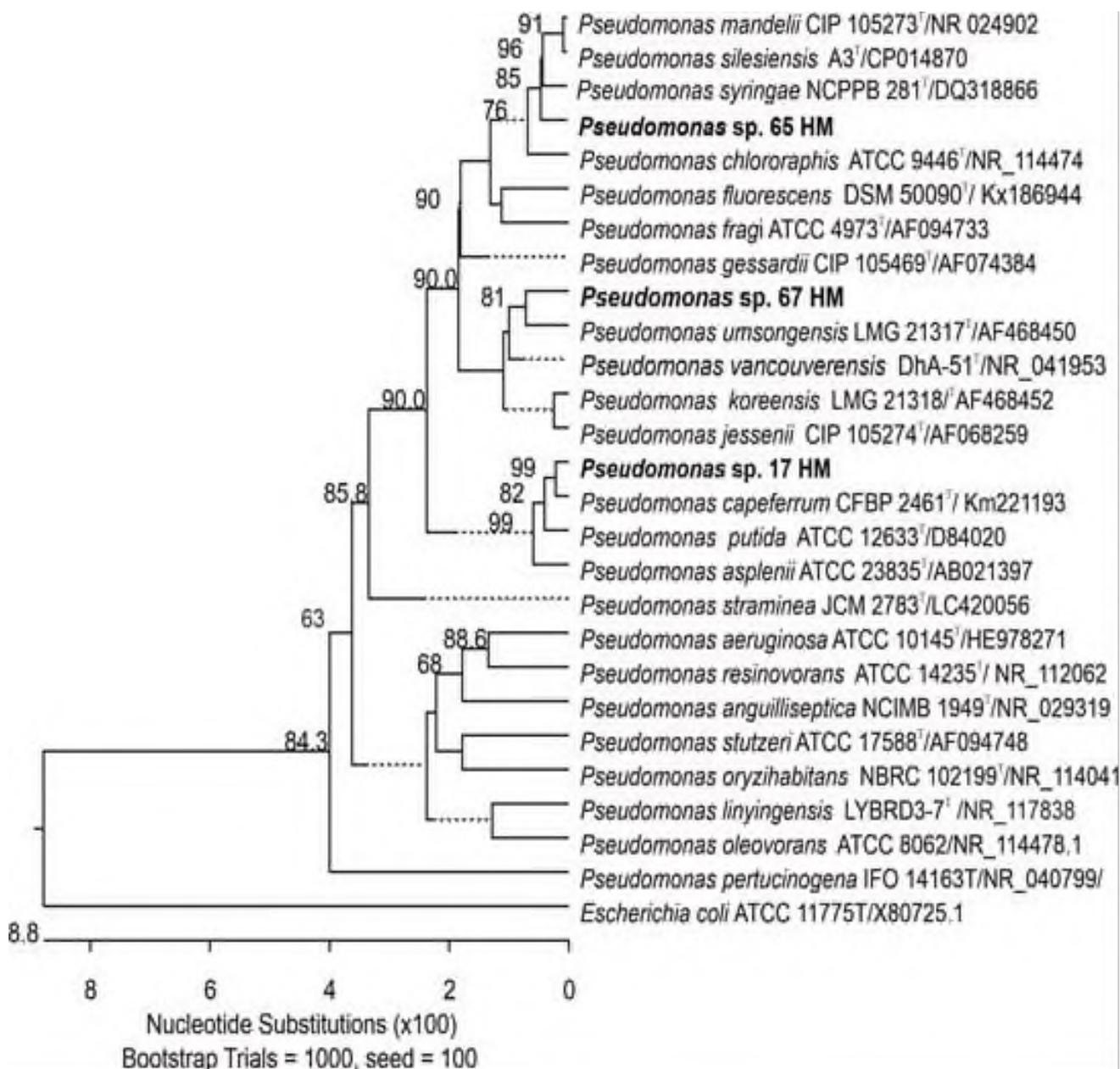


Рисунок 2. Филогенетическое древо бактерий, построенное на основании сравнительного анализа последовательностей гена 16S рНК. Цифрами показана статистическая достоверность порядка ветвления, определенная с помощью “bootstrap”-анализа (показаны величины показателя “bootstrap”-анализа от 60%). На горизонтальной оси приведен вес данного выравнивания, выраженный в количестве замен нуклеотидов ( $\times 100$ ). В качестве внешней группы использована нуклеотидная последовательность гена 16S рНК *E.coli* ATCC 11775T.

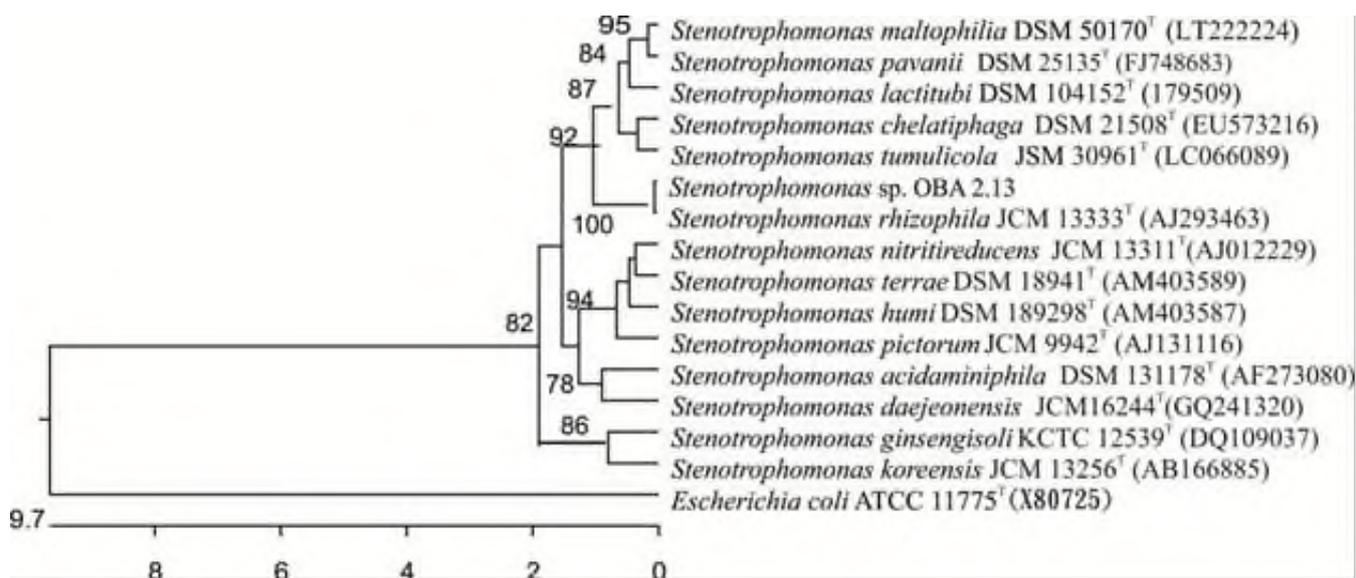


Рисунок 3. Филогенетическое древо штаммов *Stenotrophomonas* sp., построенное на основании сравнительного анализа последовательностей гена 16S рРНК. Цифры показывают статистическую достоверность порядка ветвления, определенная с помощью «bootstrap»-анализа. В качестве внешней группы использована 16S рРНК *E. coli* ATCC 11775T.

Все исследуемые штаммы были взяты из коллекции ризосферных микроорганизмов «Симбионт» ИБГ УФИЦ РАН (г. Уфа).

## 3.2. Исследование свойств ризосферных бактерий

### 3.2.1. Биологические свойства ризосферных штаммов

Защитные и ростостимулирующие действия достигаются ризобактериями за счет продукции целого ряда активных соединений, стимулирующих рост растений и повышающих их конкурентоспособность, например, фитогормонов и сидерофоров.

Мобилизация фосфатов помогает растениям усваивать фосфор, фосфат часто является лимитирующим фактором роста растений, поскольку он присутствует в почве или в ризосфере в нерастворимой форме, которая не может быть использована растениями. Ризосферные бактерии способны

солюбилизировать фосфор в доступную для растений форму, секретируя фосфатазы и фитазы, которые мобилизуют фосфаты из органических соединений, поэтому это свойство имеет большое значение для PGPR (Chandra et al., 2018; da Silva Faccioli et al., 2022). Сидерофоры способны к поглощению железа из окружающей среды посредством хелатирования. Способность продуцировать различные виды сидерофоров широко распространена среди микроорганизмов, способствующих росту растений. Помимо положительного влияния на рост растений за счет увеличения доступности железа для растения, сидерофоры также могут ингибировать рост различных фитопатогенов за счет конкуренции за железо (Karungi et al 2010., Saranraj et al., 2022).

С помощью качественных реакций была обнаружена сидерофорная активность штаммов *Pseudomonas* sp.: ОВА 2.4.1, ОВА 2.9, GOR 4.17, 17 НМ 65 НМ.

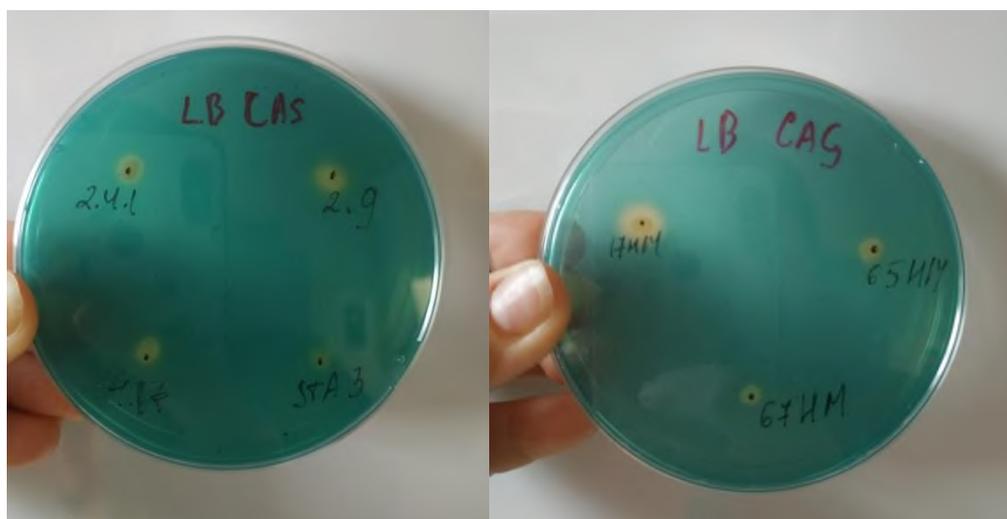


Рисунок 4. Определение сидерофорной активностей штаммов *Pseudomonas* sp.

Обнаружено изменение цвета среды вокруг колоний штаммов *Stenotrophomonas* sp. ОВА 2.1 и ОВА 2.13, что указывало на его способность синтезировать сидерофоры (рисунок. 5).



Рисунок 5. Определение сидерофорной активностей штаммов *Stenotrophomonas* sp.

Также с помощью качественных реакций у некоторых штаммов было обнаружено образование прозрачной зоны вокруг колоний *Pseudomonas* sp. (OBA 2.4.1, OBA 2.9, GOR 4.17, 17 НМ, 65 НМ) и *Stenotrophomonas* sp. OBA 2.1 и OBA 2.13 на среде Муромцева, что указывало на его способность растворять органический фосфор (рисунок 6 и 7).

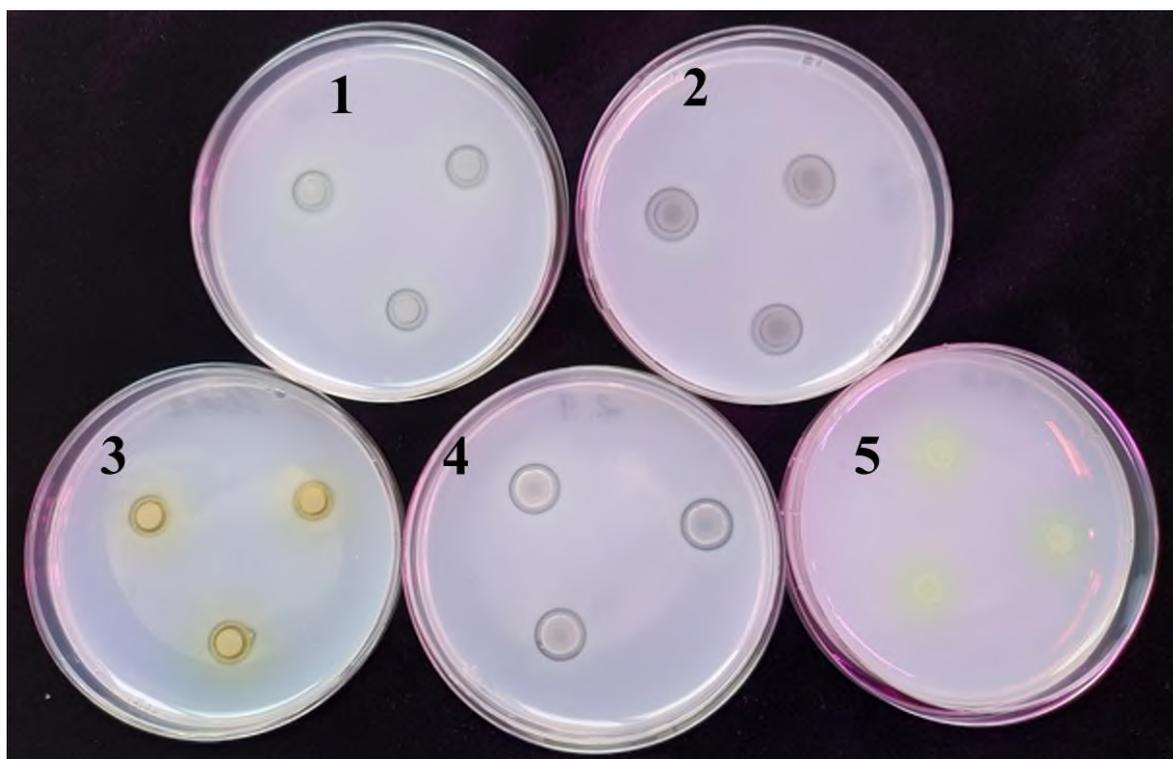


Рисунок 6. Штаммы *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 (1), OBA 2.9 (2), GOR 4.17 (3), 17 НМ (4), 65 НМ (5) на среде Муромцева



Рисунок 7. Определение фосфатмобилизующей активностей штаммов *Stenotrophomonas* sp. OBA 2.1 (а) и OBA 2.13 (б)

Таким образом, большинство исследуемых штаммов имеют положительные сидерофорную и фосфатмобилизующую активности.

### 3.2.2. Анализ роста ризосферных штаммов в присутствии ТМ

#### 3.2.2.1 Устойчивость штаммов *Pseudomonas* sp. к стрессовым условиям

Микроорганизмы могут по-разному переносить токсичность металлов и ксенобиотиков. Устойчивые к воздействию ТМ штаммы бактерий, обладающие ростостимулирующими действиями, имеют особую ценность. В рамках нашего исследования был проверен рост штаммов псевдомонад на различных ТМ (рисунок 8).



Рисунок 8. Рост штаммов *Pseudomonas* sp. на различных концентрациях  $\text{NiCl}_2$

В результате был показан рост самого устойчивого штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 на питательной среде в присутствии  $\text{NiCl}_2$ . При этом выявлено, что он способен активно расти на средах с добавлением  $\text{NiCl}_2$  до 3 мМ, при 5 мМ роста бактерий не было (рисунок 9). При посеве штамма

на различные концентрации  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  было выявлено, что он способен расти на питательной среде с добавлением  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  до 3 мМ, при 5 мМ было заметно значительное угнетение роста бактерий, а при 8 мМ их роста уже практически не наблюдалось.

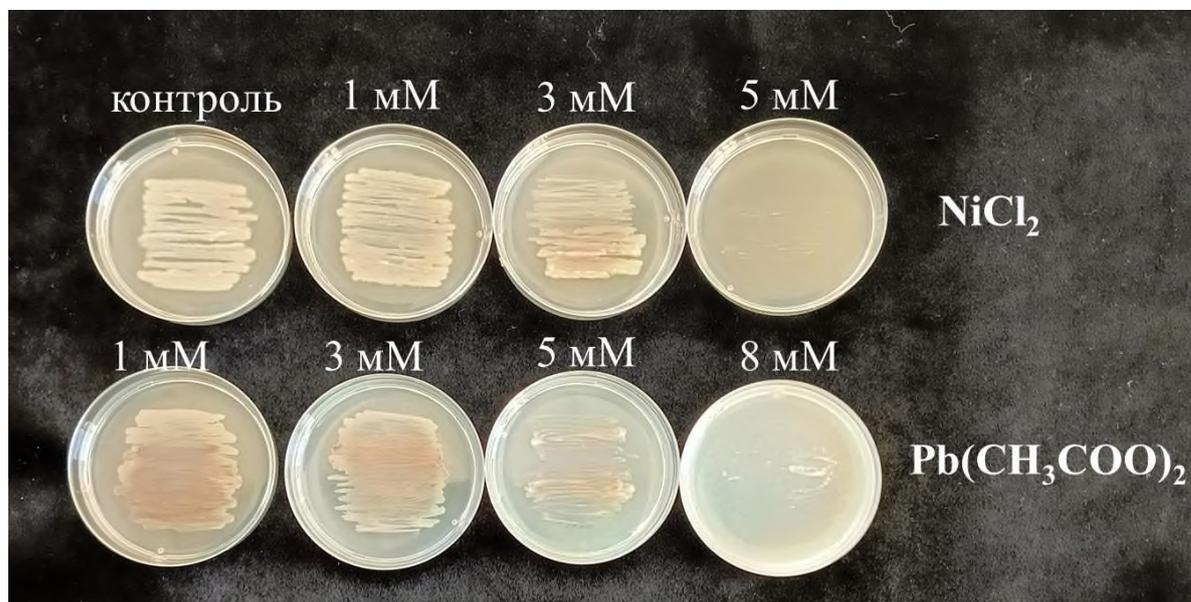


Рисунок 9. Рост штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на различных концентрациях  $\text{NiCl}_2$  и  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

Результаты показывают достаточно высокую устойчивость исследуемого штамма к токсическому действию ТМ. Среди ТМ наибольшую токсичность при меньшей концентрации показал никель.

Бактерии могут деградировать ТМ из окружающей среды. Существует большое количество статей, где описываются устойчивые к свинцу, никелю и другим ТМ штаммы *Pseudomonas* sp.

В целом, наиболее высокая резистентность к большинству исследованных ТМ была выявлена у штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1, поэтому дальнейшие исследования на растениях было решено провести именно с данным штаммом. Наименее устойчивым оказался штамм *Pseudomonas* sp. 17 НМ, его рост ингибировался уже при добавлении 3 мМ  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  (рисунок 10).

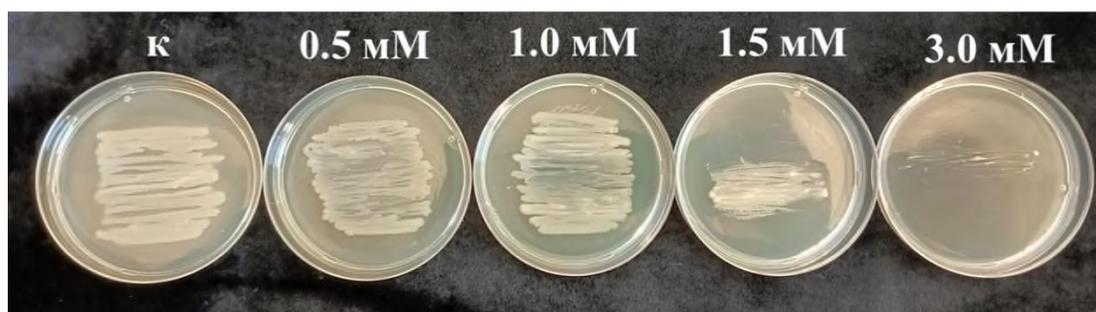


Рисунок 10. Рост штамма *Pseudomonas* sp. 17 НМ на различных концентрациях  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$

### 3.2.2.1 Устойчивость штаммов *Stenotrophomonas* sp. к стрессовым условиям

Для определения минимальной ингибирующей концентрации штаммов *Stenotrophomonas* sp. на  $\text{NiCl}_2$  были построены кривые роста штаммов в присутствии разных концентраций никеля. При концентрации  $\text{NiCl}_2$  в среде до 0,3 мМ бактериальные штаммы показывали устойчивость к никелю, тогда как при концентрации 0,5 и больше рост штаммов полностью подавлялся (рисунок 11Б). Также был рассмотрен рост исследуемого штамма в присутствии 0,25 мМ  $\text{NiCl}_2$  в различные интервалы времени. Показано, что присутствие тяжелого металла в среде сильно угнетало рост бактерий, хотя данный штамм показывал устойчивость до 0,3 мМ (рисунок 11А).

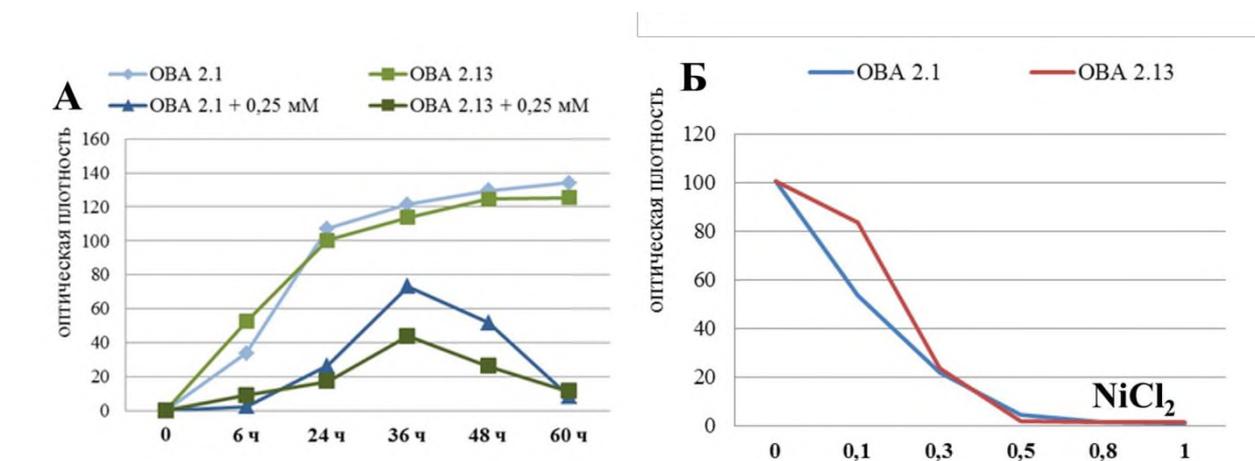


Рисунок 11. Рост штаммов *Stenotrophomonas* sp. при 0,25 мМ  $\text{NiCl}_2$  в течение 2,5 суток (А) и на разных концентрациях  $\text{NiCl}_2$  через 24 часа роста на жидкой среде (Б)

Высокую устойчивость к ТМ показывают те бактериальные штаммы, которые изначально были выделены из источников с высоким загрязнением. Например, бактериальный штамм *S. maltophilia* SY-2, выделенный из загрязненных кадмием почв в горнодобывающем районе, показывал высокую устойчивость к кадмию до 1,0 мМ (O'Callaghan et al., 2022). Выделенные четыре штамма *Stenotrophomonas* sp. имели хорошую устойчивость к кадмию, а также они были способны иммобилизовывать  $Cd^{2+}$  в почве (Shahwar et al., 2023).

На рисунке 12 показан рост штаммов *Stenotrophomonas* sp. на среде с добавлением  $NiCl_2$  до 1.5 мМ. Как видно на рисунке *Stenotrophomonas* sp. имеют очень низкую толерантность к токсическому влиянию никеля в среде.



Рисунок 12. Рост некоторых штаммов *Pseudomonas* sp. и *Stenotrophomonas* sp. на среде с добавлением  $NiCl_2$  до 1.5 мМ

### 3.2.3. Анализ влияния *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на рост растений гороха в присутствии ТМ

Для анализа влияния штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на рост и развитие растений гороха, была проведена обработка семян и измерение длины корней проростков гороха и при других стрессовых воздействиях. Изначально обработка семян растений гороха показала увеличение длины корней на 32,3 % на сорте памяти Попова. Присутствие  $NiCl_2$  оказало негативное влияние на рост растений. Показано уменьшение длины корней

проростков в присутствии 1 и 2 мМ NiCl<sub>2</sub> на 62,7 и 67,6 %, соответственно, относительно контроля, а у инокулированных псевдомонадами растений длина корней уменьшалась на 49,9 и 54,9 %, соответственно, относительно контроля (рисунок 13 и 14). То есть штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 сохранил свои ростостимулирующие свойства даже при токсическом влиянии ТМ на семена гороха, что может свидетельствовать о повышении устойчивости растений к Ni-стрессу на начальном этапе своего роста.

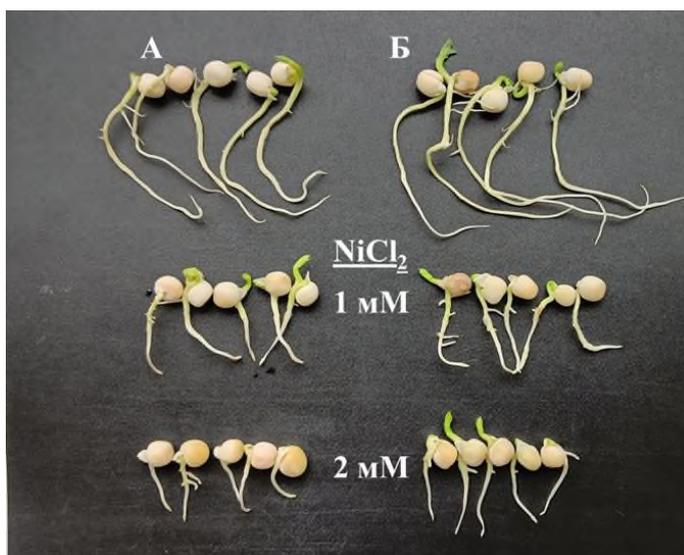


Рисунок 13. Рост растений гороха в присутствии NiCl<sub>2</sub> 1 и 2 мМ без обработки (А) и с обработкой бактериями (Б)

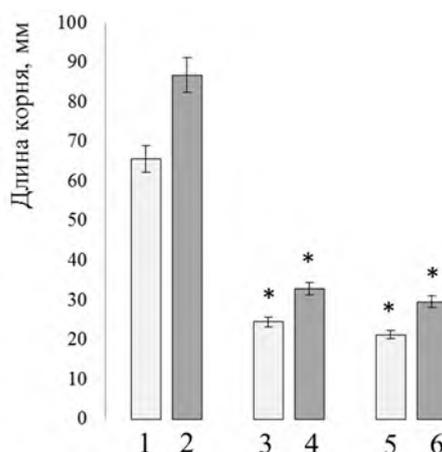


Рисунок 14. График показывающий длину корней растений гороха при стрессовом воздействии NiCl<sub>2</sub>: 1 – необработанные семена; 2 – обработанные псевдомонадами семена; 3 – необработанные семена в присутствии 1 мМ NiCl<sub>2</sub>; 4 – обработанные псевдомонадами семена в присутствии 1 мМ NiCl<sub>2</sub>; 5 – необработанные семена в присутствии 1 мМ NiCl<sub>2</sub>; 6 – обработанные псевдомонадами семена в присутствии 1 мМ NiCl<sub>2</sub>.

– необработанные семена в присутствии 2 мМ NiCl<sub>2</sub>; 6 – обработанные псевдомонадами семена в присутствии 2 мМ NiCl<sub>2</sub>.

\* Статистически значимые отличия от контроля (p < 0,05).

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 его токсическое действие на растения яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Бактериальные штаммы рода *Pseudomonas* увеличивали биомассу растений нута (*Cicer arietinum* L.) в вегетационном опыте при концентрации никеля до 2 мМ. Применение *Pseudomonas* sp. SRI2 значительно увеличило биомассу горчицы сарептской (*Brassica juncea* L.) при выращивании на загрязненных никелем почвах (Simranjit et al., 2019).

Анализ влияния штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 на рост и развитие растений гороха при стрессовом воздействии Pb(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub> показал, что в присутствии 1 и 2 мМ этого ТМ длина корней проростков уменьшалась на 53,5 и 60,5 %, соответственно, относительно необработанных контрольных растений, а у инокулированных псевдомонадами растений длина корней уменьшалась на 13,9 и 36,5 %, соответственно, относительно контроля (рисунок 15 и 16).

Полученные данные показали, что инокуляция псевдомонадами семян гороха оказывала положительное влияние на длину корней проростков, что может свидетельствовать о повышении устойчивости к Pb – стрессу на начальном этапе роста растений.

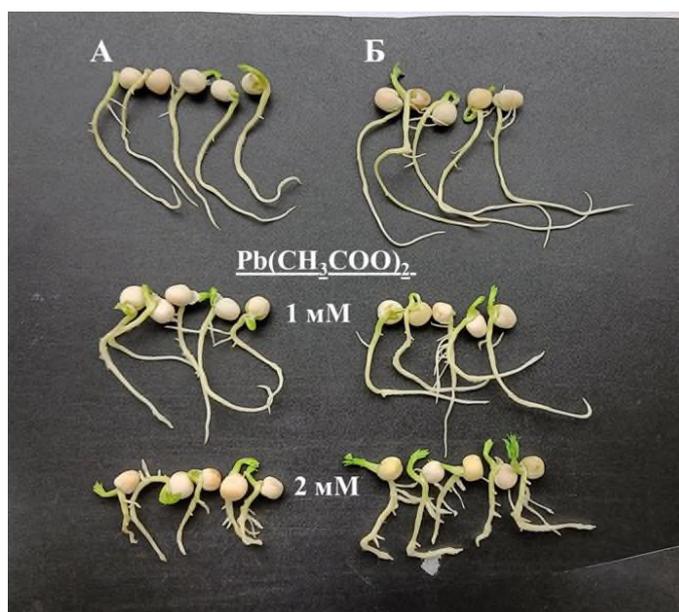


Рисунок 15. Рост растений гороха в присутствии  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  1 и 2 мМ без обработки (А) и с обработкой бактериями (Б)

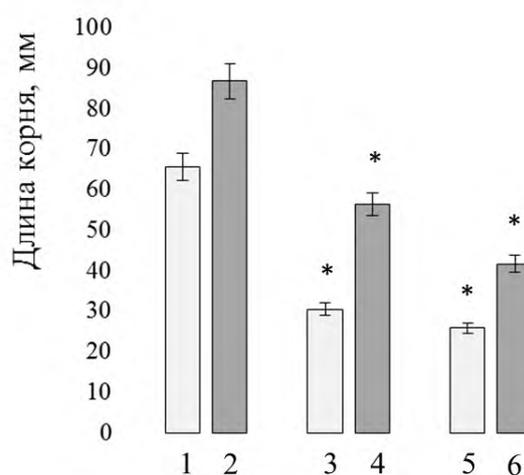


Рисунок 16. Растения гороха при стрессовом воздействии  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ : 1 – необработанные семена; 2 – обработанные штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 семена; 3 – необработанные семена в присутствии 1 мМ  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ; 4 – обработанные псевдомонадами семена 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 ( $p < 0,05$ ).

Установлено, что инокуляция ростостимулирующим штаммом *P. otitidis* SMHMP23, способным мобилизовать Ni и Pb в почве, значительно увеличивала рост *B. juncea* (Fu et al., 2023). Ростостимулирующий штамм *P. 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 (Meena et al., 2017).

Таким образом, устойчивость растений к токсическому действию ТМ может 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 имеет важное значение в снижении токсичности ТМ для растений и окружающей среды.

Бактерии имеют ряд преимуществ перед традиционными методами восстановления окружающей среды, включая улучшение качества почвы, удаление токсичных соединений, ускорение развития растений и удаление ТМ из почвы. Полученные в данном исследовании результаты подтверждают способности штамма как РГРВ, показывая, что *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 способствует улучшению роста и развития 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 очистки сельскохозяйственных загрязненных почв.

### **3.2.4. Анализ влияния *Stenotrophomonas* sp. на рост растений гороха в присутствии никеля**

Штаммы *Stenotrophomonas* sp. показали низкую устойчивость к никелю. Для экспериментов на растениях была взята только одна концентрация NiCl<sub>2</sub> – 0.25 мМ. Обработка семян гороха штаммами ОВА 2.1 и

2.13 улучшала рост корней в отсутствии никеля. При концентрации  $\text{NiCl}_2$  0,25 мМ рост корней растений, обработанных *Stenotrophomonas* sp., замедлялся, но все же был лучше, чем у семян, обработанных водой. При концентрации  $\text{NiCl}_2$  0,5 мМ рост корней всех растений сильно подавлялся.



Рисунок 17. Контрольные (1) и инокулированные штаммами *Stenotrophomonas* spp. ОВА 2.1 (2) и ОВА 2.13 (3) растения гороха (А); рост растений гороха, обработанных штаммом ОВА 2.13 (1), в присутствии 0,25 мМ  $\text{NiCl}_2$  (2) и (3) контрольных неинокулированных растений (Б)

Присутствие  $\text{NiCl}_2$  отрицательно влияло на всхожесть и рост корней семян растений гороха. Всхожесть семян, обработанных штаммом ОВА 2.13, была выше, чем у семян, росших на воде или в присутствии 0,25 мМ  $\text{NiCl}_2$  ( $P > 0,05$ ). Обработанные водой проростки из семян гороха имели более короткую длину корней, чем семена, обработанные штаммом ОВА 2.13. Инокуляция бактериями усиливала рост корней проростков на 30,9 % в отсутствии никеля. При концентрации  $\text{NiCl}_2$  0,25 мМ рост корней растений, обработанных ОВА 2.13, замедлялся, но был лучше, чем у семян без обработки на 34,3 % (рисунок 18).

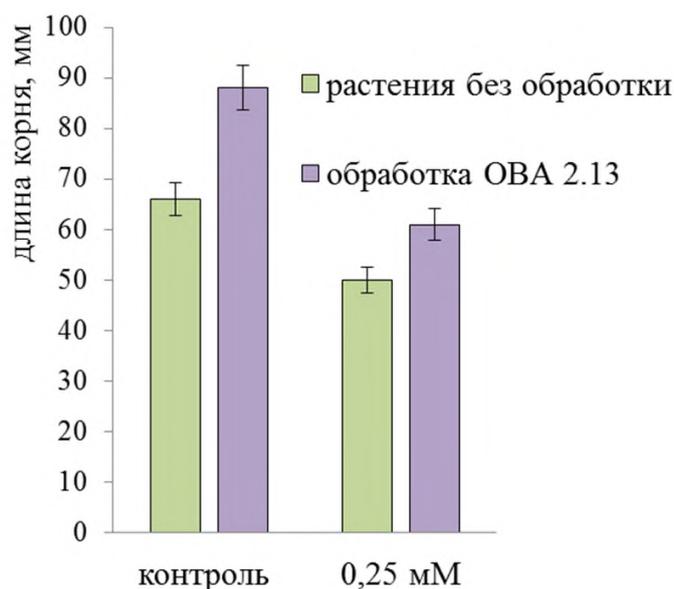


Рисунок 18. Длина корней растений гороха при стрессовом воздействии NiCl<sub>2</sub>

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

В литературных источниках описываются исследования, где обработанные ризосферным штаммом *S. maltophilia* SBP-9 семена растения пшеницы даже в условиях солевого стресса, показали увеличение длины побегов и корней, а также сбалансированное содержание хлорофилла по сравнению с контролем (Singh and Jha, 2017). При обработке штаммом *S. maltophilia* VJ01 улучшался урожай арахиса и содержание фотосинтетических пигментов и гормонов роста в условиях солевого стресса (Alexander, 2020). Штаммы *Stenotrophomonas* sp. были эффективны и при обработке растений сои и шпината в условиях солевого стресса (Nigam 2022). Также описывается штамм *S. maltophilia* SR1, способный использовать некоторые ароматические углеводороды, включая бензол, толуол и ксилол, в качестве единственного источника углерода и при этом продемонстрировал PGPR свойства на растениях (Bashandy, 2020). Такие же

ростостимулирующие качества показал устойчивый к мышьяку штамм *S. maltophilia* S255 (Huda, 2022).

Исследуемый штамм *Stenotrophomonas* sp. ОВА 2.13 показал свои положительные PGPR свойства, проявляющиеся в улучшении роста корней даже в присутствии никелевого стресса. Защитные свойства бактерий проявляются посредством разных механизмов. Возможным механизмом защиты растений от ТМ может быть механизм перекрестной реактивности между продукцией экзополисахаридов и сидерофоров у устойчивых к металлам *Stenotrophomonas* sp., а также улучшением питания растений за счет растворения фосфатов и т.д.

Таким образом, перспективными представляются исследования в области применения эффективных штаммов *Pseudomonas* sp. и *Stenotrophomonas* sp. для защиты и улучшения роста сельскохозяйственных культур. Необходимо дальнейшее изучение возможностей бактерий данных родов в стимулировании роста растений в различных, в том числе и неблагоприятных для растений условиях среды. Кроме того, необходимо разработать молекулярно-генетические методы для идентификации и различия патогенных и непатогенных для человека штаммов, для дальнейшего изучения последних и оценки возможности их применения в сельском хозяйстве.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, устойчивость растений к токсическому действию ТМ может быть обусловлена более эффективным ростом корней обработанных растений за счет положительного действия веществ, выделяемых RGPB, и снижению концентраций и накопления ТМ в корневой системе растений. По-видимому, способность бактерий колонизировать поверхность корней имеет важное значение в снижении токсичности ТМ для растений и окружающей среды.

Полученные в данном исследовании результаты подтверждают способности штамма как RGPB, показывая, что *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 способствует улучшению роста и развития 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 очистки сельскохозяйственных загрязненных почв.

Исследуемый штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 был идентифицирован как *Pseudomonas* sp., была показана его фосфатмобилизующая и сидерофорная активности и способность к образованию биопленок. При выращивании семян гороха с обработкой псевдомонадами в присутствии При выращивании семян на концентрации  $\text{NiCl}_2$  0,5 мМ после обработки псевдомонадами длина проростков увеличилась на 24,6 %, при 1,5 мМ – на 25,7 % относительно контрольных неинокулированных семян. При выращивании семян на концентрации  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  0,1 мМ после обработки псевдомонадами длина проростков увеличилась на 6,6 %, при 0,5 мМ – на 21,4 %, при 1,5 мМ – на 59 % относительно контрольных неинокулированных семян.

Полученные результаты показывают, что штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 способствует улучшению роста и развития семян гороха *Pisum sativum* L. при стрессовом воздействии ТМ, что может быть использовано с

целью создания биопрепаратов комплексного воздействия, предназначенных как для защиты сельскохозяйственных растений от воздействия ТМ, так и для использования в биоремедиации.

Таким образом, микробные удобрения могут использоваться как эффективный метод повышения урожайности сельскохозяйственных культур. С одной стороны, они улучшают содержание питательных веществ, необходимых для роста и развития растений. С другой стороны, они экологически безопасны для почвы и защищают растения от стрессов окружающей среды. В последние годы биоудобрения превратились в экологичную и устойчивую стратегию развития, которая способствует устойчивости будущей сельскохозяйственной экосистемы. Кроме того, точное применение микробных удобрений должно включать учет взаимодействия между свойствами почвы, почвенной средой и растениями-хозяевами штаммов, чтобы обеспечить точное внесение биологических удобрений. Такой подход помогает минимизировать воздействие на сельскохозяйственную экосистему и повысить ее эффективность. В целом, микробные удобрения имеют широкий спектр применения и служат зеленой стратегией, способствующей устойчивому развитию сельского хозяйства.

## ВЫВОДЫ

1. Изучены биологические свойства 7 штаммов, относящиеся к роду *Pseudomonas* – ОВА 2.4.1, ОВА 2.9, GOR 4.17, STA 3, 17 НМ, 65 НМ и 67 НМ и 2 штаммов *Stenotrophomonas* sp. – ОВА 2.1 и ОВА 2.13. Выбран наиболее эффективный и перспективный ростостимулирующий штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 и *Stenotrophomonas* sp. ОВА 2.13.

2. Штаммы *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 и *Stenotrophomonas* sp. ОВА 2.13 показали положительные фосфатрастворяющую и сидерофорную активности.

3. Показана устойчивость штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 к  $\text{NiCl}_2$  до 3 мМ, к  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  до 3 мМ в питательной среде.

4. Штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 показал положительное влияние на рост семян растений гороха (*Pisum sativum* L.) в том числе при стрессовых воздействиях никеля и свинца.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баймиев Ан.Х., Акимова Е.С., Гуменко Р.С., Владимирова 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.
2. Баймиев Ан.Х., Ямиданов Р.С., Матниязов Р.Т., Благова Д.К., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Получение флуоресцентно меченных штаммов клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых для их детекции *in vivo* и *in vitro* // Мол. биология. 2011. Т. 45. С. 984–991.
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. Abraham-Juarez M.D., Espitia-Vazquez I., Guzman-Mendoza R., Olalde-Portugal V., Ruiz-Aguilar G.M.D., Garcia-Hernandez J.L., Herrera-Isidron L., Nunez-Palenius H.G. Development, Yield, and quality of melon fruit (*Cucumis melo* L.) inoculated with Mexican native strains of *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) *Agrociencia*. 2018. 52(1), 91-102.
5. Agarwal P., Vibhandik R., Agrahari R., Daverey A., Rani R. Role of Root Exudates on the Soil Microbial Diversity and Biogeochemistry of Heavy Metals. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2023. 1-21.
6. Ahluwalia O., Singh P.C., Bhatia R. A review on drought stress in plants: Implications, mitigation and the role of plant growth promoting rhizobacteria. *Resour. Environ. Sustain.* 2021. 5, 100032.
7. Ahmad A., Moin S.F., Liaqat I., Saleem S., Muhammad F., Mujahid T., Zafar U. Isolation, Solubilization of Inorganic Phosphate, and Production of Organic Acids by Individual and Co-inoculated Microorganisms. *Geomicrobiol. J.* 2023. 40(1), 111-121.

8. Aioub A.A.A., Elesawy A.E., Ammar E.E. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their role in plant-parasitic nematodes control: A fresh look at an old issue. *J. Plant Dis. Prot.* 2022. 129(6), 1305-1321.
9. Akbar A., Han B., Khan A.H., Feng C., Ullah A., Khan A.S., He L., Yang X. A transcriptomic study reveals salt stress alleviation in cotton plants upon salt tolerant PGPR inoculation. *Environ. Exp. Bot.* 2022. 200, 104928.
10. Akhtar N., Arshad I., Shakir M.A., Qureshi M.A., Sehrish J., Ali L. Co-inoculation with rhizobium and *Bacillus* sp. to improve the phosphorus availability and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) *J. Anim. Plant Sci. JAPS.* 2013. 190-197.
11. Alegbeleye O.O., Opeolu B.O., Jackson V.A. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Critical Review of Environmental Occurrence and Bioremediation. *Environ. Manag.* 2017. 60, 758-783.
12. Alexander A., Singh V. K., Mishra A. Halotolerant PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* BJ01 induces salt tolerance by modulating physiology and biochemical activities of *Arachis hypogaea*. *Front. Microbiol.* 2020. 11, 568289.
13. Ali B.; Hafeez A.; Ahmad S.; Javed M. A.; Sumaira; Afridi M. S.; Dawoud T. M.; Almaary K. S.; Muresan C. C.; Marc R. A.; et al. *Bacillus thuringiensis* PM25 ameliorates oxidative damage of salinity stress in maize via regulating growth, leaf pigments, antioxidant defense system, and stress responsive gene expression. *Front. Plant Sci.* 2022. 13, 921668.
14. Ali B.; Hafeez A.; Javed M. A.; Afridi M. S.; Abbasi H. A.; Qayyum A.; Batool T.; Ullah A.; Marc R. A.; Jaouni S. K. A.; et al. Role of endophytic bacteria in salinity stress amelioration by physiological and molecular mechanisms of defense: A comprehensive review. *S. Afr. J. Botany* 2022. 151 , 33–46.
15. An S. Q., Berg G. (2018). *Stenotrophomonas maltophilia*. *Trends Microbiol.* 2021. 34(3), 10-1128.

16. Asad S.A., Farooq M., Afzal A., West H. Integrated phytobial heavy metal remediation strategies for a sustainable clean environment—A review. *Chemosphere*. 2019. 30(6), 103664.
17. Baez-Rogelio A., Morales-García Y.E., Quintero-Hernández V., Muñoz-Rojas J. Next generation of microbial inoculants for agriculture and bioremediation. *Microb. Biotechnol.* 2016. 10(1), 19-21.
18. Bakker P. A.; Berendsen R. L.; Doornbos R. F.; Wittermans P. C.; Pieterse C. M. The rhizosphere revisited: root microbiomics. *Frontiers in plant science* 2013. 4, 165.
19. Bamdad H., Papari S., Lazarovits G., Berruti F. Soil amendments for sustainable agriculture: Microbial organic fertilizers. *Soil Use Manag.* 2021. 38(1), 94-120.
20. Banik A., Dash G.K., Swain P., Kumar U., Mukhopadhyay S.K., Dangar T.K. Application of rice (*Oryza sativa* L.) root endophytic diazotrophic *Azotobacter* sp. strain Avi2 (MCC 3432) can increase rice yield under green house and field condition. *Microbiol. Res.* 2019. 219, 56-65.
21. Bansal K., Kumar S., Kaur A., Singh A., Patil P. B. Deep phylogenomics reveals *Xylella* as a variant lineage of plant associated *Xanthomonas* and supports their taxonomic reunification along with *Stenotrophomonas* and *Pseudoxanthomonas*. *Genomics*. 2021. 113(6), 3989-4003.
22. Bashandy S.R., Abd-Alla M.H., Dawood M.F.A. Alleviation of the toxicity of oily wastewater to canola plants by the N<sub>2</sub>-fixing, aromatic hydrocarbon biodegrading bacterium *Stenotrophomonas maltophilia*-SR1 // *Appl. Soil Ecol.* 2020. 154, 103654.
23. Basu A., Prasad P., Das S.N., Kalam S., Sayyed R.Z., Reddy M.S., El Enshasy H. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects. *Sustainability*. 2021. 13(3), 1140.

24. Batista B.D., Singh B.K. Realities and hopes in the application of microbial tools in agriculture. *Microb. Biotechnol.* 2021. 14(4), 1258-1268.
25. Becze A., Vincze E.B., Varga H.M., Gyöngyvér M. Effect of plant growth-promoting spirulina on *Zea mays* development and growth of under heavy metal and salt stress condition. *Environ. Eng. Manag. J.* 2021. 20(4).
26. Bhanse P., Kumar M., Singh L., Awasthi M.K., Qureshi A. Role of plant growth-promoting rhizobacteria in boosting the phytoremediation of stressed soils: Opportunities, challenges, and prospects. *Chemosphere.* 2022. 303, 134954.
27. Bhat B.A., Tariq L., Nissar S., Islam S.T., Islam S.U., Mangral Z., Ilyas N., Sayyed R.Z., Muthusamy G., Kim W., et al. The role of plant-associated rhizobacteria in plant growth, biocontrol and abiotic stress management. *J. Appl. Microbiol.* 2022. 133(5), 2717-2741.
28. Bhat M.A., Kumar V., Bhat M.A., Wani I.A., Dar F.L., Farooq I., Bhatti F., Koser R., Rahman S., Jan A.T. Mechanistic Insights of the Interaction of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) With Plant Roots Toward Enhancing Plant Productivity by Alleviating Salinity Stress. *Front. Microbiol.* 2020. 11, 1952.
29. Borah P., Gogoi N., Asad S.A., Rabha A.J., Farooq M. An Insight into Plant Growth-Promoting Rhizobacteria-Mediated Mitigation of Stresses in Plant. *J. Plant Growth Regul.* 2023. 42(5), 3229-3256.
30. Bouremani N., Cherif-Silini H., Silini A., Bouket A.C., Luptakova L., Alenezi F.N., Baranov O., Belbahri L. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Rampart against the Adverse Effects of Drought Stress. *Water.* 2023. 15(3), 418.
31. Bresson J., Varoquaux F., Bontpart T., Touraine B., Vile D. The PGPR strain *Phyllobacterium brassicacearum* STM196 induces a reproductive delay and physiological changes that result in improved drought tolerance in *Arabidopsis*. *N. Phytol.* 2013. 200(2), 558-569.

32. Cao Y.-Y., NI H.-T., Li T., Lay K.-D., Liu D.-S., He X.-Y., Ou K., Tang X.-Y., Wang X.-B., Qiu L.-J. *Pseudomonas* sp. TK35-L enhances tobacco root development and growth by inducing HRGPnt3 expression in plant lateral root formation. *J. Integr. Agric.* 2020. 20(10), 7.
33. Chamkhi I., El Omari N., Balahbib A., El Menyiy N., Benali T., Ghoulam C. Is the rhizosphere a source of applicable multi-beneficial microorganisms for plant enhancement? *Saudi J. Biol. Sci.* 2022. 29(2), 1246-1259.
34. Chandra D.; Srivastava R.; Glick B. R.; Sharma A. K. Drought-tolerant *Pseudomonas* spp. improve the growth performance of finger millet (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.) under non-stressed and drought-stressed conditions. *Pedosphere* 2018. 28(2), 227-240.
35. Chandra D.; Srivastava R.; Glick B. R.; Sharma A. K. Drought-tolerant *Pseudomonas* spp. improve the growth performance of finger millet (*Eleusine coracana* (L.) Gaertn.) under non-stressed and drought-stressed conditions. *Pedosphere* 2018. 28(2), 227-240.
36. Chandran H., Meena M., Swapnil P. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as a Green Alternative for Sustainable Agriculture. *Sustainability.* 2021. 13(19), 10986.
37. Chebotar V.K., Chizhevskaya E.P., Vorobyov N.I., Bobkova V.V., Pomyaksheva L.V., Khomyakov Y.V., Konovalov S.N. The Quality and Productivity of Strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) Improved by the Inoculation of PGPR *Bacillus velezensis* BS89 in Field Experiments. *Agronomy.* 2022. 12 (11), 2600.
38. Chen L., Liu Y., Wu G., Zhang N., Shen Q., Zhang R. Beneficial Rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 Induces Plant Salt Tolerance through Spermidine Production. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2017. 30(5), 423-432.

39. Chojnacka K., Moustakas K., Witek-Krowiak A. Bio-based fertilizers: A practical approach towards circular economy. *Bioresour. Technol.* 2020. 295, 122223.
40. Ciccattelli A., Ferrol N., Rozpadek P., Castiglione S. Editorial: Effects of Plant-Microbiome Interactions on Phyto- and Bio-Remediation Capacity. *Front. Plant Sci.* 2019. 10, 459447.
41. Comeau D., Balthazar C., Novinscak A., Bouhamdani N., Joly D.L., Filion M. Interactions Between *Bacillus* Spp., *Pseudomonas* Spp. and *Cannabis sativa* Promote Plant Growth. *Front. Microbiol.* 2021. 12, 715758.
42. Cutiño-Jiménez A. M., Menck C. F. M., Cambas Y. T., Díaz-Pérez J. C. Protein signatures to identify the different genera within the Xanthomonadaceae family. *Braz. J. Microbiol.* 2020. 51(4), 1515-1526.
43. da Silva Faccioli Y. E.; da Silva G. O.; da Silva R. d. C. F. S.; Sarubbo L. A. Application of a biosurfactant from *Pseudomonas cepacia* CCT 6659 in bioremediation and metallic corrosion inhibition processes. *J. Biotechnol.* 2022. 351, 109-121.
44. Daniel A.I., Fadaka A.O., Gokul A., Bakare O.O., Aina O., Fisher S., Burt A.F., Mavumengwana V., Keyster M., Klein A. Biofertilizer: The Future of Food Security and Food Safety. *Microorganisms.* 2022. 10(6), 1220.
45. Ding M.J., Shang N.J., Huang Y., Liu L., Fan W., Peng L.J., Zhang Y., Zhou J.H., Zhou Z.F. Isolation of Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Selection of Microbial Organic Fertilizer Carriers. *Int. J. Agric. Biol.* 2019. 77-84.
46. Drew E.A., Denton M.D., Sadras V.O., Ballard R.A. Agronomic and environmental drivers of population size and symbiotic performance of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* in Mediterranean-type environments. *Crop Pasture Sci.* 2012. 63(5), 467-477.
47. Egamberdieva D., Wirth S., Bellingrath-Kimura S.D., Mishra J., Arora N.K. Salt-Tolerant Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Enhancing Crop Productivity of Saline Soils. *Front. Microbiol.* 2019. 10, 469278.

48. Ekin Z., Oguz F., Erman M., Ogun E. The effect of *Bacillus* sp. OSU-142 inoculation at various levels of nitrogen fertilization on growth, tuber distribution and yield of potato (*Solanum tuberosum* L.) *Afr. J. Biotechnol.* 2009. 8(18).
49. Ellermann M., Arthur J.C. Siderophore-mediated iron acquisition and modulation of host-bacterial interactions. *Free. Radic. Biol. Med.* 2017. 105, 68-78.
50. Fan C., Cui Y., Zhang Q., Yin N., Cai X., Yuan X., Senadheera S., Cho Y., Ok Y.S. A critical review of the interactions between rhizosphere and biochar during the remediation of metal(loid) contaminated soils. *Biochar.* 2023. 5(1), 87.
51. Feng L., Li Q., Zhou D., Jia M., Liu Z., Hou Z., Ren Q., Ji S., Sang S., Lu S., et al. *B. subtilis* CNBG-PGPR-1 induces methionine to regulate ethylene pathway and ROS scavenging for improving salt tolerance of tomato. *Plant J.* 2023. 117(1), 193-211.
52. Ferreira M.J., Silva H., Cunha A. Siderophore-Producing Rhizobacteria as a Promising Tool for Empowering Plants to Cope with Iron Limitation in Saline Soils: A Review. *Pedosphere.* 2019. 29(4), 409-420.
53. Figueredo E.F., da Cruz T.A., de Almeida J.R., Batista B.D., Marcon J., de Andrade P.A.M., Hayashibara C.A.d.A., Rosa M.S., Azevedo J.L., Quecine M.C. The key role of indole-3-acetic acid biosynthesis by *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9 in promoting maize growth revealed by the *ipdC* gene knockout mediated by the CRISPR-Cas9 system. *Microbiol. Res.* 2023. 266, 127218.
54. Fu C., Ma W., Qiang B., Jin X., Zhang Y., Wang M. Effect of Chemical Fertilizer with Compound Microbial Fertilizer on Soil Physical Properties and Soybean Yield. *Agronomy.* 2023. 3(10), 2488.
55. Gaba S.; Singh R. N.; Abrol S.; Yadav A. N.; Saxena A. K.; Kaushik R. Draft genome sequence of *Halolamina pelagica* CDK2 isolated from natural salterns Gupta V.; Buch A. *Pseudomonas aeruginosa* predominates as multifaceted

rhizospheric bacteria with combined abilities of P-solubilization and biocontrol. *J. Pure Appl. Microbiol* 2019 from Rann of Kutch, Gujarat, India. *Genome Announc.* 2017. 5(6), 10-1128.

56. Gandhi R.; Prittesh P.; Jinal H. N.; Chavan S. M.; Paul D.; Amaresan N. Evaluation of the effect of potassium solubilizing bacterial strains on the growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Plant Nutr.* 2023. 46(8), 1479-1490.

57. Ge H. Characteristics of *Azotobacter* sp. strain AC11 and their effects on the growth of tomato seedlings under salt stress. *Emir. J. Food Agric.* 2019. 520-525.

58. Gholami A., Biyari A., Gholipoor M., Rahmani H.A. Growth Promotion of Maize (*Zea mays* L.) by Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria under Field Conditions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2012. 43 (9), 1263-1272.

59. Ghosh S.K., Bera T., Chakrabarty A.M. Microbial siderophore—A boon to agricultural sciences. *Biol. Control.* 2020. 144, 104214.

60. Goyal R.K., Schmidt M.A., Hynes M.F. Molecular Biology in the Improvement of Biological Nitrogen Fixation by Rhizobia and Extending the Scope to Cereals. *Microorganisms.* 2021. 9(1), 125.

61. Goyal S., Dhanker R., Hussain T., Ferreira A., Gouveia L., Kumar K., Mohamed H.I. Modern Advancement in Biotechnological Applications for Wastewater Treatment through Microalgae: A Review. *Water Air Soil Pollut.* 2023. 234(7), 417.

62. Gupta R., Kumari A., Sharma S., Alzahrani O.M., Noureldeen A., Darwish H. Identification, characterization and optimization of phosphate solubilizing rhizobacteria (PSRB) from rice rhizosphere. *Saudi J. Biol. Sci.* 2022. 29 (1), 35-42.

63. Han L.Z., Zhang H., Bai X., Jiang B. The peanut root exudate increases the transport and metabolism of nutrients and enhances the plant growth-promoting effects of burkholderia pyrrocinia strain P10. *BMC Microbiol.* 2023. 23(1), 85.

64. Hassen W., Neifar M., Cherif H., Najjari A., Chouchane H., Driouich R.C., Salah A., Naili F., Mosbah A., Souissi Y., et al. *Pseudomonas rhizophila* S211, a New Plant Growth-Promoting Rhizobacterium with Potential in Pesticide-Bioremediation. *Front. Microbiol.* 2018. 9, 34.
65. Hayward A. C., Fegan N., Fegan M., Stirling G. R. *Stenotrophomonas* and *Lysobacter*: ubiquitous plant-associated gamma-proteobacteria of developing significance in applied microbiology. *J. Appl. Microbiol.* 2010. 108(3), 756-770.
66. Hoque N., Hannan A., Imran S., Paul N.C., Mondal F., Sadhin M.R., Bristi J.M., Dola F.S., Hanif A., Ye W., et al. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria-Mediated Adaptive Responses of Plants Under Salinity Stress. *J. Plant Growth Regul.* 2023. 42(3), 1307-1326.
67. Huda N., Tanvir R., Badar J., Ali I., Rehman Y. Arsenic-resistant plant growth promoting *Pseudoxanthomonas mexicana* S254 and *Stenotrophomonas maltophilia* S255 isolated from agriculture soil contaminated by industrial effluent. *Sustainability.* 2022. 14(17), 10697.
68. Husna, Hussain A., Shah M., Hamayun M., Iqbal A., Qadir M., Alataway A., Dewidar A.Z., Elansary H.O., Lee I.-J. Phytohormones producing rhizobacteria alleviate heavy metals stress in soybean through multilayered response. *Microbiol. Res.* 2023. , 266 , 127237.
69. Hyder S., Rizvi Z.F., de los Santos-Villalobos S., Santoyo G., Gondal A., Khalid N., Fatima S.N., Nadeem M., Rafique K., Rani A. Applications of plant growth-promoting rhizobacteria for increasing crop production and resilience. *J. Plant Nutr.* 2023. 46(10), 2551-2580.
70. Isayenkov S.V., Maathuis F.J.M. Plant Salinity Stress: Many Unanswered Questions Remain. *Front. Plant Sci.* 2019. 10, 435515.
71. Jack C.N., Petipas R.H., Cheeke T.E., Rowland J.L., Friesen M.L. Microbial Inoculants: Silver Bullet or Microbial Jurassic Park? *Trends Microbiol.* 2021. 29(4), 299-308.

72. Jakienė E., Spruogis V., Romaneckas K., Dautartė A., Avižienytė D. The bio-organic nano fertilizer improves sugar beet photosynthesis process and productivity. *Zemdirb. Agric.* 2015. 141-146.
73. Jatav M.K., Kumar M., Trehan S.P., Dua V.K., Lal S.S. Effect of microbial inoculation on nutritional economics of potato-radish crop sequence in north-west Himalayan region. *Int. J. Agric. Stat. Sci.* 2011. 7, 309-316.
74. Jin N., Jin L., Wang S., Li J., Liu F., Liu Z., Luo S., Wu Y., Lyu J., Yu J. Reduced Chemical Fertilizer Combined With Bio-Organic Fertilizer Affects the Soil Microbial Community and Yield and Quality of Lettuce. *Front. Microbiol.* 2022. 13, 863325.
75. Kaari M., Manikkam R., Annamalai K.K., Joseph J. Actinobacteria as a source of biofertilizer/biocontrol agents for bio-organic agriculture. *J. Appl. Microbiol.* 2022. 134 (2), 47.
76. Kalayu G. Phosphate Solubilizing Microorganisms: Promising Approach as Biofertilizers. *Int. J. Agron.* 2019. 2019(1), 4917256.
77. Kálmán C.D., Nagy Z., Berényi A., Kiss E., Posta K. Investigating PGPR bacteria for their competence to protect hybrid maize from the factor drought stress. *Cereal Res. Commun.* 2023. 52(1), 129-150.
78. Kang S.M., Hamayun M., Khan M.A., Iqbal A., Lee I.J. *Bacillus subtilis* JW1 enhances plant growth and nutrient uptake of Chinese cabbage through gibberellins secretion. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 2019. 92.
79. Kang S.-M., Khan A.L., You Y.-H., Kim J.-G., Kamran M., Lee I.-J. Gibberellin Production by Newly Isolated Strain *Leifsonia soli* SE134 and Its Potential to Promote Plant Growth. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2014. 24(1), 106-112.
80. Kang S.-M., Radhakrishnan R., Lee K.-E., You Y.-H., Ko J.-H., Kim J.-H., Lee I.-J. Mechanism of plant growth promotion elicited by *Bacillus* sp. LKE15 in oriental melon. *Acta Agric. Scand. Sect. B Soil Plant Sci.* 2015. 65(7), 637-647.

81. Kannan D., Kumari V.J., Prathiba B. Degradation of Cyanide in Cassava (*Manihot esculenta*) Plant Leaves by *Pseudomonas* sp. *J. Pure Appl. Microbiol.* 2012. 913-916.
82. Karungi J.; Kyamanywa S.; Ekbom B. Organic soil fertility amendments and tritrophic relationships on cabbage in Uganda: Experiences from on-station and on-farm trials. *Afr. J. Agric. Res.* 2010. 5(21), 2862-2867.
83. Karungi J.; Kyamanywa S.; Ekbom B. Organic soil fertility amendments and tritrophic relationships on cabbage in Uganda: Experiences from on-station and on-farm trials. *Afr. J. Agric. Res.* 2010. 5(21), 2862-2867.
84. Khan N., Zandi P., Ali S., Mehmood A., Shahid M.A., Yang J. Impact of Salicylic Acid and PGPR on the Drought Tolerance and Phytoremediation Potential of *Helianthus annuus*. *Front. Microbiol.* 2018. 9, 413204.
85. Khan V., Umar S., Iqbal N. Palliating Salt Stress in Mustard through Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria: Regulation of Secondary Metabolites, Osmolytes, Antioxidative Enzymes and Stress Ethylene. *Plants.* 2023. 12(4), 705.
86. Khoshru B., Mitra D., Khoshmanzar E., Myo E.M., Uniyal N., Mahakur B., Das Mohapatra P.K., Panneerselvam P., Boutaj H., Alizadeh M., et al. Current scenario and future prospects of plant growth-promoting rhizobacteria: An economic valuable resource for the agriculture revival under stressful conditions. *J. Plant Nutr.* 2020. 43(20), 3062-3092.
87. Khumairah F.H., Setiawati M.R., Fitriatin B.N., Simarmata T., Alfaraj S., Ansari M.J., El Enshasy H.A., Sayyed R.Z., Najafi S. Halotolerant Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Isolated From Saline Soil Improve Nitrogen Fixation and Alleviate Salt Stress in Rice Plants. *Front. Microbiol.* 2022. 13, 905210.
88. Kiruba N.J.M., Saeid A. An Insight into Microbial Inoculants for Bioconversion of Waste Biomass into Sustainable “Bio-Organic” Fertilizers: A Bibliometric Analysis and Systematic Literature Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. 23(21), 13049.

89. Kour D., Yadav A.N. Bacterial Mitigation of Drought Stress in Plants: Current Perspectives and Future Challenges. *Curr. Microbiol.* 2022. 79(9), 248.
90. Kuppe C.W., Schnepf A., von Lieres E., Watt M., Postma J.A. Rhizosphere models: Their concepts and application to plant-soil ecosystems. *Plant Soil.* 2022. 474(1), 17-55.
91. Lal S., Ratna S., Ben Said O., Kumar R. Biosurfactant and exopolysaccharide-assisted rhizobacterial technique for the remediation of heavy metal contaminated soil: An advancement in metal phytoremediation technology. *Environ. Technol. Innov.* 2018. 10, 243-263.
92. Larsen J., Jaramillo-López P., Nájera-Rincon M., González-Esquivel C. Biotic interactions in the rhizosphere in relation to plant and soil nutrient dynamics. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2015. 15(2), 449-463.
93. Lee S.A., Kim H.S., Sang M.K., Song J., Weon H.-Y. Effect of *Bacillus mesonae* H20-5 Treatment on Rhizospheric Bacterial Community of Tomato Plants under Salinity Stress. *Plant Pathol. J.* 2021. 37(6), 662.
94. Lee S.Y., Lee Y.-Y., Cho K.-S. Inoculation effect of heavy metal tolerant and plant growth promoting rhizobacteria for rhizoremediation. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 2023. 21(2), 1419-1434.
95. Li W., Zhang F., Cui G., Wang Y., Yang J., Cheng H., Liu H., Zhang L. Effects of bio-organic fertilizer on soil fertility, microbial community composition, and potato growth. *Scienceasia.* 2021. 47(3), 347.
96. Li X., Sun P., Zhang Y., Jin C., Guan C. A novel PGPR strain *Kocuria rhizophila* Y1 enhances salt stress tolerance in maize by regulating phytohormone levels, nutrient acquisition, redox potential, ion homeostasis, photosynthetic capacity and stress-responsive genes expression. *Environ. Exp. Bot.* 2020. 174, 104023.
97. Li X.; Wang Q.; Li H.; Wang X.; Zhang R.; Yang X.; Jiang Q.; Shi Q. Revealing the Mechanisms for Linalool Antifungal Activity against *Fusarium*

oxysporum and Its Efficient Control of Fusarium Wilt in Tomato Plants. *International Journal of Molecular Sciences* 2023. 24(1), 458.

98. Lim J.-H., Kim S.-D. Induction of Drought Stress Resistance by Multi-Functional PGPR *Bacillus licheniformis* K11 in Pepper. *Plant Pathol. J.* 2013. 29, 201–208.

99. Liu H., Tan X., Guo J., Liang X., Xie Q., Chen S. Bioremediation of oil-contaminated soil by combination of soil conditioner and microorganism. *J. Soils Sediments.* 2020. 20, 2121-2129.

100. Ma L., Zhang H.-Y., Zhou X.-K., Yang C.-G., Zheng S.-C., Duo J.-L., Mo M.-H. Biological control tobacco bacterial wilt and black shank and root colonization by bio-organic fertilizer containing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* NXHG29. *Appl. Soil Ecol.* 2018. 129, 136-144.

101. Meena M., Swapnil P., Zehra A., Aamir M., Dubey M.K., Goutam J., Upadhyay R.S. *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives.* Springer; Singapore. *Beneficial Microbes for Disease Suppression and Plant Growth Promotion.* 2017. 395-432.

102. Mehmood M.A., Zhao H., Cheng J., Xie J., Jiang D., Fu Y. Sclerotia of a phytopathogenic fungus restrict microbial diversity and improve soil health by suppressing other pathogens and enriching beneficial microorganisms. *J. Environ. Manag.* 2020. 259, 109857.

103. Mirskaya G.V., Khomyakov Y.V., Rushina N.A., Vertebny V.E., Chizhevskaya E.P., Chebotar V.K., Chesnokov Y.V., Pishchik V.N. Plant Development of Early-Maturing Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Inoculation with *Bacillus* sp. V2026. *Plants-Basel.* 2022. 11(14), 1817.

104. Mishra J., Singh R., Arora N.K. Alleviation of Heavy Metal Stress in Plants and Remediation of Soil by Rhizosphere Microorganisms. *Front. Microbiol.* 2017. 8, 295763.

105. Misra S., Chauhan P.S. ACC deaminase-producing rhizosphere competent *Bacillus* spp. mitigate salt stress and promote *Zea mays* growth by modulating ethylene metabolism. *Biotech.* 2020. 10(3), 119.
106. Mitter E.K., Tosi M., Obregón D., Dunfield K.E., Germida J.J. Rethinking Crop Nutrition in Times of Modern Microbiology: Innovative Biofertilizer Technologies. *Front. Sustain. Food Syst.* 2021. 5, 606815.
107. Morcillo R.J.L., Manzanera M. The Effects of Plant-Associated Bacterial Exopolysaccharides on Plant Abiotic Stress Tolerance. *Metabolites.* 2021. 11 (6), 337.
108. Mulet M., Bennasar A., Lalucat J., García-Valdés E. AnrpoD-based PCR procedure for the identification of *Pseudomonas* species and for their detection in environmental samples. *Mol. Cell Probes.* 2009. 23, 140–147.
109. Nadeem S.M., Ahmad M., Zahir Z.A., Javaid A., Ashraf M. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnol. Adv.* 2014. 32(2), 429-448.
110. Nakkeeran S.; Marimuthu T.; Raguchander T., Exploring DAPG and phenazine producing PGPR strains and fungal antagonists for the management of diseases of Noni (*Morinda citrifolia* L). *WNRF Technical Bulletin 11; World Noni Research Foundation*, 2013. 329, 289-312.
111. Naqqash T., Aziz A., Gohar M., Khan J., Ali S., Radicetti E., Babar M., Siddiqui M.H., Haider G. Heavy metal-resistant rhizobacteria fosters to alleviate the cadmium toxicity in *Arabidopsis* by upregulating the plant physiological responses. *Int. J. Phytoremediat.* 2023. 26(4), 557-568.
112. Nigam B., Dubey R. S., Rathore D. Protective role of exogenously supplied salicylic acid and PGPB (*Stenotrophomonas* sp.) on spinach and soybean cultivars grown under salt stress. *Sci. Hortic.* 2022. 293, 110654.
113. Nosrati R., Dehghani S., Karimi B., Yousefi M., Taghdisi S.M., Abnous K., Alibolandi M., Ramezani M. Siderophore-based biosensors and

nanosensors; new approach on the development of diagnostic systems. *Biosens. Bioelectron.* 2018. 117, 1-14.

114. O’Callaghan M., Ballard R.A., Wright D. Soil microbial inoculants for sustainable agriculture: Limitations and opportunities. *Soil Use Manag.* 2022. 38, 1340–1369.

115. O’Callaghan M., Ballard R.A., Wright D. Soil microbial inoculants for sustainable agriculture: Limitations and opportunities. *Soil Use Manag.* 2022. 38 (3), 1340–1369.

116. Pan L., Cai B. Phosphate-Solubilizing Bacteria: Advances in Their Physiology, Molecular Mechanisms and Microbial Community Effects. *Microorganisms.* 2023. 11 (12), 2904.

117. Parte A. C. LPSN - list of prokaryotic names with standing in nomenclature (bacterio.Net), 20 years on. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2018. 42(1), 613-616.

118. Patel P.R., Shaikh S.S., Sayyed R.Z. Dynamism of PGPR in bioremediation and plant growth promotion in heavy metal contaminated soil. *Indian J. Exp. Biol.* 2016.

119. Pereyra C.M., Lago C.C.D., Creus C.M., Pereyra M.A. *Azospirillum baldaniorum* Sp 245 inoculation affects cell wall and polyamines metabolisms in cucumber seedling roots. *FEMS Microbiol. Lett.* 2023. 370, 5.

120. Pérez-Martínez S., Oudot M., Hernández I., Nápoles M. C., Pérez-Martínez S. Isolation and characterization of *Stenotrophomonas* associated to maize (*Zea mays* L.) rhizosphere. *Cultivos Tropicales.* 2020.

121. Puca M., Gonzales E.Y., Jayos E.E., Llanos K.N. Comparative study of the growth parameters of cowpea bean plants inoculated with *Azotobacter* sp. and urea. *Afinidad.* 2022. 79(597), 500-508.

122. Rawat P., Das S., Shankhdhar D., Shankhdhar S.C. Phosphate-Solubilizing Microorganisms: Mechanism and Their Role in Phosphate Solubilization and Uptake. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2021. 21(1), 49-68.
123. Rehan M., Al-Turki A., Abdelmageed A.H.A., Abdelhameid N.M., Omar A.F. Performance of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Isolated from Sandy Soil on Growth of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Plants. 2023. 12(8), 1588.
124. Ren Z., Cheng R., Chen P., Xue Y., Xu H., Yin Y., Huang G., Zhang W., Zhang L. Plant-associated Microbe System in Treatment of Heavy Metals–contaminated Soil: Mechanisms and Applications. *Water Air Soil Pollut.* 2023. 234(1), 39.
125. Rosa A.P., Dias T., Mouazen A.M., Cruz C., Santana M.M. Finding optimal microorganisms to increase crop productivity and sustainability under drought—A structured reflection. *J. Plant Interact.* 2023. 18(1), 2178680.
126. Saghafi D., Delangiz N., Lajayer B.A., Ghorbanpour M. An overview on improvement of crop productivity in saline soils by halotolerant and halophilic PGPRs. *3 Biotech.* 2019. 9(7), 261.
127. Santillan J.Y., Muzlera A., Molina M., Lewkowicz E.S., Iribarren A.M. Microbial degradation of organophosphorus pesticides using whole cells and enzyme extracts. *Biodegradation.* 2020. 31, 423-433.
128. Saranraj P.; Sayyed R.; Kokila M.; Sudha A.; Sivasakthivelan P.; Devi M. D.; Naz R.; Yasmin H., Plant Growth-Promoting and Biocontrol Metabolites Produced by Endophytic *Pseudomonas fluorescens*. In *Secondary Metabolites and Volatiles of PGPR in Plant-Growth Promotion*; Sayyed R. Z., Uarrota V. G., Eds.; Springer, 2022. 349-381.
129. Sati D., Pande V., Pandey S.C., Samant M. Recent Advances in PGPR and Molecular Mechanisms Involved in Drought Stress Resistance. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2023. 23(1), 106-124.

130. Saxena J., Rana G., Pandey M. Impact of addition of biochar along with *Bacillus* sp. on growth and yield of French beans. *Sci. Hortic.* 2013. 162 , 351-356.
131. Shahid M., Khan M.S., Singh U.B. Pesticide-tolerant microbial consortia: Potential candidates for remediation/clean-up of pesticide-contaminated agricultural soil. *Environ. Res.* 2023. 116724.
132. Shahwar D., Mushtaq Z., Mushtaq H., Alqarawi A.A., Park Y., Alshahrani T.S., Faizan S. Role of microbial inoculants as bio fertilizers for improving crop productivity: A review. *Heliyon.* 2023.
133. Shameer S., Prasad T.N.V.K.V. Plant growth promoting rhizobacteria for sustainable agricultural practices with special reference to biotic and abiotic stresses. *Plant Growth Regul.* 2018. 84, 603-615.
134. Shi H., Lu L., Ye J., Shi L. Effects of Two *Bacillus Velezensis* Microbial Inoculants on the Growth and Rhizosphere Soil Environment of *Prunus davidiana*. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. 23(21), 13639.
135. Shukla S.K., Sharma L., Jaiswal V.P., Pathak A.D., Tiwari R., Awasthi S.K., Gaur A. Soil quality parameters vis-a-vis growth and yield attributes of sugarcane as influenced by integration of microbial consortium with NPK fertilizers. *Sci. Rep.* 2020. 10(1), 19180.
136. Simranjit K., Kanchan A., Prasanna R., Ranjan K., Ramakrishnan B., Singh A.K., Shivay Y.S. Microbial inoculants as plant growth stimulating and soil nutrient availability enhancing options for cucumber under protected cultivation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2019. 35, 1-14.
137. Singh A.; Jain A.; Sarma B.; Upadhyay R.; Singh H. Rhizosphere microbes facilitate redox homeostasis in *Cicer arietinum* against biotic stress. *Annals of Applied Biology* 2013. 163(1), 33-46.
138. Singh P.; Singh R. K.; Li H.-B.; Guo D.-J.; Sharma A.; Verma K. K.; Solanki M. K.; Upadhyay S. K.; Lakshmanan P.; Yang L.-T.; et al. Nitrogen

fixation and phytohormone stimulation of sugarcane plant through plant growth promoting diazotrophic *Pseudomonas*. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* 2023. 1-21.

139. Song G. C.; Im H.; Jung J.; Lee S.; Jung M. Y.; Rhee S. K.; Ryu C. M. Plant growth-promoting archaea trigger induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pectobacterium carotovorum* and *Pseudomonas syringae*. *Environmental Microbiology* 2019. 21 (3), 940-948.

140. Stamenković S., Beškoski V., Karabegović I., Lazić M., Nikolić N. Microbial fertilizers: A comprehensive review of current findings and future perspectives. *Span. J. Agric. Res.* 2018. 16(1).

141. Teng Y., Chen W. Soil Microbiomes—A Promising Strategy for Contaminated Soil Remediation: A Review. *Pedosphere.* 2019. 283-297.

142. Teng Z., Shao W., Zhang K., Huo Y., Li M. Characterization of phosphate solubilizing bacteria isolated from heavy metal contaminated soils and their potential for lead immobilization. *J. Environ. Manag.* 2019. 231, 189-197.

143. Timofeeva A., Galyamova M., Sedykh S. Prospects for Using Phosphate-Solubilizing Microorganisms as Natural Fertilizers in Agriculture. *Plants.* 2022. 11(16), 2119.

144. Travaglia C., Masciarelli O., Fortuna J., Marchetti G., Cardozo P., Lucero M., Zorza E., Luna V., Reinoso H. Towards sustainable maize production: Glyphosate detoxification by *Azospirillum* sp. and *Pseudomonas* sp. *Crop. Prot.* 2015. 77, 102-109.

145. Ullah A., Bano A., Javed H. PGPR assisted bioremediation of heavy metals and nutrient accumulation in *Zea mays* under saline sodic soil. *Pak. J. Bot.* 2021. 53(1), 31-38.

146. Ulrich K., Kube M., Becker R., Schneck V., Ulrich A. Genomic analysis of the endophytic *Stenotrophomonas* strain 169 reveals features related to plant-growth promotion and stress tolerance. *Front. Microbiol.* 2021. 12, 687463.

147. Wang X., Yang Y., Gao B., Wan Y., Li Y.C., Xie J., Tang Y. Slow-released bio-organic–chemical fertilizer improved tomato growth: Synthesis and pot evaluations. *J. Soils Sediments*. 2021. 21, 319-327.
148. Wang Z.; Zhong T.; Chen K.; Du M.; Chen G.; Chen X.; Wang K.; Zalán Z.; Takács K.; Kan J. Antifungal activity of volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* ZX and potential biocontrol of blue mold decay on postharvest citrus. *Food Control* 2021. 120, 107499.
149. Win K. T.; Kobayashi M.; Tanaka F.; Takeuchi K.; Oo A. Z.; Jiang C.-J. Identification of *Pseudomonas* strains for the biological control of soybean red crown root rot. *Sci. Rep.* 2022. 12(1), 14510.
150. Xiao X., Li J., Lyu J., Feng Z., Zhang G., Yang H., Gao C., Jin L., Yu J. Chemical fertilizer reduction combined with bio-organic fertilizers increases cauliflower yield via regulation of soil biochemical properties and bacterial communities in Northwest China. *Front. Microbiol.* 2022. 13, 922149.
151. Xie H., Wu K., Iqbal A., Ali I., He L., Ullah S., Wei S., Zhao Q., Wu X., Huang Q., et al. Synthetic nitrogen coupled with seaweed extract and microbial inoculants improves rice (*Oryza sativa* L.) production under a dual cropping system. *Ital. J. Agron.* 2021. 16(2).
152. Yang W., Gong T., Wang J., Li G., Liu Y., Zhen J., Ning M., Yue D., Du Z., Chen G. Effects of Compound Microbial Fertilizer on Soil Characteristics and Yield of Wheat (*Triticum aestivum* L.) *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2020. 20, 2740-2748.
153. Yap C.K., Al-Mutairi K.A. Effective Microorganisms as Halal-Based Sources for Biofertilizer Production and Some Socio-Economic Insights: A Review. *Foods*. 2023. 12 (8), 1702.
154. Zainab N., Amna, Khan A.A., Azeem M.A., Ali B., Wang T., Shi F., Alghanem S.M., Munis M.F.H., Hashem M., et al. PGPR-Mediated Plant Growth Attributes and Metal Extraction Ability of *Sesbania sesban* L. in Industrially Contaminated Soils. *Agronomy*. 2021. 11(9), 1820.

155. Zhao J., Wang Y., Liang H., Huang J., Chen Z., Nie Y. The rhizosphere microbial community response to a bio-organic fertilizer: Finding the mechanisms behind the suppression of watermelon Fusarium wilt disease. *Acta Physiol. Plant.* 2018. 40, 1-14.

156. Zheng W., Cui T., Li H. Combined technologies for the remediation of soils contaminated by organic pollutants. A review. *Environ. Chem. Lett.* 2022. 20(3), 2043-2062.

157. Zhou Y., Xiao C., Yang S., Yin H., Yang Z., Chi R. Life cycle assessment and life cycle cost analysis of compound microbial fertilizer production in China. *Sustain. Prod. Consum.* 2021. 28, 1622–1634.

## СПРАВКА

Башкирский государственный медицинский университет

о результатах проверки текстового документа  
на наличие заимствований

### ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

**Автор работы:** Чиникова Н. А.  
**Самоцитирование**  
**рассчитано для:** Чиникова Н. А.  
**Название работы:** Характеристика ростостимулирующих свойств ризосферных бактерий  
**Тип работы:** Выпускная квалификационная работа  
**Подразделение:** Башкирский Государственный Медицинский Университет

### РЕЗУЛЬТАТЫ

■ ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ КОРРЕКТИРОВАЛСЯ: НИЖЕ ПРЕДСТАВЛЕНЫ РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕРКИ ДО КОРРЕКТИРОВКИ

СОВПАДЕНИЯ		27.51%	СОВПАДЕНИЯ		15.89%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		72.49%	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ		84.11%
ЦИТИРОВАНИЯ		0%	ЦИТИРОВАНИЯ		0%
САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%	САМОЦИТИРОВАНИЯ		0%

ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 11.06.2024

ДАТА И ВРЕМЯ КОРРЕКТИРОВКИ: 21.06.2024 13:50

**Структура документа:** Проверенные разделы: библиография с.62-81, титульный лист с.1, содержание с.2-4, основная часть с.5-61  
**Модули поиска:** Шаблонные фразы; Переводные заимствования\*; ИПС Адилет; Цитирование; Коллекция НБУ; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Библиография; Перефразирования по Интернету (EN); СПС ГАРАНТ: аналитика; Кольцо вузов; Переводные заимствования издательства Wiley; Медицина; Диссертации НББ; IEEE; Переводные заимствования IEEE; Сводная коллекция ЭБС; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте; Переводные заимствования (RuEn); Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования); Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Патенты СССР, РФ, СНГ; Переводные заимствования по Интернету (EnRu); Перефразирования по

**Работу проверил:** Банникова Ольга Сергеевна

ФИО проверяющего

**Дата подписи:**

Подпись проверяющего



Чтобы убедиться в подлинности справки, используйте QR-код, который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего. Предоставленная информация не подлежит использованию в коммерческих целях.