

УДК 579.262: 579.64:631.46

Взаимодействие томатов (*Solanum lycopersicum* L.), трансформированных *rapA1*, с бактериями *Pseudomonas* sp. 102, устойчивыми к высоким концентрациям кадмия, как основа эффективной симбиотической системы для фиторемедиации

© 2019 З.Р. ВЕРШИНИНА^{1,*}, Л.Р. ХАКИМОВА¹, А.М. ЛАВИНА¹, Л.Р. КАРИМОВА¹, В.В. ФЕДЯЕВ², Ан. Х. БАЙМИЕВ^{1,2}, Ал. Х. БАЙМИЕВ¹

¹Институт биохимии и генетики, обособленное структурное подразделение ФГБУ НУ Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, 450054

²ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, Уфа, 450076

*e-mail: zilyaver@mail.ru

Поступила в редакцию 11.12.2018 г.

После доработки 14.02.2019 г.

Принята к публикации 15.03.2019 г.

Показано, что штамм *Pseudomonas* sp. 102, обладающий высокой устойчивостью к токсичному действию кадмия и ростостимулирующей активностью, может значительно увеличить ростовые параметры и биомассу растений томата, в том числе в условиях токсического воздействия кадмия. Наибольший положительный эффект наблюдался у растений, трансформированных геном бактериального адгезина *rapA1*, продукт экспрессии которого важен для колонизации бактериями корней растений. Также было показано, что побеги трансгенных растений томата накапливали наибольшее количество кадмия при инокуляции *Pseudomonas* sp. 102. Способность экстрагировать высокие концентрации кадмия и накапливать в условиях стресса большую биомассу открывает перспективы для дальнейшего использования ассоциативных взаимодействий между томатом и *Pseudomonas* для фиторемедиации.

Ключевые слова: фиторемедиация, кадмий, томат, *Pseudomonas*, инокуляция, агглютинины.

doi: 10.21519/0234-2758-2019-35-2-38-48

В настоящее время все более актуальной становится проблема загрязнения почв тяжелыми металлами (ТМ), которые токсичны для всех живых организмов и вызывают тяжелые заболевания животных и человека. Фиторемедиация – технология устранения, обезвреживания или перевод в менее токсичную форму экополлютантов с помощью растений. Данный метод достаточно часто применяют в случаях загрязнения почв ТМ, используя растения-гипераккумуляторы ТМ для восстановления биологической продуктивности

экосистем [1]. Для эффективной фиторемедиации исключительно важен поиск почвенных бактерий, повышающих доступность ТМ для растений [2, 3]. При этом если данные бактерии будут обладать ростостимулирующими свойствами, это значительно повысит устойчивость растений к стрессам, вызванным ТМ [4–10].

Особый интерес для фиторемедиации представляют бактерии рода *Pseudomonas*, широко распространенные в ризосфере растений. На сегодняшний день достаточно хорошо изучены факторы,

Список сокращений: ИКК – индолил-3-карбоновая кислота; ИМК – индолил-3-масляная кислота; ИУК – индолил-3-уксусная кислота; УМ – питательная среда на основе дрожжевого экстракта и маннитола; ТМ – тяжелые металлы; PBS – фосфатно-солевой буфер.

обуславливающие ростостимулирующую активность данных бактерий [11] и их роль в повышении доступности ТМ для растений [8, 12–14]. Достаточно много работ посвящено использованию *Pseudomonas* для повышения доступности ТМ для растений. Так, инокуляция *Brassica juncea* штаммом *P. fluorescens* Pf 27 способствовала поглощению растениями большего количества цинка, меди и кадмия [15]. Обработка этого же растения штаммом *P. aeruginosa* KP717554 усиливала поглощение хрома, кадмия и никеля [16]. Инокуляция *Catharanthus roseus* штаммом *P. fluorescens* RB4 способствовала накоплению меди и свинца в этих растениях [17]. Совместное культивирование *Suaeda vera* с *P. fluorescens* приводило к повышенному поглощению меди и цинка [18]. Инокуляция штаммом *Pseudomonas* sp. CPSB21 растений подсолнечника способствовала накоплению в растениях хрома [19].

Томат (*Solanum lycopersicum* L.) – одна из важнейших овощных культур в сельском хозяйстве многих стран. В связи с распространением загрязнения почв ТМ, в последние годы стали популярны исследования, посвященные накоплению ТМ в растениях томата [20–24], защите данной культуры от ТМ [25, 26], а также потенциальному использованию томатов в фиторемедиации, в том числе совместно с бактериями или грибами – микросимбионтами [27–30]. Интересно, что практически все популярные сельскохозяйственные культуры семейства Solanaceae оказались небезопасными для потребления в пищу из-за их способности к фитоэкстракции ТМ при выращивании на загрязненных почвах. Было показано, что значительное количество свинца накапливается в томатах, перцах и баклажанах [31]. В нескольких работах непосредственно изучалось совместное использование бактерий рода *Pseudomonas* и томатов для удаления из почвы хрома [19] и кадмия [32].

Для более успешной колонизации корневой системы растений симбиотическими бактериями необходимы дополнительные компоненты, способствующие лучшей адгезии микроорганизмов. В качестве такого компонента могут служить бактериальные агглютинины, в частности белок RapA1. Этот белок, обнаруженный в ризобиях, является внеклеточным Ca^{2+} -связывающим белком, который распознает полисахариды на поверхности бактериальных растительных клеток [33, 34]. RapA1 имеет сходство с другим адгезином ризобий – рикадгезином, который также может связывать Ca^{2+} и способствовать адсорбции ризобий на корнях. Было показано, что последовательность гена *rapA1* имеет гомологию с после-

довательностями генов *pssP* и *exoP*, участвующих в синтезе экзополисахаридов, которые играют важную роль в процессах колонизации бактериями поверхности корней растений [33]. Несмотря на то, что RapA1 обнаружен лишь у нескольких видов ризобий, этот белок не является строго специфичным и может способствовать агглютинации на растениях других бактерий, отличных от ризобий. В связи с этим ген *rapA1* можно использовать для трансформации растений с целью создания новых устойчивых симбиотических систем для фиторемедиации [35].

Цель данного исследования – определение потенциала совместного применения штамма *Pseudomonas* sp. 102 и растений томата, трансформированных геном *rapA1*, для создания эффективных биологических систем для очистки окружающей среды от кадмия.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Объекты и материал исследования

В качестве микросимбионта в работе был использован штамм *Pseudomonas* sp. 102 из коллекции симбиотических микроорганизмов ИБГ УФИЦ РАН «Симбионт». Данный штамм, выделенный из корней чины болотной (*Lathyrus palustris* L.), характеризуется фунгистатической активностью против грибов рода *Fusarium*, ростостимулирующей активностью по отношению к проросткам большинства сельскохозяйственных культур, а также обладает высокой устойчивостью к токсичному действию Cd^{2+} (способен к росту при 400 мкМ Cd^{2+} в среде) и способен вырабатывать катехольные сидерофоры [36, 37].

Для визуализации данные бактерии были маркированы флуоресцентным белком TurboGFP [38]. Векторные конструкции в бактерии переносили методом электропорации, согласно инструкции прибора MicroPulser™ Electroporator (Bio-Rad Laboratories, Германия). В качестве селективного антибиотика использовался гентамицин (50 мг/мл).

Способность штамма образовывать индолпроизводные определяли, используя реактив Сальковского [39]. В качестве прекурсора в среде УМ добавляли 200 мг/л DL-триптофана. Концентрацию индолпроизводных определяли колориметрически при $\lambda = 540$ нм, сравнивая со стандартными растворами ИУК в УМ.

Культуру *Pseudomonas* sp. 102 для всех экспериментов выращивали в течение 2 сут в стеклянных колбах в жидкой среде УМ следующего

состава, масс.% в водном растворе: маннитол – 1; дрожжевой экстракт – 0,04; NaCl – 0,01; MgSO₄ – 0,01; K₂HPO₄·3H₂O – 0,05 на качалке при 28 °С и 140 об/мин до концентрации 10⁸ КОЕ/мл.

В качестве макросимбионта были использованы растения томата сорта «Грунтовый грибовский 1180» полученного ВНИИ селекции и семеноводства овощных культур методом индивидуального и массового отбора из гибрида Бизон 639×Лучший из всех 318 с дальнейшим направленным воспитанием, районирован в 1950 г. Растения были трансформированы геном *rapA1* с помощью векторной конструкции pCambia1301LPSLRapA1 [40, 41]. Для экспериментов была выбрана линия трансгенных растений, показавшая во втором поколении устойчивую экспрессию *rapA1* (выделение белка RapA1 на поверхности корней было доказано с помощью иммунофлуоресцентного анализа) [41].

Анализ влияния *Pseudomonas* sp. 102 на прорастание семян и развитие корневой системы проростков растений

Семена растений томата в течение 1 мин стерилизовали в 70%-ном спирте, 20 мин в 5%-ном растворе гипохлорита натрия и трижды отмывали стерильной дистиллированной водой. Далее семена 10 мин выдерживали в 1 мл бактериальной суспензии, доведенной до концентрации 10⁵ КОЕ/мл, на 1 г семян с добавлением 0 (контроль), 25, 50, 100 мкМ Cd²⁺ в виде CdCl₂. Затем инокулированные семена раскладывали на влажную фильтровальную бумагу в чашки Петри. Часть семян оставляли неинокулированными. После одной недели инкубации оценивали влияние бактерий и концентрации кадмия на прорастание семян, длину корня и побега проростков. Все эксперименты проводили при 25 °С.

Оценка характера колонизации *Pseudomonas* sp. 102 корней растений

Инокуляцию стерильных растений проводили согласно статье [42] с модификациями. Проростки в возрасте 1 недели выдерживали при покачивании (25 об/мин) в суспензии бактерий (10⁵ КОЕ/мл) в 50 мМ фосфатно-солевом буфере (PBS), pH 7,2. Для приготовления суспензий использовали 2-суточные культуры бактерий, выращенные в жидкой среде YM и отмытые от PBS. Через 3 ч проростки промывали стерильным PBS и помещали в пробирки, содержащие 10 мл жидкой среды MS (pH 5,8) следующего состава, масс.% в водном растворе: соли MS – 0,47; инозитол – 0,01 с добавлением 0 (контроль), 50, 100 мкМ

Cd²⁺ в виде CdCl₂. Растения выращивали 7 сут при 25 °С и естественном освещении. Затем проростки 3 раза промывали PBS (по 5 мин при покачивании 25 об/мин) и корни нарезали на фрагменты длиной 10–15 мм. Для определения количества адгезированных бактерий фрагменты корней взвешивали и гомогенизировали в 50 мкл жидкой среды YM. Полученный объем разбавляли в 1000 раз и 50 мкл полученной суспензии рассеивали на агаризованную YM (агар-агар 1,5%) и выращивали в термостате при 28 °С в течение 2 сут. Количество адгезированных бактерий определяли по числу выросших колоний. Часть фрагментов корней использовали для визуальной оценки колонизации бактериями поверхности корневых волосков растений с использованием флуоресцентного микроскопа Axio Imager M1 (Carl Zeiss, Германия).

Обработка трансгенных и контрольных растений кадмием и бактериями

Стерильные семена проращивали в контейнерах с прокаленным вермикулитом. Проростки поливали стерильным раствором MS с 0,3% сахарозы (масс.). В возрасте 4 недель растения пересаживали в водную культуру в сосуды объемом 5 л (по 5 растений на сосуд), заполненные стерильным раствором MS без сахарозы. Растворы в сосудах постоянно аэрировали с помощью микрокомпрессоров и обновляли каждые 7 сут. Величину pH растворов поддерживали на уровне 5,7–5,8. Культивирование семян и проростков растений проводили при температуре 25 °С и 16-часовом световом дне в климатической камере KBW 240 (Binder, Германия).

Эксперименты по воздействию Cd и *Pseudomonas* sp. 102 проводили на растениях, достигших 6-недельного возраста. Корни проростков выдерживали в течение 1 ч в суспензии *Pseudomonas* sp. 102 (10⁵ КОЕ/мл в среде YM). Часть проростков оставляли необработанными в качестве контроля. После инокуляции растения промывали PBS (250 мл на растение) 5 мин при покачивании 25 об/мин и переносили по 5 растений в сосуды объемом 5 л на жидкую MS без сахарозы с добавлением CdCl₂, согласно схеме опыта (при постоянной аэрации и pH 5,7–5,8) Концентрации вносимого в растворы Cd²⁺ составляли 0 (контроль), 50 и 100 мкМ, продолжительность эксперимента – 7 сут.

По окончании эксперимента проводили анализ растений. Растения разделяли на корни и побеги. Корни в течение 5 мин отмывали последовательно в 0,1 мМ растворе CaCl₂ (АО «Химреактивснаб», Россия) и в дистиллированной воде для удаления

Cd, адсорбированного на их поверхности. Далее растительный материал фиксировали при 105 °С в течение 1 ч, высушивали при 70 °С в течение 24 ч до абсолютно сухого веса и взвешивали.

Определение содержания кадмия в растениях

Подготовку проб для анализа проводили методом сухого озоления. 200 мг сухого материала измельчали в фарфоровой ступке и сжигали при 500 °С в муфельной печи в течение 4 ч. Полученный зольный остаток растворяли в 1 мл азотной кислоты (1М), переносили в мерные колбы на 100 мл и доводили раствор до метки раствором азотной кислоты (0,01М). Определение содержания кадмия проводили методом инверсионной полярографии с использованием вольтамперометрического анализатора с программируемым роботизированным автосамплером АС-01/3Д и углеродным электродом «три в одном» (НПП «Эконикс-Эксперт», Россия), согласно инструкции по использованию прибора.

Статистическая обработка результатов

Во всех случаях проводили не менее пяти независимых экспериментов как минимум в пяти повторностях. Результаты обрабатывали с использованием пакета Microsoft Office Excel 2010, доверительные интервалы определяли для 95%-ного уровня значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияния *Pseudomonas* sp. 102 на прорастание семян, длину корней и побегов при воздействии на растения кадмия

Результаты, полученные в данной работе, показали, что воздействие кадмия снижает всхожесть семян как контрольных, так и трансгенных растений на 35% в случае обработки 25 мкМ Cd²⁺ и на 75% – при обработке 50 мкМ Cd²⁺, в экспериментах с концентрацией 100 мкМ Cd²⁺ прорастание семян полностью ингибировалось. При этом инокуляция бактериями практически не влияла на эти показатели, кроме эксперимента, где семена трансгенных растений были обработаны 25 мкМ Cd²⁺ и *Pseudomonas* sp. 102. В данном случае бактерии смогли значительно снизить токсическое действие ТМ, и процент всхожести семян приблизился к значениям всхожести для семян растений, не обработанных Cd (рис. 1).

Есть данные, что относительно низкие концентрации ТМ не оказывают негативного действия на прорастание семян многих видов растений, однако, в присутствии высоких концен-

траций ТМ процесс прорастания существенно замедляется или даже полностью останавливается, что связано с непосредственным действием ТМ на процесс деления и растяжения клеток [43]. Тем не менее, способность семян прорасти в

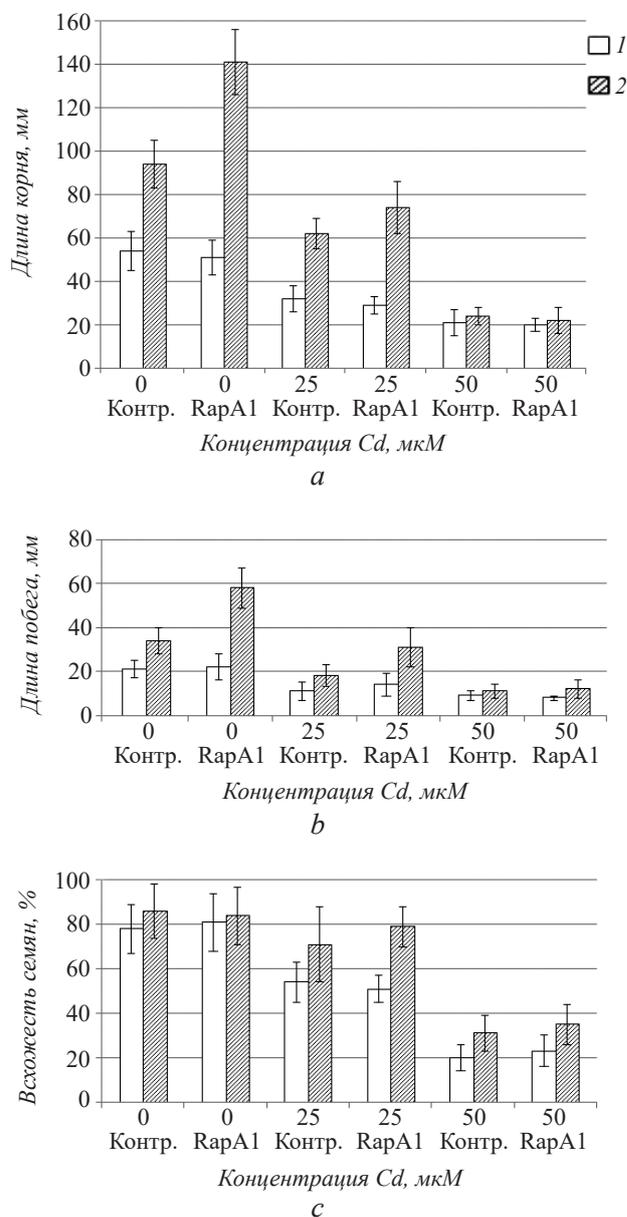


Рис. 1. Влияние *Pseudomonas* sp. 102 на длину корней (a), побегов (b) и на прорастание семян (c) при воздействии на растения Cd. 1 – растения, не обработанные бактериями; 2 – растения, обработанные бактериями *Pseudomonas* sp. 102. Контр. – не трансгенные растения; RapA1 – растения, трансформированные геном *rapA1*

Fig. 1. Effects of *Pseudomonas* sp. 102 on the length of roots (a) shoots (b) and seed germination (c), under Cd²⁺ exposure. 1 – non-inoculated plants; 2 – plants inoculated with *Pseudomonas* sp. 102; Контр – non-transgenic plants; RapA1 – plants carrying the *rapA1* gene

присутствии высоких концентраций ТМ является одним из критериев отбора видов растений для их использования в фиторемедиации [44].

Инокуляция *Pseudomonas* sp. 102 положительно воздействовала на рост корней и побегов как контрольных, так и трансгенных проростков. Так, бактерии увеличивали на 75% и 180% рост побегов, а также на 65% и 165% рост корней контрольных и трансгенных растений соответственно. Обработка кадмием снижала рост побегов как контрольных, так и трансгенных растений на 40% в случае обработки 25 мкМ Cd²⁺ и на 50% при обработке 50 мкМ Cd²⁺. Рост корней также угнетался на 40% в случае обработки 25 мкМ Cd²⁺ и на 60% при обработке 50 мкМ Cd²⁺. Однако инокуляция *Pseudomonas* sp. 102 в ряде экспериментов позволяла преодолевать токсическое действие Cd. Так, бактерии увеличивали на 90% и 158% рост побегов контрольных и трансгенных растений соответственно, а также на 114% рост корней трансгенных растений при 25 мкМ Cd²⁺ в среде по сравнению с неинокулированными вариантами (см. рис. 1).

На сегодняшний день достаточно много работ посвящено использованию *Pseudomonas* для преодоления токсического действия ТМ на проростки растений. Например, инокуляция семян *B. juncea* бактериями *Pseudomonas aeruginosa* KP717554 увеличивала длину корня, длину побега и прорастание семян на 50%, 48% и 24% соответственно в присутствии 100 мкМ K₂Cr₂O₇ в среде [16]; инокуляция томатов *Pseudomonas* sp. RJ10 и *Bacillus* sp. RJ16 увеличивала длину корней проростков на 10% после обработки семян совместно Cd (50 мг/л) и Pb (100 мг/л) [32].

Полученные в данной работе результаты показали, что штамм *Pseudomonas* sp. 102 обладает ростостимулирующей активностью по отношению к растениям томата, в том числе в условиях токсического действия Cd²⁺. При этом наиболее эффективно это проявлялось в случае трансгенных по гену *rapA1* растений, что позволяет высказать предположение о более эффективной колонизации бактериями поверхности корней трансгенных растений.

Хорошо известно, что бактериальные индолпроизводные могут способствовать прорастанию семян путем инициирования появления корней, а также способствовать развитию побегов, стимулируя деление и рост клеток растений [45]. Анализ способности штамма производить индолпроизводные (ИУК, ИМК, ИКК) показал, что *Pseudomonas* sp. 102 вырабатывает в среднем 22 мкг/мл данных соединений (рис. 2). Однако это количе-

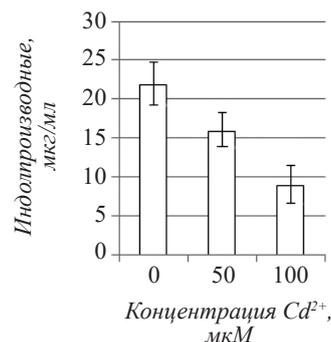


Рис. 2. Анализ способности *Pseudomonas* sp. 102 образовывать индолпроизводные (ИУК, ИМК, ИКК) в зависимости от концентрации Cd²⁺

Fig. 2. Analysis of the ability of *Pseudomonas* sp. 102 to form indole derivatives (IAA, IBA, ICA) depending on the Cd²⁺ concentration

ство уменьшается до 16 мкг/мл и 8 мкг/мл при добавлении в среду 50 мкМ Cd²⁺ и 100 мкМ Cd²⁺ соответственно, что объясняет отсутствие ростостимулирующего эффекта бактерий на трансгенные и контрольные растения при концентрации 100 мкМ Cd²⁺ в среде.

Колонизация *Pseudomonas* sp. 102 контрольных и трансгенных растений при воздействии кадмия

Проведенные эксперименты показали, что поверхность корней трансгенных растений колонизировалась бактериями *Pseudomonas* sp. 102 в среднем в 1,5 раза эффективнее, чем поверхность корней контрольных нетрансформированных растений вне зависимости от концентрации Cd²⁺ в среде (рис. 3). Полученные результаты, вероятно, обусловлены тем, что адгезин RapA1 взаимодействует с полисахаридами на поверхности клеток *Pseudomonas* sp. 102, способствуя прикреплению этих бактерий к корням растений.

Ранее проводились эксперименты по получению трансгенных томатов, вырабатывающих вещества, необходимые для модификации взаимодействия с микросимбионтами для более успешного преодоления стрессовых воздействий окружающей среды. Так, например, были получены томаты, продуцирующие N-ацил-гомосеринлактон, который является регулятором экспрессии генов «quorum sensing», контролирующего взаимодействие бактериальных клеток с эукариотическими клетками хозяина и их колонизацию. Полученные результаты показали, что с помощью N-ацил-гомосеринлактона можно

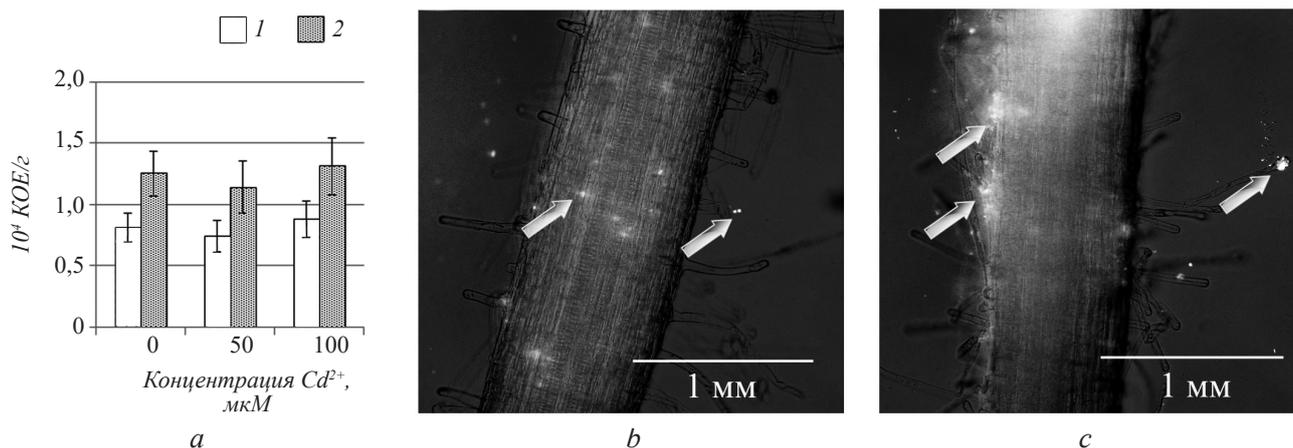


Рис. 3. Колонизация *Pseudomonas* sp. 102 контрольных и трансгенных растений при воздействии Cd: *a* – диаграмма с численными показателями (1 – контрольные растения; 2 – растения, трансформированные геном *rapA1*); *b* – корень контрольного растения; *c* – корень трансгенного растения. Стрелками отмечены маркированные GFP клетки бактерий

Fig. 3. Colonization by *Pseudomonas* sp. 102 of control and transgenic plants under Cd²⁺ exposure: *a*, numerical values (1 – non-transgenic plants (control); 2 – RapA1-plants carrying the *rapA1* gene); *b*, the root of a control plant; *c*, the root of a transgenic plant. Arrows indicate GFP tagged bacterial cells

модулировать способности штаммов *Burkholderia graminis* стимулировать рост растений и защищать их от солевого стресса, однако эксперименты по выявлению эффективности колонизации не были проведены [46]. Также были получены растения томата, трансформированные геном лектина *psl*, что улучшало колонизацию данных растений бактериями *R. leguminosarum*, обладающими фунгистатической активностью. Впоследствии трансгенные растения, обработанные бактериями, оказались устойчивыми к фитопатогену *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* [40].

Белок RapA1 близок к лектинам, которые являются белками, способными узнавать и связывать углеводные компоненты разных соединений. Это также подтверждается гомологией гена *rapA1* с генами, участвующими в синтезе экзополисахаридов, а также сходством Ра-последовательностей белков Rap, PlyA и PlyB. По ряду свойств RapA1 напоминает лектин *B. japonicum* VJ38 [47]. Оба являются периферическими мембранными белками, локализованными на одном из полюсов клетки, и способны агглютинировать бактерии. Вероятно, белок RapA1 принимает непосредственное участие в процессах прикрепления бактерий к корням растений, так же, как и лектин VJ38. Это открывает перспективы для применения данного бактериального адгезина в качестве инструмента для создания различных искусственных симбиотических систем между бактериями и растениями, в том числе для фиторемедиации почв [33, 35, 48].

Влияние *Pseudomonas* sp. 102 на биомассу контрольных и трансгенных растений при воздействии кадмия

Результаты, полученные в данной работе, показали, что воздействие Cd снижало сухую биомассу как контрольных, так и трансгенных растений. Так, содержание в питательной среде 50 мкМ Cd²⁺ уменьшало в среднем на 30% сухую биомассу побегов и корней, а воздействие 100 мкМ Cd²⁺ уменьшало на 40% и 50% сухую биомассу корней и побегов, соответственно, как у контрольных, так и у трансгенных растений (рис. 4а, 4б) по сравнению с растениями, не подвергавшимися воздействию кадмия. Также при 100 мкМ Cd²⁺ у растений ярко проявлялись результаты токсического действия ионов Cd²⁺, такие как хлороз листьев, красно-бурая окраска их краев и некроз корней [20].

Ингибирующее влияние Cd²⁺ на накопление биомассы корней и побегов растений связывают как с непосредственным воздействием этого ТМ на клеточное деление и растяжение, так и с нарушением общего метаболизма растений: подавлением деятельности корневой системы, нарушением минерального питания, изменением гормонального баланса, снижением интенсивности фотосинтеза и транспирации [44].

Инокуляция *Pseudomonas* sp. 102 положительно воздействовала на накопление сухой биомассы корней и побегов как контрольных, так и трансгенных проростков. Так, бактерии увеличивали на

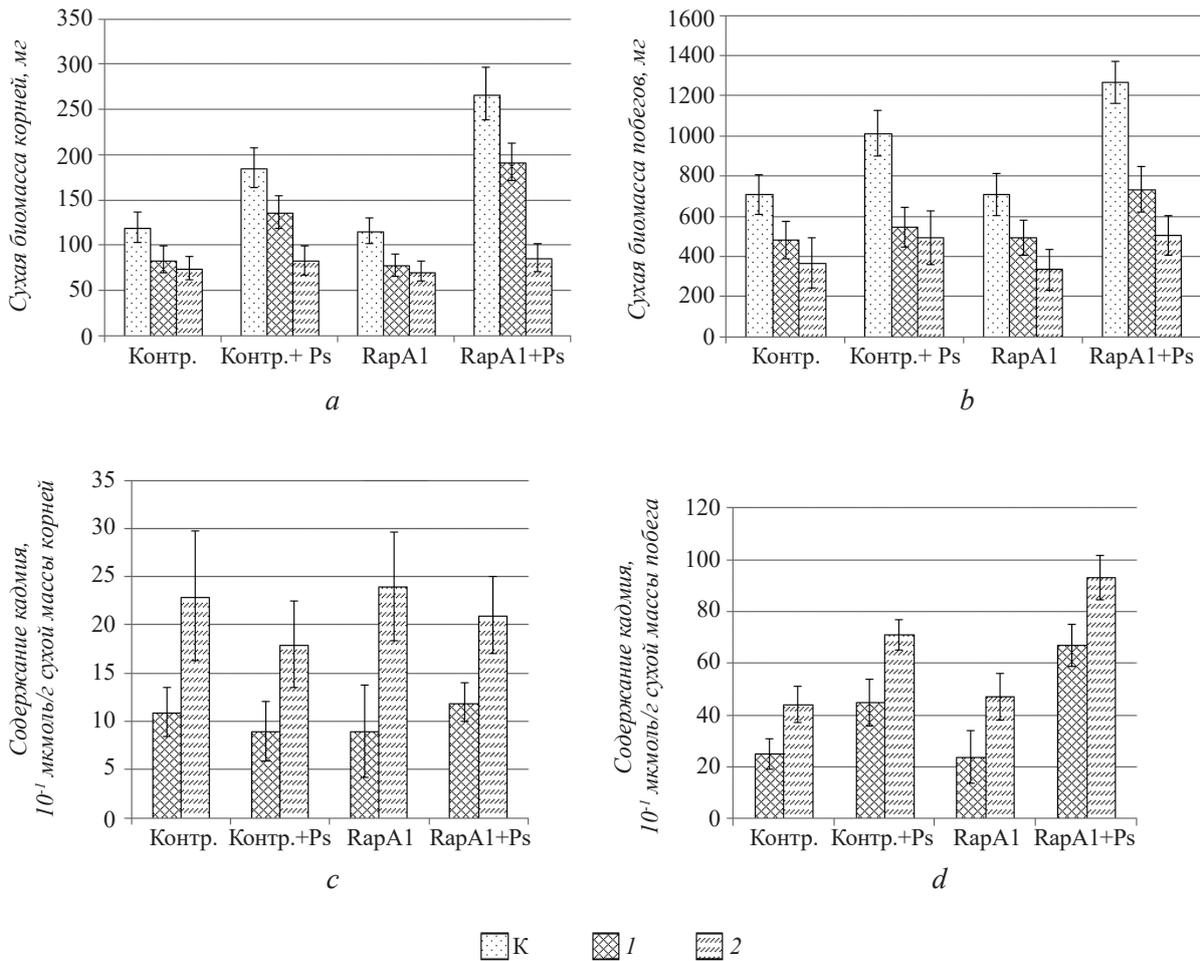


Рис. 4. Влияние *Pseudomonas* sp. 102 на содержание кадмия и биомассу контрольных и трансгенных растений при воздействии Cd²⁺: а – сухая биомасса корней; б – сухая биомасса побегов; в – содержание Cd²⁺ в корнях; д – содержание Cd²⁺ в побегах. Контр. – нетрансформированные растения; Контр.+Ps – нетрансформированные растения, обработанные бактериями; RapA1 – трансформированные геном *rapA1* растения; RapA1+Ps – трансформированные геном *rapA1* растения, обработанные бактериями. К – отсутствие Cd²⁺ в питательной среде (контроль); 1 – 50 мкМ Cd²⁺ в питательной среде; 2 – 100 мкМ Cd²⁺ в питательной среде

Fig. 4. Effect of *Pseudomonas* sp. 102 on the content of cadmium and biomass of control and transgenic plants under Cd²⁺ exposure: a, dry weight of roots; b, dry weight of shoot; c, Cd²⁺ content in roots; d, Cd²⁺ content in shoots. Контр. – non-transgenic plant; Контр.+Ps – non-transgenic plant, inoculated *Pseudomonas* sp. 102; RapA1 – transgenic plant with *rapA1* gene; RapA1+Ps – transgenic plant with *rapA1* gene, inoculated *Pseudomonas* sp. 102. К – the absence of Cd²⁺ in nutrient medium (control); 1 – 50 μM Cd²⁺ in nutrient medium; 2 – 100 μM Cd²⁺ in nutrient medium

40% и 80% рост побегов, а также на 55% и 130% рост корней контрольных и трансгенных растений соответственно. Более высокие показатели в случае трансгенных растений, вероятно, связаны с эффективной колонизацией бактериями поверхности корней трансгенных растений (рис. 4а, 4б).

В ряде работ рассматривалось влияние инокуляции *Pseudomonas* на биомассу растений при токсическом воздействии ТМ. Так, например, инокуляция *B. juncea* бактериями *Pseudomonas aeruginosa* KP717554 увеличивала сухую биомассу растений на 30,6% при выращивании на среде с добавлением 150 мг/кг K₂Cr₂O₇ [16]; инокуляция то-

матов *Pseudomonas* sp. RJ10 увеличивала биомассу корней и побегов в среднем на 30% и 20% соответственно при выращивании растений в почве, содержащей Cd (95,8 мг/кг) и Pb (189 мг/кг) [32].

В данной работе инокуляция *Pseudomonas* sp. 102 в ряде экспериментов также позволяла преодолевать токсическое действие Cd. Так, бактерии увеличивали на 62% и 146% биомассу корней контрольных и трансгенных растений соответственно, а также на 49% биомассу побегов трансгенных растений при 50 мкМ Cd²⁺ в среде. В опытах со 100 мкМ Cd²⁺ в среде статистически значимых положительных результатов получено

не было, что, вероятно, связано с высокой концентрацией ТМ и уменьшением выработки бактериями индолпроизводных (рис. 4а, 4б)

Влияние *Pseudomonas* sp. 102 на поглощение Cd^{2+} контрольными и трансгенными растениями

Факторами, которые в наибольшей степени ограничивают эффективность фиторемедиации, являются недостаточное накопление биомассы растениями и низкая доступность ТМ из почв. Последнее можно решить с помощью бактерий, которые, как известно, принимают непосредственное участие в биогеохимическом цикле ТМ и значительно увеличивают их доступность для растений [49]. Хотя в водной культуре, в отличие от культивирования в почве, нельзя в полной мере оценить влияние бактерий на доступность ТМ для растений, в данной работе в целом были получены положительные результаты влияния *Pseudomonas* sp. 102 на поглощение Cd растениями томата.

Инокуляция *Pseudomonas* sp. 102 практически не влияла на накопление кадмия в корнях контрольных и трансгенных растений: в среднем 1 мкмоль/г – для концентрации 50 мкМ Cd^{2+} в среде и 2 мкмоль/г – для концентрации 100 мкМ Cd^{2+} . Содержание кадмия в побегах контрольных и трансгенных растений, необработанных бактериями, составляло в среднем 2,5 мкмоль/г для концентрации 50 мкМ Cd^{2+} в среде и 4,5 мкмоль/г для концентрации 100 мкМ Cd^{2+} (рис. 4с, 4д).

Инокуляция контрольных и трансгенных растений *Pseudomonas* sp. 102 значительно увеличивала накопление кадмия в побегах. Для контрольных растений содержание Cd было на 80% и 61% больше по сравнению с не обработанными бактериями растениями при концентрациях 50 и 100 мкМ Cd^{2+} в среде соответственно. Концентрация Cd в побегах трансгенных растений, инокулированных *Pseudomonas* sp. 102, была на 180% и 98% больше при концентрациях 50 и 100 мкМ Cd^{2+} в среде соответственно по сравнению с трансгенными растениями, не обработанными бактериями (рис. 4с, 4д).

Коэффициент транслокации кадмия TF, рассчитанный по формуле $TF = \frac{\text{концентрация } Cd^{2+} \text{ в побегах}}{\text{концентрация } Cd^{2+} \text{ в корнях}}$ [50], оказался для всех экспериментов >1 . Так как TF отражает эффективность транспорта тяжелых металлов из корневой системы в надземную часть растений, полученные результаты доказывают, что томат сорта «Грунтовый грибовский 1180» является растением-гипераккумулятором Cd^{2+} .

Преимущественное накопление Cd в побегах растений, а не в корнях, характерно не для

всех растений. Зачастую корни накапливают большие концентрации Cd, что связано с включением физиологических механизмов, которые препятствуют продвижению ТМ в надземные части растений [29]. Существует ряд исследований по преимущественному накоплению Cd в корнях растений томата [51–53]. Тем не менее, есть работы, доказывающие, что для томата характерно накопление Cd в побегах [21, 22, 54–57]. Возможно, характер аккумуляции связан с сортовыми особенностями экспериментальных растений и условиями постановки эксперимента. Например, существует работа, доказывающая, что обработка растений томата *Pseudomonas* может способствовать повышению концентрации ТМ в надземных частях растений. Так, инокуляция *Pseudomonas* sp. RJ10 на 34% увеличивала накопление Cd в надземных тканях томата, незначительно влияя на его и так достаточно низкую концентрацию в корнях растений [32]. В большинстве статей накопление ТМ в растениях в присутствии микросимбионтов связано с повышением доступности ТМ в почве [15, 16, 32]. Положительный эффект *Pseudomonas* sp. 102 на водную культуру томатов, наблюдаемый в данной статье, возможно, объясняется сглаживанием бактериями токсического воздействия Cd на растения и требует дальнейшего изучения.

Данная работа показала, что растения томата сорта «Грунтовый грибовский 1180» могут быть использованы в качестве гипераккумуляторов тяжелых металлов. Обычно таковыми считаются растения, накапливающие более 100 мг/кг Cd в побегах [58]. Используемый в экспериментах сорт томата накапливал в побегах от 250 до 1000 мг/кг Cd в различных вариантах экспериментов (коэффициент транслокации TF был во всех экспериментах >1), что не оставляет сомнений в потенциале использования данного растения для фиторемедиации. Также было показано, что штамм *Pseudomonas* sp. 102 обладал ростостимулирующей активностью по отношению к растениям томата в условиях токсического действия Cd^{2+} , в том числе способствуя повышению растительной биомассы. Также эти бактерии способствовали накоплению Cd в надземной части растений. При этом наиболее эффективным для фиторемедиации являлось взаимодействие *Pseudomonas* sp. 102 с трансгенными по гену *rapA1* растениями томата, продуцирующими адгезин, который способствовал колонизации бактериями поверхности корней.

Использование инструментов модификации растительно-микробных взаимодействий открывает большие возможности в области фиторемедиации

и рождает новые перспективы для создания эффективных биологических систем для очистки окружающей среды от экополлютантов.

Работа была выполнена с привлечением приборного парка ЦКП «Биомика» Института биохимии и генетики УФИЦ РАН в рамках госзадания (тема № АААА-А16-116020350028-4) при финансовой поддержке грантами Российского фонда фундаментальных исследований № 18-34-20004 мол_a_вед и №18-34-00033 мол_a.

ЛИТЕРАТУРА

- Lynch J.M., Moffat A.J. Bioremediation—prospects for the future application of innovative applied biological research. *Ann. Appl. Biol.* 2005, 146(2), 217–221. doi: 10.1111/j.1744-7348.2005.040115.x
- Whiting S.N., de Souza M.P., Terry N. Rhizosphere bacteria mobilize Zn for hyperaccumulation by *Thlaspi caerulescens*. *Envir. Sci. Tech.*, 2001, 35(15), 3144–3150. doi: 10.1021/es001938v
- Abou-Shanab R.A.I., Angle J.S., Chaney R.L. Bacterial inoculants affecting nickel uptake by *Alyssum murale* from low, moderate and high Ni soils. *Soil Biol. Biochem.*, 2006, 38(9), 2882–2889. doi: 10.1016/j.soilbio.2006.04.045
- Egamberdiyeva D., Höflich G. Effect of plant growth-promoting bacteria on growth and nutrient uptake of cotton and pea in a semi-arid region of Uzbekistan. *J. Arid. Environ.*, 2004, 56(2), 293–301. doi: 10.1016/S0140-1963(03)00050-8
- Sheng X.F., Xia J.J. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria. *Chemosphere*. 2006, 64(6), 1036–1042. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.01.051
- Zaidi S., Usmani S., Singh B.R., Musarrat J. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. *Chemosphere*. 2006, 64(6), 991–997. doi: 10.1016/j.chemosphere.2005.12.057
- Dell'Amico E., Cavalca L., Andreoni V. Analysis of rhizobacterial communities in perennial Gramineae from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2005, 52(2), 153–162. doi: 10.1016/j.femsec.2004.11.005
- Jiang C.Y., Sheng X.F., Qian M., Wang Q.Y. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil. *Chemosphere*. 2008, 72(2), 157–164. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.02.006
- Ma Y., Rajkumar M., Luo Y., Freitas H. Phytoextraction of heavy metal polluted soils using *Sedum plumbizincicola* inoculated with metal mobilizing *Phyllobacterium myrsinacearum* RC6b. *Chemosphere*. 2013, 93(7), 1386–1392. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.06.077
- Abdelkrim S., Jebara S.H., Saadani O., et al. Effect of Pb-resistant plant growth-promoting rhizobacteria inoculation on growth and lead uptake by *Lathyrus sativus*. *J. Basic Microb.* 2018, 58(7), 579–589. doi: 10.1002/jobm.201700626
- Dorjey S., Dolkar D., Sharma R. Plant growth promoting rhizobacteria *Pseudomonas*: a review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2017, 6(7), 1335–1344. doi: 10.20546/ijcmas.2017.607.160
- Liu W., Sun J., Ding L., et al. Rhizobacteria (*Pseudomonas* sp. SB) assist phytoremediation of oily-sludge-contaminated soil by tall fescue (*Festuca arundinacea* L.). *Plant Soil*, 2013, 371(1-2), 533–542. doi: 10.1007/s11104-013-1717-x
- Yu Y., Zhang Y., Zhang Q., et al. Improvement of heavy metal resistant bacteria on phytoremediation of reclaimed land using coal gangue. *J. Residuals Sci. Tech.*, 2015, 12 (Suppl. 1), S105–S113. doi: 10.12783/issn.1544-8053/12/S1/16
- Wang B., Wang Q., Liu W., et al. Biosurfactant-producing microorganism *Pseudomonas* sp. SB assists the phytoremediation of DDT-contaminated soil by two grass species. *Chemosphere*, 2017, 182, 137–142. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.04.123
- Fuloria A., Saraswat S., Rai J.P.N. Effect of *Pseudomonas fluorescens* on metal phytoextraction from contaminated soil by *Brassica juncea*. *Chem. Ecol.*, 2009, 25(6), 385–396. doi: 10.1080/02757540903325096
- Ndeddy Aka R.J., Babalola O.O. Effect of bacterial inoculation of strains of *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes faecalis* and *Bacillus subtilis* on germination, growth and heavy metal (Cd, Cr, and Ni) uptake of *Brassica juncea*. *Int. J. Phytoremediat*, 2016, 18(2), 200–209. doi: 10.1080/15226514.2015.1073671
- Khan W.U., Ahmad S.R., Yasin N.A., et al. Effect of *Pseudomonas fluorescens* RB4 and *Bacillus subtilis* 189 on the phytoremediation potential of *Catharanthus roseus* (L.) in Cu and Pb-contaminated soils. *Int. J. Phytoremediat*, 2017, 19(6), 514–521. doi: 10.1080/15226514.2016.1254154
- Gomez-Garrido M., Mora Navarro J., Murcia Navarro F.J., Faz Cano A. The chelating effect of citric acid, oxalic acid, amino acids and *Pseudomonas fluorescens* bacteria on phytoremediation of Cu, Zn, and Cr from soil using *Suaeda vera*. *Int. J. Phytoremediat*, 2018, 20(10), 1033–1042. doi: 10.1080/15226514.2018.1452189
- Gupta P., Rani R., Chandra A., Kumar V. Potential applications of *Pseudomonas* sp. (strain CPSB21) to ameliorate Cr⁶⁺ stress and phytoremediation of tannery effluent contaminated agricultural soils. *Sci. Rep.*, 2018, 8(1), 4860. doi: 10.1038/s41598-018-23322-5
- Jing D., Fei-bo W.U., Guo-ping Z. Effect of cadmium on growth and photosynthesis of tomato seedlings. *J. Zhejiang Univ. Sc. B.*, 2005, 6(10), 974. doi: 10.1631/jzus.2005.B0974
- Mediouni C., Benzarti O., Tray B., et al. Cadmium and copper toxicity for tomato seedlings. *Agron. Sustain. Dev.*, 2006, 26(4), 227–232. doi: 10.1051/agro:2006008
- Adefemi O.S., Awokunmi E.E. Uptake of heavy metals by tomato (*Lycopersicon esculentus*) grown on soil collected from dumpsites in Ekiti State, South West, Nigeria. *Int. J. Chem.*, 2013, 5(3), 70. doi: 10.5539/ijc.v5n3p70

23. Saeed A., Sohail M., Rashi N. Effects of heavy metals toxicity on the biochemical response in tomato plants grown in contaminated silt-soil. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.*, 2013, 48(4), 229–236. doi: 10.3329/bjsir.v48i4.9754
24. Piotto F.A., Carvalho M.E.A., Souza L.A., et al. Estimating tomato tolerance to heavy metal toxicity: cadmium as study case. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2018, 25(27), 27535–27544. doi: 10.1007/s11356-018-2778-4
25. Ouziad F., Hildebrandt U., Schmelzer E., Bothe H. Differential gene expressions in arbuscular mycorrhizal-colonized tomato grown under heavy metal stress. *J. Plant Physiol.*, 2005, 162(6), 634–649. doi: 10.1016/j.jplph.2004.09.014
26. Umapathi M., Kalarani M.K., Bharathi M.U., Kalaiselvi P. Cadmium induced stress mitigation in tomato by exogenous melatonin. *Int. J. Pure App. Biosci.*, 2018, 6(1), 903–909. doi: 10.18782/2320-7051.5933
27. Sorkhoh N.A., Ali N., Al-Awadhi H., et al. Phytoremediation of mercury in pristine and crude oil contaminated soils: Contributions of rhizobacteria and their host plants to mercury removal. *Ecotox. Environ. Safe*, 2010, 73(8), 1998–2003. doi: 10.1016/j.ecoenv.2010.08.033
28. Khan A.L., Waqas M., Hussain J., et al. Phytohormones enabled endophytic fungal symbiosis improve aluminum phytoextraction in tolerant *Solanum lycopersicum*: An examples of *Penicillium janthinellum* LK5 and comparison with exogenous GA₃. *J. Hazard. Mater.*, 2015, 295, 70–78. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.04.008
29. Andal F.A. Assessment of the possible utilization of tomato as a phytoremediant in soils artificially contaminated with heavy metals. *Int. J. App. Environ. Sci.*, 2016, 11(1), 193–209. https://www.ripublication.com/ijaesv11n1_16.pdf
30. Chaturvedi R., Favas P.J.C., Pratas J., et al. Effect of *Glomus mosseae* on accumulation efficiency, hazard index and antioxidant defense mechanisms in tomato under metal(loid) stress. *Int. J. Phytoremediat*, 2018, 20(9), 885–894. doi: 10.1080/15226514.2018.1438360
31. Shilev S., Babrikov T. Heavy metal accumulation in Solanaceae-plants grown at contaminated area. Proceedings of the Balkan scientific conference of biology in Plovdiv, Bulgaria, 19–21.05.2005 (B. Gruev, M. Nikolova, A. Donev, Eds.). 452–460. <http://web.uni-plovdiv.bg/mollov/bio/bscb2005/part1/452-460.pdf>
32. He L.Y., Chen Z.J., Ren G.D., et al. Increased cadmium and lead uptake of a cadmium hyperaccumulator tomato by cadmium-resistant bacteria. *Ecotox. Environ. Safe*, 2009, 72(5), 1343–1348. doi: 10.1016/j.ecoenv.2009.03.006
33. Ausmees N., Jacobsson K., Lindberg M. A unipolarly located, cell-surface-associated agglutinin RapA belongs to a family of *Rhizobium*-adhering proteins (Rap) in *Rhizobium leguminosarum* bv. *Trifolii*. *Microbiology*, 2001, 147, 549–559. doi: 10.1099/00221287-147-3-549
34. Mongiardini E.J., Ausmees N., Perez-Gimenez J. The rhizobial adhesion protein RapA1 is involved in adsorption of rhizobia to plant roots but not in nodulation. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 2008, 65, 279–288. doi: 10.1111/j.1574-6941.2008.00467.x
35. Хакимова Л.Р., Лавина А.М., Вершинина З.Р., Баймиев Ал.Х. Использование штаммов-продуцентов адгезина RapA1 из *Rhizobium leguminosarum* для создания бинарных биоудобрений. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2017, 53(4), 400–405. doi: 10.7868/S0555109917040080
36. Благова Д.К. Искусственные ассоциации бактерий *Rhizobium leguminosarum* с корнями томата и табака, трансгенными по гену *psl* лектина гороха: дисс. ... канд. биол. наук. Ин-т биохимии и генетики Уфим. науч. центра РАН, Уфа, 2013.
37. Louden B.C., Haarmann D., Lynne A.M. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *J. Microbiol. Biol. Educ.*, 2011, 12(1), 51–53. doi: 10.1128/jmbe.v12i1.249
38. Баймиев Ан.Х., Ямиданов Р.С., Матниязов Р.Т., и др. Получение флуоресцентно меченных штаммов клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых для их детекции *in vivo* и *in vitro*. *Молекулярная биология*. 2011, 45(6), 984–991. doi: 10.1134/S0026893311060033
39. Salkowski E. Ueber das Verhalten der Skatolcarbonsäure im Organismus. *Z. Physiol. Chem.*, 1885, 9(1), 23–33. doi: 10.1515/bchm1.1885.9.1.23
40. Вершинина З.Р., Благова Д.К., Нигматуллина Л.Р., и др. Ассоциативный симбиоз трансгенных томатов с ризобиями повышает устойчивость растений к *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Биотехнология*, 2015, (3), 42–53. doi: 10.21519/0234-2758-2015-3-42-53
41. Вершинина З.Р., Нигматуллина Л.Р., Лавина А.М., Баймиев Ал.Х. Получение растений табака, трансгенных по гену бактериального адгезина *rapA1*. Материалы VI Всероссийского симпозиума «Трансгенные растения: технологии создания, биологические свойства, применение, биобезопасность». Москва. 16–21 ноября 2016. 23–26
42. Шелудько А.В., Широков А.А., Соколова М.К. и др. Колонизация корней пшеницы бактериями *Azospirillum brasilense* с различной подвижностью. *Микробиология*. 2010, 79(5), 696–704. doi: 10.1134/S0026261710050140
43. Arif N., Yadav V., Singh S., et al. Influence of high and low levels of plant-beneficial heavy metal ions on plant growth and development. *Front. Environ. Sci.*, 2016, 4 (69). <https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00069>
44. Титов А.Ф., Лайдинен Г.Ф., Казнина Н.М. Влияние высоких концентраций кадмия на рост и развитие ячменя и овса на ранних этапах онтогенеза. *Агрехимия*, 2002, 9, 61–65.
45. Spaepen S., Vanderleyden J., Remans R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2007, 31(4), 425–448. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x
46. Barriuso J., Ramos Solano B., Fray R.G. et al. Transgenic tomato plants alter quorum sensing in plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Biotechnol. J.*, 2008, 6(5), 442–452. doi: 10.1111/j.1467-7652.2008.00331.x
47. Ho S.C., Wang J.L., Schindler M., Loh J.T. Carbohydrate binding activities of *Bradyrhizobium japonicum* III. Lectin expression, bacterial binding, and nodulation efficiency. *Plant J.*, 1994, 5(6), 873–884. doi: 10.1083/jcb.111.4.1639

48. Нигматулина Л.Р., Лавина А.М., Вершинина З.Р., Баймиев Ал.Х. Вклад бактериального адгезина RapA1 в эффективность формирования симбиоза *Rhizobium leguminosarum* с растениями фасоли. *Микробиология*, 2015, 84(6), 705–711. doi: 10.7868/S0026365615060099
49. Li W.C., Ye Z.H., Wong M.H. Effects of bacteria on enhanced metal uptake of the Cd/Zn-hyperaccumulating plant, *Sedum alfredii*. *J. Exp. Bot.*, 2007, 58(15–16), 4173–4182. doi: 10.1093/jxb/erm274
50. Jing Y., Cui H., Li T., Zhao Z. Heavy metal accumulation characteristics of Nepalese alder (*Alnus nepalensis*) growing in a lead-zinc spoil heap, Yunnan, south-western China. *Forest-Biogeosciences and Forestry*, 2014, 7(4), 204–208. doi: 10.3832/for1082-007
51. Dong J., Wu F., Zhang G. Influence of cadmium on antioxidant capacity and four microelement concentrations in tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum*). *Chemosphere*, 2006, 64(10), 1659–1666. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.01.030
52. Gratao P.L., Monteiro C.C., Antunes A.M., et al. Acquired tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Micro-Tom) plants to cadmium-induced stress. *Ann. Appl. Biol.*, 2008, 153(3), 321–333. doi: 10.1111/j.1744-7348.2008.00299.x
53. Lopez-Millan A.F., Sagardoy R., Solanas M., et al. Cadmium toxicity in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants grown in hydroponics. *Environ. Exp. Bot.*, 2009, 65(2–3), 376–385. doi: 10.1016/j.envexpbot.2008.11.010
54. Saleh J., Ghasemi H., Shahriari A., et al. Phytoremediation potential of tomato for Cd and Cr removal from polluted soils. *WASET Int. J. Agric. Biosyst. Eng.*, 2017, 11(4), 268–271. doi: 10.5281/zenodo.1129243
55. Ammar W.B., Nouairi I., Zarrouk M., et al. Antioxidative response to cadmium in roots and leaves of tomato plants. *Biol. Plant.* 2008. 52, 727–731. doi: 10.1007/s10535-008-0140-2
56. Luo B.F., Du S.T., Lu K.X., et al. Iron uptake system mediates nitrate-facilitated cadmium accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. *J. Exp. Bot.*, 2012, 63(8), 3127–3136. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers036>
57. Zhao S., Zhang Y., Ye X., et al. Responses to cadmium stress in two tomato genotypes differing in heavy metal accumulation. *Turkish J. Bot.*, 2015. 39(4), 615–624. <http://journals.tubitak.gov.tr/botany/issues/bot-15-39-4/bot-39-4-6-1408-34.pdf>
58. Baker A.J.M., Brooks R. Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements. A review of their distribution, ecology and phytochemistry. *Biorecovery*, 1989, 1(2), 81–126. doi: 10.1080/01904168109362867

Interaction of Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) Transformed by *rapA1* Gene with *Pseudomonas* sp. 102 Bacteria Resistant to High Cadmium Concentrations as a Basis for Effective Symbiotic Phytoremediation System

Z.R.VERSHININA^{1,*}, L.R. KHAKIMOVA¹, A.M. LAVINA¹, L.R. KARIMOVA¹, V.V. FEDYAEV², An.Kh. BAYMIEV^{1,2}, Al.Kh. BAYMIEV¹

¹*Institute of Biochemistry and Genetics—Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia*

²*Bashkir State University, Ufa, 450076 Russia*

*e-mail: zilyaver@mail.ru

Received December 11, 2018

Revised February 14, 2019

Accepted March 15, 2019

Abstract—A *Pseudomonas* sp. 102 strain, which is highly resistant to toxic effects of cadmium and has plant growth-promoting activity, can significantly increase growth parameters and biomass of tomato plants, including those observed under toxic effects of cadmium. The greatest positive effect was observed in plants transformed with the bacterial adhesin gene *rapA1*, the product of which is important for colonization of plant roots by bacteria. It was also shown that shoots of transgenic tomato plants accumulated the greatest amount of cadmium during inoculation with *Pseudomonas* sp. 102. The ability to extract high concentrations of cadmium and accumulate a large biomass under stress opens up prospects for the further use of associative interactions between tomato and *Pseudomonas* for phytoremediation.

Key words: phytoremediation, cadmium, tomato, *Pseudomonas*, inoculation, agglutinins,

Funding—This study was carried out using the equipment of the Biomika Centre for Collective Use of the Institute of Biochemistry and Genetics (Ufa Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences) as part of the government task (project no. AAAA-A16-1160203500284). This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project nos. 18-34-20004 and 18-34-00033) and 18-344-0033 mol_a_ved and 34-00033 mol_a).

doi: 10.21519/0234-2758-2019-35-2-38-48