

УДК 579.64

DOI: 10.31040/2222-8349-2022-0-2-24-28

***PSEUDOMONAS* spp. ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РОСТА РАСТЕНИЙ
СЕМЕЙСТВА ПАСЛЕНОВЫЕ****© Л.Р. Хакимова, О.В. Чубукова, З.Р. Вершинина, Д.Р. Масленникова,
А.Р. Мурясова, Е.В. Симороз, А.К. Чумакова, К.Р. Насырова**

Pseudomonas spp. – перспективная группа PGPR, обладающих совокупностью полезных свойств, что делает их в том числе успешными симбионтами разных видов растений. Рассмотрено влияние двух штаммов *Pseudomonas* sp. OBA 2.9 и *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 на рост растений из семейства Пасленовые (*Solanaceae*) (перец, физалис овощной и ягодный), и проведен анализ содержания пигментов в листьях после предварительной инокуляции проростков бактериями и культивирования их в почве в течение месяца. Обработка бактериями приводила к увеличению сухой биомассы исследуемых культур, инокулированных *Pseudomonas* sp. OBA 2.9 на 23–53%, а штаммом *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 на 38–76% относительно контрольных необработанных растений.

Обработка штаммом *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 больше влияла на содержание пигментов в листьях, чем штамм *Pseudomonas* sp. OBA 2.9, приводя к увеличению накопления хлорофилла *a* почти на 150%, хлорофилла *b* – на 143% и каротиноидов – на 160% относительно необработанных растений. Такие данные свидетельствуют о положительном влиянии этого штамма на фотосинтетический аппарат, что в конечном итоге положительно отразилось на накоплении сухой биомассы исследуемых растений, что позволяет сделать вывод об эффективности применения штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 для повышения биомассы (урожайности) этих важных сельскохозяйственных культур.

Ключевые слова: *Pseudomonas* spp., перец, физалис овощной, физалис ягодный, хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, каротиноиды, сухая биомасса, ростовые параметры.

В ризосфере растений обитает большое количество бактерий, способствующих росту растений (PGPR). В эту группу полезных микроорганизмов входят в том числе и непатогенные почвенные ризобактерии, которые способны колонизировать корневую систему растения и оказывать на него положительное воздействие,

в частности улучшать рост за счет синтеза стимуляторов роста и/или подавления действия патогенных микроорганизмов [1].

Среди типичных представителей PGPR известно много бактерий широко распространенного рода *Pseudomonas*. Описаны работы, в которых обработка растений томатов ризобак-

ХАКИМОВА Лилия Ралисовна – к.б.н., Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфимский государственный нефтяной технический университет, Башкирский государственный медицинский университет, e-mail: lili-nigmatullina@bk.ru

ЧУБУКОВА Ольга Вячеславовна – к.б.н., Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфимский государственный нефтяной технический университет, e-mail: chbukova@bk.ru

ВЕРШИННИНА Зилия Рифовна – к.б.н., Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфимский государственный нефтяной технический университет, e-mail: zilyaver@mail.ru

МАСЛЕННИКОВА Дилара Ринатовна – к.б.н., Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфимский государственный нефтяной технический университет, e-mail: dishaoil@mail.ru

МУРЯСОВА Айгуль Рависовна, Уфимский государственный нефтяной технический университет, e-mail: aigul.ravisovna@bk.ru

СИМОРОЗ Евгения Валерьевна, Уфимский государственный нефтяной технический университет, e-mail: 5a-shk17@mail.ru

ЧУМАКОВА Анна Константиновна, Уфимский государственный нефтяной технический университет, e-mail: ankch1999@gmail.com

НАСЫРОВА Карина Руслановна, Уфимский государственный нефтяной технический университет, e-mail: ankch1999@gmail.com

териями *Pseudomonas* sp. штамма S3 в засоленных условиях приводила к улучшению физиологических параметров растений (длина корня и побега, сырая и сухая биомасса, содержание фотосинтетических пигментов, активность антиоксидантов, содержание фенолов и т.д.). Полученные результаты позволили авторам рассматривать данный штамм как эффективный стимулятор роста растений, улучшающий устойчивость томатов в засоленных условиях [2]. В другом исследовании изучен штамм *P. rhizophila* S211, синтезирующий биосурфактант и повышающий сольубилизацию химических пестицидов, который может быть использован в качестве перспективного агента для биоремедиации сельскохозяйственных почв, загрязненных пестицидами [3].

Pseudomonas spp. оказывают положительное влияние на растения не только как ростостимулирующие агенты, но и в качестве эффективного фактора защиты растений от тяжелых металлов и других неблагоприятных условий. Например, Khanna с соавт. [4] в своей работе описывает влияние *P. aeruginosa* на растения томата (*Lycopersicon esculentum*) при кадмиевом стрессе, при этом уменьшалась длина корней и побегов на 32% по сравнению с контрольными растениями. Соответственно наблюдалось и снижение сырой биомассы растений на 35%. Но у растений, обработанных *P. aeruginosa*, увеличивалась длина корней, побегов и сырая биомасса относительно контрольных растений на 41, 39.8 и 36.8% соответственно [4].

В описанных выше работах анализ содержания пигментов в листьях растений показал, что обработка псевдомонадами значительно увеличивала количество хлорофиллов и каротиноидов в листьях, что доказывает эффективную работу фотосинтетического аппарата и, соответственно, улучшение фотосинтетических характеристик и питания растений, что приводит к увеличению их биомассы [2–4].

Цель данной работы состояла в анализе влияния штаммов *Pseudomonas* sp. OBA 2.9 и *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 на ростовые показатели и содержание пигментов в листьях растений перца, физалиса овощного и ягодного.

Материалы и методы. Объекты исследования: перец сладкий (*Capsicum annuum*) сорта Оранжевый букет, физалис овощной (*Physalis ixocarpa*) сорта Кондитер, физалис ягодный (*Physalis pubescens*) сорта Ягодный.

Исследуемые бактерии, относящиеся к роду *Pseudomonas*, были найдены при выделении ри-

зобактерий из клубеньков бобовых растений Южного Урала. Для идентификации изолированных штаммов был секвенирован ген 16S рРНК данных бактерий. По результатам исследования были отобраны два штамма, относящиеся к роду *Pseudomonas*: OBA 2.4.1, OBA 2.9, выделенные из растений остролодочника башкирского (*Oxytropis bashkirensis*) и козлятника восточного (*Galega orientalis*) соответственно. ДНК последовательности *Pseudomonas* spp. были депонированы в базе данных GenBank под номерами ОК040062 и ОК039351 соответственно.

Исследование влияния бактерий на ростовые параметры растений. Семена растений в течение 1 мин стерилизовали в 70% спирте, а после – 20 мин в 10% растворе гипохлорита натрия. Далее семена прорастивались на фильтровальной бумаге, в стерильной воде. Затем через 7 дней (физалисы) и 14 дней (перец) корни проростков инокулировали штаммами *Pseudomonas* sp. OBA 2.9 и *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1, которые предварительно выращивали в жидкой среде LB (масс. % в водном растворе: бактотриптон 1, дрожжевой экстракт 0.5, NaCl 0.5) при 28°C. Затем суспензию бактерий разбавляли до 10⁵ КОЕ/мл стерильной жидкой средой LB. Далее обработанные растения высаживались в стерильный универсальный грунт TERRA VITA («Агрохимзем», Россия). Часть оставили необработанными в качестве контроля. Все морфометрические измерения и содержание пигментов в листьях проводили через 30 дней культивирования растений с *Pseudomonas* sp. OBA 2.9 и *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1. Для изучения ростостимулирующего эффекта штаммов *Pseudomonas* spp. у опытных растений измеряли длину корня и побега, для подсчета сухой биомассы высушивали их в термостате при 65°C до постоянной массы. Для анализа было использовано по 20 растений каждого вида.

Экстракцию и определение содержания пигментов в растительных тканях проводили согласно [5]. Для этого навеску листа растения массой 0,05 г гомогенизировали в 10 мл 90% этанола с добавлением CaCO₃ и фильтровали. Оптическую плотность отфильтрованных экстрактов измеряли с помощью спектрофотометра Plus (Bio – Rad), Геркулес, Калифорния, США): хлорофилл *a* при длине волны 663 нм, хлорофилл *b* – при 646 нм и каротиноиды – при 470 нм.

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

Таблица 1

Длина корней и побегов растений ($P \leq 0.05$)

Вариант обработки	Длина корней, см			Длина побегов, см		
	перец	физалис ягодный	физалис овощной	перец	физалис ягодный	физалис овощной
Контроль	5.6±0.011	9.3 ±0.019	12.3 ±0.014	3.7±0.011	4.1±0.016	8.3±0.012
<i>Pseudomonas</i> sp. OBA 2.9	6,3 ±0.015	12.3 ±0.011	15.3 ±0.012	4.1±0.012	5.9±0.015	12.1±0.013
<i>Pseudomonas</i> sp. OBA 2.4.1	8.3 ±0.013	13.3 ±0.013	17.3 ±0.017	5.7±0.015	6.2±0.011	13.5±0.017

Таблица 2

Содержание пигментов (мг/г сырой массы) в листьях растений ($P \leq 0.05$)

Вариант	Хлорофилл a			Хлорофилл b			Каротиноиды		
	перец	физалис ягодный	физалис овощной	перец	физалис ягодный	физалис овощной	перец	физалис ягодный	физалис овощной
Контроль	1.33±0.011	1.21±0.042	1.53±0.041	0.42±0.023	0.43±0.012	0.44±0.013	0.46±0.017	0.32±0.015	0.56±0.014
<i>Pseudomonas</i> sp. OBA 2.9	1.71±0.031	1.35±0.022	1.8±0.050	0.46±0.051	0.34±0.011	0.46±0.018	0.54±0.019	0.31±0.013	0.72±0.015
<i>Pseudomonas</i> sp. OBA 2.4.1	1.93±0.054	1.82±0.035	2.27±0.031	0.60±0.016	0.56±0.022	0.58±0.023	0.75±0.025	0.49±0.022	0.83±0.021



Рис. 1. Растения перца (А), физалиса ягодного (Б), физалиса овощного (В): 1 – контрольные растения без обработки; 2 – растения, обработанные штаммом *Pseudomonas* sp. OBA 2.9; 3 – растения, обработанные штаммом *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1

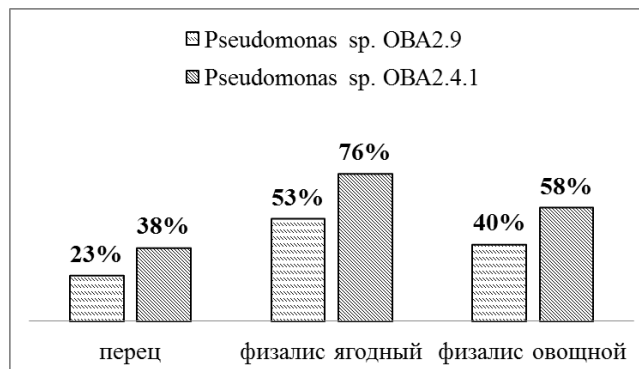


Рис. 2. Показатели увеличения сухой биомассы растений после 30-дневной обработки штаммами *Pseudomonas* spp. относительно контроля

Результаты и обсуждение. Важнейшим интегральным показателем физиологического состояния растений является их рост, поэтому для оценки ростостимулирующей активности штаммов *Pseudomonas* sp. ОВА 2.9 и ОВА 2.4.1 провели измерения длины корней и побегов (табл. 1).

Обработка *Pseudomonas* spp. оказывает положительное влияние на морфометрические показатели растений перца и физалиса, это наглядно видно на рис. 1, где растения на одной стадии онтогенеза. Инокуляция растений штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.9 привела к увеличению длины корней в 1.12–1.32 раза, штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 – в 1.40–1.48 раза относительно контрольных растений. Длина побегов опытных растений также увеличилась: при применении штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.9 в 1.1–1.46 раза, *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 – в 1.51–1.63 раза относительно контроля.

Бактеризация растений штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.9 приводила к увеличению сухой биомассы на 23–53%, обработка штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 на 38–76% (рис. 2).

Данные табл. 2 показывают положительное влияние обработки растений *Pseudomonas* spp. При этом штамм *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 обеспечивал наибольшие показатели. Так, в листьях растений перца, обработанных бактериями штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 содержалось больше пигментов по сравнению с контролем и растениями, корни которых были инокулированы штаммом *Pseudomonas* sp. ОВА 2.9. Содержание хлорофилла *a* стало больше в 1.45 раз, хлорофилла *b* – в 1.43 раза, каротиноидов – в 1.6 раз относительно контроля. В листьях растений физалиса ягодного содержание хлорофилла *a* стало больше в 1.5 раз, хлорофилла *b* – в 1.3 раза, каротиноидов – в 1.5 раз относительно контроля. А в листьях физалиса овощного содержание хлорофилла *a* стало больше в 1.48 раз, хлорофилла *b* – в 1.3 раза, каротиноидов – в 1.48 раз относительно контроля.

Каротиноиды и хлорофилл, синтезируемые всеми растениями, являются компонентами фотосинтеза и выполняют важные функции в биологии растений, включая сбор света, подавление фотоокисления и окрашивание растений. Все это в совокупности приводит к более стабильному протеканию и увеличению производительности фотосинтеза, что отражается в значительном накоплении биомассы растений [6,

7]. Таким образом, показанное в исследовании увеличение содержания хлорофилла *a* и *b* и каротиноидов в растениях, инокулированных *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1, говорит о том, что в их листьях фотосинтез протекает на более высоком уровне.

Закключение. Таким образом, присутствие в течение 30 дней бактерий *Pseudomonas* sp. ОВА 2.4.1 в ризосфере перца, физалиса ягодного и физалиса овощного приводит к значительному накоплению сухой биомассы растений и повышению уровня фотосинтетической активности в листьях. При использовании штамма *Pseudomonas* sp. ОВА 2.9 эти показатели возрастают в меньшей степени. Полученные данные демонстрируют возможность использования различных PGPR *Pseudomonas* spp. в агробиотехнологии в качестве ростостимулирующих агентов, которые могут способствовать улучшению роста и питания растений, что, в конечном итоге, может привести к увеличению их биомассы и продуктивности. Подобные свойства псевдомонад позволяют говорить о перспективах их применения в сельском хозяйстве, а также в экологии для использования в фиторемедиации.

Работа была выполнена в рамках Госзадания (тема № АААА-А21-121011990120-7) с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП «Агидель») и Программы создания и функционирования карбонового полигона на территории Республики Башкортостан «Евразийский карбоновый полигон» на 2022–20223 гг.

Литература

1. Zarpelon T.G., Guimarães L.M.D.S., Alfenas-Zerbini P., Lopes E.S., Mafia R.G., Alfenas A.C. Rhizobacterial characterization for quality control of eucalyptus biogrowth promoter products // Brazilian journal of microbiology. 2016. V. 47. P. 973–979. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.07.013>
2. Pandey S., Gupta S. Evaluation of *Pseudomonas* sp. for its multifarious plant growth promoting potential and its ability to alleviate biotic and abiotic stress in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants // Sci Rep. 2020. V. 10. № 1. P. 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77850-0>
3. Hassen W., Neifar M., Cherif H., Najjari A., Chouchane H, Driouich R.C., Salah A., Naili F., Mosbah A., Souissi Y., Raddadi N., Ouzari H.I., Fava F., Cherif A. *Pseudomonas rhizophila* S211, a New Plant

Growth-Promoting Rhizobacterium with Potential in Pesticide-Bioremediation // *Front Microbiol.* 2018. V. 9. P. 34. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00034>

4. Khanna K., Jamwal V.L., Gandhi S.G., Ohri P., Bhardwaj R. Metal resistant PGPR lowered Cd uptake and expression of metal transporter genes with improved growth and photosynthetic pigments in *Lycopersicon esculentum* under metal toxicity // *Sci Rep.* 2019. V. 9. № 1. P. 1–14 (a). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41899-3>

5. Jerey S., Humphrey G. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton // *Biochem. Physiol. Pfl.* 1975. V. 167. P. 191–194. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)

6. Khanna K., Sharma A., Ohri P., Bhardwaj R., Abd Allah E. F., Hashem A., Ahmad P. Impact of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in the Orchestration of *Lycopersicon esculentum* Mill. Resistance to Plant Parasitic Nematodes: A Metabolomic Approach to Evaluate Defense Responses Under Field Conditions // *Biomolecules.* 2019. V. 9. № 11. P. 676 (6). <https://doi.org/10.3390/biom9110676>

7. Naznin M.T., Lefsrud M., Gravel V., Azad MOK. Blue Light added with Red LEDs Enhance Growth Characteristics, Pigments Content, and Antioxidant Capacity in Lettuce, Spinach, Kale, Basil, and Sweet Pepper in a Controlled Environment // *Plants (Basel).* 2019. V. 8. № 4. P. 93. doi:10.3390/plants8040093

— — — — —

**GROWTH-PROMOTING *PSEUDOMONAS* spp.
FOR PLANTS OF THE SOLANACEAE FAMILY**

© L.R. Khakimova^{1,2,3}, O.V. Chubukova^{1,2}, Z.R. Vershinina^{1,2}, D.R. Maslennikova^{1,2},
A.R. Muryasova², E.V. Simoroz², A.K. Chumakova², K.R. Nasyrova²

¹Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre
of the Russian Academy of Sciences,
71, prospekt Oktyabrya, 450054, Ufa, Russian Federation

²Ufa State Petroleum Technical University,
1, ulitsa Cosmonauts, 450064, Ufa, Russian Federation

³Bashkir State Medical University,
3, ulitsa Lenina, 450008, Ufa, Russian Federation

Pseudomonas spp. is a promising group of PGPRs with a combination of useful properties. This makes them also successful symbionts of different plant species. In this work, the influence of two strains of *Pseudomonas* sp. OBA 2.9 and *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 on the growth of plants from the *Solanaceae* family (pepper, vegetable and berry physalis). The content of pigments in leaves was analyzed after preliminary inoculation of seedlings with bacteria and their cultivation in the soil for a month. Treatment with bacteria led to an increase in the dry biomass of the studied cultures inoculated with *Pseudomonas* sp. OBA 2.9 by 23–53%, while *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 by 38–76% relative to control untreated plants.

Treatment with *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 had a greater effect on the content of pigments in leaves than *Pseudomonas* sp. OBA 2.9, resulting in an increase in the accumulation of chlorophyll *a* by almost 150%, chlorophyll *b* by 143% and carotenoids by 160% relative to untreated plants. Such data indicate a positive effect of this strain on the photosynthetic apparatus, which ultimately had a positive effect on the accumulation of dry biomass of the studied plants. This allows us to conclude that the *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 to increase the biomass (yield) of these important crops.

Keywords: rhizobacteria, *Pseudomonas* spp., pepper, vegetable physalis, berry physalis, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, carotenoids, dry biomass, growth parameters.