

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УФИМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи



АХТЯМОВА ЗАРИНА АСХАТОВНА

**ВЛИЯНИЕ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ НА СОДЕРЖАНИЕ
ГОРМОНОВ, РОСТ И ВОДНЫЙ ОБМЕН РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И
ЯЧМЕНЯ В ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ И НА ФОНЕ ЗАСОЛЕНИЯ**

1.5.21. Физиология и биохимия растений

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,

Д.С. Веселов

Уфа – 2022

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АБК – абсцизовая кислота

ИУК – индолилуксусная кислота

ИФА – иммуноферментный анализ

КОЕ – колониеобразующие единицы

ОСВ – относительное содержание воды

ФАР – фотосинтетически активная радиация

ЦК – цитокинины

NPQ – нефотохимическое тушение

PGPR – plant growth promoting rhizobacteria

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	2
ВВЕДЕНИЕ.....	7
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1 Ризобактерии, стимулирующие рост растений.....	12
1.2 Функции продуцируемых бактериями гормонов.....	17
1.2.1 Ауксины.....	17
1.2.2 Цитокинины.....	20
1.2.3 Абсцизовая кислота (АБК).....	25
1.2.4 Этилен, гиббереллины, жасмоновая и салициловая кислоты.....	31
1.2.5 Механизмы влияния ризосферных бактерий на содержание гормонов в растениях и взаимодействие гормонов друг с другом.....	32
1.3 Засоление и механизмы солеустойчивости растений.....	34
1.3.1 Осмотический компонент в действии засоления.....	36
1.3.2 Токсический компонент в действии засоления.....	38
1.3.3 Роль апопластных барьеров в солеустойчивости растений.....	42
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	46
2.1 Объект исследования.....	46
2.1.1 Растительный материал.....	46
2.1.2 Бактериальные штаммы и питательные среды.....	46
2.2 Постановка экспериментов.....	47
2.2.1 Условия выращивания растений <i>H. vulgare</i> при инокуляции их ризосферы микроорганизмами.....	47
2.2.2 Условия выращивания растений <i>T. durum</i> при инокуляции их ризосферы микроорганизмами.....	48
2.3 Анализ фитогормонов.....	49
2.3.1 Экстракционная очистка и концентрирование фитогормонов.....	49
2.3.2 Иммуноферментный анализ.....	50
2.4 Выделение и очистка РНК из растений <i>H. vulgare</i>	51

2.5 Проведение количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.....	52
2.6 Содержание хлорофилла в листьях.....	53
2.7 Коэффициент нефотохимического тушения.....	53
2.8 Транспирация.....	53
2.9 Относительное содержание воды.....	54
2.10 Водный потенциал.....	54
2.11 Устьичная проводимость.....	54
2.12 Определение содержания натрия, калия и фосфора	54
2.13 Выявление локализации лигнина и суберина на срезах корней.....	55
2.14 Площадь листьев.....	55
2.15 Статистическая обработка данных.....	55
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	56
3.1 Влияние ризобактерий <i>B. subtilis</i> IB-22 и <i>P. mandelii</i> IB-Ki14 на растения <i>T. durum</i> сорта Башкирская 27, выращенные в оптимальных условиях (в отсутствии засоления)	56
3.1.1 Содержание гормонов и хлорофилла, рост и водный обмен у растений <i>T. durum</i> , в ризосферу которых вводили бактерии.....	56
3.1.2 Влияние ризосферных бактерий на формирование апопластных барьеров в оптимальных для роста условиях.....	65
3.1.3 Влияние ризосферных бактерий на накопление калия и фосфора в растениях <i>T. durum</i> в оптимальных для роста условиях.....	68
3.2 Влияние ризобактерий <i>B. subtilis</i> IB-22 и <i>P. mandelii</i> IB-Ki14 на растения <i>T. durum</i> сорта Башкирская 27, выращенные на фоне засоления.....	72
3.2.1 Лигнификация клеточных стенок ксилемы и образование поясков Каспари.....	74

3.2.2	Масса растений <i>T. durum</i> , выращенных на фоне засоления.....	75
3.2.3	Влияние бактерий на концентрацию гормонов в растениях <i>T. durum</i> , выращенных на фоне засоления.....	76
3.2.3.1	Содержание цитокининов.....	76
3.2.3.2	Содержание ауксинов.....	78
3.2.4	Влияние ризосферных бактерий на концентрацию ионов в растениях <i>T. durum</i> на фоне засоления.....	79
3.2.4.1	Содержание натрия.....	79
3.2.4.2	Содержание калия.....	80
3.2.4.3	Содержание фосфора.....	81
3.3.	Подбор условий выращивания растений <i>H. vulgare</i> для эффективного рост-стимулирующего действия ризосферных бактерий.....	85
3.3.1	Выбор штамма рост-стимулирующих бактерий.....	86
3.3.2	Выбор оптимального освещения для выращивания растений <i>H. vulgare</i> сорта Steptoe.....	94
3.3.3	Выбор субстрата для выращивания растений <i>H. vulgare</i> сорта Steptoe.....	96
3.3.4	Подбор оптимальной концентрации бактерий <i>B. subtilis</i> IB-22 для проявления стимулирующего рост эффекта на растения <i>H. vulgare</i> сорта Steptoe.....	98
3.4	Влияние штамма <i>B. subtilis</i> IB-22 на дефицитный по гормону АБК мутант <i>H. vulgare</i> сорта Az34 и растения его родительского сорта Steptoe, выращенные в оптимальных условиях.....	100
3.4.1	Метаболизм абсцизовой кислоты.....	100
3.4.2	Рост, содержание хлорофилла и водный обмен.....	104
3.5	Влияние штамма <i>B. subtilis</i> IB-22 на дефицитный по гормону АБК мутант <i>H. vulgare</i> сорта Az34 и растения его родительского сорта	

Stepное, выращенные на фоне	
засоления.....	107
3.5.1 Рост, содержание хлорофилла и водный обмен.....	108
3.5.2 Метаболизм абсцизовой кислоты	111
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	118
ВЫВОДЫ.....	119
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	120

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Известно, что многие ризосферные микроорганизмы стимулируют рост растений и повышают их продуктивность как в благоприятных, так и стрессовых условиях (Belimov et al., 2009; Vejan et al., 2016). Поэтому во всем мире рост стимулирующие бактерии все шире применяют в растениеводстве для увеличения урожайности растений (Ruzia, Aroca; 2015; Backer et al., 2018). Не прекращается поиск новых штаммов бактерий. Однако для более эффективного поиска и применения таких бактерий необходимо лучше понимать механизм их действия на растения. Одним из важных свойств бактерий является их способность синтезировать фитогормоны, которые ускоряют рост растений и повышают их устойчивости к стрессовым условиям (Tsukanova et al., 2017; Kudoyarova et al., 2019). Поэтому продукцию гормонов бактериями используют как один из основных показателей при первичном отборе потенциальных рост стимулирующих бактерий. Однако действие бактерий определяется не просто их способностью синтезировать фитогормоны, но и влиять на гормональный баланс в самих растениях (Kudoyarova et al., 2019). Вместе с тем, содержание гормонов у обработанных бактериями растений измеряют нечасто, а имеющиеся сведения нередко оказываются противоречивыми. Особенно противоречивы сведения о гормоне абсцизовой кислоте (АБК). В литературе можно встретить сообщения о рост стимулирующем действии бактерий, как продуцирующих АБК и повышающих концентрацию этого гормона в растениях (Cohen et al., 2009), так и бактерий, катаболизирующих АБК, интродукция которых в ризосферу снижает ее содержание в растениях (Belimov et al., 2014). Для выявления роли этого гормона в реакции растений на бактеризацию использовали дефицитные по АБК мутанты томатов (Porcel et al., 2014). Однако влияние бактерий на дефицитные по АБК мутанты ячменя не было исследовано до начала нашей работы. АБК играет важную

роль в регуляции водного обмена растений, а изучению влияния бактерий на водный обмен растений уделялось недостаточно внимания. Между тем важно понять, как поддерживается водный баланс у инокулированных бактериями растений, у которых стимуляция их роста увеличивает площадь листьев и, соответственно, приводит к возрастанию потерь воды с транспирацией.

Цель исследования – выявление влияния гормонпродуцирующих ризосферных бактерий на гормональный баланс растений *Triticum durum* Desf. и *Hordeum vulgare* L. и значения этого эффекта в регуляции роста и развития растений, их водного обмена и солеустойчивости.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние введения в ризосферу растений пшеницы (*Triticum durum* Desf.) бактерий штаммов *Bacillus subtilis* IB-22 и *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 на содержание гормонов (ауксинов и цитокининов) в отсутствии стрессовых воздействий и на фоне засоления и сопоставить вызванные бактериями сдвиги в содержании гормонов с их влиянием на рост и концентрацию хлорофилла.

2. Оценить влияние бактеризации на формирование поясков Каспари и его связь с водным обменом растений, поглощением элементов минерального питания (калия и фосфора) и накоплением натрия у растений пшеницы (*T. durum*) на фоне засоления и в его отсутствии.

3. Изучить влияние ризосферных бактерий на содержание абсцизовой кислоты в побегах и корнях у растений ячменя (*H. vulgare* L.) на фоне засоления и в его отсутствии и реакцию на инокуляцию бактериями у дефицитного по АБК мутанта ячменя (Az34) и его родительской формы Steptoe.

4. Оценить способность бактерий штамма *B. subtilis* IB-22 продуцировать АБК и изучить влияние засоления и инокуляции бактериями на экспрессию генов, контролирующих метаболизм АБК, у дефицитного по АБК мутанта Az34 и его родительской формы Steptoe.

Научная новизна исследования. Впервые выявлено влияние бактерий, стимулирующих рост растений, на образование апопластных барьеров у растений *T. durum* на фоне засоления. Показано, что ускоренное формирование поясков Каспари на фоне засоления в наибольшей степени проявлялось у растений, обработанных бактериями штамма *P. mandelii* IB-Ki14, продуцирующими ауксины, что сопровождалось снижением накопления ионов натрия. Бактерии штамма *B. subtilis* IB-22, продуцирующие цитокинины, в меньшей степени влияли на образование апопластных барьеров, хотя повышение солеустойчивости растений в их случае было выражено сильнее. Впервые проведена сравнительная оценка реакции на инокуляцию бактериями у однодольных растений дефицитного по АБК мутанта *H. vulgare* и его родительского сорта. В отличие от изученных ранее мутантных растений *Solanum lycopersicum*, впервые показано, что на фоне засоления обработка бактериями стимулировала рост, как дефицитного по АБК мутанта *H. vulgare*, так и растений его исходного генотипа. Впервые обнаружено, что снижение уровня стресс-индуцированного накопления АБК в побегах растений под влиянием бактерий, сопровождается накоплением этого гормона в корнях. Показано, что повышение концентрации АБК в корнях *H. vulgare* под влиянием *B. subtilis* IB-22 обусловлено как продукцией этого гормона бактериями, так и их влиянием на экспрессию генов, контролирующих метаболизм АБК в самих растениях.

Научно-практическая значимость исследования. Результаты проведенных исследований вносят существенный вклад в углубление представлений о механизмах влияния бактерий на рост растений в условиях засоления. Выявленное положительное влияние бактерий на формирование апопластных барьеров и его связь со снижением накопления ионов натрия при засолении могут быть использованы при отборе штаммов бактерий для разработки биотехнологии их применения, направленной на повышение солеустойчивости растений. Обнаруженная способность бактерий снижать

уровень стресс-индуцированного накопления АБК и увеличивать концентрацию этого гормона в корнях растений, повышая способность последних проводить воду, свидетельствует о важности изучения влияния бактерий на уровень и распределение этого гормона между побегом и корнем и необходимости оценки этого показателя для повышения эффективности применения бактерий в растениеводстве.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Ризосферные бактерии оказывают влияние на содержание гормонов в растениях как благодаря способности продуцировать фитогормоны (*P. mandelii* IB-Ki14 - ауксины, *B. subtilis* IB-22 – цитокинины и АБК), так и за счет влияния на экспрессию генов, контролирующих метаболизм гормонов, что показано на примере АБК. Вызванные бактериями изменения в содержании гормонов способствуют активации роста растений пшеницы (*Triticum durum* Desf.) и ячменя (*Hordeum vulgare* L.) как в нормальных условиях, так и при засолении.

2. Бактерии штамма *B. subtilis* IB-22 снижают уровень стресс индуцированного накопления АБК в побегах растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.), но повышают уровень АБК в корнях, что связано с поддержанием оводненности растений при засолении.

3. У дефицитного по АБК мутанта ячменя (*Hordeum vulgare* L.) Az34, как и у растений исходного сорта, выявлена активация роста под влиянием *B. subtilis* IB-22 в нормальных условиях и при засолении, что является следствием изменения метаболизма АБК под влиянием бактерий.

4. Ускорение и усиление отложения лигнина и суберина и формирования апопластных барьеров под влиянием ризосферных бактерий способствуют поддержанию ионного гомеостаза при засолении.

Апробация работы. Основные результаты, полученные в данном исследовании, были представлены на 2-ой Международной научной конференции PLAMIC 2020 «Растения и микроорганизмы: биотехнология

будущего» (Саратов, 2020 г.), V Международном симпозиуме «Клеточная сигнализация: итоги и перспективы» (Казань, 2021), V Школе-конференции молодых ученых (Санкт-Петербург, 2021).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 3 статьи в журналах из списка ВАК РФ, две из которых относятся к индексируемым в базе данных Web of Science.

Связь работы с научными программами. Исследования поддержаны грантами РФФИ №18-04-00460, РФФИ-аспиранты №20-34-90007 и грантом РНФ №21-14-00070.

Личный вклад соискателя. Диссертант самостоятельно провела анализ литературы, участвовала в планировании и проведении экспериментов, осуществляла обработку и анализ полученных результатов, формулирование выводов.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из Введения, 3 глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 162 страницах, содержит 7 таблиц и 36 рисунков. Список литературы включает 343 источника, из них 323 иностранных.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю, д.б.н., Д.С. Веселову за ценные советы и всестороннюю поддержку на всех этапах выполнения работы, всем сотрудникам лаборатории физиологии растений УИБ УФИЦ РАН и сотрудникам лаборатории прикладной микробиологии УИБ УФИЦ РАН за помощь в проведении лабораторных исследований и обсуждении работы, а также к.б.н. В.И. Сафроновой – за проведение элементного анализа и обсуждение статьи, опубликованной по его результатам.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Ризобактерии, стимулирующие рост растений

В окружающей растения среде присутствуют разнообразные микроорганизмы, в том числе бактерии (Turner et al., 2013). Их количество достигает максимальных значений в непосредственной близости от корней растений (Gray, Smith, 2005; Faure et al., 2009), в так называемой ризосфере. Свободноживущие почвенные бактерии, колонизирующие прилегающий к корням слой почвы и стимулирующие их рост известны как ризобактерии, способствующие росту растений (growth promoting rhizobacteria: PGPR). Данный термин был введен Клоппером и Шротом в 1978 г. (Клоппер, Schroth, 1978). Зарегистрированные PGPR включают представителей родов *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Allorhizobium*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azorhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Delftia*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Frankia*, *Gluconacetobacter*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Streptomyces*, *Thiobacillus* и др. (Vessey, 2003; Ahemad, Kibret, 2014; Parray et al., 2016; Kalam et al., 2020; Goswami et al., 2016; Ankati, Podile, 2018; Ahmad et al., 2008). Обзор разнообразных полезных для растений свойств PGPR представлен в таблице 1.

Таблица 1. Обзор преимуществ инокуляции ризобактериями, стимулирующими рост растений

Преимущество инокуляции растений PGPR	Штамм PGPR	Растения, подвергавшиеся инокуляции
Устойчивость к засухе	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Azospirillum brasilense</i>	кукуруза (<i>Zea mays</i> L.) (De Lima et al., 2019)
	<i>Achromobacter piechaudii</i> ARV8	томат (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill cv. F144) (Yang et al., 2009)
	<i>Achromobacter piechaudii</i> ARV8	перец (<i>Capsicum annuum</i> L. cv. Maor) (Yang et al., 2009)

	<i>B. subtilis</i> <i>Azospirillum</i> <i>brasilense</i>	пшеница мягкая (<i>Triticum aestivum</i> L.) (Timmusk et al., 2014; Piyas et al., 2020)
	<i>Pseudomonas. fluorescens</i> DR11, <i>Enterobacter hormaechei</i> DR16, <i>Pseudomonas. migulae</i> DR35	просо лисохвост (<i>Setaria italica</i> L.) (Niu et al., 2018)
	<i>Paenibacillus polymyxa</i> , <i>Rhizobium tropici</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	фасоль (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) (Figueiredo et al., 2008; De Lima et al., 2019)
	<i>Paenibacillus polymyxa</i> <i>Phyllobacterium brassicacearum</i>	резуховидка Таля (<i>Arabidopsis thaliana</i> L.) (Yang et al., 2009; Bresson et al., 2013)
Устойчивость к засолению	<i>Exiguobacterium oxidotolerans</i> ,	брахми (<i>Vasopa monnieri</i> L.) (Bharti et al., 2013)
	<i>Bacillus megaterium</i>	кукуруза (<i>Zea mays</i> L.) (Marulanda et al., 2010)
	<i>Azospirillum sp.</i> ,	салат (<i>Lactuca sativa</i> L.) (Fasciglione et al., 2015)
	<i>Achromobacter piechaudi</i>	томат (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.) (Mayak et al., 2004)
	<i>Eneterobacter sp.</i> PR14	рис (<i>Oryza sativa</i> cv.) (Sagar et al., 2020)
	<i>Eneterobacter sp.</i> PR14	дагусса (<i>Eleusine coracana</i>) (Sagar et al., 2020)
Устойчивость к биотическому стрессу	<i>Bacillus subtilis</i>	пшеница мягкая (<i>Triticum aestivum</i> L.) (Verma et al., 2016)
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> <i>Pseudomonas spp.</i>	рис (<i>Oryza sativa</i>) (Srivastava et al., 2016; Reshma et al., 2018)
	<i>Paenibacillus xylanexedens</i> , <i>Streptomyces sp.</i>	сосна (<i>Pinus taeda</i> L.) (De Vasconcellos, Cardoso 2009)
	<i>Paenibacillus lentimorbus</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	томат (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.) (Khan et al., 2015; Gowtham et al., 2016)
Улучшение прорастания	<i>Serratia marcences</i> , <i>Pseudomonas</i>	кукуруза (<i>Zea mays</i> L.) (Almaghrabi et al., 2014; Nezarat, Gholami, 2009)

семян	<i>putida</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Azospirillum lipoferum</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	
	<i>Brevundimonas diminuta</i> <i>Providencia sp.</i>	пшеница мягкая (<i>Triticum aestivum</i> L.) (Rana et al., 2011)
Биоремедиация тяжелых металлов и загрязняющих веществ	<i>Ochrobactrum sp.</i> , <i>Bacillus spp.</i> ,	рис (<i>Oryza sativa</i> L.), (Pandey et al., 2013)
	<i>Alcaligenes faecalis</i> RZS2, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> RZS3, <i>Enterobacter sp.</i> RZS5	арахис (<i>Arachis hypogaea</i>), (Patel et al., 2016; Sayyed et al., 2015)
	<i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus cereus</i>	кукуруза (<i>Zea mays</i> L.), (Khan, Bano, 2016)
	<i>Pseudomonas sp.</i> AJ15	ашвагандха (<i>Withania somnifera</i>) (Das, Kumar, 2016)

Бактерии поселяются на поверхности корней, колонизируя их, что позволяет им легко усваивать выделяемые корнями органические вещества (аминокислоты, сахара, органические кислоты) (Gray, Smith, 2005). Большинство бактерий (за исключением сине-зеленых водорослей, или цианобактерий) являются гетеротрофами и могут существовать только за счет органических соединений, синтезируемых автотрофными организмами, прежде всего, растениями. Поскольку корни являются местом для колонизации бактериями и источником питания растений, стимуляция роста корней выгодна для бактерий и неудивительно, что этим свойством обладают многие ризобактерии (Grover et al., 2020; Backer et al., 2018; Fasusi, Babalola, 2021).

Способность ризосферных бактерий стимулировать рост листьев также полезна для бактерий, поскольку с увеличением площади листьев возрастает

их способность поглощать свет и фиксировать углекислый газ. Значительная часть синтезируемых при этом органических соединений транспортируется в корни, где они не только используются как источник энергии и субстрат для роста корней, но и экскретируются в почву. Доля экссудатов растений от общей продукции органических веществ достаточно велика. Размеры потерь, очевидно, объясняются тем, что корни устроены так, чтобы легко поглощать минеральные вещества, и с той же легкостью они теряют органические вещества, не встречающие на своем пути ограничений. Ризобактерии способны влиять не только на рост корней, но и непосредственно – на процесс экссудации органических веществ (Kuzina et al., 2021; Kudoyarova et al., 2014; Кравченко, 2002), тем самым обеспечивая себя субстратом для роста.

Все сказанное свидетельствует о том, что стимуляция роста растений выгодна бактериям. Это их свойство также полезно для растениеводства, поскольку активация роста является залогом повышения урожайности растений (Bailey-Serres et al., 2019; Verma et al., 2010). Поэтому не удивителен интерес исследователей к механизмам, которые лежат в основе ростстимулирующего действия бактерий на рост растений. Чаще всего обсуждаются несколько факторов, от которых зависит способность ризобактерий стимулировать рост растений.

Во-первых, это их способность улучшать минеральное питание растений. Многие из бактерий способны к фиксации азота (Chanway et al., 2014), а азот – именно тот макроэлемент, от которого зависит рост растений и которого растениям почти всегда не хватает из-за высокой растворимости нитратов и их вымывания дождями из верхних плодородных слоев почвы (Mosier et al., 2004). Наиболее подробно в таком плане изучены ризобии, образующие клубеньки на корнях бобовых растений (Beringer et al., 1979; Chen et al., 2003). Свободно живущие ризобактерии также способны к азотфиксации. Например, этим свойством обладают многие виды *Pseudomonas* (Desnoues et al., 2003), один из которых был объектом

исследований в данной работе (Кузьмина и др., 2018). Кроме фиксации азота, оптимизация минерального питания растений за счет бактерий происходит при помощи их способности увеличивать растворимость фосфатов благодаря экскреции органических веществ (Elhaissofi et al., 2020). Из-за плохой растворимости фосфатов растения испытывают их дефицит даже на фоне внесения удобрений, а бактерии могут повысить доступность фосфата для растений (Kudoyarova et al., 2017). Способность ризобактерий солюбилизировать фосфаты наглядно проявляется в тесте, который используют для количественной оценки этой способности бактерий. При этом их выращивают на агаре, содержащем мутную взвесь фосфатов, а по мере роста колоний, вокруг них образуется зона просветления, размер которой характеризует способность бактерий к солюбилизации фосфатов (Alam et al., 2002).

Еще одно свойство ризобактерий, обеспечивающее их способность стимулировать рост растений, – это защита растений от фитопатогенов (например, грибов). Механизмы такого действия бактерий интенсивно исследуются (Zhang et al., 2021; Максимов и др., 2015), но поскольку их изучение не входит в задачу данной работы, здесь я хочу только отметить способность ризобактерий синтезировать антибиотики, подавляющие рост фитопатогенных грибов (Glick, 2012; Максимов и др., 2020; Гизатуллина и др., 2010).

Наконец, важным фактором ростстимулирующего действия бактерий на растения является их способность продуцировать гормоны стимулирующего типа действия и разрушать гормоны-ингибиторы (Kudoyarova et al., 2019). Изучение именно этого свойства является целью данной работы, и поэтому важно подробнее остановиться на нем. Ниже в подразделах приведены основные гормоны, продуцируемые или разрушаемые бактериями, и их свойства.

1.2 Функции продуцируемых бактериями гормонов

1.2.1 Ауксины

Гормоны из класса ауксинов были первыми открыты у растений (Went, 1937). Одним из наиболее изученных ауксинов является индолилуксусная кислота (ИУК). Способность синтезировать именно этот гормон была обнаружена у многих бактерий (Manoj et al., 2020). Более 80% бактерий, выделенных из ризосферы, являются продуцентами ИУК (Khalid et al., 2004). Вероятно, это объясняется доступностью относительно простого метода их выявления с помощью реактива Сальковского (Ehmann, 1977). Хотя этот метод не отличается особой чувствительностью, способность бактерий продуцировать ауксины резко возрастает при добавлении в среду культивирования бактерий предшественника ауксинов триптофана (Asghar et al., 2002), что позволяет легко выявить способность бактерий продуцировать ИУК. Метаболические пути синтеза ауксина бактериями довольно разнообразны и хорошо изучены. У разных видов бактерий идентифицированы альтернативные пути синтеза ауксинов из триптофана через такие промежуточные соединения как индолацетонитрил, индол-3-ацетамид, индол-3-пируват и триптамин (Sraepen et al., 2011).

Одно из важных свойств ауксинов, благодаря которому гормоны этого класса были идентифицированы, – их участие в фото- и геотропизме (Whippo, Hangarter 2006; Leyser, 2018; Konstantinova et al., 2021). В основе изгиба органов растений в ответ на одностороннее действие света и силы тяжести лежит неравномерное распределение ауксинов между освещенной и затемненной частью побега (колеоптиля или гипокотилья) или между верхней и нижней частью горизонтально ориентированных корней. При неравномерном распределении ауксинов изгиб является следствием влияния ауксинов на процесс растяжения (Vysotskaya et al., 2007). Способность ауксинов стимулировать растяжение наиболее подробно изучена на примере отрезков колеоптиля и гипокотилья, что связано с разрыхлением клеточных

стенок под влиянием этих гормонов (Hager et al., 1971). Различают быстрый (практически мгновенный) и более медленные ответы на ауксины (Prigge et al., 2020). Первый реализуется на уровне мембран, где он, предположительно, запускает взаимодействие ИУК с ауксин связывающим белком (АВР) (Bertosa et al., 2008; Шишова и др., 2014;). Более медленный ответ на ауксины обусловлен индукцией генов в результате взаимодействия ауксинов с TIR рецепторами и запуском сигнальных систем, в которую вовлекаются многочисленные факторы транскрипции (ARF) (Lavy, Estelle, 2016). Результатом широкого спектра реакций на ауксин является влияние этого гормона на многочисленные процессы. В какой-то мере, такое разнообразие ответов затрудняет интерпретацию механизма действия ИУК на растяжение клеток. Так показано, что разрыхление клеточных стенок может быть результатом активации АТФаз (Hager, 2003), что приводит к выбросу в апопласт протонов и, в свою очередь, может активировать гидролитические ферменты, а также белки экспансины (Majda et al., 2020), обеспечивающие уменьшение жесткости целлюлозного каркаса и ускоренное растяжение клеток. Есть и альтернативное описание действия ауксинов, объясняющее их влияние на рост растяжением стимуляцией образования активных форм кислорода, которые и разрыхляют клеточную стенку (Joo et al., 2001). Активация растяжения клеток побега под влиянием ауксинов лежит в основе разнообразных реакций растений на внешние воздействия. Так изменение распределения этих гормонов в побеге под влиянием фитохромов обеспечивает ускорение удлинения побегов в ответ на низкую освещенность (Vysotskaya et al., 2007).

Транскриптомный анализ влияния ауксинов на растения выявил способность этих гормонов влиять на экспрессию множества генов (Key et al., 1986), что объясняет разнообразие ответов растений на этот гормон. Изменение скорости растяжения – лишь один из примеров реакции растений на ауксины. Еще один важный эффект – это способность ауксинов стимулировать ветвление корней (Muday, Haworth, 1994; Иванов и др., 2009).

Эта реакция важна не только для успешного поглощения воды и элементов минерального питания, но и для обеспечения бактерий «посадочным местом» для колонизации бактерий. Ауксины инициируют закладку боковых корней и их удлинение, что зависит от накопления этих гормонов в результате их транспорта из мест синтеза (молодых листьев и кончиков корней) (Muday, Haworth, 1994; Morffy, 2018). Потоки ауксинов от клетки к клетке по растению обеспечивают их переносчики: PIN белки, транспортирующие ауксины из клеток наружу и AUX1 – обеспечивающие поглощение ИУК клетками (Zwiewka et al., 2019). От их строгой пространственной ориентации зависит формирование локальных максимумов ауксинов (Adamowski et al., 2015). Они играют важную роль не только в регуляции роста боковых корней, но и многих других процессов. К их числу относится регуляция под влиянием ауксинов формирования сосудов ксилемы (Harrison et al., 1979; Tang et al., 2020), а также устьичной проводимости (при этом они могут действовать как антагонисты абсцизовой кислоты, поддерживая устьица в открытом состоянии) (Cox et al., 1985). Еще один интересный, хотя и слабо изученный аспект действия ИУК – это способность данного гормона влиять на отложение лигнина в клеточных стенках за счет изменения активности участвующих в этом процессе ферментов (Qu et al., 2021; Nafisi et al., 2015).

Строгая пространственная ориентация переносчиков ауксинов, проявляющаяся в их ассиметричном распределении между мембранами клеток, обеспечивает адресную доставку ауксинов к сайту их действия. Такую же роль переносчики ауксинов выполняют при поступлении этих гормонов извне, в частности, при поглощении растением ауксинов, продуцируемых бактериями. Рядом исследователей показано, что обработка растений бактериями, продуцирующими ауксины, стимулирует развитие их корневой системы (Kudoyarova et al., 2019), повышая концентрацию ауксинов в растениях. При выращивании растений в почве могут возникнуть возражения о том, связан ли результат действия бактерий с поглощением гормонов, продуцируемых данным штаммом. Ведь в почве присутствуют и

другие бактерии. В этом плане убедительны результаты изучения действия бактерий на растениях, выращенных *in vitro*. Так на микроклонах картофеля было показано, что введение в питательную среду бактерий, продуцирующих ауксины, повышало содержание в растениях этих гормонов (Arkhipova et al., 2020b)

1.2.2 Цитокинины

К гормонам этого класса относятся производные аденина, к которым в шестом положении пуринового кольца присоединен изопреноидный радикал (или, в редких случаях, – бензольный радикал). Название этого класса соединений связано с тем, что они были открыты как вещества, способные стимулировать деление клеток растений в культуре тканей *in vitro* (Skoog et al., 1965). Цитокининами называют не только свободные основания, но и их производные (рибозиды, нуклеотиды, глюкозиды) (Sakakibara et al., 2006). Включение всех этих соединений в класс цитокининов можно объяснить тем, что они быстро превращаются друг в друга (Mok, Mok, 2001), в результате чего не так легко решить, какие именно из производных обладают активностью цитокининов. Тем не менее, большинство исследователей склоняются к мнению, что активны именно свободные азотистые основания цитокининов, а их производные являются транспортной (рибозиды) и запасующей (О-глюкозиды и нуклеотиды) формами или продуктом необратимой инактивации цитокининов (N-глюкозиды). Азотистые основания цитокининов различаются по структуре изопреноидного радикала (изопентенила). Его гидроксигирование превращает изопентениладенин в зеатин, а гидрирование по двойной связи – зеатин в дегидрозеатин (Einset, 1984). Фермент, катализирующий превращение нуклеотида аденина в изопентенил аденозин фосфат, названный изопентенил трансферазой, *ipt*, был впервые идентифицирован у патогенных бактерий *Agrobacterium tumefaciens*, у которых способность синтезировать этот гормон способствует образованию опухолей у растений (Takei et al., 2001). Позднее продукция

цитокининов была выявлена у ряда ризосферных бактерий родов *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Paenibacillus* и *Pseudomonas* (Conrad et al., 1992; Timmusk et al., 1999; de Salamone et al., 2001; Arkhipova et al., 2005), хотя число таких бактерий гораздо меньше, чем количество тех из них, которые способны продуцировать ауксины. Тем не менее, способность ризосферных бактерий продуцировать цитокинины рассматривается как важный компонент механизма стимуляции под их влиянием роста растений (Timmusk et al., 1999; Akhtar et al., 2020).

Долгое время попытки идентифицировать аналогичный ген у самих растений заканчивались неудачей, что привело к предположению, что сами растения не могут синтезировать цитокинины, а получают их от эндофитных бактерий (Holland, 1997). Тем не менее, под аплодисменты присутствовавших на конференции по регуляторам роста, японские исследователи в 2001 г. доложили об идентификации у растений арабидопсиса семейства *AtIPT* генов (Takei et al., 2001; Kakimoto, 2001). Их открытие позволило получить мутанты по этим генам, что значительно расширило возможности для изучения функций цитокининов (Li et al., 2020; Takei et al., 2004; Sun et al., 2003) (до этого с данной целью использовали трансгенные растения, трансформированные с помощью бактериальных *ipt* генов) (Alves et al., 1999; Smigocki et al., 1993).

Транскриптомный анализ показал способность цитокининов влиять на экспрессию нескольких тысяч генов в растениях (Raines et al., 2016). Запуск этого процесса начинается со связывания цитокининов со специфичными рецепторами, семейство которых было идентифицировано сначала у арабидопсиса (Higuchi et al., 2004), а затем у многих других видов растений, например у кукурузы (Sakakibara, 2006) и риса (Ito, Kurata, 2003). Вопрос о локализации рецепторов цитокининов остается открытым, и есть сведения как об их присутствии в плазмолемме, так и в эндоплазматическом ретикулуме (Romanov et al., 2018). Есть также сообщения о роли цитокининов в регуляции экспрессии генов хлоропластного генома

(Andreeva et al., 2020; Bychkov et al., 2020). Система передачи цитокининового сигнала от рецептора в ядро, где происходит изменение экспрессии генов, включает много компонентов, последовательное фосфорилирование/дефосфорилирование которых в конечном счете влияет на активность транскрипционных факторов (прежде всего, факторов ответа на цитокинины группы В (ARR type В) (Zubo, Schaller, 2020; Sakai et al., 2001). Поскольку эти транскрипционные факторы, в свою очередь, влияют на экспрессию большого количества генов, разнообразие реакций на цитокинины не вызывает удивления.

Как уже упоминалось, способность цитокининов влиять на деление клеток позволила их идентифицировать. Более детальное изучение механизма действия цитокининов на этот процесс выявило их способность влиять на регуляторы клеточного цикла, циклины (Schaller et al., 2014). Необходимость цитокининов для активации роста побега за счет деления клеток была показана на модели трансгенных растений, у которых уровень цитокининов был понижен в результате сверхэкспрессии генов, кодирующих цитокининоксидазу, катализирующую необратимый распад этих гормонов (Werner et al., 2001). У этих растений снижалось количество клеток в апексе побега (индикатор ингибирования деления) и в целом побеги были мельче по сравнению с растениями исходного экотипа. При этом наблюдался более активный рост корней мутанта, что рассматривается как доказательство ингибирующего влияния цитокининов на развитие корневой системы. Тем не менее, у мутанта по трем цитокининовым рецепторам рост корней также был подавлен (Higuchi et al., 2004), что указывает на необходимость этих гормонов для нормального роста корней. Не исключено, что действие высоких концентраций цитокининов на рост корней связано с влиянием этого гормона на синтез этилена (см. ниже) (Korobova et al., 2016). Еще одно возможное объяснение ингибирования роста корней заключается в активации роста побега под влиянием этого гормона, что снижает отток ассимилятов в корни (Дедова, 2015). Так или иначе, ингибирующее влияние цитокининов на

рост корней является важным компонентом действия этих гормонов на растения.

Еще один важный аспект функциональной активности цитокининов – это их способность задерживать старение листьев (Richmond, Lang, 1957), что проявляется в предотвращение распада хлорофилла. Этот эффект был обнаружен вскоре после открытия цитокининов и лег в основу биотеста на цитокинины, в котором анализируется скорость распада хлорофилла в инкубируемых в темноте высечках из листьев (Fletcher et al., 1982). Поскольку многие стрессовые воздействия (например, засоление) ускоряют процесс старения растений, что отрицательно сказывается на их урожайности, способность ризосферных бактерий повышать уровень хлорофилла (что может быть обусловлено их способностью синтезировать цитокинины) является весомым аргументом для их использования в растениеводстве.

Важная роль в действии цитокининов приписывается их взаимодействию с элементами минерального питания (прежде всего, нитратами) (Sakakibara et al., 2006). Обнаруженная зависимость синтеза цитокининов от доступности нитратов (Sakakibara et al., 2006) и сходство в действии нитратов и цитокининов, послужили основой для предположения о том, что цитокинины участвуют в нитратном сигналинге (Sakakibara, 2003). Эта тема соприкасается еще с одним важным аспектом действия цитокининов. Это их функция в передаче сигналов из корней в побеги. Еще в пионерских работах проф. О.Н. Кулаевой была сформулирована гипотеза о том, что синтезируемые в корнях цитокинины транспортируются в побег и обеспечивают там запуск специфичных для цитокининов реакций (Кулаева, 1962). Долгое время считалось, что побеги не способны синтезировать цитокинины. Однако это предположение было опровергнуто, когда были открыты *ipt*-гены растений, и оказалось, что они экспрессируются в листьях растений арабидопсиса (Miyawaki et al., 2006). Тем не менее, корни играют важную роль в снабжении растений цитокининами. Было показано, что

мутации по генам, контролирующим загрузку цитокининов в ксилему, снижают их содержание в побеге (Ахиярова и др., 2018).

Транспорт цитокининов из органа в орган зависит не только от локального синтеза этих гормонов, но и работы переносчиков. Интерес к ним возрос за последнее десятилетие (Kang et al., 2017; Durán-Medina et al., 2017). Способность переносить свободные основания цитокининов была сначала выявлена у переносчиков пурин пермеазы (PUP) (Bürkle et al., 2003). Перенос с их помощью цитокининов внутрь клеток обеспечивается энергией за счет градиента протонов (вторично активный транспорт) и ингибируется протонифором карбонилцианид м-хлорфенилгидразона (СССР), разрушающим этот градиент (Kudoyarova et al., 2014). С помощью этого ингибитора была выявлена роль вторично активного трансмембранного переноса в поглощении цитокининов клетками корней, что снижает их загрузку в ксилему и отток в побег (Kudoyarova et al., 2014). Наряду с PUP белками, осуществляющими перенос свободных оснований, функцию транспорта рибозидов цитокининов выполняют уравнивающие нуклеозидтрансферазы – ENT переносчики (Korobova et al., 2021). В последнее время появилось также несколько интересных публикаций по поводу роли ABC транспортеров (функция которых непосредственно сопряжена с транспортными АТФазами) в транспорте цитокининов (Borghini et al., 2015; Feng et al., 2019). Вместе с тем, наиболее существенную роль в регуляции транспорта цитокининов из корней в побеги у однодольных растений, по-видимому, принадлежит переносчикам свободных оснований. По крайней мере, у растений пшеницы зеатин, введенный в питательный раствор, задерживался в корнях растений пшеницы и его отток в побег был сравнительно невелик (Korobova et al., 2013). В этих же экспериментах было показано, что большая доля введенного извне рибозида зеатина транспортировалась в побег, но уровень накопления цитокининов в побеге растений, обработанных рибозидом зеатина, снижался на фоне ингибирования транспирации. Зависимость от транспирации указывает на то,

что транспорт рибозида зеатина происходил, в основном, по апопласту и, по определению, не зависел от присутствия транспортеров в мембранах клеток.

В связи с этой проблемой, представляет интерес то, что, под влиянием инокуляции растений штаммом *Bacillus subtilis* IB-22, цитокинины сначала накапливались в корнях, но затем – в побегах на фоне снижения уровня этих гормонов в корнях (Архипова и др. 2006; Kudoyarova et al., 2019). Отсутствие длительного накопления цитокининов в корнях растений, обработанных этими бактериями, можно объяснить тем, что *Bacillus subtilis* IB-22 продуцировали цитокинины, в основном в виде рибозидов (Veselov et al., 1998; Arkhipova et al., 2005), которые (см. выше) не накапливаются в корнях. Этой особенностью данных продуцирующих цитокинины бактерий и растений пшеницы можно объяснить тот факт, что при инокуляции данным штаммом бактерий не было зарегистрировано ингибирования роста корней (Arkhipova et al., 2007).

1.2.3 Абсцизовая кислота (АБК)

Гормон абсцизовая кислота был обнаружен как вещество, вызывающее опадение листьев хлопчатника, что и послужило основанием для присвоения этому соединению такого названия (abscission – опадение) (Addicott et al., 1966). Хотя роль эндогенной АБК в регуляции опадения оказалась не столь уж очевидной, название за этим веществом сохранилось. Более интригующей стала способность АБК подавлять растяжение отрезков колеоптилей, т.е. действовать как антагонист ауксинов (Wright, Hiron, 1969). В этой же работе было также показано накопление АБК при увядании отделенных листьев. В результате за этим гормоном надолго закрепилось представление как об ингибиторе роста, который накапливается при дегидратации. Тем не менее, это представление оказалось упрощенным, судя по тому, что дефицитный по АБК мутант уступал по размерам растениям исходного генотипа (Makela et al., 2003; Nitsch et al., 2012). Эти результаты свидетельствуют о необходимости данного гормона для нормального развития растений.

Механизм влияния АБК на рост растений до сих пор не до конца понятен, и гораздо больше сведений о другом свойстве этого гормона: его способности закрывать устьица (Mansfield, McAinsh, 1995). Механизм этого эффекта изучен детально. Он заключается в способности АБК влиять на активность каналов, вызывая выброс из клеток ионов калия и анионов и предотвращение их поглощения клетками (Roberts et al., 2000). В результате концентрация осмотиков в устьичных клетках снижается, тургор падает, что приводит к смыканию устьичных клеток и снижению их проводимости. Каскад процессов, которые ведут от АБК к закрытию устьиц, включает множество компонентов (например, кальций-зависимую активацию протеинкиназ (CDPKs), продукцию перекиси (ROS) и окиси азота (NO)), список которых продолжает пополняться. Тем не менее, запуск каскада сигналов, приводящих к закрытию устьиц, начинается с взаимодействия АБК с рецептором PYR/PYL/RCAR, открытие которого было названо одним из наиболее важных событий биологии растений (Yu et al., 2016). Интересно то, что АБК является антагонистом цитокининов и ауксинов в действии на устьичную проводимость: в отличие от АБК, цитокинины и ауксины поддерживают устьица в открытом состоянии (Song et al., 2006). Одно из объяснений этого феномена заключается в противоположном действии этих гормонов на уровень перекиси водорода: АБК увеличивает ее продукцию, а остальные гормоны – снижают (перекись, как указывалось выше, необходима для закрытия устьиц под влиянием АБК).

Еще один важный процесс, контролируемый абсцизовой кислотой, – обезвоживание семян и их переход к состоянию покоя (Davies et al., 1986; Kermode, 2005). Показано, что у дефицитных по АБК растений отсутствует состояние покоя зародыша, и прорастание корней может происходить внутри колоса до сбора урожая (Fang, Chu, 2008). У дефицитного по АБК мутанта ячменя это свойство также проявлялось, хотя и в меньшей степени (Seldimirova et al., 2019).

Важная роль процессов, контролируемых АБК (список которых не ограничивается перечисленными выше эффектами), привлек внимание исследователей к вопросу синтеза этого соединения.

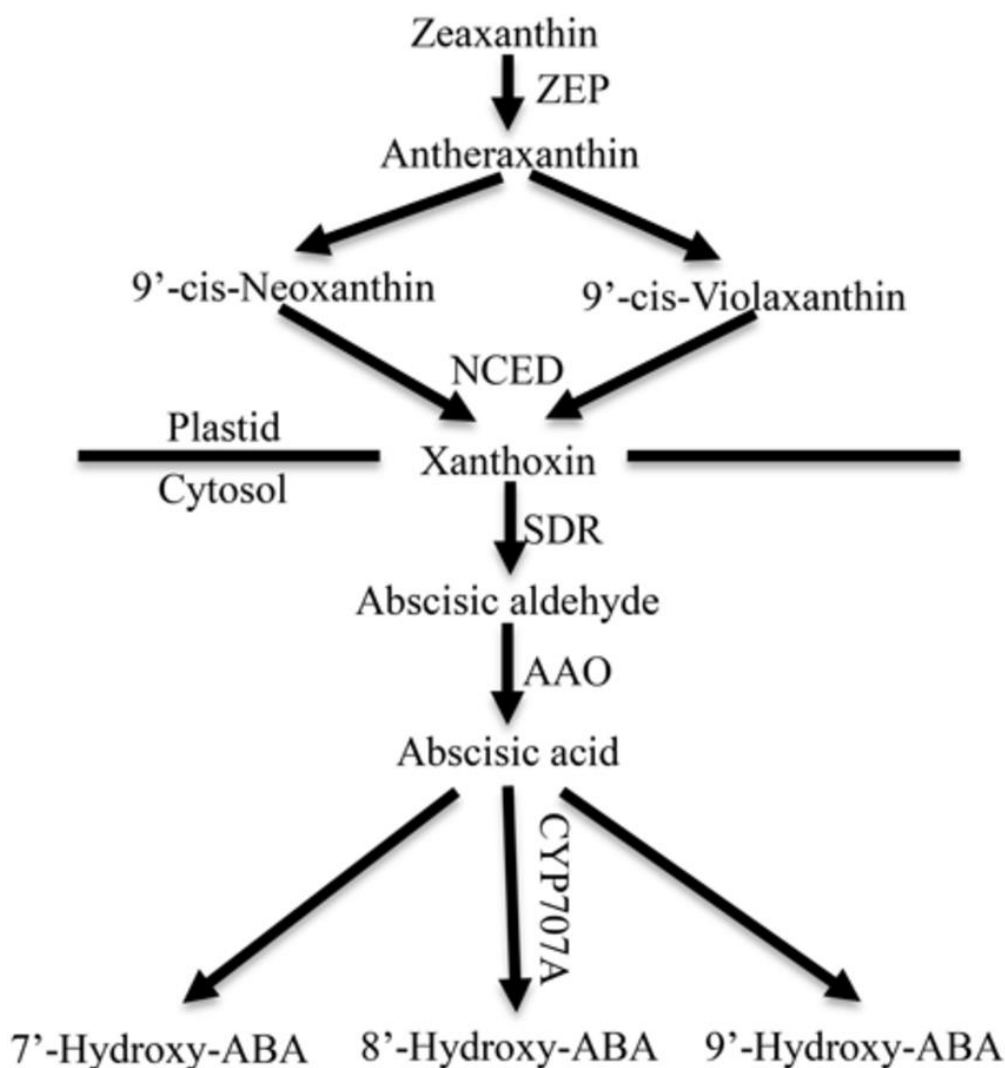


Схема биосинтеза абсцизовой кислоты. Объяснение в тексте.

В настоящее время признано, что АБК синтезируется из каротиноидов в результате ряда этапов их превращений (Parry, Horgan, 1992). Лимитирующим звеном в цепи превращений является образование ксантоксина из цис-неоксантина. Эту реакцию катализирует эпоксикаротиноид-диоксигеназа (NCED), а экспрессия кодирующего данный фермент гена повышается при дефиците воды, что было показано на растениях томата (Burbidge et al., 1997), арабидопсиса (Neill et al., 1998) и авокадо (Chernys, Zeevaart, 2020), что подтверждает его функциональное значение в адаптации к данному стрессу. Еще одно важное звено в процессе

синтеза АБК – это окисление ее альдегида, катализируемое альдегид оксидазой (ААО). Именно мутанты по гену, кодирующему кофактор этого фермента, оказались дефицитными по АБК (Brookbank et al., 2021). Катаболизм АБК также изучался, и были идентифицированы гены, контролирующие этот процесс, например, кодирующий гидроксилазу ген *CYP707A* (Kushiro et al., 2004).

Способность АБК закрывать устьица в сочетании с информацией о накоплении этого гормона при дефиците воды позволили выстроить логичную схему адаптации растений к дефициту воды: дегидратация индуцирует экспрессию *NCED*, что приводит к накоплению АБК, которая закрывает устьица, снижая уровень потерь воды с транспирацией и способствуя ее экономии (Bharath et al., 2021). Тем не менее, роль АБК в быстром закрытии устьиц при резком снижении обеспеченности растений водой вызывала сомнения, поскольку не было сведений о возможности достаточно быстрого накопления АБК. Эти сомнения были развеяны при изучении влияния засоления на растения ячменя (Fricke et al., 2004). У них 100 мМ хлорид натрия быстро снижал относительное содержание воды в листе, что уже через 10 минут приводило к накоплению АБК, закрытию устьиц и снижению дефицита воды в листе.

Сведения о накоплении АБК в изолированных листьях при их увядании послужили аргументом в пользу первоначального предположения о том, что этот гормон синтезируется только в листьях. Эта гипотеза опиралась также на косвенные соображения о том, что синтез каротиноидов требует много энергии, которая более доступна в фотосинтезирующих органах. Тем не менее, была подтверждена способность корней синтезировать АБК (Parry, Nogan, 1991). Эти данные в сочетании с обнаруженным присутствием АБК в ксилемном соке (Hartung et al., 2002), увеличением притока этого гормона из корней при засухе (Jackson, 1993; Ali et al., 2020) и других стрессовых воздействиях, вызывающих дефицит воды (например, засоление (Jaschke et

al., 1997; Muhammad Aslam, 2022), действие тяжелых металлов (Hu et al., 2020)) послужили основой для появления гипотезы о роли АБК, синтезируемой в корнях и поступающей в побег, в качестве химического сигнала о неблагополучии в области корней, вызывающего закрытие устьиц (Davies et al., 2002; Bharath et al., 2021).

Наряду со способностью АБК закрывать устьица, еще одно свойство данного гормона играет важную роль в регуляции водного обмена. Это свойство заключается во влиянии АБК на гидравлическую проводимость корней. Оно было обнаружено давно (Markhart et al., 1979), но долгое время оставалось неясным, каков его механизм. Ответ на этот вопрос был получен в результате открытия способности локализованных в мембранах каналов, названных аквапоринами, проводить воду (Preston et al., 1992; Tyerman et al., 2002). При этом состоялась продолжительная дискуссия по поводу значения каналов в регуляции проницаемости мембран для воды. Многие физиологи считали, что мембраны и так достаточно проницаемы для таких небольших молекул, как вода. Дискуссии положили конец ряд экспериментов, среди которых наиболее убедительными были исследования на модели покоящихся ооцитов лягушек, (удобный объект для выявления роли различных транскриптов, поскольку собственной мРНК в ооцитах нет). Они показали, что трансляция в ооцитах мРНК водных каналов увеличивала проницаемость мембран для воды, что приводило к резкому сокращению времени между их помещением в гипотоническую среду и лизисом клеток (Zhang et al., 1990; Wei et al., 2007). Затем было показано, что абсцизовая кислота повышает экспрессию генов аквапоринов, а также их активность за счет фосфорилирования/дефосфорилирования и перемещение из цитоплазмы в плазмолемму (Grondin et al., 2015; Finkelstein, 2013), что позволяет объяснить действие АБК на гидравлическую проводимость. Было показано, что при повышении температуры воздуха накопление АБК в корнях сопровождается увеличением уровня аквапоринов и, соответственно, гидравлической проводимости корней, а возросший приток воды в побеги компенсирует

усиление транспирационных потерь при нагреве воздуха и поддерживает оводненность листьев (Veselov et al., 2018). Роль АБК в увеличении уровня аквапоринов подтверждали эксперименты с введением в питательную среду экзогенной АБК, которая усиливала иммунное окрашивание на аквапорины в зоне эпидермы корней параллельно с увеличением гидравлической проводимости (Sharipova et al., 2016). Еще одно доказательство важной роли АБК в регуляции уровня аквапоринов и водного обмена – отсутствие реакции на повышение температуры у дефицитного по АБК мутанта ячменя. У него повышение скорости транспирации при нагреве воздуха приводило к резкому снижению водного потенциала листьев, поскольку уровень аквапоринов и, соответственно, гидравлическая проводимость не менялась и не могла компенсировать возросшие транспирационные потери (Кудоярова и др., 2014).

Интересно то, что АБК способна оказывать двойственное (противоположное) влияние на водный обмен: снижать скорость транспирации, закрывая устьица, и компенсировать возросшую транспирацию, увеличивая гидравлическую проводимость корней. Действие этого гормона на водный обмен зависит от того, где накапливается АБК. Увеличение ее концентрации в листьях снижает устьичную проводимость, а возрастание уровня этого гормона в корнях – увеличивает гидравлическую проводимость корней (Kudoyarova et al., 2011). Изменение распределения АБК между побегом и корнем путем ингибирования флоэмного транспорта предотвращало повышение концентрации АБК в корнях растений пшеницы, и, вместо корней, этот гормон накапливался в листьях, что приводило к смене реакции: вместо повышения гидравлической проводимости наблюдалось закрытие устьиц. Таким образом, АБК играет важную роль в регуляции роста и водного обмена растений, и важно понять, как ризосферные бактерии влияют на уровень этого гормона.

Прежде всего, важно отметить, что отдельные штаммы ризосферных бактерий способны синтезировать АБК (Forchetti et al., 2007; Cohen et al.,

2009; Piccoli et al., 1997; Sgroi et al., 2009), в то время как существуют бактерии, которые, напротив, могут метаболизировать этот гормон, снижая его концентрацию в окружающей среде. Соответственно под влиянием первых содержание АБК в растениях возрастает, а вторых – снижается (Yuzikhin et al., 2021). Интересен тот факт, что в публикациях, посвященных обоим типам бактерий, сообщается об их ростстимулирующем действии. Рост-стимулирующее действие бактерий, повышающих уровень АБК в листьях, объясняют тем, что под их влиянием снижается транспирация, что обеспечивает экономию воды (Arkhipova et al., 2020a). Положительное влияние бактерий, снижающих содержание АБК в листьях, трактуют иным образом, объясняя эффект тем, что более высокая устьичная проводимость обеспечивает поддержание газообмена и фотосинтеза (Vomle et al., 2021). В этих альтернативных объяснениях нашла отражение необходимость компромисса между (1) экономией воды и (2) ассимиляцией углекислого газа: в зависимости от условий обитания на первый план выступает или необходимость регуляции водного обмена, или ассимиляции углекислого газа. Важно отметить, что во всех работах, где сообщается о влиянии ризосферных бактерий на содержание АБК, ее уровень определяли только в листьях (Porcel et al., 2014). И нам не удалось найти работы, где бы анализировали содержание АБК в корнях.

1.2.4 Этилен, гиббереллины, жасмоновая и салициловая кислоты

Способность ризобактерий влиять на регуляторы роста, указанные в названии данного раздела, играет важную роль в их действии на растения. Однако в задачу данной работы не входило их изучение. Поэтому они будут рассмотрены лишь кратко.

Способности бактерий разрушать предшественник этилена АЦК (амино-циклопропанкарбоновую кислоту) посвящено большое количество публикаций (Glick, 2014; Jin et al., 2017). Это свойство бактерий обусловлено их деаминазной активностью. Хотя этилен, относящийся к гормонам

растений, выполняет ряд важных функций (регуляция роста и гравитропизма, старения, созревания плодов, опадения листьев (Iqbal et al., 2017)), высокий уровень его продукции может ингибировать рост растений (прежде всего, корней) (Vaseva et al., 2018). Поэтому стимуляцию роста растений, в чью ризосферу введены бактерии с деаминазной активностью, объясняют тем, что они снижают продукцию этилена, разрушая его предшественник.

Гиббереллины были обнаружены при изучении патогенных грибов *Gibberella fujikuroi*, заражение которыми вызывает чрезмерное удлинение стебля растений (см. ссылки в обзоре Robert-Seilaniantz et al., 2007). Поскольку была доказана их высокая активность и способность самих растений синтезировать гиббереллины (Hedden, 2020), соединения этого класса были отнесены к гормонам. Многие ризобактерии оказались также способны синтезировать гиббереллины, чем объясняют их ростстимулирующую активность (см ссылки в обзоре Grover et al., 2021).

Жасмоновая и салициловая кислоты также относят к гормонам растений (Shakirova et al., 2010). Наиболее изученная из их функций – участие в защите растений от патогенов (Tamaoki et al., 2013). Ряд ризобактерий оказались способны синтезировать жасмоновую и салициловую кислоты (Forchetti et al., 2007; De Meyer et al., 1999; Chen et al., 2014). Предполагается, что присутствующие в ризосфере жасмоновая и салициловая кислоты участвуют во взаимодействии растений и микроорганизмов на начальных стадиях колонизации корней микробами (Backer et al., 2018).

1.2.5 Механизмы влияния ризосферных бактерий на содержание гормонов в растениях и взаимодействие гормонов друг с другом

В предыдущих разделах упоминалась влияние ризосферных бактерий на содержание гормонов в растениях. В тех случаях, когда под влиянием бактерий в растениях увеличивалась концентрации тех гормонов, которые могли синтезировать данные бактерии, этот эффект можно объяснить

поглощением корнями этих гормонов из ризосферы. То, что растения способны поглощать гормоны, присутствующие в окружающей среде, доказывают многочисленные эксперименты с добавлением гормонов в питательную среду (Kudoyarova et al., 2014; Sharipova et al., 2016).

Альтернативное объяснение влияния ризобактерий на содержание гормонов растений заключается в их способности влиять на метаболизм гормонов в самих растениях. Так, была показана способность ризосферных бактерий влиять на экспрессию генов, контролирующих метаболизм гормонов (Lara-Chavez et al., 2015). Изменение уровня гормонов может быть вызвано продуцируемыми бактериями летучими соединениями (Zhang et al., 2007). Вместе с тем, фитогормоны, синтезируемые бактериями, также способны влиять на содержание других гормонов в растениях. Влияние одних гормонов на концентрацию других хорошо известно (Reski, 2006). Так ауксины изменяют экспрессию *ipt*-генов, контролирующих синтез цитокининов (Zhang et al., 2015), а также активность цитокининоксидаз, катализирующих процесс их распада, и экспрессию кодирующих их генов (Gao et al., 2014); цитокинины влияют на экспрессию *NCED*, ответственного за синтез АБК, а абсцизовая кислота активирует процесс конъюгации ауксинов с аминокислотами (Gan et al., 2019). Важную роль в функционировании гормональной системы играет способность одних гормонов влиять на транспорт других. Так цитокинины и абсцизовая кислота подавляют экспрессию генов, кодирующих PIN транспортеры ауксинов (Šimášková et al., 2015; Shkolnik-Inbar, 2010).

Важным компонентом взаимодействия гормонов является способность цитокининов и ауксинов повышать продукцию этилена в растениях (Arteca, Arteca, 2008). Этим можно объяснить торможение удлинения корней под влиянием бактерий, продуцирующих высокую концентрацию ауксинов (Zamioudis et al., 2013). Индукция синтеза этилена могла быть причиной меньшей ростстимулирующей активности штаммов *Pseudomonas*, которые отличались высоким уровнем продукции ауксинов (Bakaeva et al., 2015).

Наряду с прямым влиянием одних гормонов на синтез, метаболизм и транспорт других, существуют и опосредованные механизмы их действия на концентрацию друг друга. Так было показано, что стимуляция ветвления корней увеличивает концентрацию цитокининов, которые, как известно, синтезируются в их кончиках (Vysotskaya et al., 2001). Эти результаты позволяют объяснить, каким образом инокуляция растений пшеницы бактериями, продуцирующими ауксины, могла увеличить содержание цитокининов в растениях, которое было зарегистрировано через 2 дня после инокуляции (Kudoyarova et al., 2017).

Влияние цитокининов на уровень абсцизовой кислоты в растениях также может быть опосредовано действием этих гормонов на водный обмен. Так, индукция экспрессии *ipt*-гена у трансгенных растений табака приводила к увеличению транспирационных потерь из-за поддержания устьиц открытыми под влиянием цитокининов (Vysotskaya et al., 2010). Это в свою очередь приводило к снижению ОСВ и накоплению АБК. Таким же образом, очевидно, повышение концентрации цитокининов в листьях и повышение скорости транспирации у инокулированных цитокинин продуцирующими бактериями растений салата приводили к зарегистрированному в них накоплению АБК (Arkhipova et al., 2007).

Таким образом, влияние ризосферных бактерий на гормональную систему требует тщательного изучения, поскольку, с одной стороны, этот феномен играет важную роль в действии бактерий на растения, а с другой, позволяет предсказать влияние бактерий на концентрацию гормонов в растениях опираясь не только на сведения об их способности продуцировать тот или иной гормон.

1.3 Засоление и механизмы солеустойчивости растений

Ризосферные бактерии стимулируют рост и повышают урожайность растений не только в благоприятных, но и стрессовых условиях, что открывает перспективы для их использования в биотехнологии,

направленной на повышение урожайности растений в неблагоприятных условиях (Kudoyarova et al., 2019; Backer et al., 2018; Hakim et al., 2021). Засоление почвы является одним из распространенных неблагоприятных воздействий (Rengasamy, 2006). Сообщается, что более одного миллиарда гектаров земли подвержено засолению почвы, и эта площадь постоянно увеличивается (Normans et al., 2021; Tian et al., 2020). Засоление почв распространено повсеместно и затрагивает территории более ста стран (Hammam and Mohamed, 2020). Основная часть засоленных территорий в основном находится в Индии, Китае, США, Судане, Пакистане и Турции (Singh, 2021). В глобальном масштабе более одной пятой всех орошаемых земель засолено (Adejumobi et al., 2016). Согласно некоторым прогнозам, эта область может увеличиться более чем на 50% в течение следующих 30 лет (Wang et al., 2020).

Засоление отрицательно сказывается на росте и развитии растений, уменьшая урожайность используемых в сельском хозяйстве культур, в то время как растущий спрос на продовольствие требует использования засоленных земель (Shabala, 2013; Saberi Riseh et al., 2021; Tyerman et al., 2019). Основные выводы о механизмах солеустойчивости были сделаны на основе изучения арабидопсиса (Assaha et al., 2017), однако не до конца понятно, насколько они применимы к возделываемым растениям (Munns, Gilliam, 2015). Растения различаются по устойчивости к засолению в широком диапазоне от крайне чувствительных растений до самых устойчивых. Галофиты – растения, которые адаптировались к среде с засоленной почвой и способны выживать и размножаться при концентрации соли 200 мМ или выше (Flowers, Colmer, 2008). Изучение галофитов должно открыть перед селекционерами новые возможности в попытках повысить солеустойчивость традиционных сельскохозяйственных культур (Shabala et al., 2014). Однако селекционный процесс требует много времени, а с помощью ризоферных бактерий можно быстрее повысить солеустойчивость возделываемых растений (Peng et al., 2021). Ризосферные бактерии

проявляют свою способность стимулировать рост растений в неблагоприятных условиях, повышая тем самым их устойчивость. Так многие бактериальные штаммы стимулировали рост растений на фоне засоления (Habib et al., 2016; Pangumaran, Smith, 2017; Shahzad et al., 2017). Для того, чтобы повысить эффективность влияния бактерий на солеустойчивость растений и отбирать более перспективные в этом плане штаммы бактерий, необходимо понимать механизм ингибирования роста растений под влиянием засоления и адаптации растений к этим условиям.

Различают два основных компонента в действии натрий хлоридного засоления (Веселов и др., 2007) (наиболее распространенного, опасного для растений и хорошо изученного типа засоления (Dornelas et al., 2020)). Во-первых, это дефицит воды, вызванный снижением ее доступности из-за присутствия в почвенном или питательном растворе высокой концентрации осмотически активных соединений (осмотический компонент действия засоления). Во-вторых, это постепенное накопление токсичных ионов натрия в тканях растений. Токсичность натрия связана с тем, что его ионы конкурируют с калием за переносчики (Raddatz et al., 2020), в результате чего снижается поглощение жизненно важных ионов калия, необходимого для поддержания тургора, синтеза белка и фотосинтеза (Sardans et al., 2021).

1.3.1 Осмотический компонент в действии засоления

Осмотический компонент первым проявляется в действии засоления на растения. Было показано, что добавление хлорида натрия в питательный раствор сопровождалось почти мгновенным прекращением роста листа растяжением у растений ячменя (Fricke et al., 2004). На первый взгляд, такое быстрое увеличение концентрации соли в растворе может показаться неестественным. Однако, благодаря неравномерности распределения ионов в почве (Hodge, 2004) и высокой скорости роста, корни могут быстро вступить в контакт с высокой концентрацией хлорида натрия. Прекращение роста в этом случае является результатом снижения притока из корней воды,

необходимой для роста клеток растяжением. Однако, например, в работе Fricke et al., 2004 отмечается, что через примерно полчаса после добавления хлорида натрия в питательный раствор было зарегистрировано возобновление роста. Важно понять, за счет чего это происходило. В принципе, увеличение притока воды из корней может происходить благодаря снижению водного потенциала листа, поскольку движущей силой для движения воды является градиент между водным потенциалом питательного раствора и листа (Jones, 2014). Однако снижение водного потенциала приводит к падению тургора, за счет которого и происходит растяжение клеток. Восстановление тургора при дефиците воды может происходить за счет накопления осмотически активных веществ в клетках растений (Turner, 2018). Однако, в работе Fricke et al. 2004 возрастание осмоляльности сока листьев было зарегистрировано только через 20 ч после начала действия засоления, а возобновление роста – уже через полчаса. Очевидно, что механизм этого феномена не был связан с осморегуляцией. Поскольку возобновление роста при засолении происходило на фоне накопления АБК и снижения транспирации, это свидетельствовало о роли в этом процессе индуцированного абсцизовой кислотой закрытия устьиц.

Сравнение устьичной проводимости у растений ячменя, различающихся по солеустойчивости, в работе Veselov et al., 2008, показало, что закрытие устьиц под влиянием засоления быстрее происходило у более солеустойчивого сорта. Значение закрытия устьиц для поддержания роста растений на фоне дефицита воды подтверждают эксперименты с растениями, обработанными ризосферными бактериями, в которых была зарегистрирована пониженная устьичная проводимость у обработанных бактериями растений, способных синтезировать абсцизовую кислоту (Cohen et al., 2015). Вместе с тем, закрытие устьиц не может быть панацеей при длительном действии засоления, поскольку при этом нарушается газообмен растений и снижается активность фотосинтеза. И действительно, в работе Veselov et al., 2008, при действии засоления в течение нескольких суток

более высокую устьичную проводимость зарегистрировали у более солеустойчивого сорта. Эти результаты соответствуют также сведениям о повышении устьичной проводимости у растения гороха под влиянием ризобактерий, способных катаболизировать АБК (Belimov et al., 2014).

Для повышения устойчивости растений к осмотическому компоненту засоления необходимо не просто поддерживать устьица открытыми, но компенсировать транспирационные потери воды ее притоком из корней. Важно то, что ризобактерии способны активировать поглощение воды растением (Dodd et al., 2012). Увеличение массы корней – один из способов поддержания их способности поглощать воду в условиях ее дефицита. Обработка растений пшеницы ризосферными бактериями увеличивала массу корней на фоне засоления, что сопровождалось активацией роста растений в целом (свидетельство повышения солеустойчивости) (Arkhipova et al., 2020a). Вместе с тем, увеличение массы корней может отрицательно сказываться на солеустойчивости, поскольку при этом усиливается способность корней поглощать токсичные ионы натрия (Moya et al., 1999). К меньшим побочным эффектам может приводить повышение гидравлической проводимости корней. Как было показано в работе Архиповой с соавторами (Arkhipova et al., 2020a), на фоне засоления наибольшим ростстимулирующим действием обладал штамм *Bacillus subtilis* IB-22, который повышал гидравлическую проводимость тканей растений. Как указывалось в предыдущем разделе, повышение гидравлической проводимости тканей чаще всего связано с активностью водных каналов аквапоринов. В ряде работ была показана способность ризобактерий влиять на экспрессию генов аквапоринов (Marulanda et al., 2010; Wang et al., 2018). Однако участие бактерий в регуляции гидравлической проводимости на фоне дефицита воды требует дальнейшего изучения. Хотя возможная роль гормонов в регуляции гидравлической проводимости под влиянием ризобактерий предполагалась (Dodd, Pérez-Alfocea, 2012), это не было показано экспериментально.

1.3.2 Токсический компонент в действии засоления

Ограничение поглощения соли корнями может иметь решающее значение для формирования солеустойчивости, поскольку корни предотвращают поглощение из почвенного раствора примерно 95 % соли (Munns, Gilliam, 2015). Накопление высоких концентраций ионов натрия в цитоплазме растения губительно для растения. Даже растения-галофиты, способные расти на почве с высокой концентрацией NaCl, избегают накопления ионов натрия в цитоплазме (Blumwald et al., 2000), перемещая их в вакуоли за счет активности переносчиков, расположенных в тонопласте (Shabala, Mackay, 2011). Этот механизм позволяет поддерживать тургор и градиент водного потенциала между клетками и окружающей средой, а баланс между осмоляльностью цитоплазмы и вакуолей сохраняется за счет накопления в цитоплазме «совместимых осмотиков» (сахаров, аминокислот и их производных, включая пролин и бетаин (Welsh, 2000). В какой-то мере этот механизм реализуют и гликофиты, особенно растения ячменя и твердой пшеницы (Munns et al., 2016). Однако, для большинства гликофитов, к которым относятся возделываемые растения, устойчивость к засолению зависит от их способности не допустить накопления ионов натрия в растении (Assaha et al., 2017).

Токсичность натрия обусловлена его способностью замещать ионы калия в местах их связывания с белками, нарушая тем самым их функции (Munns, Tester, 2008). Калий играет ключевую роль в жизни растения, и поддержание его концентрации в определенных пределах крайне важно для ряда процессов, включая рост и развитие, прорастание, движение устьиц, активность ферментов, загрузку и разгрузку флоэмы, гомеостаз, pH цитоплазмы, поддержание мембранного потенциала, транспорт нитратов, перенос белков в вакуоли (Assaha et al., 2017). Натрий не только замещает ионы калия, но и снижает концентрацию калия в клетках и в растении в целом. Концентрация ионов калия в клетках и в растении в целом в сотни раз

превышает его уровень в окружающей среде (около 1 мМ в почвенном растворе и около 100 мМ – в цитоплазме), что достигается за счет работы переносчиков этих ионов. Натрий снижает поглощение калия как за счет конкуренции с ним в процессе транспорта через неселективные ионные каналы (например, через каналы, управляемые циклическими нуклеотидами (CNGCs) (Jha et al., 2016)), так и с участием селективных для ионов калия переносчиков. Например, высокоаффинные транспортеры калия (НКТ) (Waters et al., 2013) и транспортеры, обеспечивающие активное поглощение калия клетками против градиента его концентрации (НАК) (Cai et al., 2021). Показано, что экспрессия *НАК* гена возрастает на фоне дефицита калия, что обеспечивает его более эффективное поглощение (Alemán et al., 2009). Однако засоление снижало экспрессию гена, кодирующего этот переносчик, видимо для того, чтобы ограничить поступление в растения натрия с его помощью. Снижение уровня экспрессии *CNGC1* гена способствовало большей солеустойчивости одного из сортов риса, в то время как у чувствительного сорта уровень экспрессии этого гена возрастал на фоне засоления (Senadheera et al., 2009). Показано, что ген риса *OsHKT2;1*, отличающийся высокой селективностью по отношению к ионам натрия, вносит существенный вклад в обеспечение чувствительности растений к засолению (Horie et al., 2007). Его локализация в плазмолемме эпидермы корня способствует притоку ионов натрия в корни. Очевидно, снижение уровня его экспрессии может повышать солеустойчивость. Вместе с тем, экспрессия гена, кодирующего НКТ переносчик в клетках паренхимы, окружающей ксилемные сосуды, может повышать солеустойчивость, обеспечивая поглощение ионов натрия из ксилемного потока и снижая их приток в листья (Horie et al., 2012; Munns et al., 2012), где ингибирование фотосинтеза под их влиянием наиболее опасно для растения. Таким образом, для повышения солеустойчивости растений путем генетической модификации экспрессии генов переносчиков важно учитывать их тканеспецифичность. Перспективность использования НКТ переносчиков

для повышения солеустойчивости растений определяется также тем фактом, что отдельные члены этого семейства отличаются селективностью по отношению к натрию и калию. Так наряду с *OsHKT2;1*, имеющим высокое сродство к ионам натрия, существуют НКТ каналы, имеющие высокую селективность по отношению к ионам калия (Mäser et al., 2002). Повышение уровня их экспрессии тем или иным способом должно повышать солеустойчивость растений.

Конкуренция между ионами калия и натрия за переносчики – не единственный механизм снижения уровня калия в растениях. Важную роль в этом процессе играет снижение под влиянием ионов натрия активности мембранных АТФаз, обеспечивающих энергией транспортеры, с помощью которых клетки поглощают ионы калия против градиента их концентрации, а также деполяризация мембраны, что приводит к активации каналов, по которым калий выбрасывается из клеток (Assaha et al., 2017). Этот механизм лежит в основе закрытия устьиц за счет снижения концентрации в них ионов калия, но в других клетках этот процесс крайне нежелателен. Поэтому так важно предотвратить накопление ионов натрия в клетках. Наряду с рассмотренными выше механизмами важную роль в поддержании ионного гомеостаза при засолении играют Na^+/H^+ антипортеры, например, *SOS1* (Shi et al., 2000). С его помощью натрий активно выбрасывается из клеток. Казалось бы, преимущество этого механизма неоспоримо. Однако оно зависит от того, где экспрессируется данный ген. Так его повышенная экспрессия в клетках листьев может иметь отрицательные последствия, поскольку выброс натрия из клеток и его накопление в апопласте может привести к исчезновению осмотического градиента между клетками и окружающей их средой и, как следствие, – к падению тургора и прекращению притока воды в клетки. Экспрессия *SOS1* гена в эпидерме кончика корня, где находятся недифференцированные клетки и отсутствует вакуоль, снижает поступление ионов натрия в растение, выбрасывая его в окружающую среду (Shi et al., 2003).

Сведения о роли переносчиков в формировании солеустойчивости растений привлекли внимание исследователей к изучению влияния бактерий на экспрессию генов, кодирующих переносчики на фоне засоления. Было показано, что штамм *Bacillus subtilis* GB03 снижает экспрессию *OsHKT2;1*, снижая поглощение натрия, и повышает экспрессию *SOS1* и *HKT1;5*, обеспечивая выброс ионов натрия и их разгрузку из ксилемы, соответственно (Niu et al., 2016).

1.3.3 Роль апопластных барьеров в солеустойчивости растений

Солеустойчивость можно рассматривать на разных уровнях структурной организации растений от органелл до целого растения (Breckle, 1990). В предыдущих разделах рассматривались механизмы, связанные с функционированием расположенных в мембранах переносчиков ионов. Вместе с тем, важно не забывать, что транспорт воды и растворенных в ней солей может происходить по апопласту, минуя мембраны (Kim et al., 2018). Вклад апопластного пути снижается на фоне стрессовых воздействий, связанных с дефицитом воды и поступлением в растения токсичных веществ. Так, транспорт соли через корни ограничивается апопластными барьерами, образованными поясками Каспари и пластинами суберина, что было показано для растений риса (Krishnamurthy et al., 2011) и кукурузы (Karahara et al., 2004). Апопластные барьеры могут также играть важную роль в адаптации к засолению у галофитов (Liu et al., 2020).

Важную роль в регуляции транспорта ионов играет экзодерма и эндодерма корня. Анатомия зрелого корня включает эпидермис, кору, эндодерму и центральный цилиндр (стель) (Высоцкая и др., 2014). Эндодерма окружает центральный цилиндр и становится основным барьером для проникновения растворенных в воде веществ по мере отложения в её стенках гидрофобных веществ: лигнина и суберина, формирующих пояски Каспари (Reinhardt, Rost, 1995). Экзодерма («гиподерма с поясками

Каспари») является дополнительной оболочкой у некоторых видов (Peterson, Perumalla, 1990).

Растения транспортируют минеральные элементы тремя путями: симпластным (по плазмодесмам клеток, образующих симпласт), трансклеточным (от клетки к клетке, преодолевая плазмолемму) и апопластным (Steudle, 2000). Соль может проникать в корни по апопласту, минуя мембраны, там, где апопластные барьеры либо еще не сформированы, либо были нарушены (например, в месте формирования боковых корней) (Yeo et al., 1987; Krishnamurthy et al., 2011). Физические барьеры, т.е. экзо- и эндодерма, блокируют апопластный обходной поток ионов и воды в ксилему, тем самым помогая уменьшить неконтролируемое проникновение веществ в центральный цилиндр (Ma, Peterson, 2003; Krishnamurthy et al., 2009). При этом возрастает роль контролируемого переносчиками транспорта, о которых шла речь в предыдущем разделе. Поскольку пояски Каспари и пластины суберина являются физическим барьером для апопластного транспорта, ионы должны проходить через мембрану, чтобы достичь ксилемы (Hasegawa et al., 2000). Поэтому создаваемые поясками Каспари и пластинами суберина барьеры для проникновения в центральный цилиндр по апопласту ионов, включая ионы натрия, являются предпосылкой для эффективной селективности поглощения (и исключения) ионов растениями. Предотвращение или уменьшение обходного (апопластного) потока ионов в ксилему за счет экзо- и/или эндодермальных барьеров имеет решающее значение, если растения должны ограничивать перенос соли к побегам в условиях засоления. Утверждалось, что неспособность таких барьеров ограничить транспорт Na^+ и Cl^- у растений риса является основной причиной чувствительности этого вида к засолению (Yeo et al., 1987). Дополнительное подтверждение этой точки зрения – сообщение о том, что отложение кремния в экзодерме и эндодерме снижает поглощение натрия растениями риса в условиях засоления за счет снижения апопластного транспорта через корень

(Gong et al., 2006). Эти результаты демонстрируют важную роль, которую апопластические барьеры играют в ограничении потока ионов в ксилему.

Сообщалось, что засоление может индуцировать образование поясков Каспари и пластин суберина как в эндодерме, так и в гиподерме у некоторых видов. В условиях засоления опробковение гиподермы и эндодермы можно обнаружить ближе к кончику корня у цитрусовых (Walker et al., 1984). У хлопчатника высокая концентрация хлорида натрия приводила к формированию экзодермы с поясками Каспари вблизи апекса корня и в основании корня рядом с гипокотилем, в то время как в отсутствие засоления апопластные барьеры не развивались (Reinhardt, Rost, 1995). Это означает, что отложение суберина и формирование апопластных барьеров как в эндодерме, так и в экзодерме может быть вызвано засолением и связано с солеустойчивостью растений. У галофита *Avicennia officinalis* микрорентгеноспектральный анализ показал преимущественное задерживание ионов натрия и хлора в коре по сравнению с центральным цилиндром корней. У популяции *Suaeda salsa*, обитающей в приливной зоне, прорастание семян происходит на фоне высокой концентрации солей в почве (Song et al., 2011). В этой популяции образование поясков Каспари происходило раньше по сравнению с внутриконтинентальной популяцией (Liu et al., 2020). Эти результаты свидетельствуют о том, что эндодерма является первичным местом задержки солей: было подсчитано, что барьер из поясков Каспари может более, чем на 90 % уменьшить загрузку ионов натрия в ксилему (Krishnamurthy et al., 2014).

Пояски Каспари формируются в антиклинальных клеточных стенках между клетками эндодермы и экзодермы (Barberon et al., 2016; Li et al., 2017). Изолированные клеточные стенки эндодермы однодольных и двудольных растений состоят из суберина, лигнина, углеводов и структурных белков клеточной стенки (Schreiber et al., 1999). На первой стадии развития поясков Каспари клетки эндодермы сильно лигнифицированы с высоким содержанием углеводов и белков, но с относительно низким содержанием в

них суберина (Schreiber et al., 1999). Лигнин – гидрофобное соединение, синтезируемое в результате полимеризации фенольных соединений по фенилпропаноидному пути (Boerjan et al., 2003). На более поздней стадии развития апопластных барьеров на внутренней поверхности радиальных и тангенциальных стенок эндодермы также формируются пластины суберина (Schreiber et al., 1999; Foster, Miklavcic, 2017). Роль суберина в блокировании транспорта воды и растворенных веществ зависит от полиалифатического домена, который в основном состоит из оксигенированных жирных кислот и их производных (Zimmermann et al., 2000).

В литературе мало информации о генах, контролирующих биосинтез суберина (Krishnamurthy et al., 2020). Считается, что наиболее важными реакциями в биосинтезе пластин суберина являются удлинение и гидроксирование жирных кислот, и в эти процессы вовлечены ферменты из семейства β -кетоацил-КоА-синтаз (Wei et al., 2020). Кроме того, гидроксирование жирных кислот катализируется ферментами семейств *CYP86* и *CYP94* (Wei et al., 2020). В регуляции отложения суберина также вовлечены транскрипционные факторы MYB41 и MYB39 (Krishnamurthy et al., 2020). У относительно солеустойчивой культуры сорго засоление активировало гены, кодирующие ABC переносчики, участвующие в транспорте предшественников суберина (Yang et al., 2018).

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Объект исследования

2.1.1 Растительный материал

Опыты проводили на растениях ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Степное, его дефицитном по абсцизовой кислоте мутанте Az34, ячмене сорта Прерия и растениях твёрдой яровой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) сорта Башкирская 27. Растения *H. vulgare* отличаются относительно высокой солеустойчивостью, в то время как твердая пшеница известна своей относительно низкой устойчивостью к засолению (Munns et al., 2008; Veselov et al., 2009).

2.1.2 Бактериальные штаммы и питательные среды

Для инокуляции ризосферы растений использовали гормон продуцирующие штаммы бактерий из коллекции микроорганизмов УИБ УФИЦ РАН: *Bacillus subtilis* IB-22 (GenBank MT590663) – грамположительные аэробные спорообразующие бактерии, продуцирующие цитокинины (640-1200 нг/мл) (Кузьмина и др., 2018; Arkhipova et al, 2005) и *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 грамотрицательные бактерии, мобилизующие фосфаты и продуцирующие ауксины (около 700 нг/мл), (Кузьмина и др., 2018). Для получения препаратов бактерии штамма *B. subtilis* IB-22 культивировали на среде K1G (г/л: крахмал - 10.0; дрожжевой экстракт – 5.0; пептон – 4.0; кукурузный экстракт – 1.0; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 1.0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ - 1.0; дистиллированная вода – 1 л; pH 7.6 - 7.8 (Кузьмина и др. 2015), а *P. mandelii* IB-Ki14 – на среде Кинг Б (King et al., 1954). Культивирование бактерий осуществляли в колбах Эрленмейера (250 мл) на шейкере-инкубаторе Innova 40R (250 мин⁻¹): *P. mandelii* - при 28°C в течение 2 суток и *B. subtilis* - при 37°C - 6 суток.

2.2 Постановка экспериментов

2.2.1 Условия выращивания растений *H. vulgare* при инокуляции их ризосферы микроорганизмами

Семена *H. vulgare* стерилизовали замачиванием в растворе 96% этанола и 3% H_2O_2 в течение пяти минут, а затем многократно промывали водой. Затем семена стратифицировали при температуре 4°C в течение двух суток и выдерживали в темноте при комнатной температуре в течение 24 часов.

При подборе условий выращивания *H. vulgare* в качестве субстрата для выращивания растений использовали песок, почву и вермикулит. Для обеспечения дренажа на дно вегетационных сосудов объемом 500 см³ с песком или почвой помещали слой гравия (0,1 кг). При использовании вермикулита дренаж не использовали. После установки стеклянной трубки для газообмена сосуды заполняли сухой глинисто-иллювиальной почвой (0,45 кг) со средней гумусированностью (6,3%) с добавлением 10% песка; либо 0,69 кг песка; либо 0,06 кг вермикулита.

В опытах с использованием почвы в качестве субстрата за три дня до посадки растений почву в сосудах проливали либо водой, либо 100 мМ раствором NaCl до 100 % от полной влагоёмкости. Песок или вермикулит предварительно смачивали раствором 50% Хогланда-Арнона (Hoagland, Arnon, 1950) до 90% полной влагоёмкости. В питательный раствор половины сосудов добавляли хлорид натрия до концентрации 100 мМ. После этого в сосуды помещали по 10 проростков ячменя, имеющих длину coleoptilia около 0,3-0,5 см на глубину 1,5-2 см.

Обработку проростков ячменя суспензией *B. subtilis* IB-22 и *P. mandelii* IB-Ki14 проводили путем внесения разбавленной до необходимой концентрации суспензии (10^5 , 10^6 , 10^8 КОЕ / растение у бацилл и 10^8 КОЕ / растение у псевдомонад) в прикорневую среду каждого растения в количестве 1 мл. Контролем служили растения ячменя, не подвергавшиеся бактериальной обработке.

В предварительных экспериментах растения выращивались на двух светоплощадках, отличающихся освещенностью: 400 мкмоль $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ и 240 мкмоль $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ фотосинтетически активной радиации (ФАР) при 14 ч фотопериоде и температуре 25/20°C (день/ночь). В дальнейших опытах использовалось только освещение 400 мкмоль $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$.

На протяжении эксперимента влажность песка и вермикулита поддерживали на уровне 80% полной влагоемкости, а влажность почвы – на уровне 70% путем ежедневного полива растений дистиллированной водой. Количество воды, необходимое для полива, рассчитывали посредством взвешивания сосудов с растениями. Для поддержания питания растения, выращенные на песке и вермикулите, через день получали по 10 мл 10% раствора Хогланда-Арнона на сосуд.

2.2.2 Условия выращивания растений *T. durum* при инокуляции их ризосферы микроорганизмами

Условия выращивания растений *T. durum* принципиально не отличались от описанных выше условий выращивания растений *H. vulgare* в почве. Семена пшеницы стерилизовали аналогично семенам ячменя (см. выше). Растения выращивали в вегетационных сосудах объемом 500 см^3 . На дно сосудов помещали слой гравия для дренажа. После установки стеклянной трубки для газообмена в сосуды засыпали 0,45 кг сухой глинистоиллювиальной почвы с содержанием гумуса (6.3%), и добавлением 10 % песка. За три дня до посадки растений почву в сосудах проливали либо водой, либо 100 мМ раствором NaCl до 100 % от полной влагоёмкости. Растения выращивали при 24°C, освещенности 420 мкмоль $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ФАР и 14 ч фотопериоде. Влажность почвы на протяжении эксперимента поддерживали на уровне 70% от полной влагоёмкости путем ежедневного полива сосудов дистиллированной водой. В каждый сосуд помещали по десять семян и инокулировали 1 мл бактериальной суспензии на одно семя (10^7 КОЕ/мл). В

качестве контроля использовали растения, выращенные в почве без добавления ризосферных бактерий.

2.3 Анализ фитогормонов

2.3.1 Экстракционная очистка и концентрирование фитогормонов

Определение гормонов проводили на 8-е сутки после бактериальной обработки. Для анализа были отобраны побеги и корни четырех растений из разных вегетационных сосудов (на один повтор). Для оценки способности *B. subtilis* IB-22 продуцировать абсцизовую кислоту, на 5-й день культивирования бактерий отбирали 1 мл культуральной жидкости. Фитогормоны экстрагировали из растительного материала 80%-ным этиловым спиртом в соотношении объёмов 1:10 в течение 16 часов. Полученный спиртовой экстракт после предварительной фильтрации упаривали до водного остатка.

Абсцизовую кислоту (АБК) и индолилуксусную кислоту (ИУК) из полученного водного остатка (или бактериальной питательной среды) после его разбавления дистиллированной водой и подкисления соляной кислотой до $\text{pH}=2,5$ экстрагировали диэтиловым эфиром как описано (Veselov et al., 2008) при соотношении объёмов органической и водной фаз 1 к 3. Затем АБК переносили из органической фазы в 1%-ный раствор NaHCO_3 , (соотношение водной и органической фазы 1 к 3) и реэкстрагировали из подкисленной водной фазы диэтиловым эфиром. Затем метилировали при помощи diazometана, полученного из нитрозометилмочевины. Для метилирования в колбу помещали 40%-ный раствор гидроксида калия и диэтиловый эфир в пропорции 1 к 3 и при непрерывном помешивании на магнитной мешалке порционно добавляли нитрозометилмочевину до получения слабого желто-зеленого окрашивания раствора. Полученный раствор diazometана в эфире добавляли к образцам при комнатной температуре до сохранения пожелтения. После образцы упаривали досуха и перед проведением иммуноферментного анализа растворяли в 100 мкл 80%-ного этанола.

Цитокинины (ЦК), содержащиеся в аликвоте водного остатка, концентрировали на картридже C18, уравновешенном дистиллированной водой (Bond-Elut, RP-C18). Водный остаток после центрифугирования наносили на колонку, которую затем промывали 10 мл дистиллированной воды. Цитокинины извлекали 80%-ным этиловым спиртом. Далее этанол упаривали досуха и цитокинины снова растворяли в 20 мкл 80%-ного этилового спирта, наносили на пластину для тонкослойной хроматографии (Merck 50x200x0.25 мм силикагеля 60 F-254). Разделение цитокининов проводили в системе растворителей из бутанола, аммиака и воды в соотношении 6:1:2. После определения положения стандартов зеатина и зеатинрибозида в ультрафиолетовом свете, силикагель с зон разделения образцов, соответствующих зонам выхода стандартов, растворяли в 0,1 М фосфатным буфером (pH=7.4). После осаждения силикагеля путем центрифугирования, содержание цитокининов в супернатанте измеряли посредством твердофазного иммуноферментного анализа, используя антитела к зеатинрибозиду, которые имеют высокую специфичность к производным зеатина и высокую иммунореактивность к зеатину, рибозиду и нуклеотиду зеатина (Веселов, 1999).

2.3.2 Иммуноферментный анализ

Для проведения иммуноферментного анализа (ИФА) использовали полистироловый планшет (Costar). В начале анализа конъюгат необходимого гормона с белком разводили в физиологическом растворе. Полученный раствор разливали по 200 мкл в каждую лунку и два часа инкубировали при температуре 37° С в термостате. Не связавшийся в течение двух часов конъюгат трижды смывали с планшета физиологическим раствором с добавлением 0,05% Tween-20 и pH=7,2 (ФТ). Далее в часть лунок вносили стандарты гормона в десятикратном разведении, а в остальные лунки вносили аликвоты спиртового раствора метилированных гормонов (ИУК, АБК) или аликвоты буферного раствора после элюции гормонов из силуфола

(ЦК). Во все лунки вносили 100 мкл разведенную физиологическим раствором, содержащим 0.5% бычьего сывороточного альбумина и 0,05% Tween-20 (ФТО) анти-сыворотки к каждому гормону. Инкубацию проводили при 37°C в течение 1 часа, затем промывали лунки раствором ФТ. Для определения количества сыворотки, прореагировавшей с сорбированными в лунках белковыми конъюгатами гормонов, использовали препарат вторых антикроличьих бычьих антител, меченых пероксидазой. Этот препарат, разведенный в ФТО, разливали в лунки по 200 мкл и инкубировали 1 час при 37° С, а после окончания инкубации промывали планшеты с помощью ФТ. Количество иммуносорбированных антител определяли по ферментативной активности сорбированной пероксидазы с помощью цветной реакции субстрата (0.4 мг/мл ортофенилендиамина в 0,06 М фосфатном буфере рН=5,0, содержащем 0.006% перекиси водорода). Субстрат разливали по 200 мкл в каждую лунку планшета. В течение двадцати минут дожидались развития цветной реакции, которую затем останавливали 4-нормальной H₂SO₄ (по 50 мкл в лунку). Оптическую плотность образцов после этого промеряли на фотометре «Униплан» при длине волны 492 нм. Надежность использования иммуноанализа для определения гормонов была показана путем сравнения его результатов с данными физико-химических методов (Arkhipova et al., 2007; Kudoyarova et al., 2014; Veselov et al., 2018).

2.4 Выделение и очистка РНК из растений *H. vulgare*

Тотальную РНК выделяли с использованием реагента TRIzol™ (Sigma, Германия) по протоколу производителя на седьмой день после бактериальной обработки из 100 мг корней и побегов растений *H. vulgare*, выращенных в песке. Концентрацию рибонуклеиновых кислот измеряли при A₂₆₀/A₂₈₀ на спектрофотометре Smart Spec Plus (Bio-Rad, США).

2.5 Проведение количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

Анализ уровня транскриптов генов *HvNCED1*, *HvNCED2*, *HvCYP707A1*, ответственных за метаболизм абсцизовой кислоты, проводили методом количественной ПЦР в режиме реального времени с использованием набора готовых реагентов EvaGreenI («Синтол», Россия) и прибора CFX Connect real-time PCR Detection System (BioRad Laboratories, США).

Для синтеза кДНК проводили реакцию обратной транскрипции с использованием M-MuLV обратной транскриптазы («Синтол», Россия). В качестве праймера использовали Oligo(dT)15, а реагенты обратной транскрипции инкубировали при 37 °С в течение 1 ч в общем объеме 25 мкл. После десятикратного разведения 2 мкл синтезированной кДНК использовали для количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени (qPCR). Праймеры для qPCR были сконструированы на основе последовательности кДНК с использованием PrimerQuest™ Tool (таблица 2).

Таблица 2 – Последовательности праймеров, используемых для количественного ПЦР анализа в режиме реального времени

Обозначение гена	Праймер	Нуклеотидная последовательность 5'-3'	Номер гена в базе данных
<i>HvNCED1</i>	Forward	CCCSTATGGCTTCCACGGCACATT	AB239297
	Reverse	GTGATGAGTAACCGCCGCTAACTG	
<i>HvNCED2</i>	Forward	CGGGTACATTCTCACSTTCGTGCA	AB239298
	Reverse	CTGGCAACTTCCTCTTTCCATGTCC	
<i>HvCYP707A1</i>	Forward	CCACCAAGTACAGATGGTCTAC	AB239299
	Reverse	TCCGAAGGAGGAAGACATAGA	
<i>HvGADPH</i>	Forward	GCCACTATTCTTCAGGGACTT	EF409626
	Reverse	CTTCTTGGCACCACCСТААТА	

Программа количественной ПЦР: в течение 5 минут 95°С; 40 циклов при 95°С по 15 с, при 60° С по 20 с и при 72°С по 30 с. После заключительного цикла ПЦР проводили анализ кривой плавления для

определения специфичности реакции (при 95°C в течение 15 с, 60°C в течение 1 мин и 95°C в течение 15 с). Эффективность каждой пары праймеров определяли с использованием серии 10-кратных разведений кДНК, чтобы надежно определить кратность изменений. В качестве внутреннего контроля использовали ген домашнего хозяйства ячменя *HvGADPH*. Измерения проводили в трех химических и биологических повторностях. Количественную оценку экспрессии генов проводили с помощью программного обеспечения CFX Connect real-time PCR Detection System (BioRad Laboratories, США). Все реакции, включая нематричный контроль, проводили трижды.

2.6 Содержание хлорофилла в листьях

Содержание хлорофилла в эпидерме второго листа ячменя определяли при помощи прибора DUALEX SCIENTIFIC+ (FORCE-A, France).

2.7 Коэффициент нефотохимического тушения

Флуоресценцию хлорофилла листьев измеряли флуориметром Junior PAM («Walz», Германия) с программой WinControl 3. До измерений растения выдерживали в темноте в течение получаса. Коэффициент нефотохимического тушения (NPQ) рассчитывали по формуле $NPQ = (F'm / Fm) - 1$, где Fm – максимальная величина выхода флуоресценции хлорофилла в адаптированных к темноте листьях в ответ на вспышку насыщающего света, $F'm$ – максимальная величина выхода флуоресценции во время насыщающей вспышки, созданной на фоне постоянно действующего света (относительные единицы).

2.8 Транспирация

Для измерения транспирации почву в сосудах с растениями накрывали полиэтиленовой плёнкой на 4 часа для того, чтобы избежать испарения воды.

В течение этого времени сосуды с растениями взвешивали через равные промежутки времени.

2.9 Относительное содержание воды

Для определения относительного содержания воды (ОСВ) брали первый лист четырёх растений. Отобранные листья взвешивали и погружали срезом в дистиллированную воду, налитую в пробирку. Далее пробирку закрывали парафином для насыщения воздуха влагой и помещали в темноту на ночь. Спустя сутки листья вновь взвешивались для определения тургорной массы. После этого листья высушивали до постоянной массы и рассчитывали ОСВ по формуле: $\text{Относительное содержание воды} = ((\text{сырая масса} - \text{сухая масса}) / (\text{тургорная масса} - \text{сухая масса})) * 100\%$.

2.10 Водный потенциал

Водный потенциал листьев и субстрата измеряли с помощью психрометра "Pсырго" (Wescor, США).

2.11 Устьичная проводимость

Устьичную проводимость измеряли порометром (MKDeltaT Devices, Великобритания).

2.12 Определение содержания натрия, калия и фосфора

Через две недели после инокуляции оценивали концентрацию натрия и калия, их соотношение, а также концентрацию фосфора в корнях, первом и втором зрелых листьях растений пшеницы с помощью эмиссионного спектрометра с индуктивно-связанной плазмой ICPE-9000 (Shimadzu, Япония). Для этого растительные образцы подвергали разложению в смеси концентрированной HNO_3 и 38% H_2O_2 при 70°C с использованием автоклава DigiBlock (LabTech, Sorisole, Италия).

2.13 Выявление локализации лигнина и суберина на срезах корней

Для визуализации лигнина и суберина гемисульфатом берберина (Musielak et al., 2015) на шестые и одиннадцатые сутки после начала экспериментов вручную вырезали поперечные срезы из сегментов базальной части корней с помощью безопасной бритвы. Срезы окрашивали водным раствором полусульфата берберина (0,1 % масс./об.) в течение 1 ч, промывали 2 раза дистиллированной водой, затем для усиления интенсивности флуоресценции срезы дополнительно окрашивали в течение 15 мин толуидиновым синим (0,05 % масс./об.) в 0,1 М фосфатном буфере (pH=5,6), промывали 2 раза дистиллированной водой, заливали в смесь 0,1% FeCl₃/50% глицерина и накрывали покровным стеклом. Флуоресценцию берберина возбуждали твердотельным лазером с длиной волны 488 нм и регистрировали при 520 нм на конфокальном лазерном сканирующем микроскопе Olympus FluoView FV3000 (Olympus, Япония).

2.14 Площадь листьев

Площадь листьев определяли с помощью программы Image J.

2.15 Статистическая обработка данных

Полученные данные анализировали посредством стандартных программ MS Excel и Statistica 10. Для статистического анализа использовали критерий Стьюдента (t-тест) и однофакторный дисперсионный анализ ANOVA в сочетании с тестом Дункана.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Влияние ризобактерий *B. subtilis* IB-22 и *P. mandelii* IB-Ki14 на растения *T. durum* сорта Башкирская 27, выращенные в оптимальных условиях (в отсутствии засоления)

3.1.1 Содержание гормонов и хлорофилла, рост и водный обмен у растений *T. durum*, в ризосферу которых вводили бактерии

Ускорение роста растений под влиянием бактерий, продуцирующих гормоны стимулирующего типа действия, способствует формированию большей площади листьев, что приводит к увеличению испарения воды с их поверхности и может снизить оводненность тканей. Этому вопросу до сих пор уделялось недостаточно внимания. Поэтому важно было изучить влияние ризосферных бактерий на рост и водный обмен растений. Было проведено сравнение действия *B. subtilis* IB-22 и *P. mandelii* IB-Ki14, которые, как было показано ранее, способны при культивировании *in vitro* продуцировать цитокинины (Arkhipova et al., 2005; Kudoyarova et al., 2014) и ауксины (Кузьмина и др., 2018), соответственно.

Интродукция в ризосферу бактерий *P. mandelii* IB-Ki14, способных продуцировать ИУК *in vitro*, в два раза повышала содержание ауксинов в корнях и в полтора - в побегах растений *T. durum* по сравнению с контролем (рис. 1). Как в побегах, так и в корнях растений, в ризосферу которых вводили *Bacillus subtilis* IB-22, содержание ауксинов было на уровне контроля.

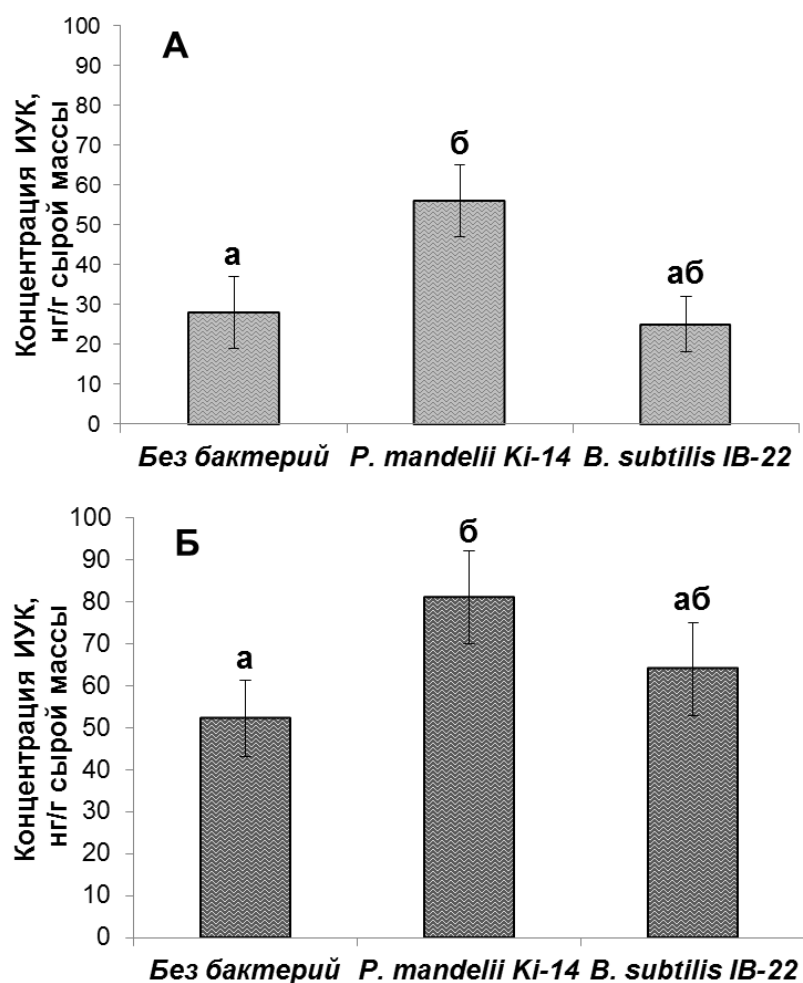


Рис. 1. Содержание ИУК в корнях (а) и побегах (б) растений *T. durum* на 6 сутки после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения и их ошибки. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($n=6$, $p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Введение в ризосферу растений цитокининпродуцирующей бактерии *B. subtilis* IB-22 в два раза увеличивало суммарное содержание цитокининов в корнях, и в полтора раза – в побегах по сравнению с контролем. Наибольший вклад в увеличение суммарного содержания цитокининов в корнях вносили свободные основания зеатина (в 1,5 раза), а в побегах – их рибозиды (в 2,5 раза). Как в корнях, так и побегах псевдомонады не вызывали достоверных изменений содержания цитокининов по сравнению с контролем (рис. 2).

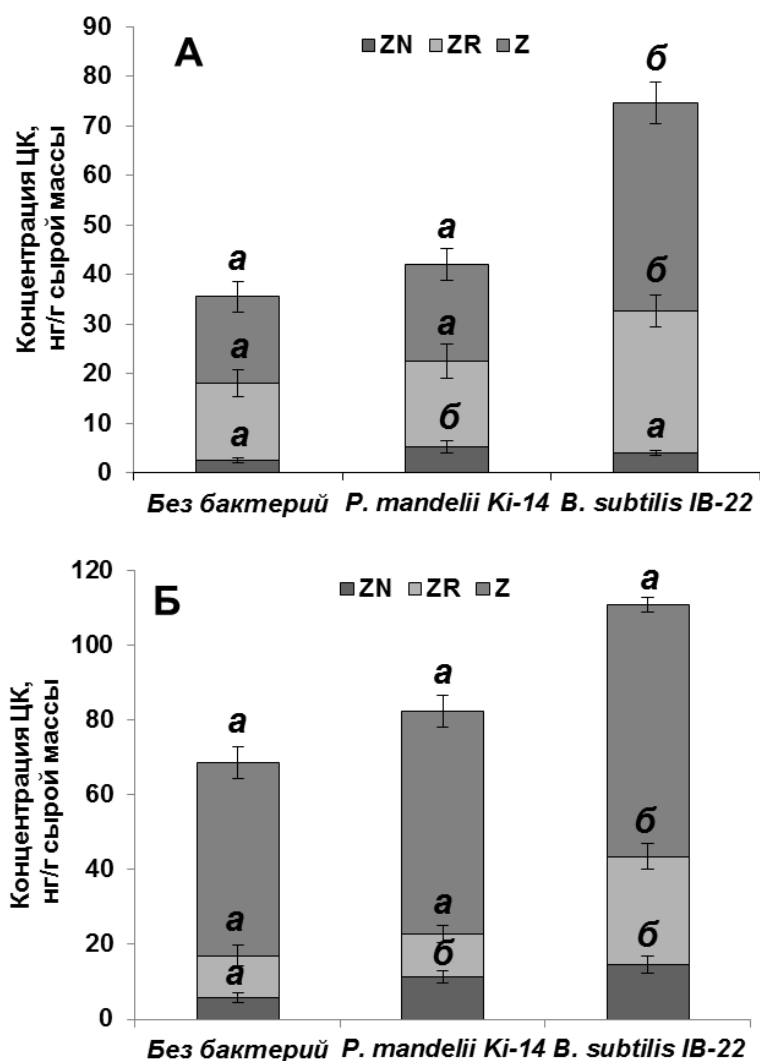


Рис. 2. Содержание цитокининов (Z- зеатин, ZR – зеатин рибозид, ZN – зеатин нуклеотид) в корнях (а) и побегах (б) растений *T. durum* на 6 сутки после обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения и их ошибки. Средние значения для каждой формы цитокининов, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($n=6$, $p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Введение бактерий в ризосферу растений *T. durum* увеличивало массу побега и площадь листьев по сравнению с контролем, в чем проявлялось их стимулирующее действие на рост растений (таблица 3).

Таблица 3. Сырая масса корней (n=10), побегов (n=40) и площадь листьев (n=40) 14-суточных растений *T. durum* на фоне интродукции в ризосферу бактерий

Вариант обработки	Сырая масса корней, мг	Сырая масса побегов, мг	Площадь листьев, см ²
Без бактерий	96±11 ^б	305±8 ^а	15±1 ^а
<i>P. mandelii</i> IB-Ki14	85±8 ^{а^б}	357±13 ^б	19±2 ^б
<i>B. subtilis</i> IB-22	77±6 ^а	395±10 ^в	21±1 ^в

В таблице указаны средние значения и их ошибки. Средние значения по каждому показателю, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Как видно из таблицы 3, масса побегов растений *T. durum*, увеличивалась под влиянием *B. subtilis* IB-22 на 30%, а под влиянием *P. mandelii* IB-Ki14 – на 17 % по сравнению с контролем. Прибавка массы побегов при действии бацилл была достоверно выше, чем в случае псевдомонад. При этом сырая масса корней была меньше всего у растений, обработанных бациллами (на 19% ниже, чем в контроле), что соответствует данным о способности цитокининов (в том числе продуцируемых бактериями этого штамма) подавлять рост корней (Werner et al., 2003). Небольшое снижение массы корней по сравнению с контролем, зарегистрированное под влиянием псевдомонад, было статистически недостоверным. Так же, как и масса побега, площадь листьев увеличивалась по сравнению с контролем под влиянием обработки обоими штаммами бактерий, но стимулирующий эффект было достоверно выше в случае бацилл (табл. 3).

Способность ризосферных бактерий синтезировать гормоны растений считается важным механизмом стимуляции роста растений под их влиянием (Kudoyarova et al., 2019; Spaepen, Vanderleyden, 2011). В наших экспериментах повышение уровня гормонов в растениях под влиянием бактерий могло способствовать стимуляции их роста. Известно, что

цитокинины благоприятно влияют на рост побега (Werner et al., 2003). Ауксины также могут стимулировать рост не только стебля, но и листьев. Так было показано, что введенный извне ауксин (ИУК) ускорял удлинение листьев пшеницы, что было зарегистрировано с помощью датчика роста и было следствием повышения под влиянием ИУК экспрессии генов, кодирующих экспансины (белки клеточной стенки, участвующие в ее растяжении) (Веселов и др., 2008). Таким образом, повышение содержания цитокининов и ауксинов при бактериальной обработке могло способствовать активации роста растений *T. durum* под влиянием бактерий в наших экспериментах. Вместе с тем, следует отметить, что, поскольку бациллы были более эффективны в стимуляции роста побега растений *T. durum*, чем псевдомонады, можно полагать, что продукция цитокининов бактериями обеспечивает большую активацию роста растений, чем продукция ауксинов.

В ходе эксперимента было также зарегистрировано повышение содержания хлорофилла у обработанных бактериями растений (рис. 3).

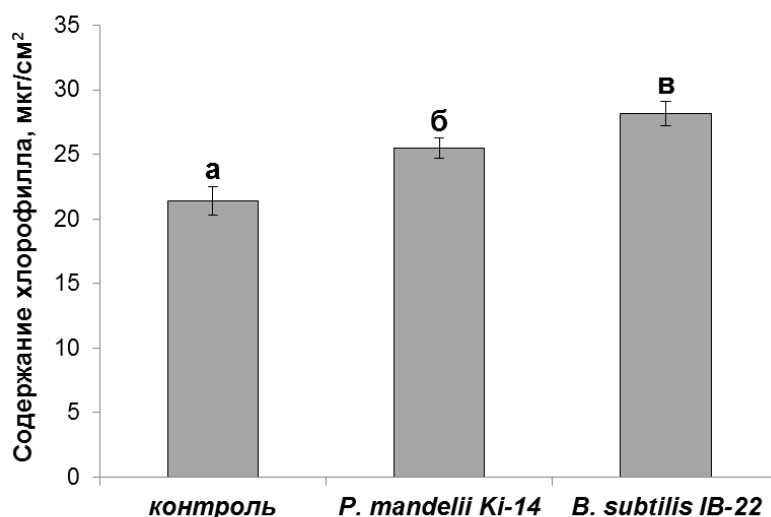


Рис. 3. Содержание хлорофилла во втором листе растений *T. durum* на 14 день после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние (n=25) значения и их ошибки. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

И вновь больший эффект проявлялся при обработке растений бациллами, что могло быть связано с продукцией цитокининов, поскольку известно, что эти гормоны влияют на уровень хлорофилла в растениях (Cortleven, Schmulling, 2015). Принимая во внимание роль этих пигментов в фотосинтезе, повышение уровня хлорофилла должно вносить существенный вклад в процесс накопления биомассы растений, и этим можно объяснять большую ростстимулирующую способность *B. subtilis* IB-22.

Обработка бактериями обоих изученных штаммов приводила к увеличению транспирации растений в расчете на целый побег (табл. 4). При обработке псевдомонадами этот показатель в расчете на единицу площади была на уровне контроля. Вместе с тем, при обработке бациллами потери воды на единицу площади были на 30% больше, чем в контроле, хотя при таком расчете транспирация возрастала в меньшей степени, чем при расчете на целый побег.

Таблица 4. Транспирация 13-суточных растений *T. durum* в контроле и на фоне интродукции в ризосферу бактерий

Вариант обработки	Транспирация	
	мг/растение/час	мг/см ² /час
Без бактерий	171±6 ^a	11.25 ^a
<i>P. mandelii</i> IB-Ki14	211±3 (+23%) ^b	10.94 (-3%) ^a
<i>B. subtilis</i> IB-22	308±12 (+70%) ^b	14.56 (+30%) ^b

В таблице указаны средние значения и ошибки средней. Средние значения по каждому показателю (n=25), достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами (p≤0,05, дисперсионный анализ, тест Дункана тест Дункана).

Эти результаты свидетельствуют о том, что при инокуляции псевдомонад более высокий уровень транспирации был обусловлен большей площадью листьев, с которой испарялась вода (таблица 4). В случае бацилл картина была иной, и было зарегистрировано увеличение транспирации не

только в расчете на целый побег, но и на единицу площади по сравнению с контролем. Это означает, что с единицы площади испарялось большее количество воды, чем в контроле. Эти результаты соответствуют ранее опубликованным данным о том, что увеличение уровня цитокининов в листьях способствует повышению скорости транспирации за счет открытия устьиц (Веселова и др., 2006; Vysotskaya et al., 2010).

Бактеризация не влияла ни на содержание воды в листьях и корнях, ни на ОСВ в листьях (за исключением пониженного уровня ОСВ на фоне инокуляции *P. mandelii* IB-Ki14) (рис. 4).

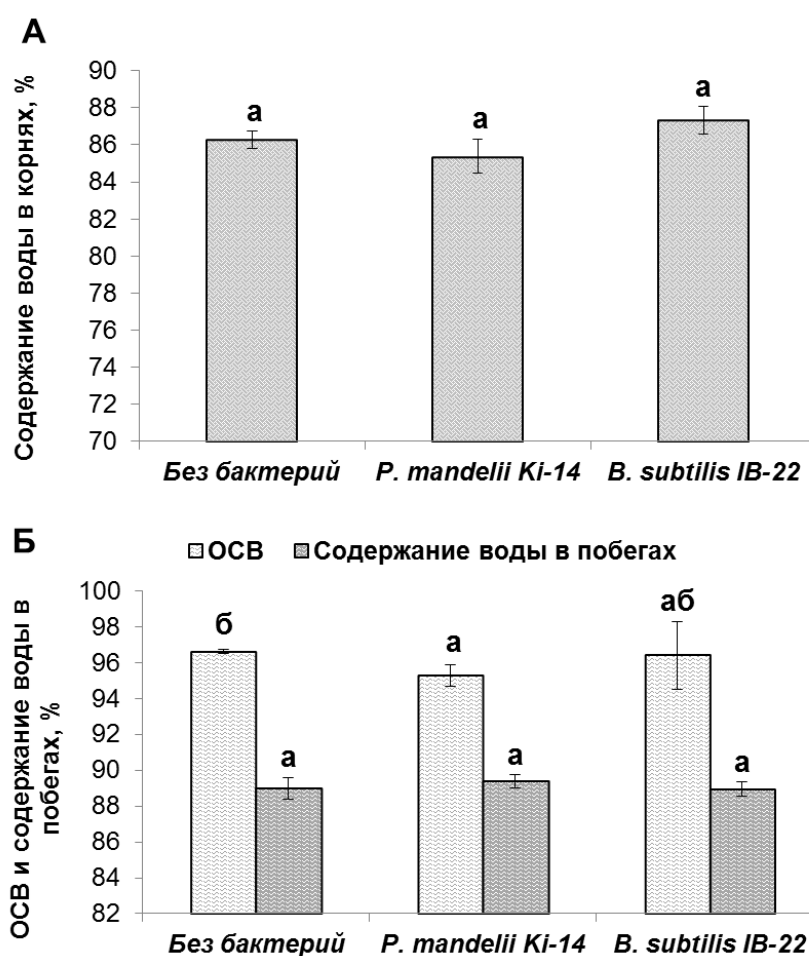


Рис. 4. Содержание воды в корнях (А), ОСВ и содержание воды в побегах (Б) растений *T. durum* на 13 сутки после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22 ($n=5$, $p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Так же, как и в случае ОСВ, обработка псевдомонадами снижала водный потенциал листьев по сравнению с контролем, а влияние бацилл на

этот показатель было недостоверным (рис. 5). Хотя снижение водного потенциала может привести к падению тургора, градиент водного потенциала между листом и почвой служит движущей силой подъема воды в побег (Jones, 2013). Поэтому небольшое снижение водного потенциала нельзя однозначно рассматривать как негативное влияние псевдомонад на растения. Тем более что при обработке растений этим штаммом бактерий наблюдалось небольшое, но статистически достоверное снижение осмотического потенциала (рис. 5), что является индикатором накопления осмотически активных веществ и способствует поддержанию тургора.

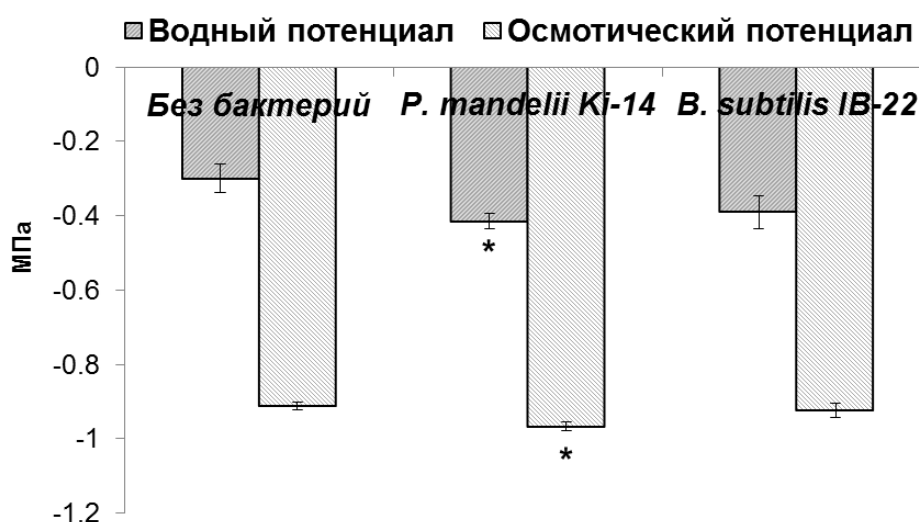


Рис. 5. Водный и осмотический потенциал листьев *T. durum* на 13 сутки после обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. * обозначены средние, достоверно отличающиеся от контроля (без бактерий) ($n=5$, $p \leq 0,05$, т-тест).

Расчет гидравлической проводимости, исходя из результатов измерения транспирации и водного потенциала листа по аналогии с законом Ома, показал, что, в отличие от *P. mandelii* IB-Ki14, бактерии *B. subtilis* IB-22 увеличивали способность тканей растений проводить воду (рис. 6).

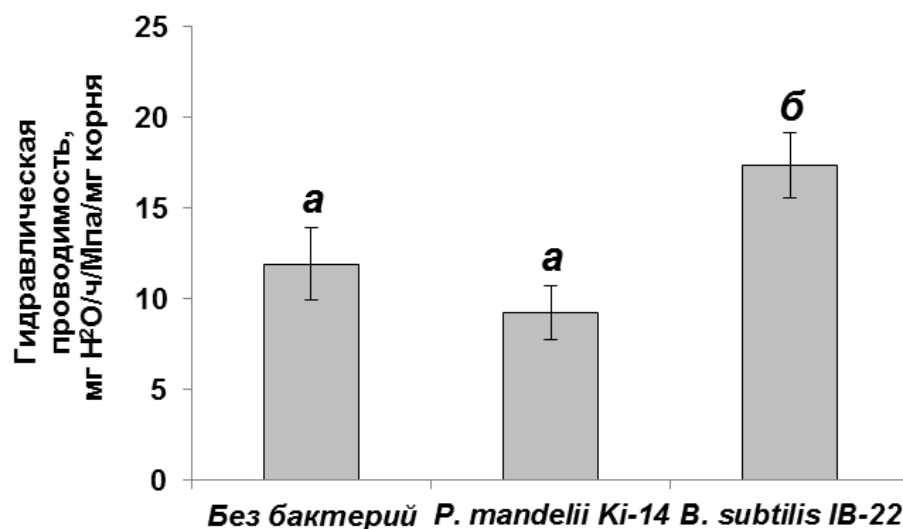


Рис. 6. Гидравлическая проводимость корней растений *T. durum* на 13 сутки после обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние (n=6) значения и их ошибки. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Известно, что гидравлическая проводимость возрастает с увеличением транспирации (Steudle, 2000; Kudoyarova et al., 2011). Эти данные литературы соответствуют полученным нами результатам, когда при обработке *B. subtilis* IB-22 возрастает скорость транспирации в расчете на единицу площади листа и параллельно увеличивается гидравлическая проводимость. Увеличение гидравлической проводимости с увеличением транспирационного потока у растений на фоне воздействия бацилл обеспечивает поддержание баланса между поглощением и испарением воды, о чем свидетельствует поддержание оводненности тканей при воздействии данного штамма бактерий. Отсутствие такой реакции при действии псевдомонад, у которых на фоне повышения транспирации в расчете на целое растение не наблюдалось повышения гидравлической проводимости (она была на уровне контроля), и было причиной отмеченного выше небольшого снижения оводненности тканей листа растений пшеницы.

Изменение гидравлической проводимости корней может быть связано с активностью аквапоринов. Так известна способность бактерий повышать

экспрессию генов, кодирующих аквапорины у растений кукурузы (Marulanda et al., 2010). Вместе с тем, необходимы дальнейшие исследования для того, чтобы проверить, связано ли влияние бацилл на гидравлическую проводимость с активностью аквапоринов.

Таким образом, сравнение воздействия на пшеницу сорта Башкирская 27 штаммов бактерий, продуцирующих цитокинины (*B. subtilis* IB-22) и ауксины (*P. mandelii* IB-Ki14), выявило более выраженное положительное влияние бацилл на рост и водный обмен растений, что мы связываем с продукцией цитокининов бактериями.

3.1.2 Влияние ризосферных бактерий на формирование апопластных барьеров в оптимальных для роста условиях

Транспорт воды по апопласту, минуя клеточные мембраны, вносит существенный вклад в суммарную гидравлическую проводимость тканей растений. Первичные клеточные стенки обладают высокой гидравлической проводимостью. Однако образование барьеров для движения воды и ионов за счет их лигнификации и формирования ламелл суберина резко снижает гидравлическую проводимость апопласта (Li et al., 2020). Известно, что инфицирование растений патогенными бактериями усиливает лигнификацию в области проникновения инфекции, что является одной из защитных реакций растений (Lee et al., 2019). Однако мы не нашли сведений о влиянии ризосферных бактерий, способных стимулировать рост растений, на формирование апопластных барьеров. Для того чтобы восполнить этот пробел, было изучено влияние *P. mandelii* IB-Ki14 и *B. subtilis* IB-22 на отложение лигнина и формирование поясков Каспари в области эндодермы корней растений *T. durum*.

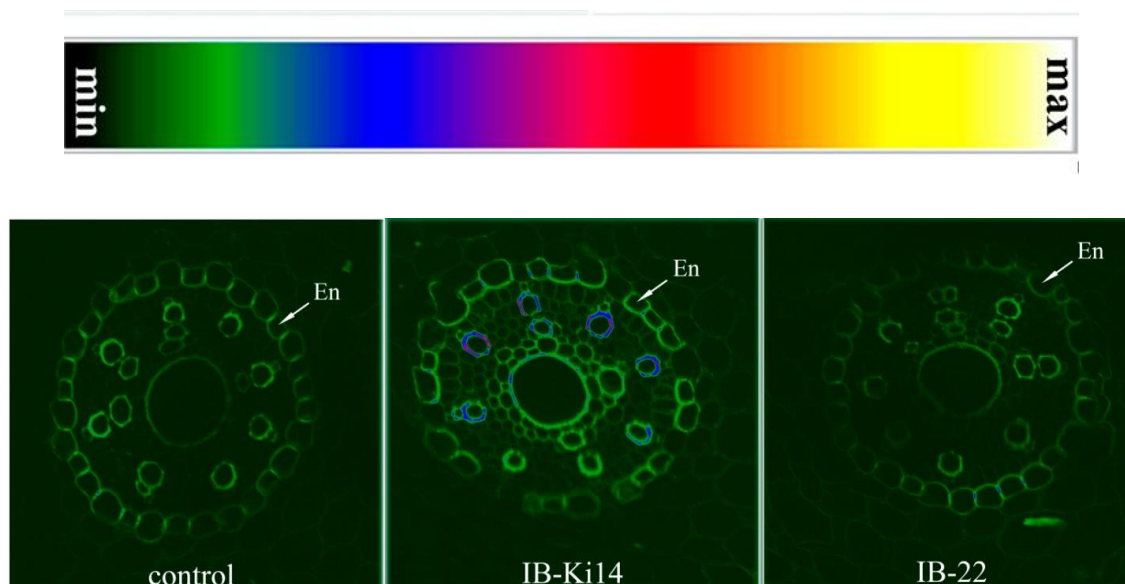


Рис. 7. Выявление лигнина и суберина по флуоресценции берберина на поперечных срезах базальной части корней *T. durum* через шесть дней после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Условное обозначение цветом интенсивности свечения (черный/зеленый – соответствует минимальному уровню содержания лигнина/суберина; желтый/белый – максимальному). En – эндодерма.

Как видно из рисунка 7, через шесть дней после введения бактерий в почву на поперечных срезах базальной части корней контрольных растений и растений, в ризосфере которых присутствовали *B. subtilis* IB-22, не было видно свечения клеток коры, что свидетельствует о низком уровне лигнификации их клеточных стенок. В области центрального цилиндра было заметно свечение клеточных стенок эндодермы и ксилемных сосудов. Однако уровень свечения был низким, чему соответствует зеленая окраска, что указывает на то, что, хотя лигнификация началась, ее уровень был еще низким. Несколько иначе выглядели срезы корней растений, в ризосферу которых были внесены клетки *P. mandelii* IB-Ki14. В этом случае можно было заметить более интенсивное свечение сосудов ксилемы, что соответствует их окрашиванию синим и пятнами красного цвета, что говорит об интенсификации процесса лигнификации под влиянием псевдомонад.

На одиннадцатый день после начала бактериализации картина свечения поперечных срезов базальной части корней менялась (рис. 8).

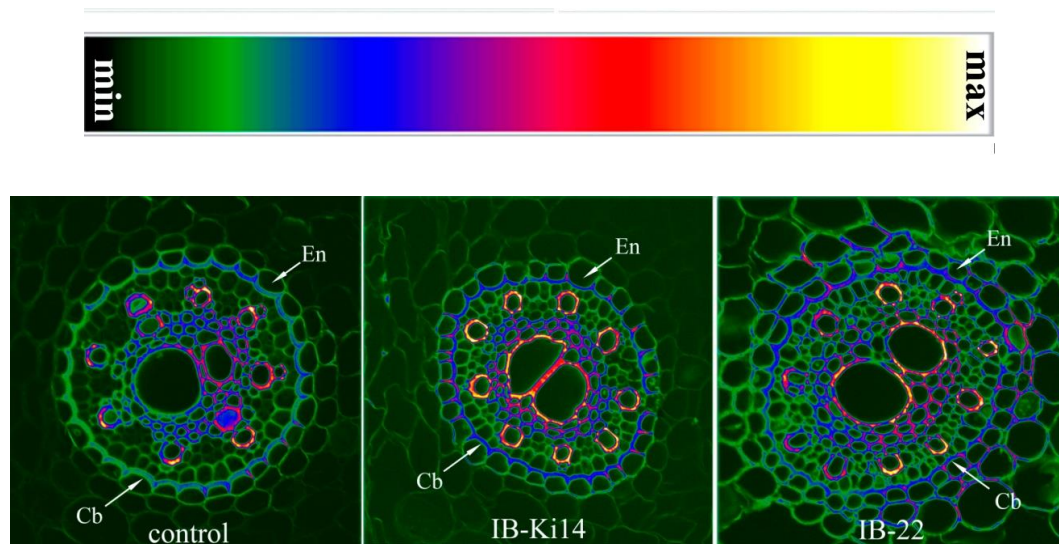


Рис. 8. Выявление лигнина и суберина по флуоресценции берберина на поперечных срезах базальной части корней *T. durum* через 11 дней после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Условное обозначение цветом интенсивности свечения (черный/зеленый – соответствует минимальному уровню содержания лигнина/суберина; желтый/белый – максимальному). En – эндодерма, Cb – пояски Каспари.

Благодаря свечению берберина стали заметны границы клеток в области коры, что свидетельствует о начале их лигнификации, хотя зеленый цвет говорит о слабой интенсивности этого процесса в области коры. В центральном цилиндре усилилось свечение клеточных стенок эндодермы за счет отложения суберина и лигнина и не только самих ксилемных сосудов, но и паренхимы вокруг них, о чем свидетельствует появление синей и (местами) желтой окраски. Судя по окраске, интенсивность свечения усиливалась под влиянием бактерий (особенно, в случае *P. mandelii* IB-Ki14). Заметно увеличение размера клеток под влиянием *B. subtilis* IB-22, что соответствует сведениям об утолщении корней под влиянием этих бактерий.

Таким образом, бактерии усиливали формирование апопластных барьеров, что наиболее наглядно проявлялось в случае обработки растений *P. mandelii* IB-Ki14. Большую эффективность *P. mandelii* IB-Ki14 в этом плане можно объяснить их способностью синтезировать ИУК и повышать уровень ауксинов в растениях. Недавно было показано, что опосредованные ауксином изменения транскрипции генов необходимы для модификации синтеза

суберина (Ursache et al., 2021). Эти результаты позволяют предполагать, что индуцированное бактериями накопление ауксина способствует ускоренному отложению суберина в поясках Каспари. Сведений о влиянии цитокининов на процесс формирования вторичных клеточных стенок также немного. Однако недавно была показана задержка формирования протоксилемы на фоне низких концентраций цитокининов, что указывает на их роль в процессе формирования вторичных клеточных стенок (Reyt et al., 2021).

Как указывалось выше, формирование апопластных барьеров способствует снижению гидравлической проводимости. Тем не менее, мы не обнаружили снижения гидравлической проводимости под влиянием псевдомонад, а на фоне инокуляции бацилл гидравлическая проводимость даже возрастала. Очевидно, снижение гидравлической проводимости апопластного пути компенсировалось за счет альтернативного проведения воды через мембраны. Эти выводы являются косвенным подтверждением гипотезы о влиянии бактерий на активность аквапоринов, которая требует подтверждения в дальнейшем.

3.1.3 Влияние ризосферных бактерий на накопление калия и фосфора в растениях *T. durum* в оптимальных для роста условиях

Формирование апопластных барьеров ограничивает приток по апопласту не только воды, но и ионов, оставляя для их проникновения в растение путь через расположенные в мембранах каналы. В связи с нашими данными об ускорении и усилении формирования апопластных барьеров под влиянием бактерий, представляло интерес проанализировать их влияние на накопление в растениях калия и фосфора, являющихся важными макроэлементами.

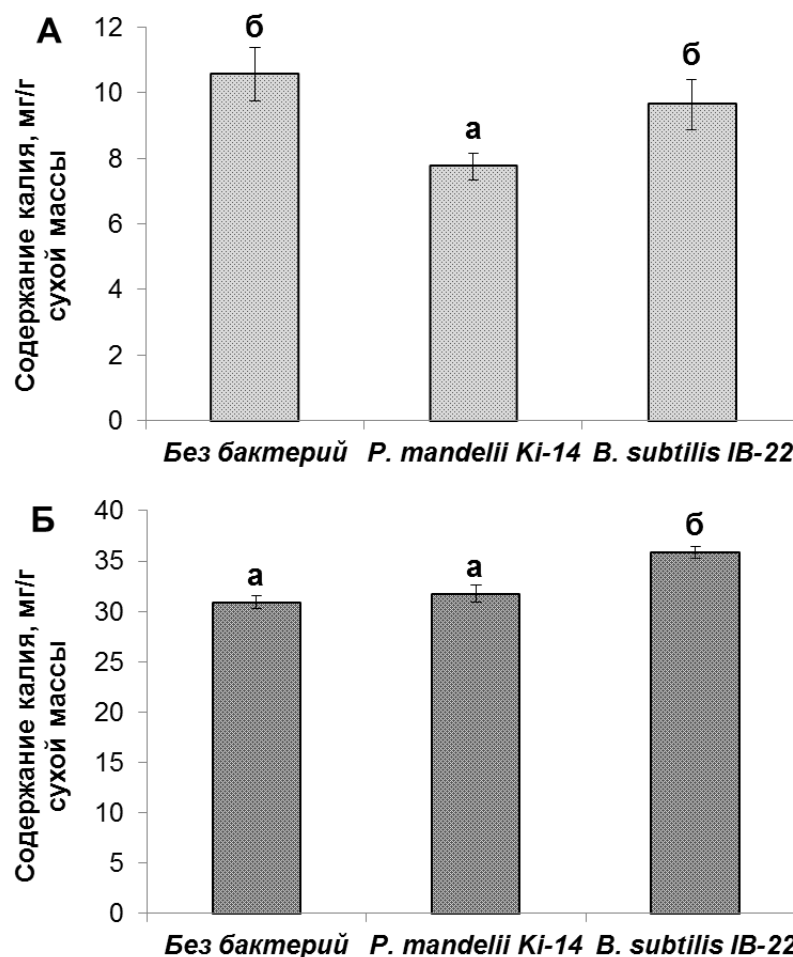


Рис. 9. Содержание калия в корнях (а) и в побегах (б) растений *T. durum* на 12 день после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения (n=6) и их ошибки. Средние значения по каждому показателю, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($p \leq 0,05$, дисперсионный анализ тест Дункана).

Как видно из рисунка 9 (б), содержание калия в побегах растений, росших на фоне введения в ризосферу *P. mandelii* IB-Ki14, было не ниже, чем в контроле, а на фоне *B. subtilis* IB-22 содержание этого элемента превышало контрольное значение. Только в корнях *P. mandelii* IB-Ki14 снижал уровень калия по сравнению с контролем и растениями, обработанными бациллами. Поскольку поддержание уровня калия наиболее важно именно в побеге, где он необходим для нормального функционирования фотосинтетического аппарата, полученные нами результаты подтверждают, что ускоренное формирование поясков Каспари под влиянием бактерий, в целом не сказалось отрицательно на накоплении ионов калия. Как и в случае

гидравлической проводимости, поступление калия в растения, очевидно, обеспечивали каналы (в данном случае не водные, а ионные – см. обзор литературы). Повышение уровня калия под влиянием штамма *B. subtilis* IB-22, способного синтезировать цитокинины, соответствовало данным о более высоком уровне накопления этого элемента у трансгенных растений томатов с повышенным уровнем цитокининов за счет экспрессии *ipt* гена (Ghanem et al., 2011). В дальнейшем предстоит выяснить, за счет каких каналов это накопление происходило.

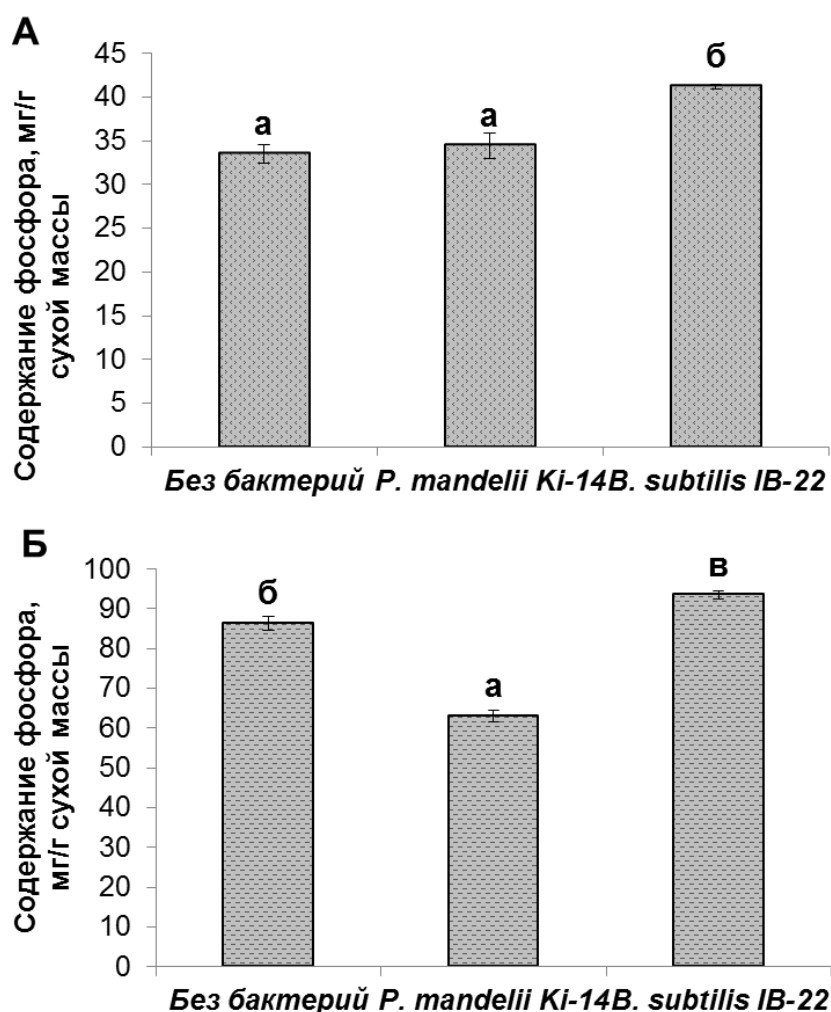


Рис. 10. Содержание фосфора в корнях (а) и побегах (б) растений *T. durum* на 12 день после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения (n=6) и их ошибки. Средние значения по каждому показателю, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($p \leq 0,05$, дисперсионный анализ тест Дункана).

Как видно из рисунка 10, содержание фосфора как в побегах, так и корнях растений, в ризосферу которых ввели *B. subtilis* IB-22, было не ниже, чем в контроле. То же самое можно сказать о содержании фосфора в корнях в случае *P. mandelii* IB-Ki14. Однако в побегах картина была иной, и содержание фосфора у растений на фоне обработки штаммом псевдомонад было явно ниже, чем в контроле. Очевидно ускорение и усиление формирования апопластных барьеров, которое было наиболее заметным при обработке растений псевдомонадами, отрицательно сказалось на способности растений накапливать фосфор в побегах. Поскольку фосфор играет важную роль в поддержании физиологических процессов у растений, пониженным уровнем фосфора можно объяснить тот факт, что псевдомонады были менее эффективны в стимуляции роста растений, чем бациллы, под влиянием которых содержание фосфора не снижалось. Нужно отметить, что ранее при выращивании растений в почвенном субстрате не было зарегистрировано пониженного содержания фосфора в растениях, обработанных другим штаммом псевдомонад (*Pseudomonas extremaustralis* IB-Ki-13-1A (Kudoyarova et al., 2017)). Эти результаты можно объяснить фосфат мобилизующей способностью бактерий данного штамма. Бактерии штамма *P. mandelii* IB-Ki14 также были способны к мобилизации фосфора (Кузьмина и др., 2018). Однако в условиях песчаной культуры, в отличие от обычной почвы, способность бактерий мобилизовать трудно растворимые фосфаты, была не так важна. Тем не менее, в полевых опытах бактериализация семян псевдомонадами штамма *P. mandelii* IB-Ki14 повышала урожайность растений (Arkhipova et al., 2020).

Таким образом, ускорение и усиление формирования апопластных барьеров под влиянием *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22 не сказалось отрицательно на росте растений в нормальных условиях. Блокирование апопластного пути у обработанных растений, очевидно, компенсировалось за счет активации водных и ионных каналов и фосфат мобилизующей способности бактерий.

3.2 Влияние ризобактерий *B. subtilis* IB-22 и *P. mandelii* IB-Ki14 на растения *T. durum* сорта Башкирская 27, выращенные на фоне засоления

Избыточная концентрация солей в почвенном растворе негативно влияет на рост и продуктивность растений. Это происходит в результате дефицита воды из-за уменьшения способности корней поглощать воду из засоленного почвенного раствора и накопления ионов натрия, токсичных для растений в высоких концентрациях. Площади засоленных пахотных земель неуклонно растут во всем мире, что связано с усилением засушливости климата и увеличением площадей орошаемого земледелия (Kamran et al., 2020). В связи с этим растёт интерес к повышению солеустойчивости растений, т.е. их способности сохранять продуктивность в условиях солевого стресса. В последнее время все более популярным становится использование ризобактерий, стимулирующих рост растений (PGPR) (Ruzzia, Aroca, 2015). Тем не менее, не все PGPR способны повышать солеустойчивость. Для отбора более перспективных штаммов важно четко понимать, как реализуется их влияние на солеустойчивость растений. Механизмы взаимодействия PGPR с растениями активно изучаются (Basu et al., 2021). Рассматривалось влияние многих PGPR на улучшение водного баланса, гомеостаза ионов и эффективности фотосинтеза у растений в условиях солевого стресса, но механизмы повышения солеустойчивости растений под влиянием бактерий сложны и недостаточно изучены (Pangumaran, Smith, 2017).

Нарушение ионного гомеостаза является одной из основных причин отрицательного действия засоления (Almeida et al., 2017). Конкуренция за молекулярные транспортеры между Na^+ и K^+ снижает поступление последнего (Assaha et al., 2017) и нарушает метаболизм растений (Almeida et al., 2017). Компенсаторная активация генов, кодирующих переносчики калия, является одним из механизмов поддержания ионного гомеостаза при засолении (Yousefirad et al., 2020). В условиях солевого стресса инокуляция

PGPR родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Providencia*, *Pantoea*, *Arthrobacter* приводила к увеличению соотношения ионов калия и натрия (Shilev, 2020), что объясняется повышением экспрессии генов, ответственных за ионный транспорт.

Засоление способствует образованию поясков Каспари и вторичных стенок (Chen et al., 2011), которые играют важную роль в ограничении неселективного движения солей в центральный цилиндр по апопласту, тем самым заставляя растворенные вещества проходить через избирательно проницаемые мембранные каналы (Van Zelm et al., 2020). Тем не менее, возможное стимулирование образования апопластного барьера бактериями как механизм индуцируемого бактериями повышения солеустойчивости никогда не рассматривалось. В статье, в которой упоминаются пояски Каспари в связи с действием бактерий на растения, этот механизм рассматривается как способ предотвращения проникновения патогенных бактерий в растения (Verbon et al., 2016).

Важно понять, как бактерии вызывают процессы, приводящие к повышению солеустойчивости. У растений гормоны играют роль сигналов, запускающих различные процессы, а PGPR способны синтезировать фитогормоны (Egamberdieva et al., 2017; Dodd et al., 2010). В то же время роль бактериальных гормонов обсуждается в основном в связи с их непосредственным влиянием на рост растений, а возможная роль гормонов в запуске других процессов, обеспечивающих солеустойчивость, только предполагается (Kudoyarova et al., 2019). Было показано, что синтезируемые корнями цитокинины уменьшают степень снижения концентрации калия и улучшают рост побегов у растений томатов, испытывающих засоление (Ghanem et al., 2011). Эти данные свидетельствуют об участии гормонов в запуске индуцируемых бактериями процессов, повышающих ионный гомеостаз при солевом стрессе.

Цель данного фрагмента работы заключалась в изучении влияния фитогормонов, продуцируемых ризобактериями, на формирование вторичных клеточных стенок и поясков Каспари у растений *T. durum* и их связи с изменением концентрации натрия, калия, фосфора, гормонов и солеустойчивости растений. Ранее в полевых экспериментах было показано, что отобранные штаммы PGPR увеличивают рост и продуктивность пшеницы, подверженной солевому стрессу (Arkhipova et al., 2020a). Однако значение образования поясков Каспари и изменений концентрации гормонов и ионов для проявления влияния бактерий на солеустойчивость растений не рассматривалось.

3.2.1 Лигнификация клеточных стенок ксилемы и образование поясков Каспари

На шестой день в растениях без обработок (контроль) был зарегистрирован низкий уровень флуоресценции как в сосудах ксилемы, так и в клетках эндодермы окрашенных берберинном корней, что говорит о низком уровне формирования вторичной клеточной стенки (рис. 11а).

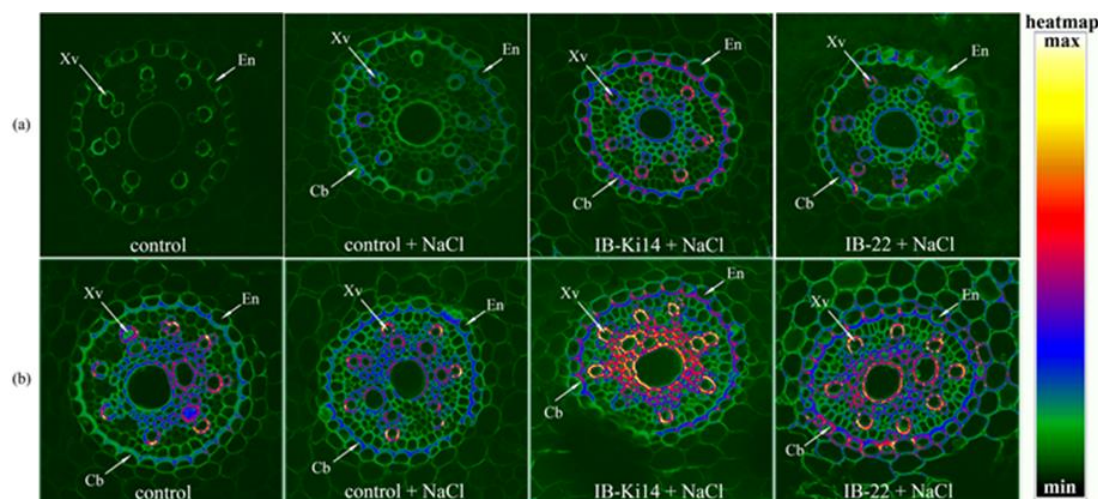


Рис. 11. Локализация лигнина и суберина и обнаружение поясков Каспари в окрашенных берберинном поперечных срезах корней 6-суточных (а) и 11-суточных (б) растений *T. durum*, обработанных бактериальными штаммами (*Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 (IB-Ki14) и *Bacillus subtilis* IB-22 (IB-22) в присутствии соли. Сб – пояски Каспари, En – эндодерма, Xv – сосуды ксилемы. На тепловой карте (Heatmap) показана интенсивность

сигнала флуоресценции с цветовой кодировкой (от зеленой, кодирующей слабую флуоресценцию до желтой/белой, соответствующей сильной флуоресценции).

Засоление увеличивало флуоресценцию клеточных стенок ксилемы и толщину стенки клеток эндодермы по сравнению с контрольными растениями (без бактериальной обработки и без засоления). Флуоресценция клеточных стенок сосудов ксилемы увеличивалась при обработке бактериями, на что указывает их красная окраска. Клеточные стенки эндодермы становились более толстыми, что свидетельствует об ускоренном образовании вторичных стенок под влиянием этого бактериального штамма, а интенсивная флуоресценция была обнаружена в радиальных стенках эндодермы, что характерно для образования поясков Каспари. Эти изменения были наиболее заметны при обработке растений *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14.

Позже, на одиннадцатый день после бактериализации и засоления, наблюдалось усиление окрашивания клеток ксилемы и эндодермы контрольных растений, что свидетельствовало о лигнификации клеточных стенок и образовании поясков Каспари и отложении суберина (рис. 11б). Согласно окраске по тепловой карте видно, что засоление увеличило интенсивность флуоресцентного сигнала в эндодерме. Обработка бактериями увеличивала интенсивность флуоресценции, наиболее заметную в радиальных клеточных стенках.

3.2.2 Масса растений *T. durum*, выращенных на фоне засоления

Засоление уменьшило массу побегов на 35%, а корней примерно на 25 % относительно контрольных растений (табл. 5). На фоне засоления, инокуляция растений штаммами *P. mandelii* IB-Ki14 и *B. subtilis* IB-22 увеличивала массу побегов на 25 и 30%, а корней на 10 и 15% соответственно.

Таблица 5. Сырая масса корней (n=10) и побегов (n=40) растений *T. durum* на 12-й день экспериментов

Концентрация NaCl, mM	Вариант обработки	Сырая масса, мг	
		Корень	Побег
0	Без бактерий	94 ± 6 ^b	305 ± 8 ^f
100	Без бактерий	70 ± 3 ^a	198 ± 8 ^c
100	<i>P. mandelii</i> IB-Ki14	77 ± 4 ^{ab}	243 ± 7 ^d
100	<i>B. subtilis</i> IB-22	81 ± 5 ^b	266 ± 7 ^e

Достоверно различающиеся значения обозначены разными буквами ($p \leq 0,05$, дисперсионный анализ в сочетании с тестом Дункана).

Масса побегов растений, обработанных *B. subtilis* IB-22 была больше, чем у растений, обработанных *P. mandelii* IB-Ki14. Достоверное увеличение массы корней на фоне засоления было выявлено только у растений, инокулированных бациллами. Растения, обработанные *P. mandelii* IB-Ki14, занимали промежуточное положение между контрольными растениями и растениями, обработанными *B. subtilis* IB-22. Таким образом, бациллы проявляли большую способность повышать солеустойчивость растений *T. durum* с точки зрения поддержания роста растений.

3.2.3 Влияние бактерий на концентрацию гормонов в растениях *T. durum*, выращенных на фоне засоления

3.2.3.1 Содержание цитокининов

Суммарное содержание цитокининов (зеатина, его рибозида и нуклеотида) было значительно выше в корнях растений, инокулированных *B. subtilis* IB-22 (рис. 12а).

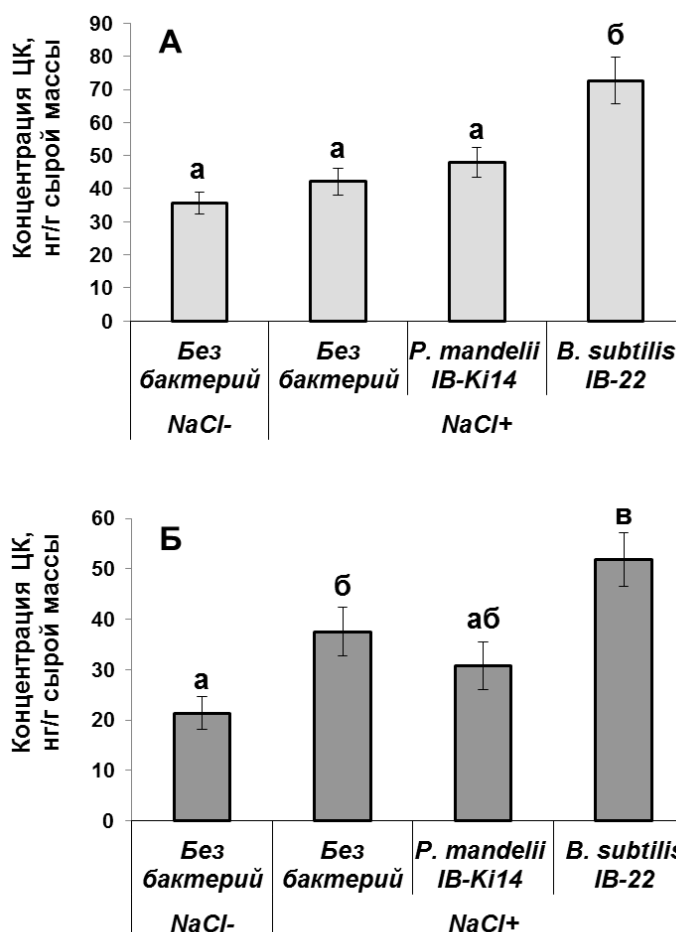


Рис. 12. Влияние 100 мМ NaCl и бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 (IB-14) и *B. subtilis* IB-22 (IB-22) на концентрацию цитокининов в корнях (а) и побегах (б) шестидневных растений *T. durum*. Достоверно различающиеся средние обозначены разными буквами ($p \leq 0,05$, $n = 6$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Содержание цитокининов в побегах увеличивалось под влиянием засоления. В побегах растений, подвергшихся воздействию засоления, более высокий уровень цитокининов был обнаружен у растений, обработанных *B. subtilis* IB-22, по сравнению с растениями, не подвергавшимися бактериальной обработке и растениями, инокулированными *P. mandelii* IB-Ki14 (рис. 12б). Таким образом, повышение уровня цитокининов как в побегах, так и в корнях у обработанных бактериями растений было заметно у растений, инокулированных цитокининпродуцирующим штаммом *B. subtilis* IB-22, а не ауксинпродуцирующим штаммом *P. mandelii* IB-Ki14.

3.2.3.2 Содержание ауксинов

Содержание индолилуксусной кислоты в корнях увеличивалось вследствие засоления. Оно было выше у растений, инокулированных *P. mandelii* IB-Ki14 (рис. 13а), по сравнению как с контрольными неинокулированными растениями, так и с подвергнутыми солевому стрессу, в то время как концентрация этого гормона была одинаковой у неинокулированных растений и растений, инокулированных *B. subtilis* IB-22 в условиях засоления.

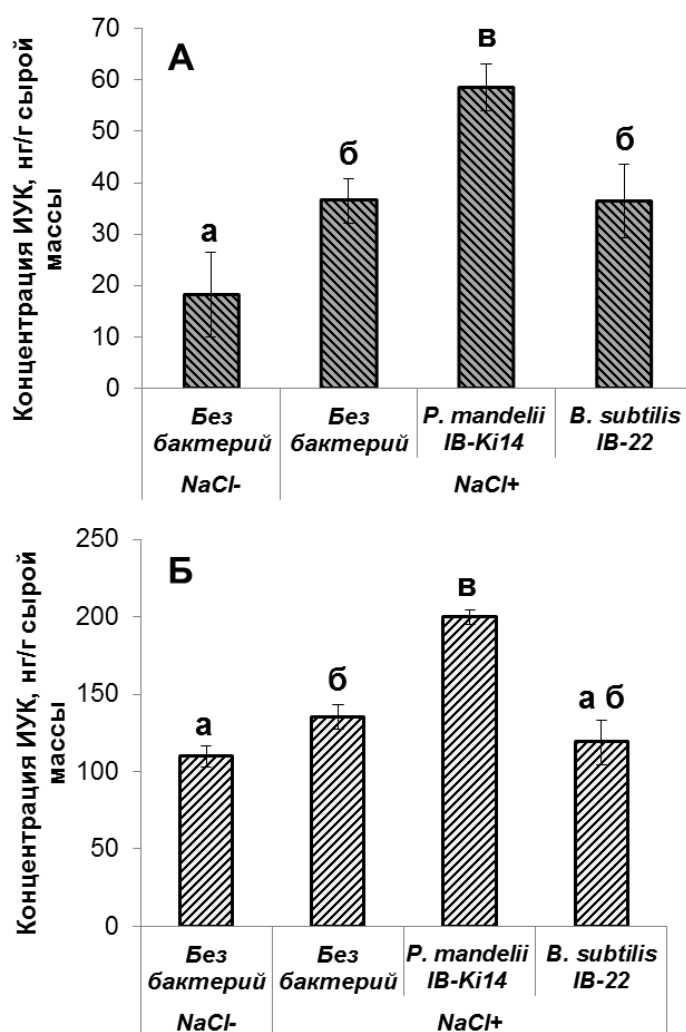


Рис. 13. Влияние засоления (100 мМ NaCl) и бактериальной обработки (*P. mandelii* IB-Ki14 и *B. subtilis* IB-22) на концентрацию ИУК в корнях (а) и в побегах (б) шестидневных растений *T. durum*. Достоверно различающиеся средние обозначены разными буквами ($p \leq 0,05$, $n = 6$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Увеличение концентрации ИУК в побегах было статистически значимым у растений, обработанных *P. mandelii* IB-Ki14. В побегах растений, инокулированных *B. subtilis* IB-22 не наблюдалось повышения уровня ауксина (рис. 13б).

3.2.4 Влияние ризосферных бактерий на концентрацию ионов в растениях *T. durum* на фоне засоления

3.2.4.1 Содержание натрия

Присутствие хлорида натрия в почве приводило к трёхкратному увеличению концентрации натрия как в побегах, так и в корнях по сравнению с растениями, выращенными в почве без добавления соли (рис. 14а).

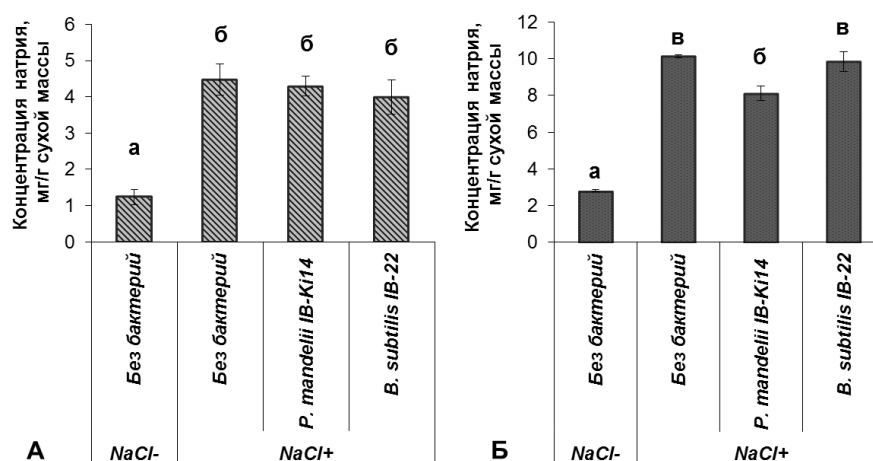


Рис. 14. Влияние 100 мМ NaCl и бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 и *B. subtilis* IB-22 на концентрацию натрия в корнях (а) и побегах (б) растений *T. durum* на 11 сутки. Достоверно различающиеся средние обозначены разными буквами ($p \leq 0,05$, $n = 6$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Содержание натрия в побегах была примерно в два раза выше, чем в корнях растений, подвергшихся солевому стрессу. Инокуляция *P. mandelii* IB-Ki14 уменьшала накопление натрия в побегах (рис. 14б). Тенденция индуцированного бактериями снижения накопления Na^+ в корнях по

сравнению с неинокулированными растениями не была статистически достоверной.

3.2.4.2 Содержание калия

В то же время засоление снижало концентрацию калия в корнях примерно на 25 % как у интактных растений, так и у растений, обработанных *P. mandelii* IB-Ki14 (рис. 15а). При этом в корнях растений, инокулированных *B. subtilis* IB-22, концентрация данного элемента была на уровне контроля (неинокулированные растения, выращенные без добавления хлорида натрия). Существенных изменений содержания калия, вызванных инокуляцией, в побегах не было обнаружено (рис. 15б).

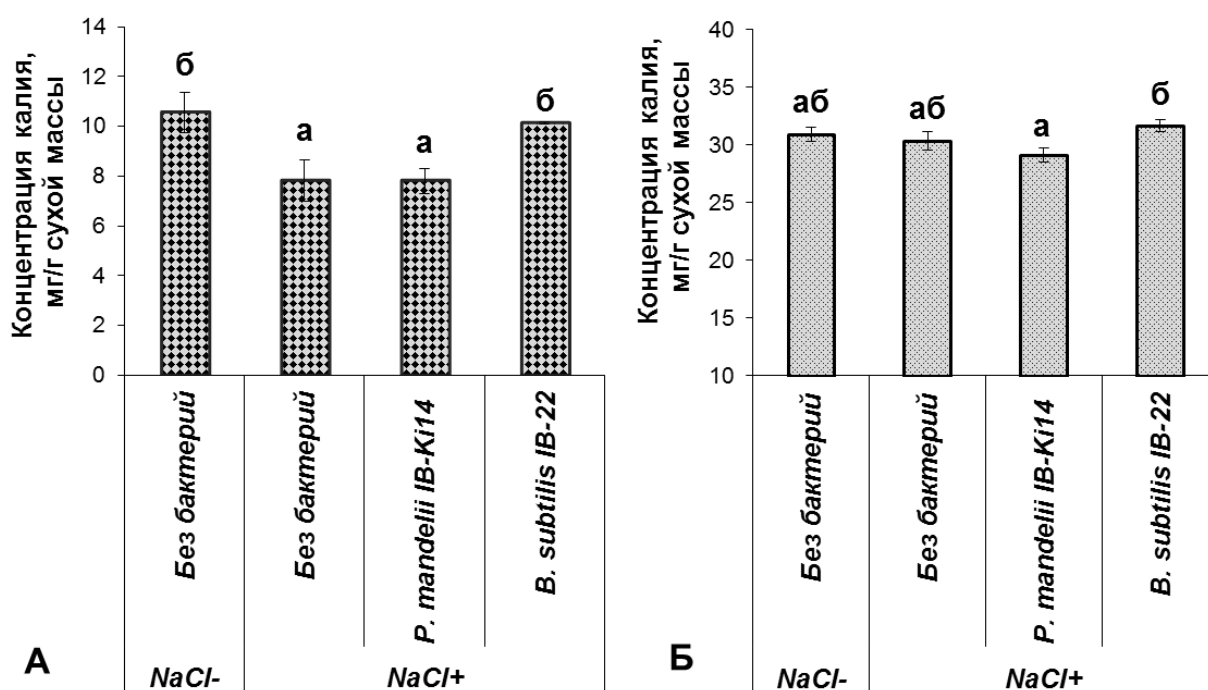


Рис. 15. Влияние 100 мМ NaCl и бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 и *B. subtilis* IB-22 на концентрацию калия в корнях (а) и побегах (б) растений *T. durum* на 11 сутки эксперимента. Достоверно различающиеся средние обозначены разными буквами ($p \leq 0,05$, $n = 6$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

3.2.4.3 Содержание фосфора

Наличие соли в почве приводило к значительному снижению уровня фосфора в побегах, и только у растений, инокулированных *Bacillus subtilis* IB-22, он сохранялся на уровне контроля (неинокулированные растения, выращенные в отсутствии засоления) (рис. 16).

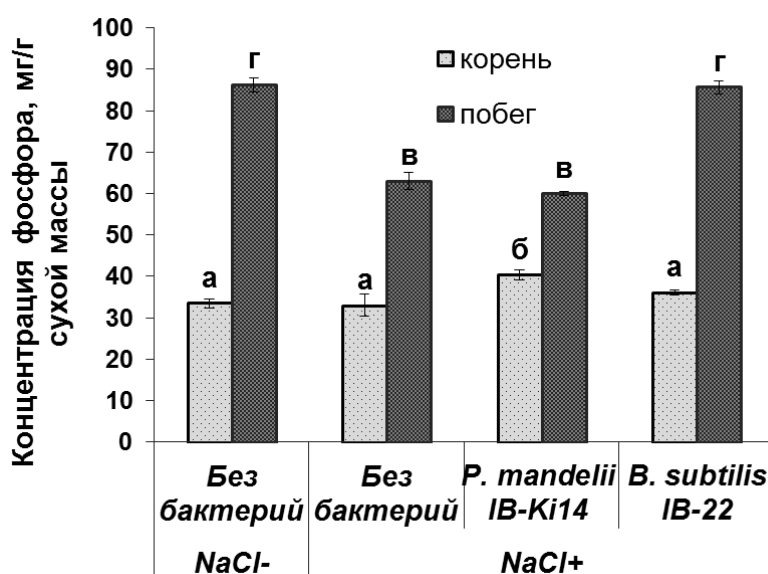


Рис. 16. Влияние 100 мМ NaCl и бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 и *B. subtilis* IB-22 на концентрацию фосфора в корнях и побегах растений *T. durum* на 11 сутки эксперимента. Достоверно различающиеся средние обозначены разными буквами ($p \leq 0,05$, $n = 6$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Как и ожидалось, присутствие соли в почвенном растворе повышало концентрацию натрия в растениях твердой пшеницы (рис. 14). Концентрация натрия в побегах была выше, чем в корнях обработанных NaCl растений, что можно объяснить низкой способностью растений данного вида препятствовать поступлению ионов натрия в побег (Shamaya et al., 2017). Тем не менее, степень накопления ионов натрия была меньше при инокуляции растений *P. mandelii* IB-Ki14.

Одним из важных механизмов повышения солеустойчивости считается усиленное формирование апопластных барьеров, препятствующих

проникновению токсичных ионов в растения (Cui et al., 2021). Известно, что бактерии способны усиливать отложение лигнина, способствуя тем самым формированию апопластных барьеров. Однако это их свойство рассматривалось только как способ защиты от проникновения патогенов (Li et al., 2020). Мы впервые обратили внимание на возможное значение апопластных барьеров в повышении солеустойчивости растений под влиянием бактерий.

Наши эксперименты подтверждают, что засоление ускоряет образование вторичных стенок сосудов ксилемы и отложение суберина и лигнина в поясках Каспари корневой эндодермы растений твердой пшеницы. У шестидневных контрольных растений практически отсутствовало свечение берберина. Свечение сосудов ксилемы и появление признаков поясков Каспари было заметно в корнях растений, подвергшихся засолению (рис. 11а). В соответствии с нашим предположением о способности ризобактерий усиливать образование апопластных барьеров, ограничивающих неконтролируемое перемещение растворенных веществ в ксилему, флуоресценция, соответствующая отложению суберина и лигнина, усиливалась под влиянием бактериальной обработки. Наши результаты соответствуют результатам транскриптомного анализа ответа на ризобактерии, которые показали активацию под влиянием бактерий гена CASP-подобного белка 4D1, который является членом семейства белков мембранного домена поясков Каспари (Ursache et al., 2021). Значимость образования поясков Каспари была подтверждена путем сравнения действия штаммов *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 и *Bacillus subtilis* IB-22. Оно показало, что накопление натрия было ниже у растений, обработанных *P. mandelii* IB-Ki14, у которых лучше всего было заметно усиленное образование поясков Каспари. Важно, что эта бактерия является продуцентом ауксина (Kudoyarova et al., 2017), и под ее влиянием возрастала концентрация данного гормона в корнях (рис. 13а). В статье Wu с соавторами (2018) показана необходимость опосредованного ауксином

транскрипционного ответа, связанного с модификацией синтеза суберина. Можно предполагать, что индуцированное бактериями накопление ауксина участвует в ускоренном отложении суберина в поясах Каспари.

Обработка *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 снижала накопление натрия в побегах, что могло способствовать их росту при засолении (рис. 14б). Тем не менее, стимуляция роста этими бактериями была меньше, чем в случае *Bacillus subtilis* IB-22, который не влиял на накопление натрия в побегах. Эти результаты согласуются со сведениями об отсутствии значимой корреляции между способностью побегов исключать Na^+ и солеустойчивостью у широкого круга растений (Munns et al., 2016). Кроме того, PGPR обладают набором других полезных признаков, влияющих на рост растений, чем также можно объяснить несоответствие между накоплением натрия и стимулированием роста побегов, обнаруженное в наших экспериментах.

Накопление ионов натрия снижает активность фотосинтеза (Almeida et al., 2017). Тем не менее, мы не обнаружили снижения эффективности фотосинтеза у растений при солевом стрессе, что может быть следствием закачки Na^+ в вакуоли, что характерно для растений твердой пшеницы (Munns et al., 2016). И все же, несмотря на способность растений сохранять активность фотосистемы в условиях умеренного засоления, применяемого в наших экспериментах, его ростингибирующее действие проявлялось в значительном снижении биомассы как побегов, так и корней (табл. 3). Угнетение роста растений под влиянием засоления могло быть следствием выявленного снижения концентрации калия в корнях (рис. 15) и фосфора в побегах (рис. 16), поскольку поддержание оптимальной концентрации калия и фосфора необходимо для роста растений (Luan et al., 2017). Бактериальная инокуляция растений, подвергшихся солевому стрессу, активировала их рост, что сопровождалось изменениями под влиянием бактерий концентрации фосфора и калия. Увеличение концентрации калия в корнях и фосфора в побегах было наиболее заметно у растений, обработанных *B. subtilis* IB-22. Эти результаты соответствовали большей способности *B. subtilis* IB-22

стимулировать рост растений твердой пшеницы в условиях солевого стресса. Наши результаты показывают, что поддержание концентраций калия и фосфора, обнаруженное в растениях, инокулированных *B. subtilis* IB-22 в условиях солевого стресса, может быть более важным для стимулирования роста растений в условиях засоления, чем снижение накопления натрия как такового.

Как указывалось выше, представляло интерес выявить предполагаемую связь между влиянием бактерий на солеустойчивость растений и их способностью продуцировать гормоны и влиять на их концентрацию в растениях. Возможное значение продукции ауксина *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 обсуждалась выше. Наблюдаемое повышение уровня цитокининов у растений, обработанных *Bacillus subtilis* IB-22, является предсказуемым эффектом, поскольку этот штамм был выбран в качестве цитокинин-продуцирующего PGPR (Arkhipova et al., 2005). Важно отметить, что из изученных двух штаммов только бактерии *Bacillus subtilis* IB-22, способные повышать уровень ЦК в растениях, предотвращали снижение концентрации калия у растений, подвергшихся солевому стрессу. Эти результаты свидетельствуют о том, что повышение содержания ЦК в растениях под влиянием бактериальной обработки может играть важную роль в поддержании ионного гомеостаза. Это предположение согласуется с данными литературы о том, что увеличение концентрации цитокинина в трансгенных растениях томатов уменьшало степень снижения концентрации калия в растениях, подвергшихся солевому стрессу (Ghanem et al., 2011).

На аналогичной экспериментальной модели было показано, что бактериализация приводит к увеличению концентрации АБК в корнях растений, подвергшихся засолению (Arkhipova et al., 2020). В этих опытах самый высокий уровень АБК был зафиксирован у растений, инокулированных *B. subtilis* IB-22. Роль этого гормона в регуляции ионного гомеостаза у растений при солевом стрессе активно обсуждается (Pangumaran, Smith, 2017; Pons et al., 2013) и заслуживает дальнейшего изучения.

Насколько нам известно, мы впервые показали ускорение бактериальной обработкой образования вторичных стенок в сосудах ксилемы и отложения суберина и лигнина в поясках Каспари эндодермы корней растений, подверженных воздействию солей. Эти изменения были наиболее выражены у растений, обработанных штаммом, продуцирующим ауксины *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14. Важность этой реакции для ограничения неконтролируемой диффузии растворенных веществ через апопласт подтверждается данными, свидетельствующими о снижении накопления натрия в побегах растений, обработанных *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14, и сохранении калия в корнях и фосфора в побегах растений, обработанных *Bacillus subtilis* IB-22. Более высокая скорость роста в условиях солевого стресса, зарегистрированная у растений, обработанных *Bacillus subtilis* IB-22, по сравнению с обработкой *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14, указывает на то, что поддержание концентрации калия и фосфора может быть более важным для стимулирования роста твердой пшеницы в условиях засоления, чем снижение накопления натрия как такового.

3.3 Подбор условий выращивания растений *H. vulgare* для эффективного рост-стимулирующего действия ризосферных бактерий

Известно, что положительное влияние ризосферных бактерий на рост растений может осуществляться через продукцию ими фитогормонов (Laga-Chavez et al., 2015). Подтверждением данной гипотезы служат опыты с мутантами арабидопсиса, у которых нарушения функционирования гормональной системы снижали эффективность действия рост регулирующих бактерий (Porcel et al., 2014). Тем не менее, подобные исследования не проводили на однодольных растениях семейства злаковых, имеющих огромное значение для растениеводства. Ранее уже была показана способность ризобактерий, продуцирующих цитокинины (Arkhipova et al., 2005) и ауксины (Kudoyarova et al., 2017), стимулировать рост и увеличивать урожайность растений пшеницы, но сложная организация генома пшеницы

затрудняет получение мутантов и работу с ними. Тем не менее, доступны мутанты других однодольных растений. Например, дефицитный по абсцизовой кислоте мутант ячменя Az34.

Поскольку ранее влияние бактерий, продуцирующих гормоны на рост растений ячменя, детально не изучалось, представляло интерес оценить ростовую реакцию растений ячменя на обработку бактериями, способными преимущественно продуцировать цитокинины или ауксины.

3.3.1 Выбор штамма рост-стимулирующих бактерий

Первоначальной целью этого этапа работы было определить, какой из штаммов ризосферных бактерий наиболее перспективен для усиления роста растений ячменя. В качестве объекта исследования был выбран ячмень сорта Прерия. Для обработки были использованы штаммы *B. subtilis* IB-22 и *P. mandelii* Ki-14, поскольку они проявили способность к стимуляции роста растений в лабораторных опытах (см. разделы 3.1. и 3.2.).

На третий день после бактериальной обработки проростки находились на стадии выхода первого листа, что позволило начать с этого дня измерение длины листьев. На третий и пятый день первый лист обработанных бактериями растений был короче, чем в контроле (различия были достоверны в случае штамма *B. subtilis* IB-22, $p \leq 0.5$, $n=50$) (рис. 17а).

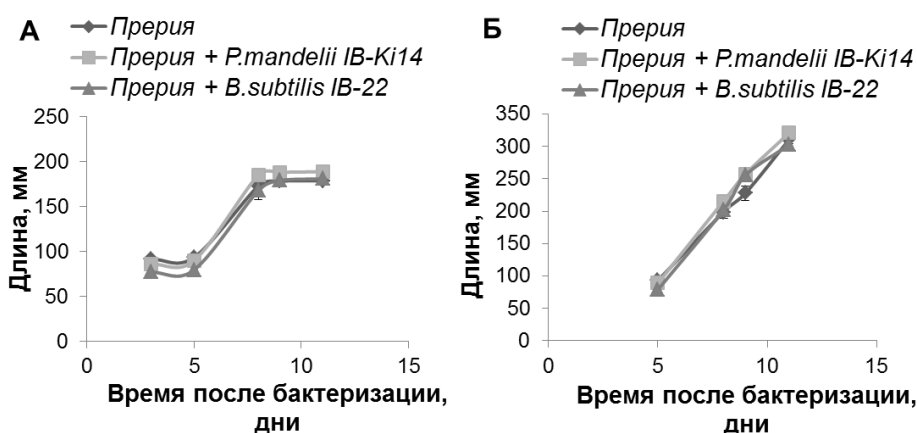


Рис. 17. Длина первого (а) и второго (б) листа растений *H. vulgare* сорта Прерия после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения и их ошибки ($n=30$).

В первые дни после обработки стимулирующий рост эффект не проявлялся. Позднее (на 8-11 день) обработанные бактериями растения догоняли контроль по длине первого листа, а в случае штамма *P. mandelii* IB-Ki14 наблюдалось достоверное увеличение длины первого листа по сравнению с необработанными растениями. Влияние бактериальной обработки на рост 1-го листа было слабым, что можно объяснить тем, что он закладывается при формировании зерновки и может быть менее чувствительным к внешним воздействиям.

Второй лист появился на 5-е сутки, и измерение его длины так же, как и в случае 1-го листа, выявило первоначальное ингибирование его удлинения под влиянием бактерий (рис. 17б). Позднее, примерно к девятому дню после бактериальной обработки, длина 2-го листа была достоверно больше у обработанных бактериями растений. В последующие дни различия между контрольными и обработанными растениями сглаживались. К концу эксперимента более длинными по сравнению с контролем были только третьи листья растений, обработанные бактериями *B. subtilis* IB-22.

Представляет интерес то, что обработка бактериями отразилась на ширине листьев (рис. 18).

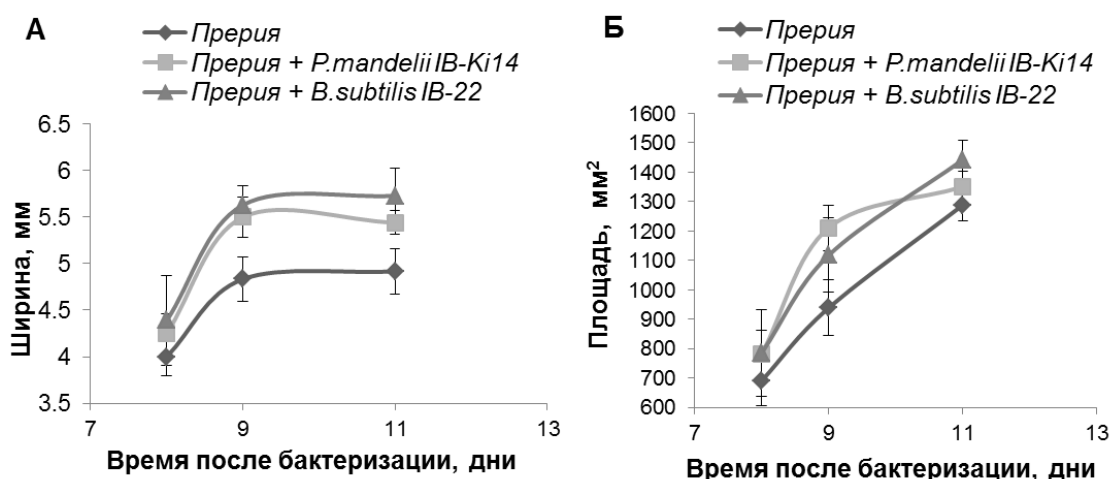


Рис. 18. Ширина (а) и площадь (б) второго листа растений *H. vulgare* сорта Прерия после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения и их ошибки (n=30).

На 9 день ширина 2-го листа растений *H. vulgare*, подвергшихся обработке обоими штаммами, была на 15 % больше, чем в контроле (рис. 18а). В конце эксперимента прибавка в ширине второго листа сохранялась только у растений, обработанных бациллами. Таким образом, стимулирующее влияние бактерий на оба показателя, определяющих площадь листьев обеспечило 30 %-ную прибавку площади 2-го листа (по сравнению с контролем) у растений, обработанных бактериями штамма *P. mandelii* IB-Ki14 и прибавку около 15% – в случае *B. subtilis* IB-22 (рис. 18б). Однако в конце эксперимента только у растений, обработанных *B. subtilis* IB-22, площадь 2-го листа была больше, чем в контроле.

Наиболее явно влияние бактерий на ширину и площадь проявлялось в случае 3-го листа растений, обработанных бациллами. В этом варианте ширина третьего листа и его площадь были в 1,8 раза больше, чем в контроле (рис. 19).

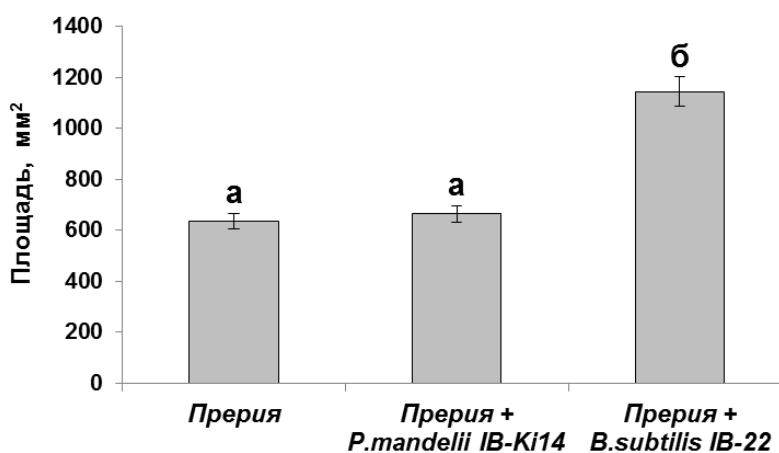


Рис. 19. Площадь третьего листа растений *H. vulgare* сорта Прерия на 11-е сутки после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения и их ошибки. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($n=30$, $p \leq 0,05$, т-тест).

Влияние бактерий на накопление массы побега и корня проявлялось не сразу, и было достоверным в случае обработки штаммом *B. subtilis* IB-22 на 11-й день после начала эксперимента (рис. 20). Сырая масса побега и корней

увеличилась на 18 % и на 14 % соответственно. На 11 сутки у растений, обработанных псевдомонадами, наблюдалась тенденция увеличения массы побега.

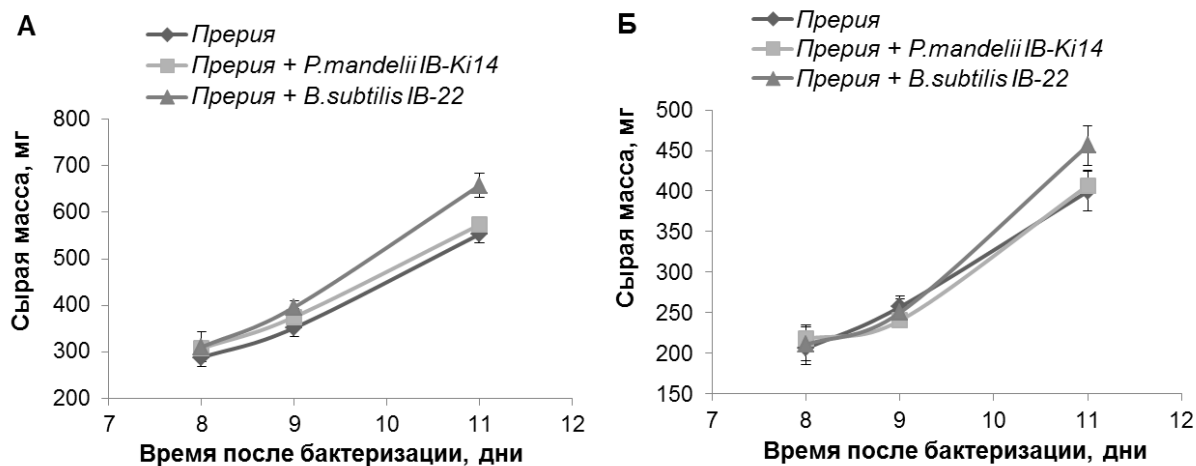


Рис. 20. Сырая масса побега (а) и сырая масса корня (б) растений *H. vulgare* сорта Прерия после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения и их ошибки (n=30).

Известно, что цитокинины способствуют замедлению удлинения корней (Werner et al., 2010). Наиболее стабильным эффектом от бактериализации цитокининпродуцирующим штаммом *B. subtilis* IB-22 было укорочение корней растений (рис. 21). Этот эффект проявлялся на протяжении всего эксперимента и соответствовал полученным ранее данным о способности бактерий этого штамма ингибировать рост корней растений салата (Arkhipova et al., 2005).

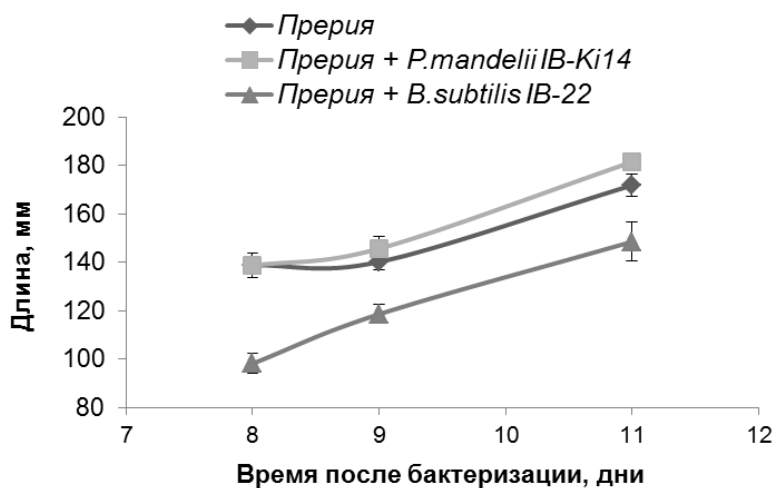


Рис. 21. Длина самого длинного корня растений *H. vulgare* сорта Прерия после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения и их ошибки (n=30).

Полученные данные свидетельствуют о том, что стимулирующее влияние бацилл на рост растений проявлялось не сразу, и было более заметным в конце эксперимента. Возможно, бактериям необходимо какое-то время для колонизации ризосферы растений, чтобы продуцируемые ими гормоны оказали своё воздействие. Хотя бактерии *P. mandelii* IB-Ki14 проявляли свой ростстимулирующий эффект в первые дни после бактериализации, к концу эксперимента он сглаживался. Эти результаты могут говорить о том, что псевдомонады оказались менее способны колонизировать ризосферу растений, чем бациллы, у которых была показана высокая способность к эффективной колонизации ризосферы пшеницы (Arkhipova et al., 2019).

Благоприятное действие бактерий штамма *B. subtilis* IB-22 на растения ячменя проявлялось в наших экспериментах в их влиянии на относительное содержание воды и концентрацию хлорофилла (рис. 22).

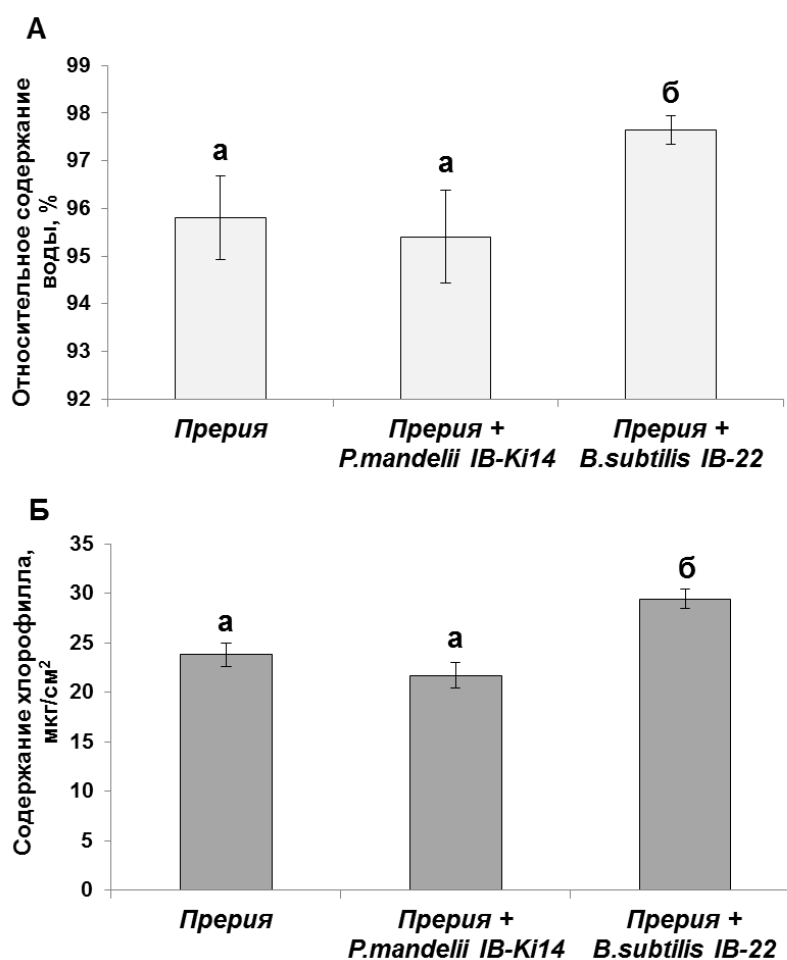


Рис. 22. Относительное содержание воды (а) и содержание хлорофилла (б) во втором листе растений *H. vulgare* сорта Прерия после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22 на 11 сутки эксперимента. Приведены средние значения и их ошибки. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($n=10$, $p \leq 0,05$, t-тест).

Как видно из рисунка 22а, ОСВ растений ячменя, обработанных бактериями штамма *B. subtilis* IB-22 было выше, чем у контроля. Растения этого варианта имели более короткие корни (рис. 21), но их масса была больше, чем в контроле (рис. 20б). Ранее аналогичный эффект бактериальной обработки *B. subtilis* IB-22 был показан у растений салата (Мартыненко, 2009).

Повышение концентрации хлорофилла в листьях способствует активации фотосинтеза. Вероятно, повышенный уровень хлорофилла мог

внести свой вклад в более быстрое накопление биомассы растений, обработанных бактериями штамма *B. subtilis* IB-22 (рис. 22б).

В процессе дальнейшей работы выяснилось, что сорт ячменя Steptoe (родительский сорт дефицитного по АБК мутанта Az34) отличался по реакции растений на обработку бактериями, от сорта ячменя Прерия. Обнаружилось, что в отличие от растений сорта Прерия, штамм *P. mandelii* IB-K14 ингибирует рост растений Steptoe, что проявляется в снижении площади второго листа на 14 сутки обработки (рис. 23).

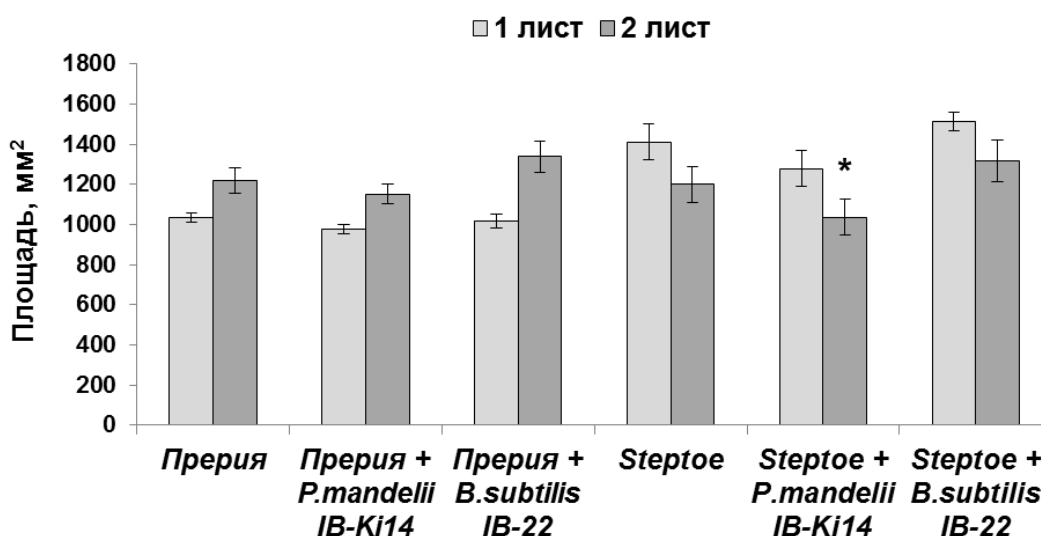


Рис. 23. Площадь листьев растений *H. vulgare* сортов Прерия и Steptoe на 14 день после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-K14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения и их ошибки. Средние значения, достоверно отличающиеся от контроля (без бактерий), обозначены * (n=30, $p \leq 0,05$, t-тест).

Площадь листьев растений ячменя сорта Прерия, обработанных *P. mandelii* IB-K14, не отличалась от контрольных необработанных растений. В то же время под влиянием штамма *B. subtilis* IB-22 наблюдалась тенденция к увеличению площади листьев у растений Steptoe и Прерии (рис. 23), а также увеличение массы их корней (рис. 24).

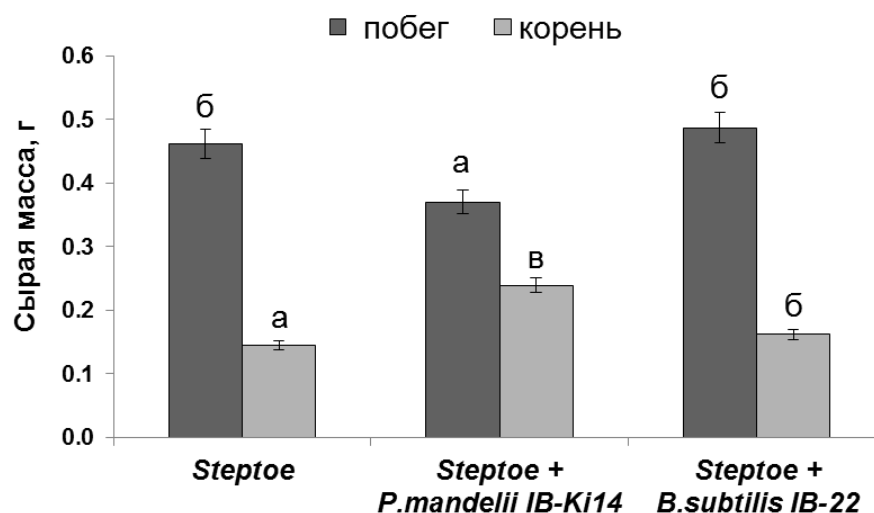


Рис. 24. Масса корней и побегов растений *H. vulgare* сорта Steptoe на 14 день после бактериальной обработки *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22. Приведены средние значения и их ошибки. Средние значения для побегов или корней, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($n=30$, $p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Таким образом, предварительная работа показала большую эффективность штамма *B. subtilis* IB-22 по сравнению с *P. mandelii* IB-Ki14 в стимуляции роста растений ячменя. На основании этих результатов, было принято решение использовать в дальнейшей работе только штамм *B. subtilis* IB-22.

Поскольку растения Steptoe являются родительской формой дефицитного по АБК мутанта ячменя, и их сравнение входило в задачу нашей работы, нам потребовалось уделить больше внимания условиям выращивания растений Steptoe, при которых ростстимулирующее действие ризосферных бактерий у данного сорта более заметно.

3.3.2 Выбор оптимального освещения для выращивания растений

H. vulgare сорта Steptoe

Очевидно, что интенсивность освещения напрямую влияет на количество образованных ассимилятов, биомассу растения и на интенсивность поглощения растением углекислого газа, а ухудшение условий освещения обычно приводит к снижению фотосинтетической активности растений. Ячмень реагирует на затенение аналогично пшенице, но его способность к акклиматизации выше, чем у пшеницы, и было обнаружено, что сорта различаются по своей реакции на условия низкой освещенности (Csajbók et al., 2020).

Исходя из этих сведений, представляло интерес сравнить ростовую реакцию растений ячменя на бактериальную обработку в условиях разной освещенности. Было обнаружено, что бактериальная обработка способствует увеличению длины первого листа, что наиболее ярко проявлялось при менее интенсивном освещении (рис. 25).

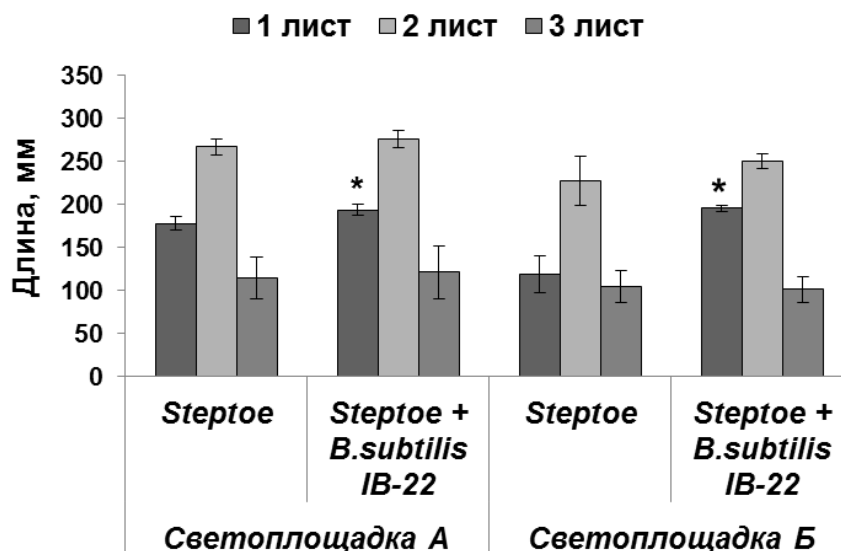


Рис. 25. Длина листьев растений *H. vulgare*, выращенных при разном освещении (400 мкмоль м⁻²с⁻¹ ФАР – светоплощадка А и 240 мкмоль м⁻²с⁻¹ ФАР – светоплощадка Б) на 14 сутки после бактериальной обработки. Приведены средние значения и их ошибки. * обозначены средние, достоверно отличающиеся от контроля (без бактерий) (n=30, p≤0,05, t-тест).

Необработанные растения *H. vulgare*, растущие на светоплощадке с освещенностью $400 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ отличались большей массой побегов, чем необработанные растения на площадке с меньшим освещением (рис. 26). При этом бактериальная обработка приводила к увеличению массы побегов растений на площадке с освещенностью $240 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ до уровня контроля на светоплощадке с более интенсивным освещением.

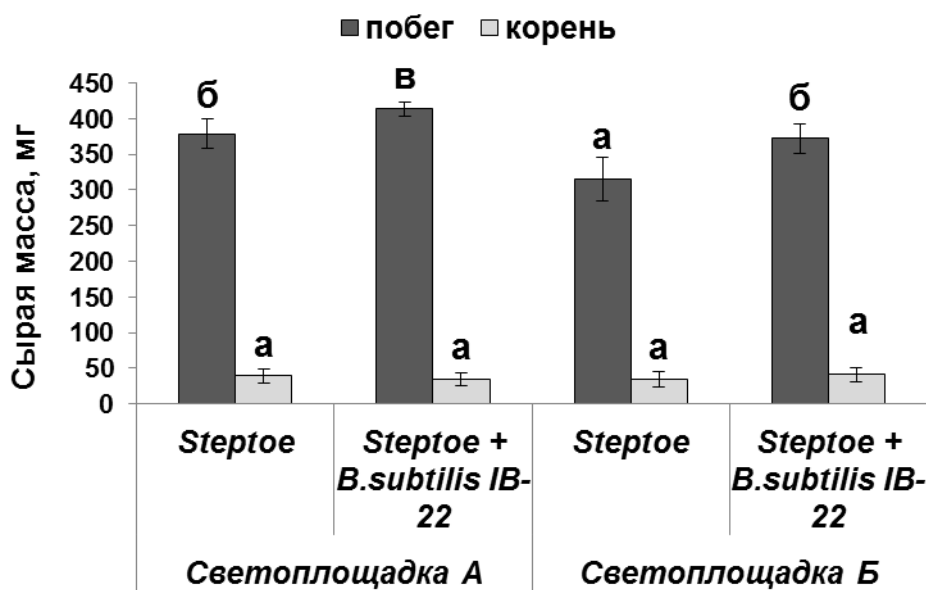


Рис. 26. Масса побегов и корней растений *H. vulgare*, выращенных при разном освещении ($400 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ФАР – светоплощадка А и $240 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ФАР – светоплощадка Б) на 14 сутки после бактериальной обработки. Приведены средние значения и их ошибки. Одинаковыми буквами обозначены достоверно отличающиеся средние значения для побегов или корней ($n=30$, $p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Мы измерили уровень хлорофилла и обнаружили, что на светоплощадке с пониженной освещенностью он был выше. При этом бактериальная обработка растений приводила к заметному снижению содержания хлорофилла в листьях растений (рис. 27).

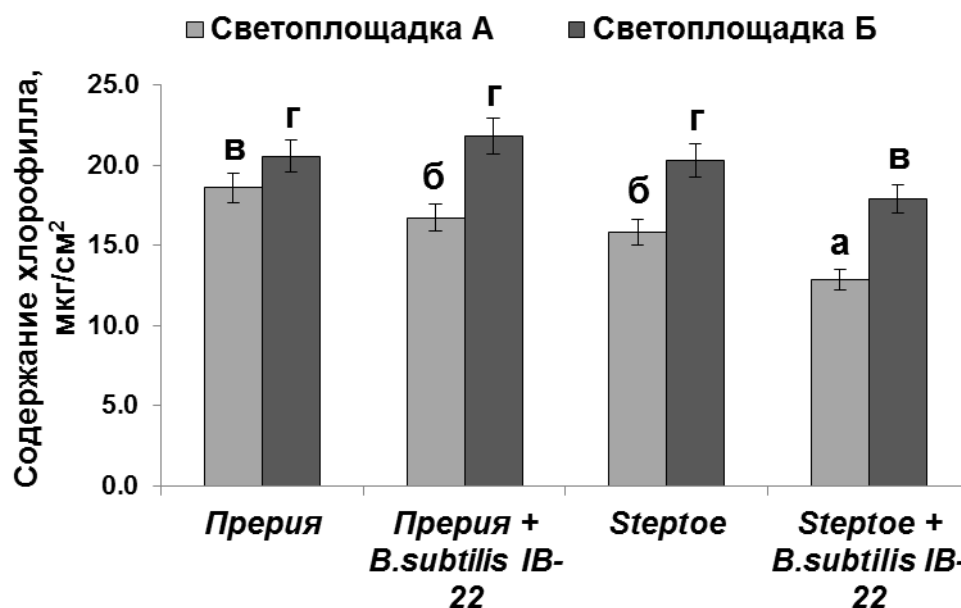


Рис. 27. Содержание хлорофилла во втором листе растений *H. vulgare*, выращенных при разном освещении ($400 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ФАР – светоплощадка А и $240 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ФАР – светоплощадка Б) на 13 сутки после бактериальной обработки. Приведены средние значения и их ошибки. Одинаковыми буквами обозначены достоверно отличающиеся средние значения ($n=30$, $p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Поскольку в целом растения хуже росли при освещении $240 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ФАР, нами было принято решение в дальнейшем работать на светоплощадке с освещением $400 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ ФАР.

3.3.3 Выбор субстрата для выращивания растений *H. vulgare* сорта Steptoe

В качестве субстрата для выращивания растений *H. vulgare* мы рассматривали три варианта: прокаленный песок, почву и вермикулит. Выбор именно этих субстратов был обусловлен целями экспериментов и потенциальным удобством использования.

Наиболее оптимальным и проверенным субстратом для выращивания растений ячменя и проявления ростстимулирующего эффекта ризобактерий, безусловно, является почва. В наших экспериментах мы использовали сухую глинисто-иллювиальную почву средней гумусированности (6,3%) с добавлением 10% песка. Единственным недостатком данного субстрата для

наших экспериментов стала сложность манипуляций с корнями растений. Для облегчения доступа к корням использовали в качестве субстрата песок.

Преимущество песчаного субстрата заключается в лёгком освобождении от него корней для определения фитогормонов. В то же время, использование песка в качестве субстрата вынуждает более тщательно контролировать уровень влажности почвы, вносить дополнительное минеральное питание и обеспечивать ежедневный двухразовый полив в летнее время года.

Для решения этой проблемы мы попробовали использовать в качестве субстрата вермикулит. Данный материал обладает высокой впитывающей способностью, что позволяет реже поливать растущие на нём растения. Также данный субстрат не подвержен разложению и гниению под действием микроорганизмов, что немаловажно для успешного проведения наших экспериментов.

Сравнение массы побегов двухнедельных растений *H. vulgare* показало, что наибольшую массу имели растения, выращенные в почве (рис. 28).

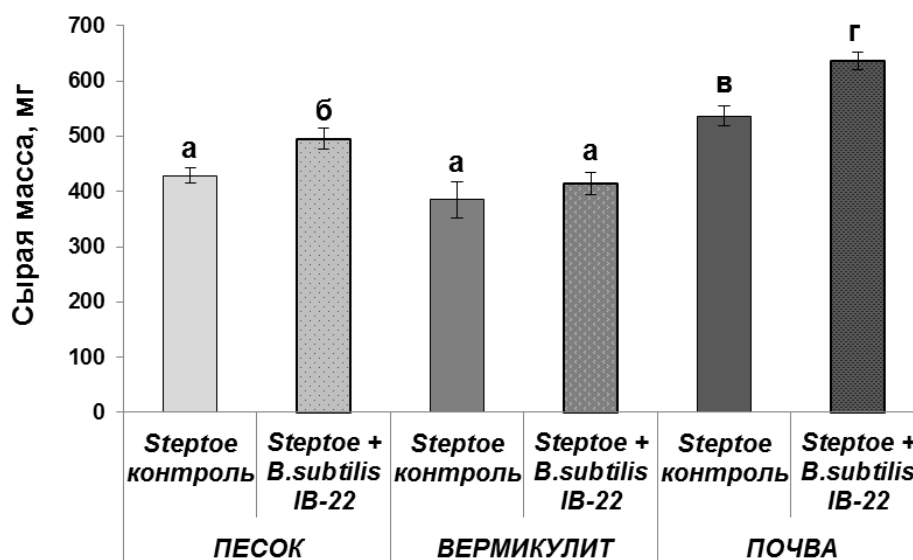


Рис. 28. Сравнение массы побегов растений *H. vulgare*, выращенных на разных субстратах на 14 сутки после бактериальной обработки (усреднённые данные трёх опытов). Приведены средние значения и их ошибки. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($n=30$, $p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

Стимулирующий эффект бактерий проявлялся только у растений, выращенных в почве и в песке. Использование в качестве субстрата вермикулита не приносило желаемого результата.

Исходя из этих сведений, было решено использовать в дальнейших экспериментах песчаный или почвенный субстрат в зависимости от конкретных задач текущего эксперимента. При определении уровня транскриптов генов растения выращивали в песке.

3.3.4 Подбор оптимальной концентрации бактерий *B. subtilis* IB-22 для проявления стимулирующего роста эффекта на растения *H. vulgare* сорта Steptoe

Поскольку рост растений также в немалой степени зависит от количества внесённых бактерий, было целесообразно оценить рост растений, обработанных различными концентрациями *B. subtilis* IB-22. Для получения инокулята разной плотности бактериальную суспензию *Bacillus subtilis* IB-22 разбавляли водопроводной водой. В результате такого разведения были получены плотности инокулята при обработке 10^5 КОЕ и 10^6 КОЕ/ растение. Для одного из вариантов обработки (10^8 КОЕ / растение) бактериальную суспензию водой не разбавляли.

В результате серии опытов, мы испытали разные разведения бактериальной суспензии и обнаружили, что наибольшую прибавку в массе побегов ячменя даёт обработка 10^8 КОЕ / растение (рис. 29).

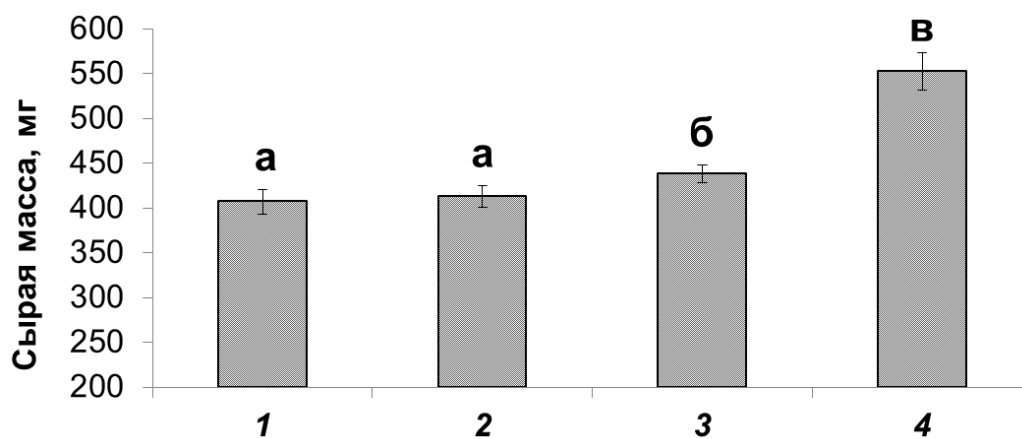


Рис. 29. Масса побегов растений *H. vulgare* на 13 сутки после бактериальной обработки различной концентрацией бактерий (1 – необработанные растения, 2 – растения, обработанные *B. subtilis* IB-22 10^5 КОЕ, 3 – растения, обработанные *B. subtilis* IB-22 10^6 КОЕ, 4 – растения, обработанные *B. subtilis* IB-22 10^8 КОЕ / растение). Приведены средние значения и их ошибки. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($n=30$, $p \leq 0,05$, тест Дункана).

Все полученные данные в ходе работы по подбору условий проведения опытов с бактериальной обработкой растений ячменя были собраны и проанализированы (таблица 6).

Таблица 6. Итоги подготовительной серии опытов по подбору условий выращивания растений *H. vulgare* сорта Steptoe

Освещение	400 мкмоль м ⁻² с ⁻¹			240 мкмоль м ⁻² с ⁻¹	
Субстрат	Почва	Песок	Вермикулит	Песок	Вермикулит
Показатель Вариант	Масса побегов ячменя на 14 день эксперимента, мг				
Без бактерий	537±18 ^a	407±14 ^a	379±20 ^a	–	315±34 ^a
+ <i>B. subtilis</i> IB-22 10^5 КОЕ	–	413±14 ^a	369±15 ^a	–	345±14 ^a
+ <i>B. subtilis</i> IB-22 10^6 КОЕ	–	438±19 ^б	414±35 ^б	–	372±20 ^б
+ <i>B. subtilis</i> IB-22 10^8 КОЕ	636±16 ^б	497±19 ^В	–	–	–

В таблице указаны средние значения и их ошибки. Для каждого из субстратов средние значения массы побегов, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, тест Дункана).

По итогам серии подготовительных опытов была выбрана модель последующих экспериментов: освещение – 400 мкмоль м⁻² с⁻¹ ФАР, субстрат – почва и песок, концентрация инокулята для обработки *B. subtilis* IB-22 – 10⁸ КОЕ /растение.

3.4 Влияние штамма *B. subtilis* IB-22 на дефицитный по гормону АБК мутант *H. vulgare* сорта Az34 и растения его родительского сорта Steptoe, выращенные в оптимальных условиях

3.4.1 Метаболизм абсцизовой кислоты

Ранее Архипова с соавторами (2007) наблюдали повышение уровня АБК под влиянием *B. subtilis* IB-22, с которым связывали поддержание водного обмена у растений *Lactuca sativa* L. на фоне активации их роста. Известно, что АБК способствует снижению устьичной проводимости и повышению гидравлической проводимости растительных тканей (Veselov et al., 2018). Исходя из этого, целесообразно было проверить, зависит ли реакция растений на бактеризацию от их способности продуцировать данный гормон. Прежде подобные эксперименты проводились только на дефицитных по АБК мутантах томата (Porcel et al., 2014).

Количественный анализ абсцизовой кислоты у *H. vulgare* показал предсказуемое снижение содержания этого гормона у мутантных растений Az34 как в побегах, так и в корнях, относительно растений родительского сорта Steptoe (рис. 30). У данного мутанта ячменя пониженный синтез АБК объясняется низкой активностью альдегидоксидазы, катализирующей превращение альдегида в абсцизовую кислоту (Walker-Simmons et al., 1989).

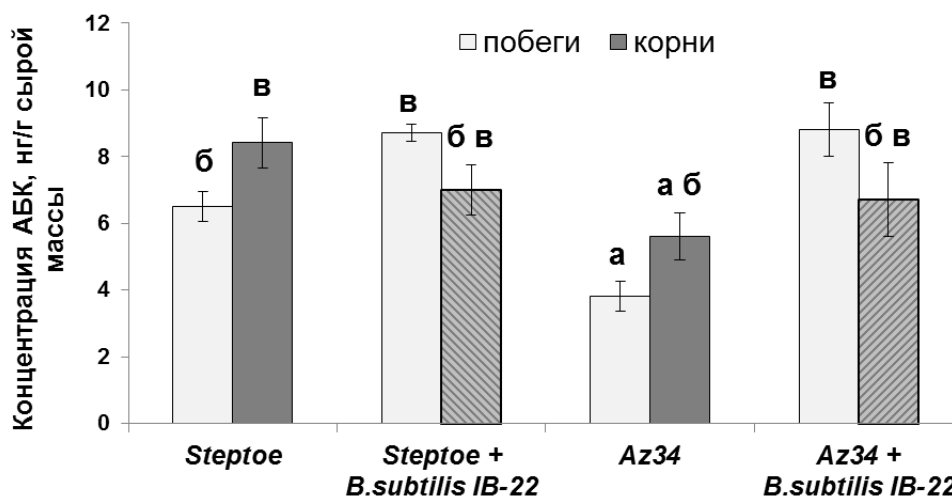


Рис. 30. Содержание АБК в побегах и корнях растений дефицитного по АБК мутанта *H. vulgare* Az34 и его родительского сорта Steptoe на 8-е сутки после обработки *B. subtilis* IB-22. Приведены средние ($n=6$) значения и их ошибки. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, Дункан тест).

Бактериальная обработка вызывала увеличение содержания абсцизовой кислоты в побегах у растений Az34 более чем в два раза по сравнению с контролем (рис. 30). Влияние *B. subtilis* IB-22 на количество АБК в корнях не проявлялось. Необходимо было выяснить, каким образом бактерии увеличивали содержание АБК в растениях.

С этой целью была проведена оценка концентрации абсцизовой кислоты в культуральной жидкости *Bacillus subtilis* IB-22, которая показала наличие в ней гормона в концентрации около 20 нг/мл. Концентрация АБК была примерно на порядок ниже, чем в бактериальной жидкости *Azospirillum brasilense* Sp 245 (Cohen et al., 2008). Однако имеются литературные данные о возможном влиянии 2 нг/мл бактериальной АБК штамма *B. aryabhatai* SRB02 на содержание этого гормона *in planta* (Park et al., 2017). Исходя из этого, можно предположить, что обнаруженная нами концентрация абсцизовой кислоты в культуральной жидкости *B. subtilis* IB-22 оказывала влияние на ее содержание у бактериализованных растений ячменя.

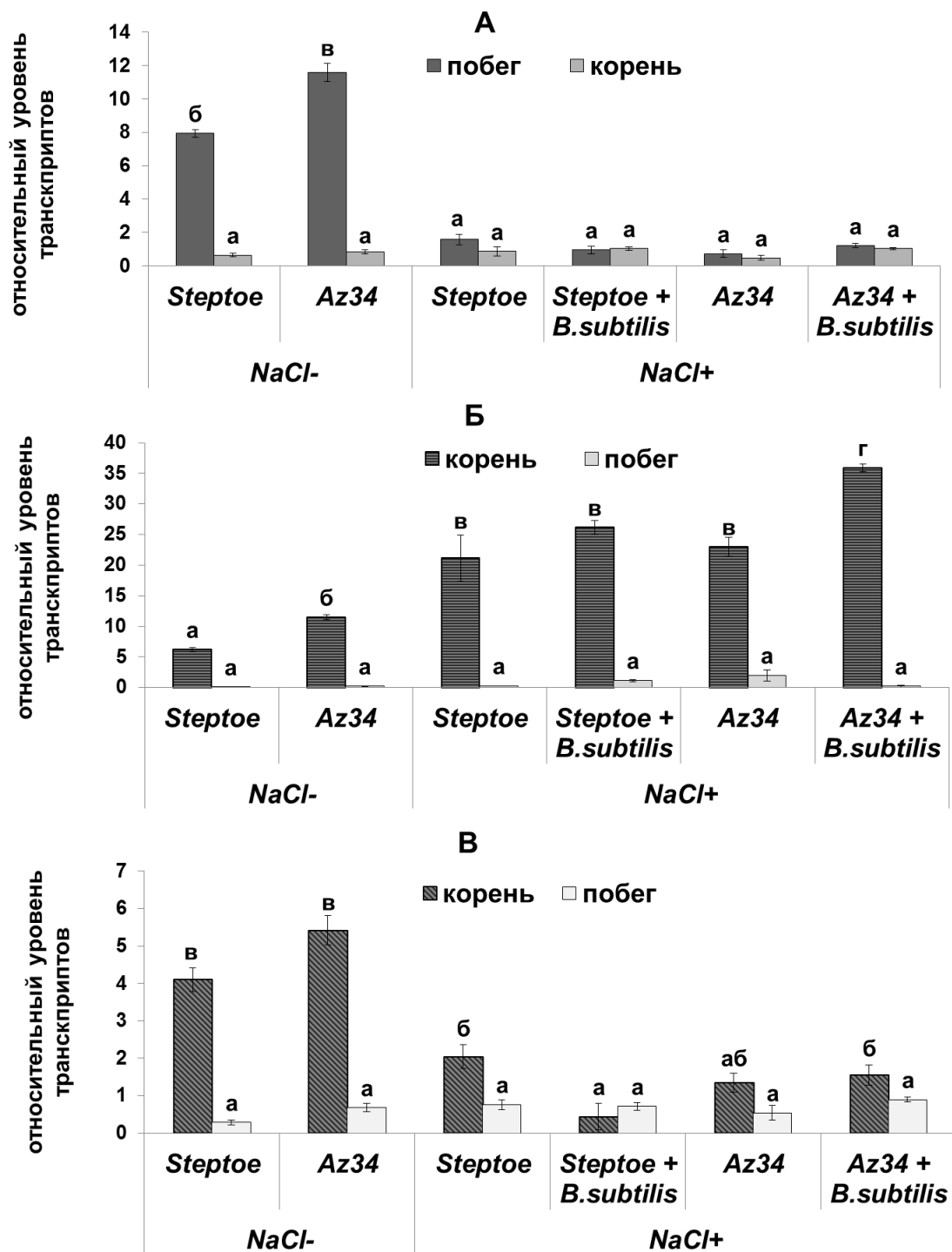


Рис. 31. Влияние инокуляции штаммом *B. subtilis* IB-22 на содержание транскриптов генов *HvNCED1* (а), *HvNCED2* (б) и *HvCYP707A1* (в) в побегах и корнях растений дефицитного по АБК мутанта *H. vulgare* Az34 и его родительского сорта Steptoe на 7-е сутки после обработки *B. subtilis* IB-22. Значения экспрессии генов, ответственных за метаболизм АБК у ячменя, нормированы относительно гена ячменя *HvGADPH*, кодирующего глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами (n=6, $p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, Дункан-тест).

Согласно литературным данным, ризобактерии способны оказывать влияние на метаболизм абсцизовой кислоты в растительном организме (Porcel et al., 2014; Bharti et al., 2016). В связи с этим, представляло интерес оценить эффект *B. subtilis* IB-22 на уровень транскриптов генов метаболизма абсцизовой кислоты. На рисунке 31 представлены результаты оценки уровня транскриптов генов ячменя семейства NCED, кодирующих диоксигеназу 9-цис-эпоксикаротиноидов (*HvNCED1* и *HvNCED2*), а также гена *HvCYP707A1*, ответственного за оксидативный распад абсцизовой кислоты.

Как видно из рисунка 31, в корнях растений *H. vulgare* уровень транскриптов генов метаболизма АБК была на порядок выше, чем в побегах. Исходя из этого, можно предположить, что у семисуточных растений ячменя абсцизовая кислота преимущественно синтезируется в корнях и далее транспортируется в побег по ксилеме (Davies et al., 2005). Уровень транскрипта генов *HvNCED1* и *HvNCED2*, кодирующих диоксигеназу 9-цис-эпоксикаротиноидов, был выше у мутантных растений ячменя, что могло в какой-то мере компенсировать пониженный уровень превращения альдегида АБК в АБК. Этим также объясняется то, что у мутанта ячменя пониженный уровень АБК выражался менее заметно, чем у дефицитного мутанта томата (Porcel et al., 2014; Finkelstein, 2013). В данных условиях бактериальная обработка не усиливала экспрессию этих генов, но приводила к снижению транскриптов гена *HvCYP707A1*, что могло привести к накоплению АБК за счет снижения ее оксидативного катаболизма. Вероятно, в отсутствие стресса увеличение содержания абсцизовой кислоты под воздействием бактерий происходило как за счет поглощения гормона, продуцируемого *B. subtilis* IB-22, так и за счет снижения распада АБК под влиянием бактерий.

3.4.2 Рост, содержание хлорофилла и водный обмен

Масса побегов и площадь листьев растений мутантного ячменя Az34 были меньше по сравнению с показателями исходного сорта Steptoe (таблица 7).

Таблица 7. Влияние *B. subtilis* IB-22 на площадь листьев, сырую массу побега и ОСВ растений *H. vulgare* сорта Steptoe и дефицитного по АБК мутанта Az34 на 13 сутки после обработки *B. subtilis* IB-22

Вариант опыта / Параметры	Steptoe	Steptoe + <i>B. subtilis</i> IB-22	Az34	Az34+ <i>B. subtilis</i> IB-22
Площадь всех листьев, см ²	26,8 ± 0,6 ^б	31,0 ± 0,9 ^в	20,1 ± 0,9 ^а	27,1 ± 1,0 ^б
Сырая масса побега, мг	537 ± 18 ^б	636 ± 16 ^в	409 ± 15 ^а	579 ± 22 ^б
Относительное содержание воды (ОСВ), %	94,65 ± 0,6 ^а	95,20 ± 0,5 ^а	94,20 ± 0,9 ^а	93,98 ± 0,3 ^а

В таблице указаны средние значения и их ошибки. Средние значения по каждому показателю, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($p \leq 0,05$, дисперсионный анализ, Дункан тест)

Эти результаты не соответствуют исторически сложившемуся представлению об АБК как ингибиторе ростовых процессов (Finkelstein, 2013). В то же время, полученные данные подтверждают литературные сведения о том, что мутанты кукурузы и томатов с пониженным содержанием абсцизовой кислоты уступают в размерах растениям исходного сорта (Porcel et al., 2014; Tan et al., 1997). Это говорит о необходимости поддержания достаточного уровня АБК для оптимального роста растений.

Бактеризованные растения характеризовались большей площадью листьев, что могло негативно повлиять на их водный обмен. При этом ОСВ у растений оставалось неизменным после бактериальной обработки (таблица 7). Вероятно, повышение уровня абсцизовой кислоты под влиянием *B. subtilis*

IB-22 до уровня, характерного для растений Steptoe, способствовало нормализации водных отношений.

Растения мутанта ячменя Az34 характеризовались пониженным количеством хлорофилла (рис. 32а). Под воздействием бактериальной обработки уровень данного показателя возрастал до значений родительского сорта без бактериальной обработки.

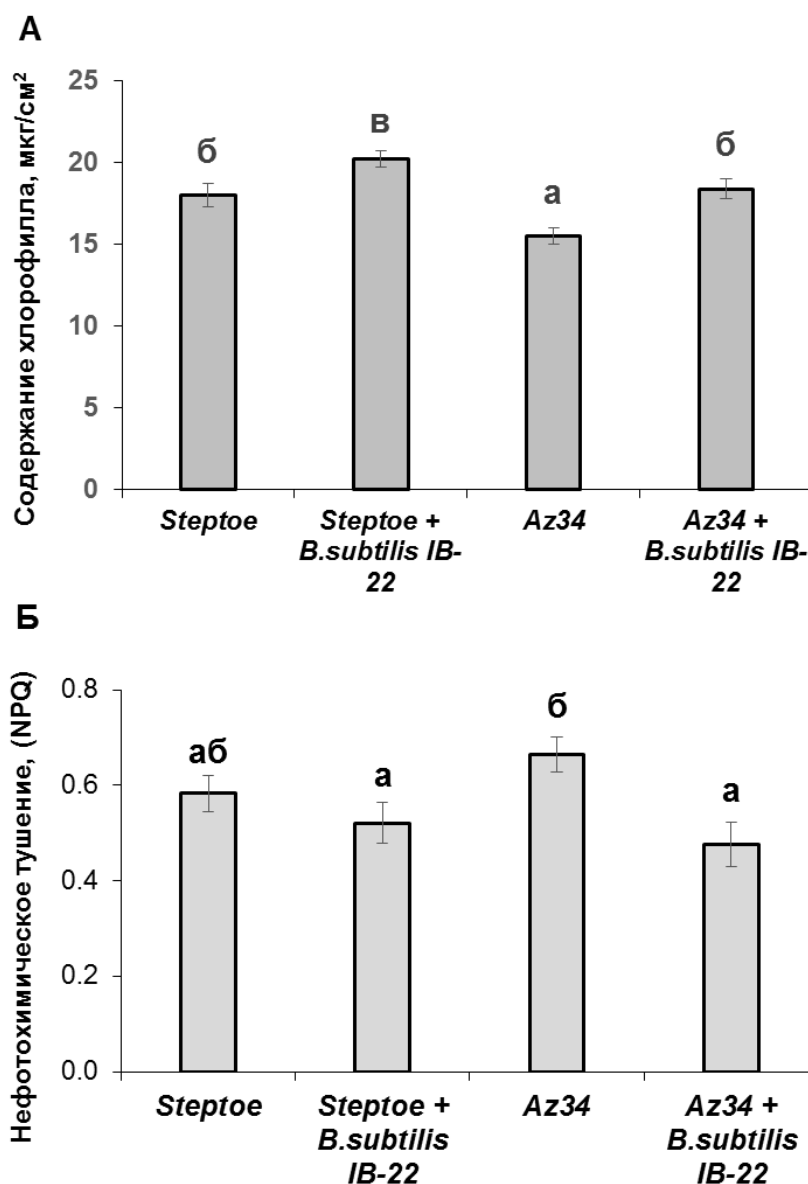


Рис. 32. Влияние *B. subtilis* IB-22 на содержание хлорофилла (А) и нефотохимическое тушение (Б) растений *H. vulgare* дефицитного по АБК мутанта Az34 и его родительского сорта Steptoe на 11 сутки после обработки *B. subtilis* IB-22. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами (n=6, p≤0,05, дисперсионный анализ, Дункан тест).

У дефицитного по АБК мутанта ячменя бактериальная обработка снижала уровень нефотохимического тушения, по сравнению с небактеризованными растениями (рисунок 32б). Несмотря на то, что нефотохимическое тушение рассматривается в качестве механизма защиты фотосинтетического аппарата от оксидативного стресса (Murchie, Ruban, 2020), в его отсутствии NPQ может снижать эффективность фотосинтеза. Следовательно, снижение NPQ под влиянием бактериальной обработки у дефицитного по АБК мутанта (рисунок 32б), могло способствовать накоплению биомассы (таблица 7).

Как правило, заметное увеличение количества абсцизовой кислоты при стрессе сопровождается снижением количества хлорофилла (Müller, Munné-Bosch, 2021). Однако эффект АБК зависит от концентрации гормона. Прежде была показана способность бактерий *B. subtilis* IB-22 увеличивать концентрацию цитокининов в *Lactuca sativa* и *T. durum* (Arkhipova et al., 2007; Martynenko, Arkhipova, 2010). Поскольку цитокинины обладают способностью улучшать фотосинтез (Müller, Munné-Bosch, 2021), обнаруженное в наших экспериментах положительное влияние *Bacillus subtilis* IB-22 на показатели фотосинтеза может быть напрямую связано с цитокинин продуцирующей способностью данного штамма. При этом, повышение концентрации абсцизовой кислоты в побегах растений ячменя под действием бактериализации могло способствовать регуляции устьичной проводимости, выступая в качестве известного антагониста цитокининов.

Согласно сведениям литературы, у дефицитных по АБК мутантов томата бациллы (*B. megaterium*) ингибировали рост, в отличие от воздействия на аналогичные растения дикого типа (Porcel et al., 2014). Сопоставление мутанта ячменя Az34 и Steptoe показало стимуляцию роста растений обоих генотипов после бактериализации. Эти явление может быть обусловлено тем, что у растений ячменя наблюдалось повышение уровня абсцизовой кислоты вследствие бактериальной обработки за счёт способности *B. subtilis* IB-22 не только продуцировать АБК, но и снижать активность ее распада.

На основании имеющихся данных (Arkhipova et al., 2020a) предполагалось, что для проявления стимулирующего эффекта ризосферных бактерий необходима способность растений синтезировать абсцизовую кислоту. Результаты, полученные в наших экспериментах, свидетельствуют о том, что отдельные штаммы ризобактерий способны повышать уровень абсцизовой кислоты в мутантных по данному гормону растениях и тем самым компенсировать генетически обусловленный дефицит гормона.

Сравнение дефицитного по абсцизовой кислоте мутанта ячменя Az34 и растений его родительского генотипа Steptoe выявило ростстимулирующий эффект для растений обоих генотипов под влиянием бактериализации. Под воздействием штамма *B. subtilis* IB-22 наблюдалось повышение уровня АБК, обусловленное способностью данного штамма не только продуцировать абсцизовую кислоту, но и снижать активность ее распада в растениях. Полученные данные показали, что штамм *Bacillus subtilis* IB-22 обладает способностью увеличивать содержание АБК в мутантных растениях, компенсируя генетически обусловленный дефицит данного гормона.

3.5 Влияние штамма *B. subtilis* IB-22 на дефицитный по гормону АБК мутант *H. vulgare* сорта Az34 и растения его родительского сорта Steptoe, выращенные на фоне засоления

Ризобактерии, влияющие на рост растений (PGPR), повышают способность растений справляться с засолением (Dodd et al., 2012; Pangumaran, Smith, 2017; Kudoyarova et al., 2019; Mokrani et al., 2020). Однако механизмы, обеспечивающие этот эффект, все еще недостаточно ясны, а их выяснение может способствовать лучшему пониманию того, как повысить солеустойчивость растений в целом. Исследователи считают, что способность ризобактерий вырабатывать фитогормоны и влиять на их концентрацию в растениях участвует не только в стимулировании роста

растений, но и в бактериальном воздействии на устойчивость растений к стрессу (Ruzzia, Aroca, 2015; Backer et al., 2018; Kudoyarova et al., 2019). В связи с этим, наибольшее внимание уделяется таким гормонам, как цитокинины и ауксины (Arkhipova et al., 2007; Agarwal et al., 2019; Dusa, Glick, 2020). Абсцизовая кислота менее изучена, хотя именно она наиболее задействована в стрессовых реакциях растений (Finkelstein, 2013). Тем не менее, имеются сообщения, показывающие способность бактерий либо продуцировать (Cohen et al., 2008), либо катаболизировать АБК (Belimov et al., 2014; Yuzikhin et al., 2021) и влиять на концентрацию этого гормона в растениях (Kang et al., 2014; Chen et al., 2016). Поскольку однодольные растения с дефицитом АБК не использовались для изучения зависимости реакции растений на PGPR от продукции АБК растениями, представляло интерес выявить эту зависимость (или ее отсутствие) путем сравнения эффектов PGPR на рост мутанта *H. vulgare* Az34, дефицитного по АБК, и его родительского сорта Steptoe.

3.5.1 Рост, содержание хлорофилла и водный обмен

В отсутствии засоления масса побегов мутантных растений Az34 была примерно на 20% ниже, чем у растений Steptoe, тогда как масса корней была примерно одинаковой у растений обоих генотипов (рис. 33а). Засоление подавляло рост растений, что проявлялось в снижении массы как побегов, так и корней растений ячменя обоих генотипов. Введение *Bacillus subtilis* IB-22 в ризосферу увеличивало массу побегов как подвергшихся засолению растений Az34, так и растений Steptoe, в то время как на массу их корней бактериальная обработка не влияла.

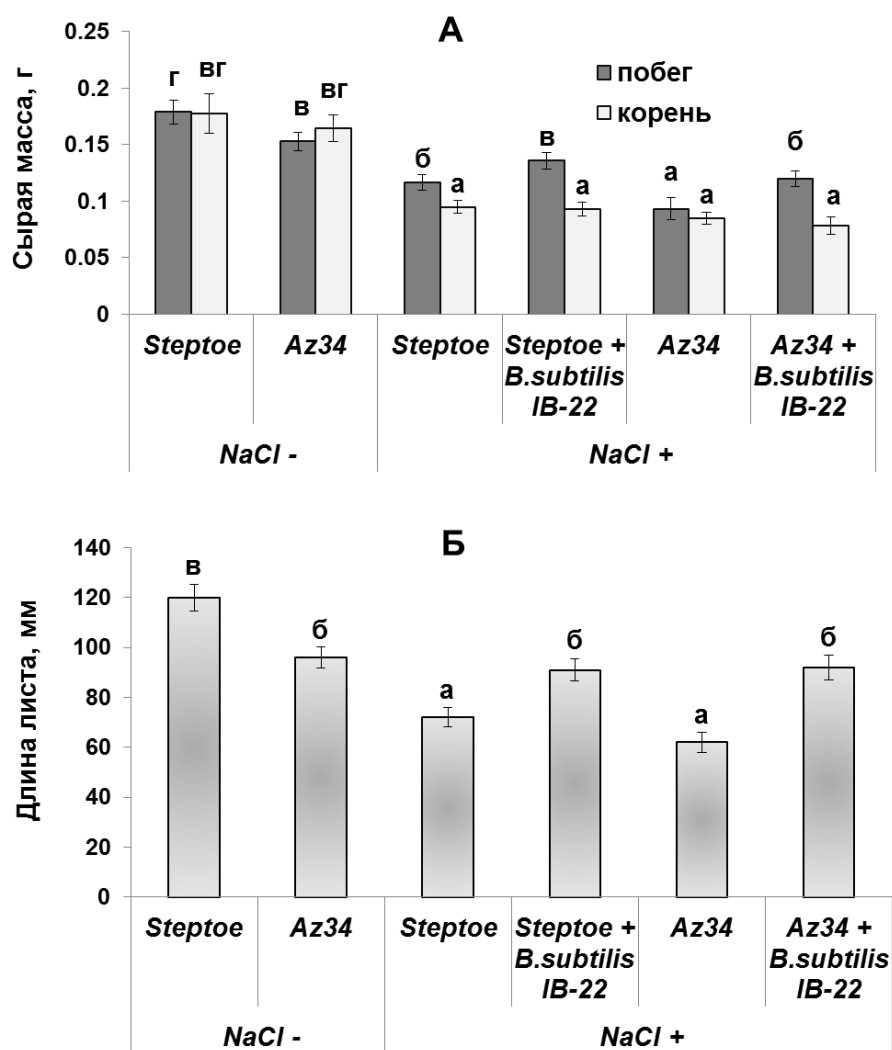


Рис. 33. Влияние *B. subtilis* IB-22 на сырую массу побегов и корней (а) и длину листьев (б) растений *H. vulgare*, дефицитных по АБК (Az34) и его родительского сорта (Steptoe) на 9 сутки после обработки *B. subtilis* IB-22.. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами ($n=30$, $p \leq 0,05$, тест Дункана).

Измерение длины второго листа показало, что листья мутантных растений Az34 были меньше, чем листья растений родительского сорта Steptoe, как в нормальных, так и в стрессовых условиях; их размер уменьшался при воздействии засоления и увеличивался за счет бактериальной обработки (рис. 33б).

Относительное содержание воды в листьях растений обоих генотипов составляло около 94% в отсутствии засоления (рис. 34а).

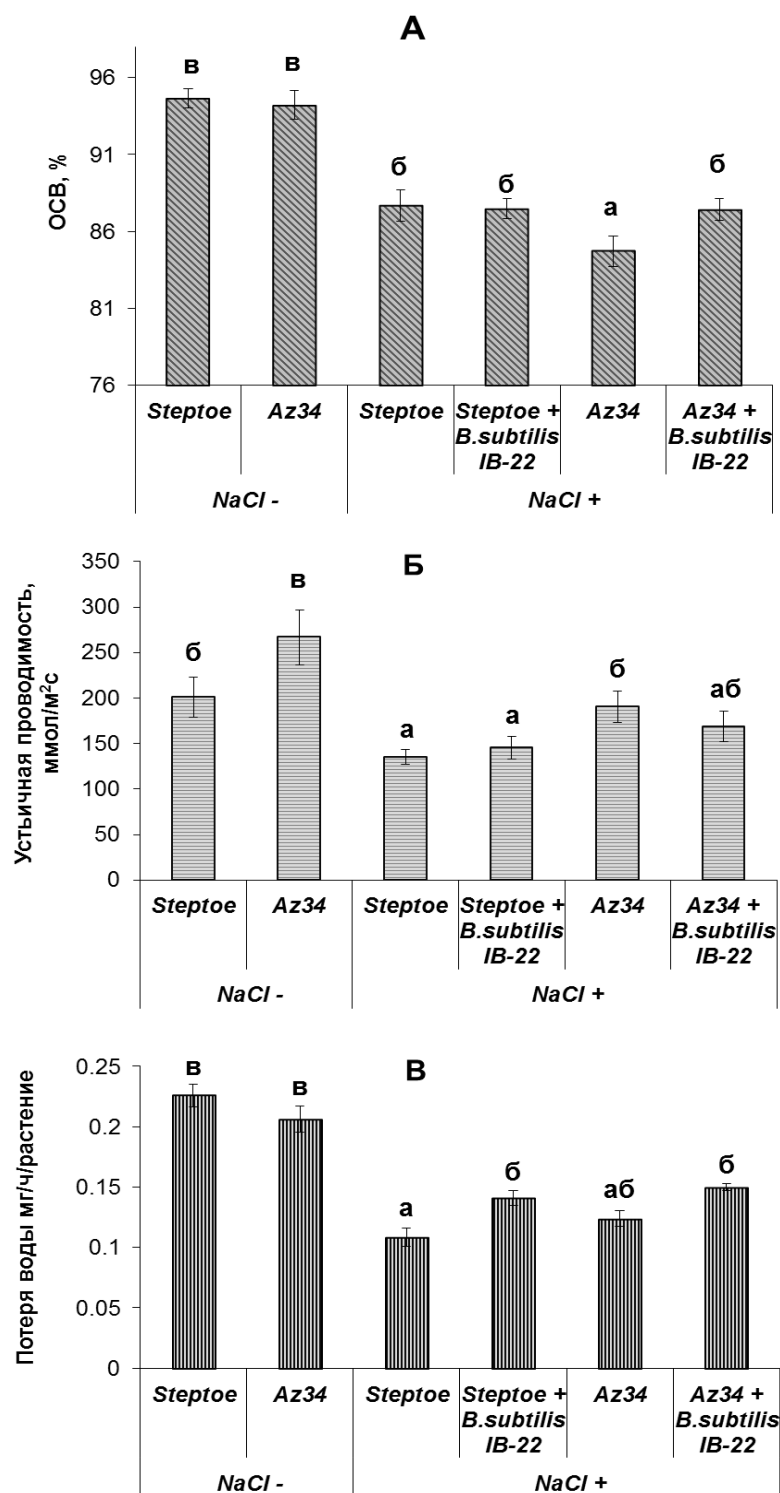


Рис. 34. Влияние *B. subtilis* IB-22 на относительное содержание воды в листьях (а, n=5), устьичную проводимость (б, n=40) и транспирацию (в, n=5) растений *H. vulgare*, дефицитных по АБК (Az34) и его родительского сорта (Steptoe) на 8 сутки после обработки *B. subtilis* IB-22. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами при $p \leq 0,05$.

Добавление соли в питательный раствор приводило к снижению ОСВ примерно на 6% почти во всех случаях, за исключением растений Az34, не обработанных бактериями. В последнем случае относительное содержание воды было снижено в большей степени (до 84%). Устьичная проводимость снижалась при добавлении хлорида натрия и была выше у Az34, чем у Steptoe, как в присутствии, так и в отсутствии засоления, и на нее не влияла бактериальная обработка (рис. 34б).

В отсутствии стрессового воздействия скорость транспирации у Az34 и Steptoe была одинаковой, меньший размер листа у первого, очевидно, компенсировался за счет более высокой устьичной проводимости. Транспирация уменьшалась при солевом стрессе и увеличивалась при обработке бактериями (рис. 34в).

3.5.2 Метаболизм абсцизовой кислоты

Как и ожидалось, в отсутствии засоления содержание абсцизовой кислоты как в корнях, так и в побегах у мутанта с дефицитом АБК, было ниже, чем у его родительского сорта (рис. 35).

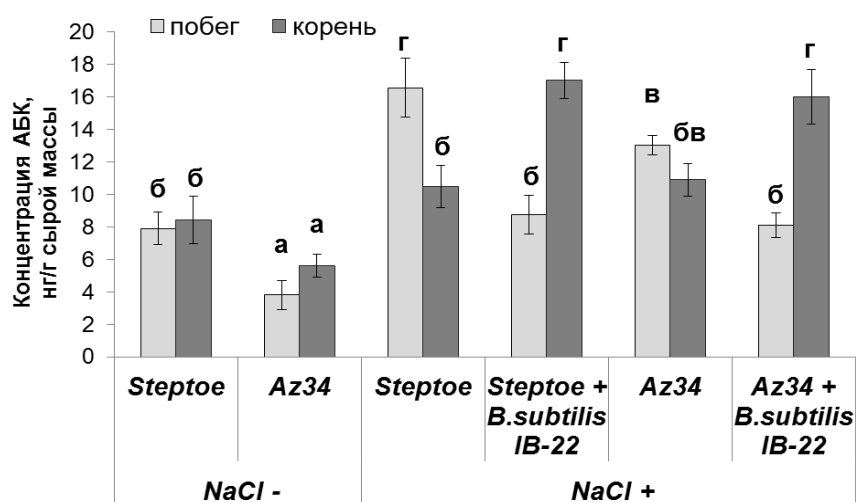


Рис. 35. Влияние *B. subtilis* IB-22 на содержание АБК в побегах и корнях растений *H. vulgare*, дефицитных по АБК (Az34) и его родительского сорта (Steptoe) на 8 сутки после обработки *B. subtilis* IB-22. Средние значения, достоверно не отличающиеся друг от друга, обозначены одинаковыми буквами при $p \leq 0,05$, $n=6$.

Добавление хлорида натрия увеличивало содержание АБК в побегах обоих генотипов. В корнях содержание этого гормона увеличивалось за счет засоления у растений Az34, в то время как на содержание АБК в корнях Steptoe засоление (в отсутствии бактериальной обработки) не влияло. Обработка бактериями увеличивала содержание АБК в корнях и снижала его в побегах растений обоих генотипов, подвергшихся солевому стрессу.

Экспрессия гена *HvNCED2*, кодирующего диоксигеназу 9-цис-эпокаротиноидов (ключевой фермент синтеза АБК), была намного выше в корнях, чем в побегах растений ячменя (рис. 36а). В отсутствии солевого стресса уровень транскриптов *HvNCED1* в корнях было выше у Az34, чем у Steptoe, и снижался при засолении у растений обоих генотипов (рис. 36б). Уровень транскрипта гена *HvNCED2* повышался как под влиянием засоления, так и бактериальной обработки. На фоне засоления этот показатель в корнях был выше у Az34, чем у Steptoe.

Уровень транскрипта гена *HvCYP707A1*, кодирующего гидроксилазу АБК, которая катализирует катаболизм АБК, также был в основном выше в корнях, чем в побегах растений ячменя (рис. 36в). Уровень транскриптов этого гена уменьшался под воздействием засоления у растений обоих генотипов и бактериальной обработки Steptoe.

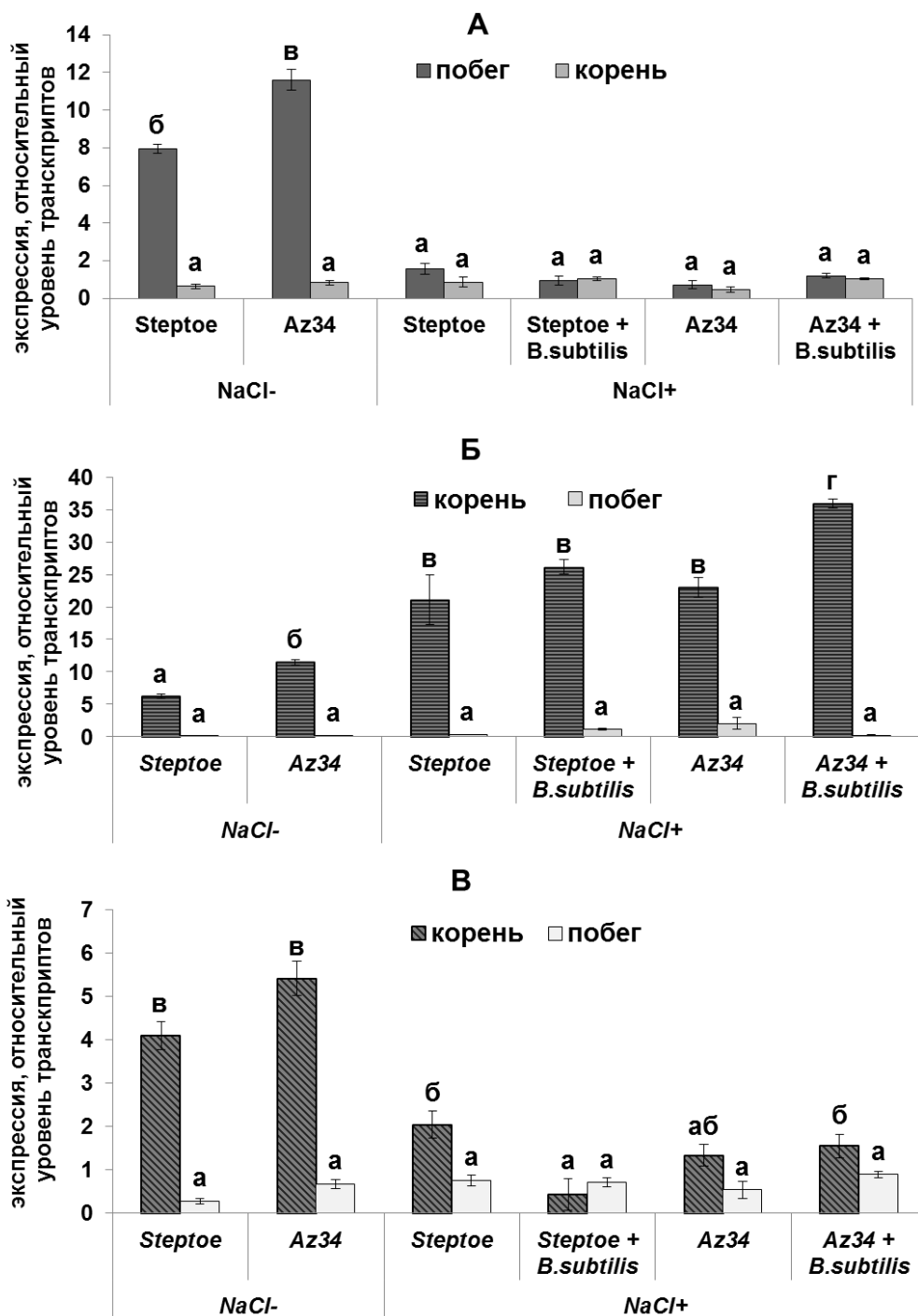


Рис. 36. Влияние бактериальной обработки *B. subtilis* IB-22 на содержание транскриптов генов *HvNCED1* (а), *HvNCED2* (б) и *HvCYP707A1* (в) в побегах и корнях растений дефицитного по АБК мутанта *H. vulgare* Az34 и его родительского сорта Stepptoe на 7 сутки после обработки *B. subtilis* IB-22. Значения экспрессии генов, ответственных за метаболизм АБК у ячменя, нормированы относительно гена ячменя *HvGADPH*, кодирующего глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу. Значительно различающиеся средние значения для каждого гена помечены разными буквами (n=6).

Пониженная концентрация АБК в растениях Az34, обнаруженная в настоящих экспериментах, соответствует предшествующим результатам, которые выявили дефицит абсцизовой кислоты у данного мутанта (Sharipova et al., 2016; Veselov et al., 2018). Низкая концентрация АБК у данных растений ячменя обусловлена мутацией гена, кодирующего молибденовый кофактор альдегидоксидазы, катализирующей синтез АБК из его альдегида (Walker-Simmons et al., 1989). Несмотря на низкую активность соответствующего фермента, приводящую к снижению концентрации АБК, этот гормон все же присутствовал в мутантных растениях (рис. 35). Присутствие АБК в мутантах (хотя и в более низкой концентрации, чем в растениях дикого типа) могло быть обусловлено возможным «подтеканием генов» (Walker-Simmons et al., 1989) или слабо выраженной экспрессией некоторых генов с аналогичной функцией (Tan et al., 1997). Концентрация АБК у мутанта ячменя Az34 была снижена в меньшей степени, чем у дефицитного по АБК мутанта томатов (Porcel et al., 2014). Возможно, это было связано с высоким содержанием транскриптов *HvNCED1* и *HvNCED2* у мутанта Az34, что в некоторой степени компенсировало низкую активность окисления альдегида АБК (рис. 36в). Тем не менее, несмотря на экспрессию генов, участвующих в синтезе АБК у мутанта, концентрация этого гормона была ниже у Az34, что приводило к увеличению устьичной проводимости (рис. 34б) и могло быть связано со способностью этого гормона вызывать закрытие устьиц (Davies et al., 2005).

Меньший размер растений Az34 по сравнению со Steptoe (рис. 33) может показаться неожиданным, поскольку АБК исторически считалась ингибитором роста. Тем не менее, молодые ткани имеют высокий уровень АБК, а некоторые мутантные растения с дефицитом АБК сильно отстают в росте (Filkelstein, 2013), что позволяет предположить, что абсцизовая кислота необходима для нормального роста. Известно, что дефицит АБК у растений ячменя лучше всего проявлялся, когда было необходимо быстрое увеличение

концентрации гормона (например, в ответ на нагревание воздуха), что было характерно для растений исходного генотипа (Veselov et al., 2018).

АБК играет важную роль в контроле водного обмена не только за счет ограничения транспирации благодаря закрытию устьиц, но также за счет увеличения гидравлической проводимости, вызванного увеличением активности водных каналов аквапоринов (Vandeleur et al., 2014, Veselov et al., 2018). Засоление снижает доступность воды, что приводит к уменьшению массы и относительного содержания воды в растениях ячменя (рис. 33а, 34а) и сопровождается закрытием устьиц (рис. 34б). Было важно связать эти процессы с изменениями содержания АБК в подвергнутых стрессу растениях.

Концентрация АБК увеличивалась у растений *Steptoe* на фоне засоления, либо в побегах (при отсутствии бактериальной обработки), либо в корнях (у обработанных бактериями растений). В отличие от предыдущих краткосрочных экспериментов (Veselov et al., 2018), растения *Az34* после длительного засоления оказались способны накапливать АБК как в побегах, так и в корнях по сравнению с нестрессированными растениями *Az34* (рис. 35). Накопление АБК в растениях обоих генотипов, подвергнутых солевому стрессу, вероятно, было связано с увеличением количества транскриптов *HvNCED2* и уменьшением количества транскриптов *HvCYP707A1* (рис. 36а, 36в), что позволило ускорить синтез АБК и снизить скорость ее катаболизма растениями, подвергшимися стрессовому воздействию. Тем не менее, на фоне засоления концентрация АБК у растений *Az34*, была ниже, чем у растений *Steptoe*, что соответствовало более высокой устьичной проводимости и более низкому относительному содержанию воды у мутанта.

Введение бактерий в ризосферу увеличивало концентрацию АБК в корнях *Az34* и *Steptoe*, что может быть связано с активацией гена *HvNCED2* в корнях *Az34* и подавлением *HvCYP707A1* в корнях *Steptoe* по сравнению с соответствующими растениями, не обработанными бактериями. Влияние бактериальной обработки на обилие транскриптов *HvNCED2*, обнаруженное

в настоящих экспериментах, частично согласуется со сведениями о том, что *B. megaterium* усиливает экспрессию гена *NCED* в растениях томатов (Porcel et al., 2014). Наряду с этим, существует еще один фактор, объясняющий повышенную концентрацию АБК в корнях растений, обработанных бактериями, – способность штамма *Bacillus subtilis* IB-22 синтезировать АБК (см. раздел 3.4.).

Еще одна (и, пожалуй, самая яркая) особенность бактериального действия заключалась в противоположном характере распределения АБК между корнями и побегами по сравнению с необработанными бактериями растениями на фоне засоления. В то время как на фоне засоления концентрация АБК снижалась в побегах растений, подвергшихся стрессовому воздействию, при воздействии бактериальной обработки, она повышалась в корнях. Подобный эффект ранее наблюдался у растений пшеницы при действии засоления, когда бактериальная обработка приводила к перераспределению абсцизовой кислоты в корни (Arkhipova et al., 2020a). Экспрессия генов *HvNCED1* и *HvNCED2* была значительно выше в корнях, чем в побегах растений ячменя (рис. 36). Это указывает на то, что именно корни служили основным источником АБК у растений ячменя этого возраста, выращенных в указанных условиях. Совпадение накопления абсцизовой кислоты в корнях растений ячменя со снижением ее содержания в побегах растений, обработанных бактериями, предполагает ингибирование транспорта АБК от корня к побегам при обработке бактериями. Это предположение согласуется с данными, показывающими, что *Variovorax paradoxus* снижает поток АБК по ксилеме от корней к побегам у растений гороха (Jiang et al., 2012).

Выявленное ранее накопление АБК в корнях и снижение ее количества в побегах растений пшеницы в условиях нагрева воздуха привело к увеличению гидравлической проводимости корня и потока воды из корней (Kudoyarova et al., 2011). Увеличение гидравлической проводимости корня под действием АБК было связано с увеличением количества водных каналов

в эпидермальных клетках корня (Sharipova et al., 2016). Накопление АБК в корнях обработанных бактериями растений пшеницы также сопровождалось увеличением гидравлической проводимости корня (Arkhipova et al., 2020a). В отличие от растений Steptoe, у которых содержание АБК в корнях быстро увеличивалось за счет нагрева воздуха, что сопровождалось увеличением гидравлической проводимости корней, мутант Az34 не мог ни накапливать АБК, ни увеличивать гидравлическую проводимость корней (Veselov et al., 2018). Вероятно, что этот мутант ячменя также не смог увеличить приток воды к побегам растений, подвергшихся солевому стрессу, в настоящем эксперименте, что привело к снижению ОСВ (рис. 34a). Обработка бактериями увеличивала концентрацию АБК в корнях не только растений Steptoe, но и растений Az34, что поддерживало поток воды и, очевидно, приводило к увеличению ОСВ у мутантных растений до уровня родительского генотипа (рис. 34a). Накопление АБК в корнях растений, обработанных бактериями, было важно для поддержания повышенной транспирации и обеспечения действия стимулирующих рост бактерий на растения ячменя.

Таким образом, ростстимулирующий эффект *Bacillus subtilis* IB-22 проявлялся как у мутанта ячменя с дефицитом АБК, так и у его родительского сорта. Данный эффект проявлялся как в нормальных условиях, так и при стрессовом воздействии, когда растению особенно необходима способность накапливать АБК.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На примере бактерий *P. mandelii* IB-Ki14 или *B. subtilis* IB-22 показано, что их присутствие в ризосфере *T. durum* и *H. vulgare* может повышать концентрацию в растениях тех гормонов, которые бактерии продуцируют: *P. mandelii* IB-Ki14 – ауксины, *B. subtilis* IB-22 – цитокинины и АБК. Вызванные бактериями изменения в концентрации гормонов способствуют активации роста растений, как в нормальных условиях, так и на фоне засоления. Инокуляция бактерий ускоряла образование поясков Каспари и повышала уровень отложения лигнина и суберина в корнях, а усиленное формирование апопластных барьеров, контролирующих потоки ионов по апопласту, способствовали ионному гомеостазу на фоне засоления. Обработка растений *H. vulgare* бактериями штамма *B. subtilis* IB-22 снижала уровень индуцированного засолением накопления АБК, что является индикатором снижения под влиянием бактерий стрессовой нагрузки. В то же время выявлено накопление АБК в корнях растений *H. vulgare* под влиянием бактерий. Эта реакция может играть важную двойственную роль в адаптации растений к условиям обитания, с одной стороны, способствуя формированию апопластных барьеров (Akhiyarova et al., 2021), а с другой – оптимизируя водный обмен за счет активации транспорта через мембраны. Повышение концентрации АБК в корнях растений под влиянием *B. subtilis* IB-22 является следствием не только способности бактерий этого штамма продуцировать АБК, но и влиять на метаболизм этого гормона в самих растениях. В отличие от дефицитного по АБК мутанта томатов, у которых ризосферные бактерии не вызывали стимуляции роста, выявлена активация роста дефицитного по АБК мутанта ячменя под влиянием *B. subtilis* IB-22. Эта особенность действия данного штамма обусловлена его способностью нормализовать метаболизм АБК.

ВЫВОДЫ

1. Бактерии *Bacillus subtilis* штамма IB-22 увеличивали концентрацию цитокининов, а бактерии *Pseudomonas mandelii* штамма IB-Ki14 – концентрацию ауксинов в корнях и побегах растений *Triticum durum*, как в благоприятных для роста растений условиях, так и на фоне засоления, что сопровождалось стимуляцией роста и повышением концентрации хлорофилла.

2. Установлено увеличение отложения лигнина и суберина, а также ускорение образования поясков Каспари в корнях *T. durum* на фоне интродукции бактерий в ризосферу растений пшеницы. Эффект был более выражен в случае *P. mandelii* штамма IB-Ki14.

3. В условиях засоления обработка растений *T. durum* бактериями *P. mandelii* штамма IB-Ki14 снижала накопление натрия в побегах, в то время как бактерии *B. subtilis* штамма IB-22 поддерживали уровень калия в корнях и фосфора – в побегах, что указывает на различия в механизмах регуляции ионного баланса под влиянием бактерий этих двух штаммов.

4. Показано, что интродукция бактериями *B. subtilis* IB-22 стимулировала рост растений дефицитного по АБК мутанта Az34 *Hordeum vulgare* и его родительского сорта Steptoe.

5. Бактериальная обработка *B. subtilis* IB-22 снижала уровень стресс-индуцированного накопления АБК в побегах, и увеличивала содержание этого гормона в корнях растений *H. vulgare*, что предотвращало падение оводненности побега у мутанта при засолении.

6. Повышение уровня АБК в корнях *H. vulgare* при обработке *B. subtilis* IB-22 имело важное адаптивное значение и было связано, как со способностью бактерий синтезировать АБК, так и с влиянием бактерий на метаболизм этого гормона в растениях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Архипова, Т.Н. Сравнение действия штаммов бактерий, различающихся по способности синтезировать цитокинины, на рост и содержание цитокининов в растениях пшеницы / Т.Н. Архипова, С.Ю. Веселов, А.И. Мелентьев, Е.В. Мартыненко, Г.Р. Кудоярова // Физиология растений. – 2006. – Т. 53. – № 4. – С. 506-510.
2. Ахиярова, Г.Р. Влияние удаления корней на содержание цитокининов в клетках апекса побега арабидопсиса / Г.Р. Ахиярова, А.В. Коробова, С.Ю. Веселов, Г.Р. Кудоярова, Д.С. Веселов // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. – 2018. – Т. 73. – № 3. – С. 208-214.
3. Веселов, Д.С. изменения экспрессии гена экспансина, содержания ИУК и скорости растяжения клеток листа растений кукурузы при засолении / Д.С. Веселов, И.Б. Сабиржанова, Б.Е. Сабиржанов, А.В. Чемерис // Физиология растений. – 2008. – Т. 55. – № 1. – С. 108-113.
4. Веселов, С.Ю. Содержание и локализация цитокининов в листьях исходных и трансгенных растений табака / С.Ю. Веселов, Р.С. Вальке, Х. Ван Онкелен, Г.Р. Кудоярова // Физиология растений. – 1999. – Т. 46. – С. 326-335.
5. Веселов, Д.С. Гормоны растений. Регуляция концентрации, связь с ростом и водным обменом / Д.С. Веселов, С.Ю. Веселов, Л.Б. Высоцкая, Г.Р. Кудоярова, Р.Г. Фархутдинов // Москва: Наука, 2007. – с.160.
6. Веселов, Д.С. Реакция растений на засоление и формирование солеустойчивости / Д.С. Веселов, И.В. Маркова, Г.Р. Кудоярова // Успехи современной биологии. – 2007. – Т. 127. – № 5. – С. 482-493.
7. Веселова, С.В. Роль цитокининов в регуляции устьичной проводимости проростков пшеницы при быстром локальном изменении температуры / С.В. Веселова, Р.Г. Фархутдинов, Д.С. Веселов, Г.Р. Кудоярова // Физиология растений. – 2006. – Т. 53. – № 6. – С. 857-862.

8. Высоцкая, Л.Б. влияние локальной индукции гена *ipt* в корнях на содержание цитокининов в клетках листьев табака / Л.Б. Высоцкая, Г.Р. Ахиярова, Г.В. Шарипова, М.А. Дедова, С.Ю. Веселов, Д.Ю. Зайцев, Г.Р. Кудоярова // Цитология. – 2014. – Т. 56. – № 11. – С. 816-821.
9. Гиззатуллина, С.В. Оценка токсико-фармакологических свойств нового противогрибкового средства, содержащего штамм *Bacillus subtilis* ИБ-54 / С.В. Гиззатуллина, К.А. Лукманова, Н.Ф. Галимзянова, А.И. Мелентьев, Г.Э. Актуганов, Г.Е. Ефимов, Н.Х. Салихова, Т.В. Кайданек // Медицинский вестник Башкортостана. – 2010. – № 6. – С. 92-95.
10. Дедова, М.А. Влияние цитокининов на рост корней и побегов растений пшеницы и табака при изменении температуры: дис. канд. биол. наук 03.01.05 – Физиология и биохимия растений / Башкирский государственный университет. – Уфа, 2015. – 126 с.
11. Иванов, И.И. Эндогенные ауксины и ветвление корней при изолированном питании растений пшеницы / И.И. Иванов // Физиология растений. – 2009. – Т. 56. – № 2. – С.241-246.
12. Коробова, А.В. Зависимость распределения цитокининов в растениях от скорости транспирации / А.В. Коробова, А.Н. Васинская, Г.Р. Ахиярова, С.Ю. Веселов, Г.Р. Кудоярова // Физиология растений. – 2013. – Т. 60. – № 2. – С. 184.
13. Кравченко, Л.В. Выделение и фенотипическая характеристика ростостимулирующих ризобактерий (PGPR), сочетающих высокую активность колонизации корней и ингибирование фитопатогенных грибов / Л.В. Кравченко, Н.М. Макарова, Т.С. Азарова, Н.А. Проворов, И.А. Тихонович // Микробиология. – 2002. – Т. 71. – № 4. – С. 521-525.
14. Кудоярова, Г.Р. Водный обмен и рост исходных и дефицитных по АБК мутантных растений ячменя при повышении температуры воздуха / Г.Р. Кудоярова, Д.С. Веселов, Г.В. Шарипова, Г.Р. Ахиярова, I.C. Dodd, С.Ю. Веселов // Физиология растений. – 2014. – Т. 61. – № 2. – С. 207-213.

15. Кузьмина, Л.Ю. Бактерии родов *Advenella*, *Bacillus* и *Pseudomonas* – перспективная основа биопрепаратов для растениеводства / Л.Ю. Кузьмина, Т.Н. Архипова, Г.Э. Актуганов, Н.Ф. Галимзянова, С.П. Четвериков, А.И. Мелентьев // Биомика. – 2018. – Т. 10. – № 1. – С. 16-19.

16. Кузьмина, Л.Ю. Новые штаммы фосфатмобилизующих бактерий, продуцирующих ауксин, перспективные для сельскохозяйственной биотехнологии / Л.Б. Высоцкая, Н.Ф. Галимзянова, Е.А. Гильванова, А.С. Рябова, А.И. Мелентьев // Известия Уфимского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т. 1. – С. 40-46.

17. Кулаева, О.Н. Влияние корней на обмен веществ листьев в связи с проблемой действия на лист кинетина / О.Н. Кулаева // Физиология растений. – 1962. – Т.9. – С.229-239.

18. Максимов, И.В. Перспективы применения бактерий – продуцентов липопептидов для защиты растений (обзор) / И.В. Максимов, Б.П. Сингх, Е.А. Черепанова, Г.Ф. Бурханова, Р.М. Хайруллин // Прикладная биохимия и микробиология. – 2020. – Т. 56. – № 1. – С. 19-34.

19. Мартыненко, Е.В. Влияние цитокининпродуцирующих бактерий рода *Bacillus Cohn* на рост растений салата и пшеницы: дис. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук: 03.00.12 – Физиология и биохимия растений; БашГУ. Уфа, 2009. – С. 356.

20. Шишова, М.Ф., Пахлер М., Шталь Ф., Шерер Г. Экспрессия ранних ауксинзависимых генов в корнях проростков арабидопсиса / М.Ф. Шишова, М. Пахлер, Ф. Шталь, Г. Шерер // Экологическая генетика. – 2014. – Т. 12. – №2. – С. 35-46.

21. Adamowski, M. PIN-dependent auxin transport: action, regulation, and evolution / M. Adamowski, J. Friml // The Plant cell. – 2015. – V. 27. – №. 1. – P. 20-32.

22. Addicott, F.T. Chemistry and physiology of abscisic acid, an abscission-accelerating hormone. / F.T. Addicott, K. Ohkuma, W.E. Thiessen, O.E. Smith // Advances in Chemistry. – 1966. – V. 53. – P. 97-105.

23. Adejumobi, M.A. A review of the techniques for monitoring soil salinity in irrigated fields / M.A. Adejumobi, T.A. Alonge, O.I. Ojo // *Advanced Multidisciplinary Research Journal*. – 2016. – V. 2. – №3. – P. 167-170.
24. Agarwal, P. PGPR-induced OsASR6 improves plant growth and yield by altering root auxin sensitivity and the xylem structure in transgenic *Arabidopsis thaliana* / P. Agarwal, P.C. Singh, V. Chaudhry, P.A. Shirke, D. Chakrabarty, A. Farooqui, C.S. Nautiya, A.P. Sane, V.A. Sane // *Journal of Plant Physiology*. – 2019. – V. 240. – P. 153010.
25. Ahemad, M.; Kibret, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective / M. Ahemad, M. Kibret // *Journal of King Saud University*. – 2014. – V. 26. – P. 1-20.
26. Ahmad, F. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities / F. Ahmad, I. Ahmad, M.S. Khan // *Microbiological Research*. – 2008. – V. 163. – P. 173-181.
27. Akhiyarova, G.R. Effects of Salinity and Abscisic Acid on Lipid Transfer Protein Accumulation, Suberin Deposition and Hydraulic Conductance in Pea Roots / G.R. Akhiyarova, R.S. Ivanov, I.I. Ivanov, E.I. Finkina, D.N. Melnikova, I.V. Bogdanov, T. Nuzhnaya, T.V. Ovchinnikova, D.S. Veselov, G.R. Kudoyarova // *Membranes*. – 2021. – V. 11. – P. 762.
28. Akhtar, S.S. Role of Cytokinins for Interactions of Plants With Microbial Pathogens and Pest Insects. / S.S. Akhtar, M.F. Mekureyaw, C. Pandey, T. Roitsch // *Frontiers Plant Science*. – 2020. – V. 10. – P. 1777.
29. Alam, S. *In vitro* solubilization of inorganic phosphate by Phosphate Solubilizing Microorganisms (PSM) from Maize Rhizosphere / S. Alam, A. Khalil, N. Ayub, M. Rashid // *International Journal of Agriculture and Biology*. – 2002. – V. 4 – № 4. – P. 454-458.
30. Alemán, F. Differential regulation of the *HAK5* genes encoding the high-affinity K⁺ transporters of *Thellungiella halophila* and *Arabidopsis thaliana* / F. Alemán, M. Nieves-Cordones, V. Martínez, F. Rubio // *Environmental and Experimental Botany*. – 2009. – V. 65. – P. 263-269.

31. Ali, S. Implications of Abscisic Acid in the Drought / S. Ali, K. Hayat, A. Iqbal, L. Xie // *Stress Tolerance of Plants. Agronomy*. – 2020. – V. 10. – № 9. – P. 1323.
32. Almaghrabi, O.A. Enhancement of maize growth using some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) under laboratory conditions / Almaghrabi, O.A. Abdelmoneim, T.S. Albishri, H.M. Moussa, T.A. // *Life Science Journal*. – 2014. – V. 11. – P. 764-772.
33. Almeida, D.M. Regulation of Na⁺ and K⁺ homeostasis in plants: towards improved salt stress tolerance in crop plants / D.M. Almeida, M. Oliveira, N.J.M. Saibo // *Genetics and Molecular Biology*. – 2017. – V. 40. – № 1. – P. 326-345.
34. Alves, A.C., Quecini, V.M., Vieira, M.L.C. Plant transformation: advances and perspectives / A.C. Alves, V.M. Quecini, M.L.C. Vieira // *Scientia Agricola*. – 1999. – V. 56. – № 1. – P. 1-8.
35. Andreeva, A.A. Cytokinin-Regulated Expression of *Arabidopsis thaliana* PAP Genes and Its Implication for the Expression of Chloroplast-Encoded Genes / A.A. Andreeva, R. Vankova, I.A. Bychkov, N.V. Kudryakova, M.N. Danilova, J. Lacey, E.S. Pojidaeva, V.V. Kusnetsov // *Biomolecules*. – 2020. – V. 10. – № 12. – P. 1658.
36. Ankati, S. Understanding plant-beneficial microbe interactions for sustainable agriculture / S. Ankati, A.R. Podile // *Journal of Spices and Aromatic Crops*. – 2018. – V. 27. – P. 93-105.
37. Arkhipova, T. Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on the Content of Abscisic Acid and Salt Resistance of Wheat Plants / T. Arkhipova, E. Martynenko, G. Sharipova, L. Kuzmina, I. Ivanov, M. Garipova, G. Kudoyarova // *Plants*. – 2020a. – V. 9. – № 11. – P. 1429.
38. Arkhipova, T. N. Rhizobacteria Inoculation Effects on Phytohormone Status of Potato Microclones Cultivated *In Vitro* under Osmotic Stress / T.N. Arkhipova, N.V. Evseeva, O.V. Tkachenko, G.L. Burygin, L.B. Vysotskaya, Z.A. Akhtyamova, G.R. Kudoyarova // *Biomolecules*. – 2020b. – V. 10(9). – P. 1231.

39. Arkhipova, T.N. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants / T.N. Arkhipova, S.U. Veselov, A.I. Melentiev, E.V. Martynenko, G.R. Kudoyarova // *Plant Soil*. – 2005. – V. 272. – P. 201-209.
40. Arkhipova, T.N. Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil / T.N. Arkhipova, E. Prinsen, S.U. Veselov, E.V. Martinenko, A.I. Melentiev, G.R. Kudoyarova // *Plant and Soil*. – 2007. – V. 292. – №1 – P. 305-315.
41. Arteca, R.N. Effects of brassinosteroid, auxin, and cytokinin on ethylene production in *Arabidopsis thaliana* plants / R.N. Arteca, J.M. Arteca // *Journal of Experimental Botany*. – 2008. – V. 59. – № 11. – P. 3019-3026.
42. Asghar, H. Relationship between *in vitro* production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L. / H. Asghar, Z. Zahir, M. Arshad, A. Khaliq // *Biology and Fertility of Soils*. – 2002. – V. 35. – P. 231-237.
43. Assaha, D. The Role of Na⁺ and K⁺ Transporters in Salt Stress Adaptation in Glycophytes / D. Assaha, A. Ueda, H. Saneoka, R. Al-Yahyai, M.W. Yaish // *Frontiers in physiology*. – 2017. – V. 8. – P. 509.
44. Backer, R. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture / R. Backer, J.S. Rokem, G. Ilangumaran, J. Lamont, D. Praslickova, E. Ricci, S. Subramanian, D.L. Smith // *Frontiers in Plant Science*. – 2018. – V. 9. – P. 1473.
45. Bailey-Serres, J. Genetic strategies for improving crop yields / J. Bailey-Serres, J.E. Parker, E.A. Ainsworth, G.E.D. Oldroyd, J.I. Schroeder // *Nature*. – 2019. – V. 575. – № 7781. – P. 109-118.
46. Bakaeva, M. Capacity of *Pseudomonas* Strains to Degrade Hydrocarbons, Produce Auxins and Maintain Plant Growth under Normal Conditions and in the Presence of Petroleum Contaminants / M. Bakaeva, E. Kuzina, L. Vysotskaya, G. Kudoyarova, T. Arkhipova, G. Rafikova, S.

Chetverikov, T. Korshunova, D. Chetverikova, O. Loginov // *Plants*. – 2020. – V. 9. – № 3. – P. 379.

47. Barberon, M. Adaptation of Root Function by Nutrient-Induced Plasticity of Endodermal Differentiation / M. Barberon, J. Engelbertus, M. Vermeer, D. De Bellis, P. Wang, S. Naseer, T.G. Andersen, B.M. Humbel, C. Nawrath, J. Takano, D.E. Salt, N. Geldner // *Cell*. – 2016. – V. 164. – № 3. – P. 447-459.

48. Bastien, R. A Unified Model of Shoot Tropism in Plants: Photo-, Gravi- and Proprioception / R. Bastien, S. Douady, B. Mouliat // *PLOS Computational Biology* – 2015. – V. 11. – № 2. – P. e1004037.

49. Basu, A. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects / A. Basu, P. Prasad, S.N. Das, S. Kalam, R.Z. Sayyed, M.S. Reddy, H. El Enshasy // *Sustainability*. – 2021. – V. 13. – P. 1140.

50. Belimov, A. Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signaling / A. Belimov, I.C. Dodd, N. Hontzeas, J.C. Theobald, V. I. Safronova, W.J. Davies // *New Phytology*. – 2009. – V. 181. – P. 413-423.

51. Belimov, A.A. Abscisic acid metabolizing rhizobacteria decrease ABA concentrations in planta and alter plant growth / A.A. Belimov, I.C. Dodd, V.I. Safronova, V.A. Dumova, A.I. Shaposhnikov, A.G. Ladatko, W.J. Davies // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2014. – V. 74. – P. 84-91.

52. Beringer, J. E. The Rhizobium-Legume Symbiosis / J.E. Beringer, N. Brewin, A.W. Johnston, H.M. Schulman, D.A. Hopwood // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*. – 1979. – V. 204. – № 1155. – P. 219-33.

53. Bertosa, B. Mechanism of auxin interaction with Auxin Binding Protein (ABP1): a molecular dynamics simulation study / B. Bertosa, R.C. Kojić-Prodić B., Wade, S. Tomić // *Biophys J*. – 2008. – V. 94. – №1. – P. 27-37.

54. Bharath, P. Abscisic Acid-Induced Stomatal Closure: An Important Component of Plant Defense Against Abiotic and Biotic Stress / P. Bharath, S. Gahir, A.S. Raghavendra // *Frontiers Plant Science*. – 2021. – V. 12. – P. 615114.

55. Bharti, N. Exiguobacterium oxidotolerans, a halotolerant plant growth promoting rhizobacteria, improves yield and content of secondary metabolites in *Bacopa monnieri* (L.) Pennell under primary and secondary salt stress / N. Bharti, D. Yadav, D. Barnawal, D. Maji, A. Kalra // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2013. – V. 29. – P. 379-387.

56. Bharti, N. Plant growth promoting rhizobacteria *Dietzia natronolimnaea* modulates the expression of stress responsive genes providing protection of wheat from salinity stress / N. Bharti, S.S. Pandey, D. Barnawal, V.K. Patel, A. Kalra // *Scientific Reports*. – 2016. – V. 6. – P. 34768.

57. Blumwald E, Aharon GS, Apse MP. Sodium transport in plant cells / E. Blumwald, G.S. Aharon, M.P. Apse // *Biochim Biophys Acta*. – 2000. – V. 1465. – № (1-2) – P. 140-51.

58. Boerjan, W. Lignin biosynthesis / W. Boerjan, J. Ralph, M. Baucher // *Annu Rev Plant Biol*. – 2003. – V. 54. – P. 519-46.

59. Bomle, D.V. Plants Saline Environment in Perception with Rhizosphere Bacteria Containing 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase / D.V. Bomle, A. Kiran, J.K. Kumar, L.S. Nagaraj, C.K. Pradeep, M.A. Ansari, S. Alghamdi, A. Kabrah, H. Assaggaf, A.S. Dabool, M. Murali, K.N. Amruthesh, A.C. Udayashankar, S.R. Niranjana // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – V. 22. – № 21. – P. 11461.

60. Borghi, L. The role of ABCG-type ABC transporters in phytohormone transport / L. Borghi, J. Kang, D. Ko, Y. Lee, E. Martinoia // *Biochem Soc Trans*. – 2015. – V. 43. – № 5. – P. 924-30.

61. Bresson, J. The PGPR strain *Phyllobacterium brassicacearum* STM196 induces a reproductive delay and physiological changes that result in improved drought tolerance in *Arabidopsis* / J. Bresson, F. Varoquaux, T. Bontpart, B. Touraine, D. Vile // *New Phytologist*. – 2013. – V. 200. – P. 558-569.

62. Brookbank, B.P. Role of Basal ABA in Plant Growth and Development / B.P. Brookbank, J. Patel, S. Gazzarrini, E. Nambara // *Genes*. – 2021. – V. 12. – № 12. – P. 1936.
63. Burbidge, A. Structure and expression of a cDNA encoding a putative neoxanthin cleavage enzyme (NCE) isolated from a wilt-related tomato (*Lycopersicon esculentum*) library / A. Burbidge, T.M. Grieve, A. Jackson, A. Thompson, I.B. Taylor // *Journal of Experimental Botany*. – 1997. – V. 47. – P. 2111-2112.
64. Bürkle, L. Transport of cytokinins mediated by purine transporters of the PUP family expressed in phloem, hydathodes, and pollen of *Arabidopsis* / L. Bürkle, A. Cedzich, C. Döpke, H. Stransky, S. Okumoto, B. Gillissen, C. Kühn, W.B. Frommer // *Plant J*. – 2003. – V. 34. – № 1. – P. 13-26.
65. Bychkov, I.A. Cold Stress Activates the Expression of Genes of the Chloroplast Transcription Apparatus in *Arabidopsis thaliana* / I.A. Bychkov, N.V. Kudryakova, V.I. Kuznetsov, V.V. Kusnetsov // *Plants. Dokl Biochem Biophys*. – 2020. – V. 494. – P. 235-239.
66. Cai, K. Identification and characterization of *HAK/KUP/KT* potassium transporter gene family in barley and their expression under abiotic stress / K. Cai, F. Zeng, J. Wang, G. Zhang // *BMC Genomics*. – 2021. – V. 22. – № 1. – P. 317.
67. Chan, Y.K. N₂-fixing pseudomonads and related soil bacteria / Y.K. Chan, W.L. Barraquio, R. Knowles // *FEMS Microbiol Rev*. – 1994. – V. 13. – P. 95-118.
68. Chanway, C.P. Nitrogen Fixation Outside and Inside Plant Tissues / C.P. Chanway, R. Anand, H. Yang // *Advances in Biology and Ecology of Nitrogen Fixation*, edited by Takuji Ohyama, IntechOpen. – 2014.
69. Chavez, A. Global gene expression profiling of two switchgrass cultivars following inoculation with *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN / A. Chavez, S. Lowman, S. Kim, Y. Tang, J. Zhang, M. Udvardi, J. Nowak, B. Flinn, C. Mei // *Journal of Experimental Botany*. – 2015. – V. 66. – № 14. – P. 4337-4350.

70. Chen, L. Induced maize salt tolerance by rhizosphere inoculation of *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 / L. Chen, Y. Liu, G. Wu, K.V. Njeri, Q. Shen, N. Zhang, R. Ruifu Zhang // *Physiol Plant.* – 2016. – V. 158. – № 1. – P. 34-44.

71. Chen, T. Casparian strip development and its potential function in salt tolerance / T. Chen, X. Cai, X. Wu, I. Karahara, L. Schreiber, J. Lin, // *Plant Signal Behav.* – 2011. – V. 6. – № 10. – P. 1499-1502.

72. Chen, W.M. Legume symbiotic nitrogen fixation by β -proteobacteria is widespread in nature / W.M. Chen, L. Moulin, C. Bontemps, P. Vandamme, G. Béna, C. Boivin-Masson // *J. Bacteriol.* – 2003. – V. 185. – P. 7266-7272.

73. Chen, Y. The application of phosphate solubilizing endophyte *Pantoea dispersa* triggers the microbial community in red acidic soil / Y. Chen, J.-B. Fan, L. Du, H. Xu, Q.-H. Zhang, Y.-Q. He // *Applied Soil Ecology.* – 2014. – V. 84. – P. 235-244.

74. Chernys, J.T. Characterization of the 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase gene family and the regulation of abscisic acid biosynthesis in avocado / J.T. Chernys, J.A.D. Zeevaart // *Plant Physiology.* – 2000. – V. 124. – P. 343-353.

75. Cohen, A.C. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels / A.C. Cohen, R. Bottini, M. Pontin, F.J. Berli, D. Moreno, H. Boccanlandro, C.N. Travaglia, P.N. Piccoli // *Physiol. Plant.* – 2015. – V. 153. – P. 79-90.

76. Cohen, A.C. *Azospirillum brasilense* Sp 245 produces ABA in chemically-defined culture medium and increases ABA content in arabidopsis plants / A.C. Cohen, R. Bottini, P.N. Piccoli, // *Plant Growth Regulation.* – 2008. – V. 54. – P. 97-103.

77. Cohen, C. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize / C. Cohen, N. Travaglia, R. Bottini, N. Piccoli // *Botany.* – 2009. – V. 87. – P. 455-462.

78. Conrad, K. The Cytokinin production of *Azospirillum* and *Klebsiella* possible ecological effects / K. Conrad, B. Bettin, S. Neumann // *In Physiology and*

Biochemistry of Cytokinins in Plants. Academic Publishing: The Hague. – 1992. – P. 401-405.

79. Cortleven, A. Regulation of chloroplast development and function by cytokinin / A. Cortleven, T. Schmölling // Journal of Experimental Botany. – 2015. – V. 66. – № 16. – P. 4999-5013.

80. Cox, R.C. The significance of natural and synthetic auxins in the control of stomatal movements / R.C. Cox, P.J. Snaith, T.A. Mansfield // Acta Hort. – 1985. – V. 171. – P. 247-254.

81. Csajbók, J. Photosynthetic and Agronomic Traits of Winter Barley (*Hordeum vulgare* L.) Varieties / J. Csajbók, P. Pepó, E. Kutasy // Agronomy. – 2020. – V. 10. – P. 1999.

82. Cui, B.; Liu, R.; Flowers, T.J.; Song, J. Casparian bands and suberin lamellae: Key targets for breeding salt tolerant crops? / B. Cui, R. Liu, T.J. Flowers, J. Song // Environmental and Experimental Botany. – 2021. – V. 191. – P. 104600.

83. Das, A.J. Bioremediation of petroleum contaminated soil to combat toxicity on *Withania somnifera* through seed priming with biosurfactant producing plant growth promoting rhizobacteria / A.J. Das, R. Kumar // Journal of Environmental Management. – 2016. – V. 174. – P. 79-86.

84. Davies, W.J. Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought / W.J. Davies, G. Kudoyarova, W. Hartung // Journal of Plant Growth Regulation. – 2005. – V. 24. – № 4. – P. 285-295.

85. Davies, W.J. Plant Growth Substances and the Regulation of Growth Under Drought / W.J. Davies, J. Metcalfe, T.A. Lodge, A.R. da Costa // Australian Journal of Plant Physiology. – 1986. – V. 13. – № 1. – P. 105-125.

86. Davies, W.J. Stomatal control by chemical signalling and the exploitation of this mechanism to increase water use efficiency in agriculture / W.J. Davies, S. Wilkinson, B. Loveys // New Phytologist. – 2002. – V. 153. – № 3. – P. 449-460.

87. De Lima, B.C. *Bacillus subtilis* ameliorates water stress tolerance in maize and common bean / B.C De Lima, A.L Moro, A.C.P. Santos, A. Bonifacio, A.S.F. Araujo, F.F. de Araujo // *Journal of Plant Interactions*. – 2019. – V. 14. – P. 432-439.

88. De Meyer, G. Nanogram amounts of salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 activate the systemic acquired resistance pathway in bean / G. De Meyer, K. Capieau, K. Audenaert, A. Buchala, J.P. Métraux, M. Höfte // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 1999. – V. 12. – P. 450-458.

89. de Salamone, I.E.G. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants / I.E.G. de Salamone, R.K. Hynes, L.M. Nelson, // *Canadian Journal of Microbiology*. – 2001. – V. 47. – P. 404-411.

90. De Vasconcellos, R.L.F. Rhizospheric streptomycetes as potential biocontrol agents of *Fusarium* and *Armillaria* pine rot and as PGPR for *Pinus taeda* / R.L.F. De Vasconcellos, E.J.B.N. Cardoso // *Biocontrol*. – 2009. – V. 54. – P. 807-816.

91. Desnoues, N. Nitrogen fixation genetics and regulation in a *Pseudomonas stutzeri* strain associated with rice / N. Desnoues, M. Lin, X. Guo, L. Ma, R. Carreño-Lopez, C. Elmerich // *Microbiology (Reading)*. – 2003. – V. 149. – P. 2251-2262.

92. Dodd, I.A. Microbial amelioration of crop salinity stress / I.A. Dodd, F. Pérez-Alfocea // *Journal of Experimental Botany*. – 2012. – V. 63. – P. 3415-3428.

93. Dodd, I.C. Rhizobacterial mediation of plant hormone status / I.C. Dodd, N.Y. Zinovkina, V.I. Safronova, A.A. Belimov // *Annals of Applied Biology*. – 2010. – V. 157. – P. 361-379.

94. Dornelas, A.S.P. Lethal and sublethal effects of the saline stressor sodium chloride on *Chironomus xanthus* and *Girardia tigrina* / A.S.P. Dornelas, R.A. Sarmiento, G.S. Cavallini, R. da Silva Barbosa, M.M. Vieira, A. de Souza

Saraiva, M.D. Bordalo, A.M.V.M. Soares, J.L.T. Pestana // Environmental Science and Pollution Research. – 2020. – V. 27. – P. 34223-34233.

95. Duca, D.R. Indole-3-acetic acid biosynthesis and its regulation in plant-associated bacteria / D.R. Duca, B.R. Glick // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2020. – V. 104. – P. 8607-8619.

96. Durán-Medina, Y. Cytokinins on the Move / Y. Durán-Medina, D. Díaz-Ramírez, N. Marsch-Martínez // Frontiers in Plant Science. – 2017. – V.8. – P. 146.

97. Egamberdieva, D. Coordination between *Bradyrhizobium* and *Pseudomonas* alleviates salt stress in soybean through altering root system architecture / D. Egamberdieva, S. Wirth, D. Jabborova, L.A. Räsänen, H. Liao // Journal of Plant Interactions. – 2017. – V. 12. – № 1. – P. 100-107.

98. Ehmann, A. The Van Urk-Salkowski reagent-a sensitive and specific chromogenic reagent for silica gel thin-layer chromatographic detection and identification of indole derivatives / A. Ehmann // Journal of Chromatography A. – 1977. – V. 132. – P. 267-276.

99. Einset, J.W. Conversion of N⁶-isopentenyladenine to zeatin by *Actinidia* tissues / J.W. Einset // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1984. – V. 124 – № 2. – P. 470-474.

100. Elhaisoufi, W. Phosphate Solubilizing Rhizobacteria Could Have a Stronger Influence on Wheat Root Traits and Aboveground Physiology Than Rhizosphere P Solubilization / W. Elhaisoufi, S. Khourchi, A. Ibnyasser, C. Ghoulam, Z. Rchiad, Y. Zeroual, K. Lyamlouli, A. Bargaz // Frontiers in plant science. – 2020. – V. 11. – P. 979.

101. Fang, J. Abscisic acid and the pre-harvest sprouting in cereals / J. Fang, C. Chu // Plant Signaling & Behavior. – 2008. – V. 3. – №. 12. – P. 1046-1048.

102. Fasciglione, G. *Azospirillum* inoculation effects on growth, product quality and storage life of lettuce plants grown under salt stress / G. Fasciglione,

E.M. Casanovas, V. Quillehauquy, A.K. Yommi, M.G. Gõ Ni, S.I. Roura, C.A. Barassi, // *Scientia Horticulturae*. – 2015. – V.195. – P. 154-162.

103. Fasusi, O.A. The multifaceted plant-beneficial rhizobacteria toward agricultural sustainability / O.A. Fasusi, O.O. Babalola // *Plant Protection Science*. – 2021. – V. 57. – P. 95-111.

104. Faure, D. Molecular communication in the rhizosphere / D. Faure, D. Vereecke, J.H. Laveau // *Plant and Soil*. – 2009. – V. 321. – №(1-2). – P. 279-303.

105. Feng, Y. Genome-Wide Identification and Characterization of ABC Transporters in Nine Rosaceae Species Identifying MdABCG28 as a Possible Cytokinin Transporter linked to Dwarfing / Y. Feng, Q. Sun, G. Zhang, T. Wu, X. Zhang, X. Xu, Z. Han, Y. Wang // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2019. – V. 20. – №22. – P. 5783.

106. Figueiredo, M.V.B. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici* / M.V.B. Figueiredo, H.A. Burity, C.R. Martínez, C.P. Chanway // *Applied Soil Ecology*. – 2008. – V. 40. – P. 182-188.

107. Finkelstein, R. Abscisic Acid synthesis and response / R. Finkelstein // *Arabidopsis Book*. – 2013. – V. 11. – e0166.

108. Fletcher, R.A. An improved bioassay for cytokinins using cucumber cotyledons / R.A. Fletcher, V. Kallidumbil, P. Steele // *Plant Physiology*. – 1982. – V. 69. – № 3. – P. 675-677.

109. Flowers, T.J. Salinity tolerance in halophytes / T.J. Flowers, T.D. Colmer // *New Phytologist*. – 2008. – V. 179. – № 4. – P. 945-963.

110. Forchetti, G. Endophytic bacteria in sunflower (*Helianthus annuus* L.): isolation, characterization, and production of jasmonates and abscisic acid in culture medium / G. Forchetti, O. Masciarelli, S. Alemano, D. Alvarez, G. Abdala // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2007. – V. 76. – № 5. – P. 1145-1152.

111. Foster, K.J. A Comprehensive Biophysical Model of Ion and Water Transport in Plant Roots. I. Clarifying the Roles of Endodermal Barriers in the Salt

Stress Response / K.J. Foster, S.J. Miklavcic // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – V. 28. – № 8. – P. 1326.

112. Fricke, W. Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate in response to salinity in barley leaves / W. Fricke, G. Akhiyarova, D. Veselov, G. Kudoyarova // *Journal of Experimental Botany*. – 2004. – V. 55. – № 399. – P. 1115-1123.

113. Gan, Z. Identification and expression analysis of gretchen hagen 3 (*GH3*) in kiwifruit (*Actinidia chinensis*) during postharvest process / Z. Gan, L. Fei, N. Shan, Y. Fu, J. Chen // *Plants (Basel)*. – 2019. – V. 8. – № 11. – P. 473.

114. Gao, S. CYTOKININ OXIDASE/DEHYDROGENASE4 Integrates Cytokinin and Auxin Signaling to Control Rice Crown Root Formation / S. Gao, J. Fang, F. Xu, W. Wang, X. Sun, J. Chu, B. Cai, Y. Feng, C. Chu // *Plant Physiology*. – 2014. – V. 165. – № 3. – P. 1035-1046.

115. Ghanem, M.E. Root-synthesized cytokinins improve shoot growth and fruit yield in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants / M.E. Ghanem, A. Albacete, A.C. Smigocki, I. Frebort, H. Pospíšilova, C. Martinez-Andujar, M. Acosta, J. Sanchez-Bravo, S. Lutts, I.C. Dodd, F. Perez-Alfocea // *Journal of Experimental Botany*. – 2011. – V. 62. – № 1. – P. 125-140.

116. Glick, B.R. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world / B.R. Glick // *Microbiological Research*. – 2014. – V. 169. – № 1. – P. 30-39.

117. Glick, B.R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications / B.R. Glick // *Scientifica (Cairo)*. – 2012. – P. 963401.

118. Gong, D. Two dimensional model of root water uptake for single apple trees and verification with sap flow and soil water content measurements / D. Gong, S. Kang, L. Zhang, T. Du, L. Yao // *Agricultural water management*. – 2006. – V. 83. – P. 119-129.

119. Goswami, D. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review / D. Goswami, J.N. Thakker, P.C. Dhandhukia // *Cogent Food & Agriculture*. – 2016. – V. 2. – P. 1127500.

120. Gowtham, H.G. Application of rhizobacteria antagonistic to *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici for the management of *Fusarium* wilt in tomato / H.G. Gowtham, P. Hariprasad, S.C. Nayak, S.R. Niranjana // Rhizosphere. – 2016. – V. 2. – P. 72-74.

121. Gray, E.J. Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes / E.J. Gray, D.L. Smith // Soil Biology and Biochemistry. – 2005. – V. 37. – P. 395-412.

122. Grondin, A. Aquaporins Contribute to ABA-Triggered Stomatal Closure through OST1-Mediated Phosphorylation / A. Grondin, O. Rodrigues, L. Verdoucq, S. Merlot, N. Leonhardt, C. Maurel // Plant Cell. – 2015. – V. 27. – № 7. – P. 1945-1954.

123. Grover M. PGPR Mediated Alterations in Root Traits: Way Toward Sustainable Crop Production / M. Grover, S. Bodhankar, A. Sharma, P. Sharma, J. Singh, L. Nain // Frontiers in Sustainable Food Systems. – 2021. – P. 618230.

124. Habib, S.H. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes / S.H. Habib, H. Kausar, H.M. Saud // BioMed Research International. – 2016. – P. 6284547.

125. Hager, A. Role of the plasma membrane H⁺-ATPase in auxin-induced elongation growth: historical and new aspects / A. Hager // Journal of Plant Research. – 2003. – V. 116. – № 6. – P. 483-505.

126. Hager, A. Versuche und Hypothese zur Primärwirkung des Auxins beim Streckungswachstum [Experiments and hypothesis concerning the primary action of auxin in elongation growth] / A. Hager, H. Menzel, A. Krauss // Planta. – 1971. – V. 100. – № 1. – P. 47-75.

127. Hakim, S. Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability / S. Hakim, T. Naqqash, M.S. Nawaz, I. Laraib, M.J. Siddique, R. Zia, M.S. Mirza, A. Imran // Frontiers in Sustainable Food Systems. – 2021. – V. 5. – 617157.

128. Hammam, A.A. Mapping soil salinity in the East Nile Delta using several methodological approaches of salinity assessment / A.A. Hammam, E.S.

Mohamed // The Egyptian Journal of Remote Sensing and Space Science. – 2020. – V. 23. – P. 125-131.

129. Harrison, M.A. Role of Growth Regulators in Initiation of Secondary Xylem and Phloem Cells / M.A. Harrison, R.M. Klein // Botanical Gazette University of Chicago Press. – 1979. – V. 140. – № 1. – P. 20-24.

130. Hartung, W. Abscisic acid in the xylem: where does it come from, where does it go to? / W. Hartung, A. Sauter, E. Hose, // Journal of Experimental Botany. – 2002. – V. 53. – № 366. – P. 27-32.

131. Hasegawa, P.M. Plant cellular and molecular responses to high salinity / P.M. Hasegawa, R.A. Bressan, J.K. Zhu, H.J. Bohnert // Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. – 2000. – V. 51. – P. 463-499.

132. Hedden, P. The Current Status of Research on Gibberellin Biosynthesis / P. Hedden // Plant and Cell Physiology. – 2020. – V. 61. – № 11. – P.1832-1849.

133. Higuchi, M. *In planta* functions of the *Arabidopsis* cytokinin receptor family / M. Higuchi, M.S. Pischke, A.P. Mähönen, K. Miyawaki, Y. Hashimoto, M. Seki, M. Kobayashi, K. Shinozaki, T. Kato, S. Tabata, Y. Helariutta, M.R. Sussman, T. Kakimoto // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 2004. – V. 101. – № 23. – P. 8821-8826.

134. Hoagland, D.R. The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil / D.R. Hoagland, D.I. Arnon // California Agricultural Experiment Station. – 1950. – V. 347. – № 2. – P. 32.

135. Hodge, A. The plastic plant: root responses to heterogeneous supplies of nutrients / A. Hodge // New Phytologist. – 2004. – V. 162. – P. 9-24.

136. Holland, M. A. Occam's razor applied to hormonology / M.A. Holland // Plant Physiology. – 1997. – V. 115. – P. 865-868.

137. Hopmans, J. W. Critical knowledge gaps and research priorities in global soil salinity / J.W. Hopmans, A.S. Qureshi, I. Kisekka, R. Munns, S.R. Grattan, P. Rengasamy, A. Ben-Gal, S. Assouline, M. Javaux, P.S. Minhas, P.A.C. Raats, T.H. Skaggs, G. Wang, Q. De Jong van Lier, H. Jiao, R.S. Lavado, N.

Lazarovitch, B. Li, E. Taleisnik // *Advances in Agronomy*. – 2021. – V. 169. – P. 1-191.

138. Horie, T. Rice *OsHKT2;1* transporter mediates large Na⁺ influx component into K⁺-starved roots for growth / T. Horie, A. Costa, T.H. Kim, M.J. Han, R. Horie, H.Y. Leung, A. Miyao, H. Hirochika, G. An, J.I. Schroeder // *EMBO J*. – 2007. – V. 26. – P. 3003-3014.

139. Horie, T. Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: an overview with the central focus on rice plants / T. Horie, I. Karahara, M. Katsuhara // *Rice*. – 2012. – V. 5. – P. 11.

140. Hu, B. Evolution of Abscisic Acid Signaling for Stress Responses to Toxic Metals and Metalloids / B. Hu, F. Deng, G. Chen, X. Chen, W. Gao, L. Long, J. Xia, Z.H. Chen // *Frontiers in plant science*. – 2020. – V. 11. – P. 909.

141. Ilangumaran, G. Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: A systems biology perspective / G. Ilangumaran, D.L. Smith // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – V. 8. – P. 1768.

142. Ilyas, N. Exopolysaccharides producing bacteria for the amelioration of drought stress in wheat / N. Ilyas, K. Mumtaz, N. Akhtar, H. Yasmin, R.Z. Sayyed, W. Khan, H.A. El Enshasy, D.J. Dailin, E.A. Elsayed, Z. Ali // *Sustainability*. – 2020. – V. 12. – 8876.

143. Iqbal, N. Ethylene Role in Plant Growth, Development and Senescence: Interaction with Other Phytohormones / N. Iqbal, N.A. Khan, A. Ferrante, A. Trivellini, A. Francini, M.I.R. Khan // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – V. 8. – P. 475.

144. Ito, Y. Identification and characterization of cytokinin-signalling gene families in rice / Y. Ito, N. Kurata // *Gene*. – 2006. – V. 382. – P. 57-65.

145. Jackson, M.B., Are Plant Hormones Involved in Root to Shoot Communication? / M.B. Jackson // *Advances in Botanical Research*. – 1993. – V. 19. – P. 103-187.

146. Jaschke, W.D. Transport, synthesis and catabolism of abscisic acid (ABA) in intact plants of castor bean (*Ricinus communis* L.) under phosphate

deficiency and moderate salinity / W.D. Jäschke, A.D. Peuke, J.S. Pate, W. Hartung, // Journal of Experimental Botany. – 1997. – V. 48. – №. 9. – P. 1737-1747.

147. Jha, S.K. Role of Cyclic Nucleotide Gated Channels in Stress Management in Plants / S.K. Jha, M. Sharma, G.K. Pandey // Current Genomics. – 2016. – V. 17. – № 4. – P. 315-29.

148. Jiang, F. Multiple impacts of the plant growth-promoting rhizobacterium *Variovorax paradoxus* 5C-2 on nutrient and ABA relations of *Pisum sativum* / F. Jiang, L. Chen, A.A. Belimov, A.I. Shaposhnikov, F. Gong, X. Meng, W. Hartung, D.W. Jäschke, W.J. Davies, I.C. Dodd // Journal of Experimental Botany. – 2012. – V. 63. – P. 6421-6430.

149. Jin, K. Rhizosphere bacteria containing acc deaminase decrease root ethylene emission and improve maize root growth with localized nutrient supply / K. Jin, H. Li, J. Shen, X. Li, I.C. Dodd, W.J. Davies, A.A. Belimov // Food and Energy Security. – 2021. – V. 10. – № 2. – P. 275-284.

150. Jones, H.G. Plants and microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology. / H.G. Jones. – Cambridge: Cambridge University Press, 2014. – 407 p.

151. Joo, J.H. Role of auxin-induced reactive oxygen species in root gravitropism / J.H. Joo, Y.S. Bae, J.S. Lee // Plant Physiology. – 2001. – V. 126. – № 3. – P. 1055-1060.

152. Kakimoto, T. Identification of plant cytokinin biosynthetic enzymes as dimethylallyl diphosphate: ATP/ADP isopentenyltransferases / T. Kakimoto // Plant & Cell Physiology. – 2001. – V. 42. – P. 677-685.

153. Kalam, S. Functional and molecular characterization of plant growth promoting *Bacillus* isolates from tomato rhizosphere / S. Kalam, A. Basu, A.R. Podile // Heliyon. – 2020. – V. 6. – P. e04734.

154. Kamran, M. An overview of hazardous impacts of soil salinity in crops, tolerance mechanisms, and amelioration through selenium supplementation / M. Kamran, A. Parveen, S. Ahmar, Z. Malik, S. Hussain, M.S. Chattha, M.H.

Saleem, M. Adil, P. Heidari, J.-T. Chen // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – V. 21. – № 1. – P. 148.

155. Kang, J. Cytokinin Transporters: GO and STOP in Signaling / J. Kang, Y. Lee, H. Sakakibara, E. Martinoia // Trends in Plant Science. – 2017. – V. 22. – № 6. – P. 455-461.

156. Kang, S.M. Plant growth-promoting rhizobacteria reduce adverse effects of salinity and osmotic stress by regulating phytohormones and antioxidants in *Cucumis sativus* / Kang, S.M., Khana, A.L., Waqasa, M., You, Y.H., Kim, J.H., Kim, J.G., M. Hamayun, I.-J. Lee // Journal of Plant Interactions. – 2014. – V. 9. – P. 673-682.

157. Kermode, A. Role of Abscisic Acid in Seed Dormancy / A. Kermode // J Plant Growth Regul. – 2005. – V. 24. – P. 319-344.

158. Key, J.L. Auxin-Regulated Gene Expression / J.L. Key, P. Kroner, J. Walker, J.C. Hong, T.H. Ulrich, W.M. Ainley, J.S. Gantt, R.T. Nagao // Philosophical Transactions of the Royal Society. – 1986. – V. 314. – № 1166. – P. 427-40.

159. Khalid, A. Relative efficiency of rhizobacteria for auxin biosynthesis in rhizosphere and non-rhizosphere soils / A. Khalid, S. Tahir, M. Arshad, Z.A. Zahir // Australian Journal of Soil Research. – 2004. – V. 42. – P. 921-926.

160. Khan, N. *Paenibacillus lentimorbus* B-30488 r controls early blight disease in tomato by inducing host resistance associated gene expression and inhibiting *Alternaria solani* / N. Khan, A. Mishra, C.S. Nautiyal // Biological Control. – 2012. – V. 62. – P. 65-74.

161. Khan, N. Role of plant growth promoting rhizobacteria and Ag-nano particle in the bioremediation of heavy metals and maize growth under municipal wastewater irrigation / N. Khan, A. Bano // International Journal of Phytoremediation. – 2016. – V. 18. – P. 211-221.

162. Kim, Y.X. Composite Transport Model and Water and Solute Transport across Plant Roots: An Update / Y.X. Kim, K. Ranathunge, S. Lee, Y. Lee, D. Lee, J. Sung // Frontiers in Plant Science. – 2018. – V. 9. – P. 193.

163. King, E.D. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin / E.D. King, M.K. Ward, D.E. Raney // Journal of Laboratory and Clinical Medicine. – 1954. – V. 44. – P. 301-307.

164. Kloepper, J.W. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes / J.W. Kloepper, M.N. Schroth // Proceedings of the IV international conference on plant pathogenetic bacteria. – 1978. – V. 2. – P. 879-882.

165. Konstantinova, N. Auxin and Root Gravitropism: Addressing Basic Cellular Processes by Exploiting a Defined Growth Response / N. Konstantinova, B. Korbei, C. Luschnig // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V. 22. – P. 2749.

166. Korobova, A. Limitation of Cytokinin Export to the Shoots by Nucleoside Transporter *ENT3* and Its Linkage with Root Elongation in Arabidopsis / A. Korobova, B. Kuluev, T. Möhlmann, D. Veselov, G. Kudoyarova // Cells. – 2021. – V. 10. – № 3. – P. 350.

167. Korobova, A.V. Dependence of root biomass accumulation on the content and metabolism of cytokinins in ethylene-insensitive plants / A.V. Korobova, L.B. Vysotskaya, A.N. Vasinskaya, B.R. Kuluev, S.Yu. Veselov, G.R. Kudoyarova // Russian Journal of Plant Physiology. – 2016. – V. 63. – P. 597-603.

168. Krishnamurthy, P. Regulation of a cytochrome P450 gene *CYP94B1* by *WRKY33* transcription factor controls apoplastic barrier formation in roots to confer salt tolerance / P. Krishnamurthy, B. Vishal, W.J. Ho, F.C.J. Lok, F.S.M. Lee, P.P. Kumar // Plant Physiology. – 2020. – V. 184. – P. 2199-2215.

169. Krishnamurthy, P. Role of root hydrophobic barriers in salt exclusion of a mangrove plant *Avicennia officinalis* / P. Krishnamurthy, P.A. Jyothi-Prakash, L. Qin, J. He, Q. Lin, C.S. Loh, P.P. Kumar // Plant, Cell & Environment. – 2014. – V. 37. – № 7. – P. 1656-1671.

170. Krishnamurthy, P. Root apoplastic barriers block Na⁺ transport to shoots in rice (*Oryza sativa* L.) / P. Krishnamurthy, K. Ranathunge, S. Nayak, L. Schreiber, M.K. Mathew // Journal of Experimental Botany. – 2011. – V. 62. – № 12. – P. 4215-4228.

171. Krishnamurthy, P. The role of root apoplastic transport barriers in salt tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) / P. Krishnamurthy, K. Ranathunge, R. Franke, H.S. Prakash, L. Schreiber, M.K. Mathew // *Planta*. – 2009. – V. 230. – № 1. – P. 119-34.

172. Kudoyarova G.R. Cytokinin producing bacteria stimulate amino acid deposition by wheat roots / G.R. Kudoyarova, A.I. Melentiev, E.V. Martynenko, T.N. Arkhipova, G.V. Shendel, L.Yu. Kuz'mina, I.C. Dodd, S.Yu. Veselov // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2014. – V. 83. – P. 285-291.

173. Kudoyarova G.R. Effect of auxin producing and phosphate solubilizing bacteria on mobility of soil phosphorus, growth rate, and P acquisition by wheat plants / G.R. Kudoyarova, L.B. Vysotskaya, T.N. Arkhipova, L.Yu. Kuzmina, N.F. Galimsyanova, L.V. Sidorova, I.M. Gabbasova, A.I. Melentiev, S.Yu. Veselov // *Acta Physiologiae Plantarum*. – 2017. – V. 39. – P. 253.

174. Kudoyarova, G. Involvement of root ABA and hydraulic conductivity in the control of water relations in wheat plants exposed to increased evaporation demand / G. Kudoyarova, S. Veselova, W. Hartung, R. Farhutdinov, D. Veselov, G. Sharipova // *Planta*. – 2011. – V. 233. – P. 87-94.

175. Kudoyarova, G. Phytohormone Mediation of Interactions Between Plants and Non-Symbiotic Growth Promoting Bacteria Under Edaphic Stresses / G. Kudoyarova, T. Korshunova, M. Bakaeva, O. Loginov, I.C. Dodd // *Frontiers in Plant Science*. – 2019. – V. 10. – P. 1368.

176. Kudoyarova, G.R. Accumulation of cytokinins in roots and their export to the shoots of durum wheat plants treated with the protonophore carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP) / G.R. Kudoyarova, A.V. Korobova, G.R. Akhiyarova, T.N. Arkhipova, D.Y. Zaytsev, E. Prinsen, N.L. Egutkin, S.S. Medvedev, S.Y. Veselov // *Journal of Experimental Botany*. – 2014. – V. 65. – № 9. – P. 2287-2294.

177. Kushiro, T. The Arabidopsis cytochrome P450 *CYP707A* encodes ABA 8'-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism / T. Kushiro, M. Okamoto,

K. Nakabayashi, K. Yamagishi, S. Kitamura, T. Asami, N. Hirai, T. Koshiba, Y. Kamiya, E. Nambara // *EMBO J.* – 2004. – V. 23. – № 7. – P. 1647-56.

178. Kutschera, U. The current status of the acid-growth hypothesis / U. Kutschera // *New Phytologist.* – 1994. – V. 126. – P. 549-569.

179. Kuzina, E. Influence of Hydrocarbon-Oxidizing Bacteria on the Growth, Biochemical Characteristics, and Hormonal Status of Barley Plants and the Content of Petroleum Hydrocarbons in the Soil / E. Kuzina, G. Rafikova, L. Vysotskaya, T. Arkhipova, M. Bakaeva, D. Chetverikova, G. Kudoyarova, T. Korshunova, S. Chetverikov // *Plants.* – 2021. – V. 10. – P. 1745.

180. Lal, R. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security / R. Lal // *Science.* – 2004. – V. 304. – P. 1623-1627.

181. Lavy, M. Mechanisms of auxin signaling / M. Lavy, M. Estelle // *Development.* – 2016. – V. 143. – № 18. – P. 3226-3229.

182. Lee, M.-H. Lignin based barrier restricts pathogens to the infection site and confers resistance in plants / M.-H. Lee, H.S. Jeon, S.H. Kim, J.H. Chung, D. Roppolo, H.-J. Lee, H.J. Cho, Y. Tobimatsu, J. Ralph, O.K. Park // *EMBO J.* – 2019. – V. 38. – P. e101948.

183. Leyser, O. Auxin Signaling / O. Leyser // *Plant Physiologist.* – 2018. – V. 176. – № 1. – P. 465-479.

184. Li, B. Role of *LOTRI* in Nutrient Transport through Organization of Spatial Distribution of Root Endodermal Barriers / B. Li, T. Kamiya, L. Kalmbach, M. Yamagami, K. Yamaguchi, S. Shigenobu, S. Sawa, J.M. Danku, D.E. Salt, N. Geldner, T. Fujiwara // *Current Biology.* – 2017. – V. 27. – № 5. – P. 758-765.

185. Li, K. Expression of *AtLEC2* and *AtIPTs* promotes embryogenic callus formation and shoot regeneration in tobacco / K. Li, J. Wang, C. Liu, C. Li, J. Qiu, C. Zhao, H. Xia, C. Ma, X. Wang, P. Li // *BMC Plant Biology.* – 2019. – V. 19. – № 1. – P. 314.

186. Li, L. Apoplastic barriers, aquaporin gene expression and root and cell hydraulic conductivity in phosphate-limited sheepgrass plants / L. Li, S. Pan, R.

Melzer, W. Fricke // *Physiologia Plantarum*. – 2020. – V. 168. – № 1. – P. 118-132.

187. Li, Q. CsPrx25, a class III peroxidase in *Citrus sinensis*, confers resistance to citrus bacterial canker through the maintenance of ROS homeostasis and cell wall lignification / Q. Li, X. Qin, J. Qi, W. Dou, C. Dunand, S. Chen, Y. He // *Horticulture Research*. – 2020. – V. 7. – P. 192.

188. Liu, Q. J. Chloride allocation in the euhalophyte *Suaeda salsa* from different habitats in field and controlled saline conditions / Q. Liu, Y. Yang, X. Zhang, R. Liu, J. Song // *Aquatic Botany*. – 2020. – V. 167. – P. 103292.

189. Luan, M. Transport and homeostasis of potassium and phosphate: limiting factors for sustainable crop production / M. Luan, R.-J. Tang, Y. Tang, W. Tian, C. Hou, F. Zhao, W. Lan, S. Luan // *Journal of Experimental Botany*. – 2017. – V. 68. – P. 3091-3105.

190. Majda, M. The Role of Auxin in Cell Wall Expansion / M. Majda, S. Robert // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2018. – V. 19. – № 4. – P. 951.

191. Makela, P. Growth of tomato and an ABA-deficient mutant (sitiens) under salinity / P. Makela, R. Munns, T.D. Colmer, P. Peltonen-Sainio // *Physiologia Plantarum*. – 2003. – V. 117. – P. 58-63.

192. Maksimov, I.V. Plant growth-promoting bacteria in regulation of plant resistance to stress factors / I.V. Maksimov, S.V. Veselova, T.V. Nuzhnaya, E.R. Sarvarova, R.M. Khairullin // *Russian Journal of Plant Physiology*. – 2015. – V. 62. – № 6. – P. 715-726.

193. Manoj, S.R. Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: A review / S.R. Manoj, C. Karthik, K. Kadirvelu, P.I. Arulselvi, T. Shanmugasundaram, B. Bruno, M. Rajkumar // *Journal of Environmental Management*. – 2020. – V. 254. – № 15. – P. 109779.

194. Mansfield, T. A. Hormones as regulators of water balance. *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology* / T. Mansfield, A. McAinsh, R. Martin. – Dordrecht: Springer. 1995. – P. 598-616.
195. Markhart, A.H. of abscisic Acid on root hydraulic conductivity / A.H. Markhart, E.L. Fiscus, A.W. Naylor, P.J. Kramer // *Plant Physiology*. – 1979. – V. 64. – № 4. – P. 611-614.
196. Marulanda, A. Regulation of plasma membrane aquaporins by inoculation with a *Bacillus megaterium* strain in maize (*Zea mays* L.) plants under unstressed and salt-stressed conditions / A. Marulanda, R. Azcón, F. Chaumont, J.M. Ruiz-Lozano, R. Aroca // *Planta*. – 2010. – V. 232. – P. 533-543.
197. Mäser, P. Glycine residues in potassium channel-like selectivity filters determine potassium selectivity in four-loop-per-subunit HKT transporters from plants / P. Mäser, Y. Hosoo, S. Goshima, T. Horie, B. Eckelman, K. Yamada, K. Yoshida, E.P. Bakker, A. Shinmyo, S. Oiki, J.I. Schroeder, N. Uozumi // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2002. – V. 99. – P. 6428-6433.
198. Mayak, S. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress / S. Mayak, T. Tirosch, B.R. Glick // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2004. – V. 42. – P. 565-572.
199. Miyawaki, K. Roles of Arabidopsis ATP/ADP isopentenyltransferases and tRNA isopentenyltransferases in cytokinin biosynthesis / K. Miyawaki, P. Tarkowski, M. Matsumoto-Kitano, T. Kato, S. Sato, D. Tarkowska, S. Tabata, G. Sandberg, T. Kakimoto // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2006. – V. 103. – № 44. – P. 16598-16603.
200. Mok, D.W. Cytokinin metabolism and action / Mok D.W., Mok M.C. // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. – 2001. – V. 52. – P. 89-118.
201. Mokrani, S. Current advances in plant growth promoting bacteria alleviating salt stress for sustainable agriculture / S. Mokrani, E. Nabti, C. Cruz // *Appl. Sci*. – 2020. – V. 10. – P. 7025.

202. Morffy, N.J. Strader Locally Sourced: Auxin Biosynthesis and Transport in the Root Meristem / N.J. Morffy, C. Lucia // *Developmental Cell*. – 2018. – V. 47. – № 3. – P. 262-264.
203. Mosier, A.R. Agriculture and the nitrogen cycle / Mosier A.R., Syers J.K., Freney J.R. – Washington: Island press, 2004. – 321 p.
204. Moya, J.L., Primo-Millo E., Talon M. Morphological factors determining salt tolerance in citrus seedlings: the shoot to root ratio modulates passive root uptake of chloride ions and their accumulation in leaves / J.L. Moya, E. Primo-Millo, M. Talon // *Plant, Cell & Environment*. – 1999. – V. 22. – P. 1435-1433.
205. Muday, G.K. Tomato root growth, gravitropism, and lateral development: correlation with auxin transport / Muday G.K., Haworth P. // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 1994. – V. 32. – P. 193-203.
206. Muhammad Aslam, M. Mechanisms of Abscisic Acid-Mediated Drought Stress Responses in Plants / M. Muhammad Aslam, M. Waseem, B.H. Jakada, E.J. Okal, Z. Lei, H.S.A. Saqib, W. Yuan, W. Xu, Q. Zhang // – *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – V. 23. – № 3. – P. 1084.
207. Müller, M. Hormonal impact on photosynthesis and photoprotection in plants / M. Müller, S. Munné-Bosch // *Plant Physiology*. – 2021. – V. 185. – P. 1500-1522.
208. Munns, R. Mechanisms of salinity tolerance / R. Munns, M. Tester // *Annual Review of Plant Biology*. – 2008. – V. 59. – P. 651-681.
209. Munns, R. Salinity tolerance of crops – what is the cost? / Munns R, Gilliam M. // *New Phytologist*. – 2015. – V. 208. – № 3. – P. 668-673.
210. Munns, R. Tissue tolerance: an essential but elusive trait for salt-tolerant crops / R. Munns, R.A. James, M. Gilliam, T.J. Flowers, T.D. Colmer // *Functional Plant Biology*. – 2016. – V. 43. – P. 1103-1113.
211. Munns, R. Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene / R. Munns, R.A. James, B. Xu, A. Athman, S.J.

Conn, C. Jordans, C.S. Byrt, R.A. Hare, S.D. Tyerman, M. Tester, D. Plett, M. Gilliam // *Nature Biotechnology*. – 2012. – V. 30. – P. 360-364.

212. Murchie, E.H. Dynamic non-photochemical quenching in plants: from molecular mechanism to productivity / E.H. Murchie, A.V. Ruban // *The Plant Journal*. – 2020. – V. 101. – P. 885-896.

213. Musielak, T.J. A simple and versatile cell wall staining protocol to study plant reproduction / T.J. Musielak, L. Schenkel, M. Kolb, A. Henschen, M.A. Bayer // *Plant Reproduction*. – 2015. – V. 28. – P. 161-169.

214. Nafisi, M. Interplays between the cell wall and phytohormones in interaction between plants and necrotrophic pathogens / M. Nafisi, L. Fimognari, Y. Sakuragi // *Phytochemistry*. – 2015. – V. 112. – P. 63-71.

215. Neill, S.J. Cloning of a wilt-responsive cDNA from an *Arabidopsis thaliana* suspension culture cDNA library that encodes a putative 9-cis-epoxy-carotenoid dioxygenase / S.J. Neill, E.C. Burnett, R. Desikan, J.T. Hancock // *Journal of Experimental Botany*. – 1998. – V. 49. – P. 1893-1894.

216. Nezarat, S. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize / S. Nezarat, A. Gholami // *Pakistan Journal of Biological Sciences*. – 2009. – V. 12. – P. 26-32.

217. Nieto, K.F. Biosynthesis of cytokinins by *Azotobacter chroococcum* / K.F. Nieto, W.T. Frankenberger // *Soil Biology and Biochemistry*. – 1989. – V. 21. – P. 967-972.

218. Nitsch, L. ABA-deficiency results in reduced plant and fruit size in tomato / L. Nitsch, W. Kohlen, C. Oplaat, T. Charnikhova, S. Cristescu, P. Michieli, M. Wolters-Arts, H. Bouwmeester, C. Mariani, W.H. Vriezen, I. Rieu // *Journal of Plant Physiology*. – 2012. – V. 169. – № 9. – P. 878-83.

219. Niu, S.-Q. Induced growth promotion and higher salt tolerance in the halophyte grass *Puccinellia tenuiflora* by beneficial rhizobacteria / S.-Q. Niu, H.-R. Li, P. W. Paré, M. Aziz, S.-M. Wang, H. Shi, J. Li, Q.-Q. Han, S.-Q. Guo, J. Li, Q. Guo, Q. Ma, J.-L. Zhang // *Plant Soil*. – 2016. – V. 407. – P. 217-230.

220. Niu, X. Drought-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria associated with foxtail millet in a semi-arid agroecosystem and their potential in alleviating drought stress / X. Niu, L. Song, Y. Xiao, W. Ge // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – V.8. – P. 2580.

221. Pandey, S. Role of heavy metal resistant *Ochrobactrum sp.* and *Bacillus spp.* strains in bioremediation of a rice cultivar and their PGPR like activities / S. Pandey, P.K. Ghosh, S. Ghosh, T.K. De, T.K. Maiti // *Journal of Microbiology*. – 2013. – V. 51. – P. 11-17.

222. Parray, J.A. Current perspectives on plant growth-promoting rhizobacteria / J.A. Parray, S. Jan, A.N. Kamili, R.A. Qadri, D. Egamberdieva, P. Ahmad // *Journal of Plant Growth Regulation*. – 2016. – V. 35. – P. 877-902.

223. Parry, A.D. Abscisic acid biosynthesis in higher plants. In: Karssen C.M., van Loon L.C., Vreugdenhil D. (eds) *Progress in Plant Growth Regulation. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture V. 13* / A.D. Parry, R. Horgan. – Dordrecht: Springer, 1992. – 830 p.

224. Parry, A.D. The role of cis-carotenoids in abscisic acid biosynthesis / A.D. Parry, M.J. Babiano, R. Horgan // *Planta*. – 1990. – V. 182. – № 1. – P. 118-28.

225. Patel, P. Dynamism of PGPR in bioremediation and plant growth promotion in heavy metal contaminated soil / P. Patel, S. Shaikh, R. Sayyed // *Indian Journal of Experimental Biology*. – 2016. – V. 54. – P. 286-290.

226. Peng, J. Accumulation of beneficial bacteria in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) grown in a saline soil in responding to a consortium of plant growth promoting rhizobacteria / J. Peng, J. Ma, X. Wei, C. Zhang, N. Jia, X. Wang, E.T. Wang, D. Hu, Z. Wang // *Annals of Microbiology*. – 2021. – V. 71. – P. 40.

227. Perumalla, C.J. A survey of angiosperm species to detect hypodermal Casparian bands. I. Roots with a uniseriate hypodermis and epidermis / C.J. Perumalla, C.A. Peterson, D.E. Enstone // *Botanical Journal of the Linnean Society*. – 1990. – V. 103. – № 2. – P. 93-112.

228. Piccoli, P. Hydrolysis of [17,17-2H₂] Gibberellin A20-Glucoside and [17,17-2H₂] Gibberellin A20-glucosyl ester by *Azospirillum lipoferum* cultured in a nitrogen-free biotin-based chemically-defined medium / P. Piccoli, D. Lucangeli, G. Schneider, R. Bottini // *Plant Growth Regulation*. – 1997. – V. 23. – P. 179-182.
229. Porcel, R. Involvement of plant endogenous ABA in *Bacillus megaterium* PGPR activity in tomato plants / R. Porcel, Á.M. Zamarreño, J.M. García-Mina, R. Aroca // *BMC Plant Biology*. – 2014. – V. 14. – P. 36.
230. Preston, G.M. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell *CHIP28* protein / G.M. Preston, T.P. Carroll, W.B. Guggino, P. Agre, // *Science*. – 1992. – V. 256. – P. 385.
231. Prigge, M.J. Genetic analysis of the *Arabidopsis* TIR1/AFB auxin receptors reveals both overlapping and specialized functions / M.J. Prigge, M. Platre, N. Kadakia, Y. Zhang, K. Greenham, W. Szutu, B.K. Pandey, R.A. Bhosale, M.J. Bennett, W. Busch, M. Estelle // *Elife*. – 2020. – V. 18. – № 9. – P. e54740.
232. Qu, G. Advances in the role of auxin for transcriptional regulation of lignin biosynthesis / G. Qu, D. Peng, Z. Yu, X. Chen, X. Cheng, Y. Yang, T. Ye, Q. Lv, W. Ji, X. Deng, B. Zhou // *Functional Plant Biology*. – 2021. – V. 48. – № 8. – P. 743-754.
233. Raddatz N. Coordinated Transport of Nitrate, Potassium, and Sodium / N. Raddatz, L. Morales de los Ríos, M. Lindahl, F.J. Quintero, J.M. Pardo // *Frontiers in Plant Science*. – 2020. – V. 11. – P. 247.
234. Raines, T. Characterization of the cytokinin-responsive transcriptome in rice / T. Raines, I.C. Blakley, Y.C. Tsai, J.M. Worthen, J.M. Franco-Zorrilla, R. Solano, G.E. Schaller, A.E. Loraine, J.J. Kieber // *BMC Plant Biology*. – 2016. – V. 816. – № 1. – P. 260.
235. Rana, A. Identification of multi-trait PGPR isolates and evaluating their potential as inoculants for wheat / A. Rana, B. Saharan, M. Joshi, R. Prasanna, K. Kumar, L. Nain // *Annals of Microbiology*. – 2011. – V. 61. – P. 893-900.

236. Reinhardt, D.H. Developmental changes of cotton root primary tissues induced by salinity / D.H. Reinhardt, T.L. Rost // International Journal of Plant Sciences. – 1995. – V. 156. – P. 505-513.

237. Rengasamy, P. World salinization with emphasis on Australia / Rengasamy, P. // Journal of Experimental Botany. – 2006. – V. 57. – P. 1017-1023.

238. Reshma, P. Induced systemic resistance by 2,4-diacetylphloroglucinol positive fluorescent *Pseudomonas* strains against rice sheath blight / P. Reshma, M.K. Naik, M. Aiyaz, S.K. Niranjana, G. Chennappa, S.S. Shaikh, R.Z. Sayyed // Indian Journal of Experimental Biology. – 2018. – V. 56. – P. 207-212.

239. Reski, R. Small molecules on the move: homeostasis, crosstalk, and molecular action of phytohormones / R. Reski // Plant Biology. – 2006. – V. 8. – P. 277-280.

240. Reyt, G. Two chemically distinct root lignin barriers control solute and water balance / G. Reyt, P. Ramakrishna, I. Salas-González, S. Fujita, A. Love, D. Tiemessen, C. Lapierre, K. Morreel, M. Calvo-Polanco, P. Flis, N. Geldner, Y. Boursiac, W. Boerjan, M.W. George, G. Castrillo, D.E. Salt // Nature Communications. – 2021. – V. 12. – № 1. – P. 2320.

241. Richmond, A.E. Effect of kinetin on protein content and survival of detached *Xanthium* leaves / A. E. Richmond, A. Lang // Science. – 1957. – V. 125. – P. 650-651.

242. Roberts, S.K. The effects of ABA on channel-mediated K⁺ transport across higher plant roots / S.K. Roberts, B.N. Snowman // Journal of Experimental Botany. – 2000. – V. 51. – № 350. – P. 1585-1594

243. Robert-Seilaniantz, A. Pathological hormone imbalances / A. Robert-Seilaniantz, L. Navarro, R. Bari, J.D.G. Jones // Current Opinion in Plant Biology. – 2007. – V. 10. – P. 372-379.

244. Romanov, G.A. Cytokinin signaling: from the ER or from the PM? That is the question! / G.A. Romanov, S.N. Lomin, T. Schmülling // New Phytologist. – 2018. – V. 218. – № 1. – P. 41-53.

245. Ruzzia, M. Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture / M. Ruzzia, R. Aroca // *Scientia Horticulturae*. – 2015. – V. 196. – P. 124-134.
246. Saberi Riseh, R. Salinity Stress: Toward Sustainable Plant Strategies and Using Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Encapsulation for Reducing It / R. Saberi Riseh, M. Ebrahimi-Zarandi, E. Tamanadar, M. Moradi Pour, V.K. Thakur // *Sustainability*. – 2021. – V. 13. – № 22. – P. 12758.
247. Sagar, A. ACC deaminase and antioxidant enzymes producing halophilic *Enterobacter sp.* PR14 promotes the growth of rice and millets under salinity stress / A. Sagar, R.Z. Sayyed, P.W. Ramteke, S. Sharma, N. Marraiki, A.M. Elgorban, A. Syed // *Physiology and Molecular Biology of Plants*. – 2020. – V. 26. – P. 1847-1854.
248. Sakai, H. *ARR1*, a transcription factor for genes immediately responsive to cytokinins / Sakai H., Honma T., Aoyama T., Sato S., Kato T., Tabata S., Oka A. // *Science*. – 2001. – V. 294. – № 5546. – P. 1519-1521.
249. Sakakibara, H. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. / H. Sakakibara // *Annual Review of Plant Science*. – 2006. – V. 57. – P. 431-449.
250. Sakakibara, H. Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development / H. Sakakibara, K. Takei, N. Hirose // *Trends in Plant Science*. – 2006. – V. 11. – № 9. – P. 440-448.
251. Sakakibara, H. Nitrate-specific and cytokinin-mediated nitrogen signaling pathways in plants / H. Sakakibara // *Journal of Plant Research*. – 2003. – V. 116. – № 3. – P. 253-257.
252. Sardans, J. Potassium Control of Plant Functions: Ecological and Agricultural Implications / J. Sardans, J. Peñuelas // *Plants*. – 2021. – V. 10. – P. 419.
253. Sayyed, R.Z. Plant growth promotion and root colonization by EPS producing *Enterobacter sp.* RZS5 under heavy metal contaminated soil / R.Z. Sayyed, P.R. Patel, S.S. Shaikh // *Indian Journal of Experimental Biology*. – 2015. – V. 53. – P. 116-123.

254. Schaller, G.E. Cytokinin and the cell cycle / G.E. Schaller, I.H. Street, J.J. Kieber // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2014. – V. 21. – P. 7-15.

255. Schreiber, L. Apoplastic barriers in roots: chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls / L. Schreiber, K. Hartmann, M. Skrabs, J. Zeier // *Journal of Experimental Botany*. – 1999. – V. 50. – №. 337. – P. 1267-1280.

256. Seldimirova, O.A. Dynamics of the contents and distribution of ABA, auxins and aquaporins in developing caryopses of an ABA-deficient barley mutant and its parental cultivar / O.A. Seldimirova, G.R. Kudoyarova, M. Katsuhara, I.R. Galin, D.Yu. Zaitsev, N.N. Kruglova, D.S. Veselov, S.Yu. Veselov // *Seed Science Research*. – 2019. – V. 29. – №4. – P. 261-269.

257. Senadheera, P. Differentially expressed membrane transporters in rice roots may contribute to cultivar dependent salt tolerance / P. Senadheera, R.K. Singh, F.J. Maathuis // *Journal of Experimental Botany*. – 2009. – V. 60. – № 9. – P. 2553-2563.

258. Sgroy, V. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera* / V. Sgroy, F. Cassán, O. Masciarelli, M. Del Papa, A. Lagares, V. Luna // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2009. – V. 85. – P. 371-381.

259. Shabala, S. Ion transport in halophytes / S. Shabala, A. Mackay // *Advances in Botanical Research*. – 2011. – V. 57. – P. 151-187.

260. Shabala, S. Learning from halophytes: physiological basis and strategies to improve abiotic stress tolerance in crops / S. Shabala // *Annals of Botany*. – 2013. – V. 112. – № 7. – P. 1209-1221.

261. Shabala, S. Salt bladders: do they matter? / S. Shabala, J. Bose, R. Hedrich // *Trends in Plant Science*. – 2014. – V. 19. – № 11. – P. 687-691.

262. Shahzad, R. Inoculation of abscisic acid-producing endophytic bacteria enhances salinity stress tolerance in *Oryza sativa* / R. Shahzad, A.L. Khan,

S. Bilal, M. Waqas, S.-M. Kanga, I.-J. Lee // Environmental and Experimental Botany – 2017. – V. 136. – P. 68-77.

263. Shakirova, F.M. Role of endogenous hormonal system in the realization of the antistress action of plant growth regulators on plants / F.M. Shakirova, A.M. Avalbaev, M.V. Bezrukova, G.R. Kudoyarova // Plant Stress. – 2010. – V. 4. – P. 32-38.

264. Shamaya, N.J. Genetics of Na⁺ exclusion and salinity tolerance in Afghani durum wheat landraces / N.J. Shamaya, Y. Shavrukov, P.S.J. Langridge Roy, M. Tester // BMC Plant Biology. – 2017. – V. 17. – P. 209.

265. Sharipova, G. Exogenous application of abscisic acid (ABA) increases root and cell hydraulic conductivity and abundance of some aquaporin isoforms in the ABA deficient barley mutant Az34 / G. Sharipova, D. Veselov, W. Fricke, I. Dodd, M. Katsuhara, T. Furuichi, I. Ivanov, S. Veselov // Annals of Botany. – 2016. – V. 118. – № 4. – P. 777-785.

266. Shi, H. Overexpression of a plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana* / H. Shi, B.-h. Lee, S.-J. Wu, J.-K. Zhu // Nature Biotechnology. – 2003. – V. 21. – P. 81-85.

267. Shi, H. The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter / Shi H., Ishitani M., Kim C., Zhu J.K. // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 2000. – V. 97. – № 12. – P. 6896-6901.

268. Shilev, S. Plant-growth-promoting bacteria mitigating soil salinity stress in plants / S. Shilev // Applied Sciences. – 2020. – V. 10. – P. 7326.

269. Shkolnik-Inbar, D. *ABI4* Mediates Abscisic Acid and Cytokinin Inhibition of Lateral Root Formation by Reducing Polar Auxin Transport in *Arabidopsis* / D. Shkolnik-Inbar, D. Bar-Zvi // – Plant Cell. – 2010. – V. 22. – № 11. – P. 3560-3573.

270. Šimášková M. Cytokinin response factors regulate PIN-FORMED auxin transporters / M. Šimášková, J.A. O'Brien, M. Khan, G. Van Noorden, K. Ötvös, A. Vieten, I. De Clercq, J.M.A. Van Haperen, C. Cuesta, K. Hoyerová, S.

Vanneste, P. Marhavý, K. Wabnik, F. Van Breusegem, M. Nowack, A. Murphy, J. Friml, D. Weijers, T. Beeckman, E. Benková // Nature Communications. – 2015 – V. 6. – P. 8717.

271. Singh, A. Soil salinity: A global threat to sustainable development / A. Singh // Soil Use and Management. – 2021. – V. 38. – №1. – P. 39-67.

272. Skoog, F. Cytokinins / F. Skoog, F.M. Strong, C.O. Miller // Science. – 1965. – V. 148. – P. 532-533.

273. Smigocki, A. Cytokinin-mediated insect resistance in *Nicotiana* plants transformed with the *ipt* gene / A. Smigocki, J.W.Jr. Neal, I. McCanna, L. Douglass // Plant Molecular Biology. –1993. – V. 23. – № 2. – P. 325-35.

274. Song, J. Waterlogging and salinity effects on two *Suaeda salsa* populations / J. Song, G. Shi, B. Gao, H. Fan, B. Wang // Physiologia Plantarum. – 2011. – V. 141. – № 4. – P. 343-51.

275. Song, X.G. Cytokinin- and auxin-induced stomatal opening involves a decrease in levels of hydrogen peroxide in guard cells of *Vicia faba* / X.G. Song, X.P. She, J.M. He, C. Huang, T.S. Song // Functional Plant Biology. – 2006. – V. 33. – № 6. – P. 573-583.

276. Spaepen, S. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling / S. Spaepen, J. Vanderleyden, R. Remans // FEMS Microbiology Reviews. – 2007. – V. 31. – № 4. – P. 425-48.

277. Spaepen, S., Vanderleyden J. Auxin and plant-microbe interactions / S. Spaepen, J. Vanderleyden // Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. – 2011. – V. 3. – № 4. – P. a001438.

278. Srivastava, S. Unraveling aspects of *Bacillus amyloliquefaciens* mediated enhanced production of rice under biotic stress of *Rhizoctonia solani* / S. Srivastava, V. Bist, S. Srivastava, P.C. Singh, P.K. Trivedi, M.H. Asif, P.S. Chauhan, C.S. Nautiyal // Frontier in Plant Science. – 2016. – V. 7. – P. 587.

279. Steudle, E. Water uptake by plant roots: an integration of views / E. Steudle // Plant Soil. – 2000. – V. 226. – P. 45-56.

280. Sturtevant, D.B. Cytokinin production by *Bradyrhizobium japonicum* / D.B. Sturtevant, B.J. Tallar // *Plant Physiology*. – 1989. – V. 89. – P. 1247-1252.
281. Sun, J. The Arabidopsis *AtIPT8/PGA22* gene encodes an isopentenyl transferase that is involved in *de novo* cytokinin biosynthesis / J. Sun, Q.W. Niu, P. Tarkowski, B. Zheng, D. Tarkowska, G. Sandberg, N.H. Chua, J. Zuo // *Plant Physiology*. – 2003. – V. 131. – № 1. – P. 167-76.
282. Takei, K. *AtIPT3* is a key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis* / K. Takei, N. Ueda, K. Aoki, T. Kuromori, T. Hirayama, K. Shinozaki, T. Yamaya // *Plant and Cell Physiology*. – 2004. – V. 45. – № 8. – P. 1053-1062.
283. Takei, K. Identification of genes encoding adenylate isopentenyltransferase, a cytokinin biosynthesis enzyme, in *Arabidopsis thaliana* / K. Takei, H. Sakakibara, T. Sugiyama // *Journal of Biological Chemistry*. – 2001. – V. 276. – P. 26405-26410.
284. Tamaoki, D. Jasmonic acid and salicylic acid activate a common defense system in rice / D. Tamaoki, S. Seo, S. Yamada, A. Kano, A. Miyamoto, H. Shishido, S. Miyoshi, S. Taniguchi, K. Akimitsu, K. Gomi // *Plant signaling & behavior*. – 2013. – V. 8. – № 6. – P. e24260.
285. Tan, B.C. Genetic control of abscisic acid biosynthesis in maize / B.C. Tan, S.H. Schwartz, J.A. Zeevaart, D.R. McCarty // *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*. – 1997. – V. 94. – P. 12235-12240.
286. Tang, X. Dual regulation of xylem formation by an auxin-mediated PaC3H17-PaMYB199 module in *Populus* / X. Tang, D. Wang, Y. Liu, M. Lu, Y. Zhuang, Z. Xie, C. Wang, S. Wang, Y. Kong, G. Chai, G. Zhou // *New Phytologist*. – 2020. – V. 225. – № 4. – P. 1545-1561.
287. Tian, F. Salinity stress effects on transpiration and plant growth under different salinity soil levels based on thermal infrared remote (TIR) technique / F. Tian, M. Hou, Y. Qiu, T. Zhang, Y. Yuan // *Geoderma*. – 2020. – V. 357. – P. 113961.

288. Timmusk, S. Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa* / S. Timmusk, B. Nicander, U. Granhall, E. Tillberg, // *Soil Biology and Biochemistry*. – 1999. – V. 31. – P. 1847-1852.

289. Timmusk, S. Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: Enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles / S. Timmusk, I.A. Abd El-Daim, L. Copolovici, T. Tanilas, A. Kännaste, L. Behers, E. Nevo, G. Seisenbaeva, E. Stenström, Ü. Niinemets // *PLOS ONE*. – 2014. – V. 9. – P. e96086.

290. Tsukanova, K.A. Effect of plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis / K.A. Tsukanova, V.K. Chebotara, J.J.M. Meyer, T.N. Bibikova // *South African Journal of Botany*. – 2017. – V. 113. – P. 91-102.

291. Turner, N.C. Turgor maintenance by osmotic adjustment: 40 years of progress / N.C. Turner // *Journal of Experimental Botany*. – 2018. – V. 69. – № 13. – P. 3223-3233.

292. Turner, T.R. The plant microbiome / T.R. Turner, E.K. James, P.S. Poole // *Genome Biol*. – 2013. – V. 14. – P. 209.

293. Tyerman, S.D. Energy costs of salinity tolerance in crop plants / S.D. Tyerman, R. Munns, W. Fricke, B. Arsova, B.J. Barkla, J. Bose, H. Bramley, C. Byrt, Z. Chen, T.D. Colmer, T. Cuin, D.A. Day, K.J. Foster, M. Gilliam, S.W. Henderson, T. Horie, C.L.D. Jenkins, B.N. Kaiser, M. Katsuhara, D. Plett, S.J. Miklavcic, S.J. Roy, F. Rubio, S. Shabala, M. Shelden, K. Soole, N.L. Taylor, M. Tester, M. Watt, S. Wege, L.H. Wegner, Z. Wen // *New Phytologist*. – 2019. – V. 221. – № 1. – P. 25-29.

294. Tyerman, S.D. Plant aquaporins: multifunctional water and solute channels with expanding roles / S.D. Tyerman, C.M. Niemietz, H. Bramley // *Plant, Cell & Environment*. – 2002. – V. 25. – № 2. – P. 173-194.

295. Ursache, R. GDSL-domain proteins have key roles in suberin polymerization and degradation / R. Ursache, C. De Jesus Vieira Teixeira, V. Déneraud Tendon, K. Gully, D. De Bellis, E. Schmid-Siegert, T.G. Andersen, V.

Shekhar, S. Calderon, S. Pradervand, C. Nawrath, N. Geldner, J.E.M. Vermeer // Nature Plants. – 2021. – V. 7. – P. 353-364.

296. Van Zelm, E. Salt Tolerance Mechanisms of Plants / E. Van Zelm, Y. Zhang, C. Testerink // Annual Review of Plant Science. – 2020. – V. 71. – P. 403-433.

297. Vandeleur, R.K. Rapid shoot-to-root signalling regulates root hydraulic conductance via aquaporins / R.K. Vandeleur, W. Sullivan, A. Athman, C. Jordans, M. Gilliam, B.N. Kaiser, S.D. Tyerman // Plant, Cell & Environment. – 2014. – V. 37. – P. 520-538.

298. Vaseva, I.I. The plant hormone ethylene restricts *Arabidopsis* growth via the epidermis / I.I. Vaseva, E. Qudeimat, T. Potuschak, Y. Du, P. Genschik, F. Vandebussche, D. Van Der Straeten // Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA. – 2018. – V. 115. – № 17. – E4130-E4139.

299. Vejan, P. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability – a review / P. Vejan, R. Abdullah, T. Khadiran, S. Ismail, A. Nasrulhaq Boyce // Molecules. – 2016. – V. 21. – P. 573.

300. Verbon, E.H. Beneficial microbes affect endogenous mechanisms controlling root development / E.H. Verbon, L.M. Liberman // Trends in Plant Science. – 2016. – V. 21. – № 3. – P. 218-229.

301. Verma, J.P. Impact of plant growth promoting rhizobacteria on crop production / J.P. Verma, J. Yadav, K.N. Tiwari, L.V. Singh // International Journal of Agricultural Research. – 2010. – V. 5. – № 11. – P. 954-983.

302. Verma, P. Molecular diversity and multifarious plant growth promoting attributes of Bacilli associated with wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere from six diverse agro-ecological zones of India / P. Verma, A.N. Yadav, K.S. Khannam, S. Kumar, A.K. Saxena, A. Suman // Journal of Basic Microbiology. – 2016. – V. 56. – P. 44-58.

303. Veselov, S.Yu. Study of cytokinin transport from shoots to roots of wheat plants is informed by a novel method of differential localization of free cytokinins bases or their ribosylated forms by means of their specific fixation //

S.Yu. Veselov, L.N. Timergalina, G.R. Akhiyarova, G.R. Kudoyarova, A.V. Korobova, I.I. Ivanov, T.N. Arkhipova, E. Prinsen // *Protoplasma*. – 2018. – V. 255. – № 5. – P.1581-1594

304. Veselov, D.S. Rapid changes in root *HvPIP2;2* aquaporins abundance and ABA concentration are required to enhance root hydraulic conductivity and maintain leaf water potential in response to increased evaporative demand / D.S. Veselov, G.V. Sharipova, S.Yu. Veselov, I.C. Dodd, I. Ivanov, G.R. Kudoyarova // *Functional Plant Biology*. – 2018. – V. 45. – P. 143-149.

305. Veselov, D.S. The effects of NaCl treatment on water relations, growth and ABA content in barley cultivars differing in drought tolerance / D.S. Veselov, G.V. Sharipova, S.U. Veselov, G.R. Kudoyarova // *Journal of Plant Growth Regulation*. – 2008. – V. 27. – № 4. – P.380-386.

306. Veselov, D. S. Fast growth responses of barley and durum wheat plants to NaCl- and PEG-treatment: resolving the relative contributions of water deficiency and ion toxicity / D.S. Veselov, G.V. Sharipova, G.R. Akhiyarova, G.R. Kudoyarova. *Plant Growth Regulation*. –2009. –V. 58. – P. 125-129.

307. Veselov, S. Immunoassay of cytokinins produced by rhizosphere microorganisms Immunoassay of cytokinins produced by rhizosphere microorganisms / S. Veselov, T. Ivanova, M. Simonyan, A. Melentiev, G. Kudoyarova // *Proceedings of the 5-th Symposium of the International Society of Root Research*. – Dorecht: Kluwer Acad. Pub, 1998. – P.641-649.

308. Vessey, J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers / J.K. Vessey // *Plant Soil*. – 2003. – V. 255. – P. 571-586.

309. Vysotskaya, L.B. Effect on shoot water relations, and cytokinin and abscisic acid levels of inducing expression of a gene coding for isopentenyltransferase in roots of transgenic tobacco plants / L.B. Vysotskaya, G.R. Kudoyarova, S.Y. Veselov // *Journal of Experimental Botany*. – 2010. – V. 61. – № 13. – P. 3709-3717.

310. Vysotskaya, L.B. Effect on shoot water relations, and cytokinin and abscisic acid levels of inducing expression of a gene coding for

isopentenyltransferase in roots of transgenic tobacco plants / L.B. Vysotskaya, S.Y. Veselov, G.R. Kudoyarova // Journal of Experimental Botany. – 2010. – V. 61. – № 13. – P. 3709-3717.

311. Vysotskaya, L.B. Growth rate, IAA and cytokinin content of wheat seedling after root pruning / L.B. Vysotskaya, L.N. Timergalina, M.V. Simonyan, S.Yu. Veselov, G.R. Kudoyarova // Plant Growth Regulation. – 2001. – V. 33. – P. 51-57.

312. Vysotskaya, L.B. Immunohistological localization and quantification of IAA in studies of root growth regulation / L.B. Vysotskaya, D.S. Veselov, V.N. Filippenko, E.A. Ivanov, I.I. Ivanov, G.R. Kudoyarova, S.Y. Veselov // Russian Journal of Plant Physiology. – 2007. – V. 54. – № 6. – P. 827-832.

313. Vysotskaya, L.B. The influence of local *ipt* gene induction in roots on content of cytokinins in cells of tobacco leaves / L.B. Vysotskaya, G.R. Akhiyarova, G.V. Sharipova, M.A. Dedova, D.Y. Zaitsev, G.R. Kudoyarova, S.Y. Veselov // Cell and Tissue Biology. – 2015. – V. 9. – № 2. – P. 127-132.

314. Walker, R.R. Anatomy, Ultrastructure and Assimilate Concentrations of Roots of Citrus Genotypes Differing in Ability for Salt Exclusion / R.R. Walker, M. Sedgley, M.A. Blesing, T.J. Douglas // Journal of Experimental Botany. – 1984. – V. 35. – № 10. – P. 1481-1494.

315. Walker-Simmons, M. Reduced accumulation of ABA during water stress in a molybdenum cofactor mutant of barley / M. Walker-Simmons, D.A. Kudrna, R.L. Warner // Plant Physiology. – 1989. – V. 90. – P. 728-33.

316. Wang, F. Multi-algorithm comparison for predicting soil salinity / F. Wang, S. Zhou, A. Biswas, S. Yang, J. Ding // Geoderma. – 2020. – V. 365. – 114211.

317. Wang, R. Exploring the roles of aquaporins in plant-microbe interactions / R. Wang, M. Wang, K. Chen, S. Wang, L.A.J. Mur, S. Guo // Cells. – 2018. – V. 7. – P. 267.

318. Waters, S. Plant High-Affinity Potassium (HKT) Transporters involved in salinity tolerance: structural insights to probe differences in ion

selectivity / S. Waters, M. Gilliam, M. Hrmova // International Journal of Molecular Sciences. – 2013. – V. 14. – № 4. – P. 7660-7680.

319. Wei, W. *HvPIP1;6*, a Barley (*Hordeum vulgare* L.) Plasma Membrane Water Channel Particularly Expressed in Growing Compared with Non-Growing Leaf Tissues / W. Wei, E. Alexandersson, D. Gollack, A.J. Miller, P.O. Kjellbom, W. Fricke // Plant and Cell Physiology. – 2007. – V. 48. – № 8. – P. 1132-1147.

320. Wei, X.C. The developmental dynamics of the sweet sorghum root transcriptome elucidate the differentiation of apoplastic barriers / X.C. Wei, Z. Yang, G.L. Han, X. Zhao, S.S. Yin, F. Yuan, B.S. Wang // Plant Signaling & Behavior. – 2020. – V. 15. – P. 1724465.

321. Welsh, D.T. Ecological significance of compatible solute accumulation by micro-organisms: from single cells to global climate FEMS / D.T. Welsh // Microbiology Reviews. – 2000. – V. 24. – № 3. – P. 263-290.

322. Went, F.W. Phytohormones / F.W. Went, K.V. Thimann // New York: The Macmillan Company, 1937. – 301 p.

323. Werner, T. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity / T. Werner, V. Motyka, V. Laucou, R. Smets, H. Van Onckelen, T. Schmülling // Plant Cell. – 2003. – V. 15. – № 11. – P.2532-2550.

324. Werner, T. Regulation of Plant Growth by Cytokinin / T. Werner, V. Motyka, M. Strnad, T. Schmülling // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 2001. – V 98. – P. 10487-10492.

325. Werner, T. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and tobacco / T. Werner, E. Nehnevajova, I. Kollmer, O. Novák, M. Strnad, U. Krämer, T. Schmülling // Plant Cell. – 2010. – V. 22. – P. 3905-3920.

326. Whippo, C.W. Phototropism: bending towards enlightenment / C.W. Whippo, R.P. Hangarter // Plant Cell. – 2006. – V. 18. – № 5. – P. 1110-1119.

327. Wright, S. Abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting / S. Wright, R. Hiron // *Nature*. – 1969. – V. 224. – P. 719-720.

328. Wu, H. Na⁺ extrusion from the cytosol and tissue-specific Na⁺ sequestration in roots confer differential salt stress tolerance between durum and bread wheat / H. Wu, L. Shabala, E. Azzarello, Y. Huang, C. Pandolfi, N. Su, Q. Wu, S. Cai, N. Bazihizina, L. Wang, M. Zhou, S. Mancuso, Z. Chen, S. Shabala // *Journal of Experimental Botany*. – 2018. – V. 69. – № 16. – P. 3987-4001.

329. Yang, J. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress / J. Yang, J.W. Kloepper, C.M. Ryu // *Trends in Plant Science*. – 2009. – V. 14. – P. 1-4.

330. Yang, Z. Transcriptome analysis of sweet *Sorghum* inbred lines differing in salt tolerance provides novel insights into salt exclusion by roots / Z. Yang, H.X. Zheng, X.C. Wei, J. Song, B.S. Wang, N. Sui // *Plant Soil*. – 2018. – V. 430. – P. 423-439.

331. Yeo, A.R. The contribution of an apoplastic pathway to sodium uptake by rice roots in saline conditions / A.R. Yeo, M.E. Yeo, T.J. Flowers // *Journal of Experimental Botany*. – 1987. – V. 38. – P. 1141-1153.

332. Yousefirad, S. The RNA-seq transcriptomic analysis reveals genes mediating salt tolerance through rapid triggering of ion transporters in a mutant barley / S. Yousefirad, H. Soltanloo, S.S. Ramezanpour, K.Z. Nezhad, V. Shariati // *PLoS One*. – 2020. – V. 15. – № 3. – e0229513.

333. Yu, X. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from walnut and their effect on growth and phosphorus mobilization / X. Yu, X. Liu, T. Zhu H., G.H. Liu, C. Mao // *Biology and Fertility of Soils*. – 2011. – V. 7. – № 4. – P. 437-446.

334. Yuzikhin, O.S. Rhizosphere *Bacterium Rhodococcus* sp. P1Y Metabolizes Abscisic Acid to Form Dehydrovomifoliol / O.S. Yuzikhin, N.E. Gogoleva, A.I. Shaposhnikov, T.A. Konnova, E.V. Osipova, D.S. Syrova, E.A. Ermakova, V.P. Shevchenko, I.Y. Nagaev, K.V. Shevchenko, N.F. Myasoedov,

V.I. Safronova, A.L. Shavarda, A.A. Nizhnikov, A.A. Belimov, Y.V. Gogolev // Biomolecules. – 2021. – V. 11. – № 3. – P. 345.

335. Zamioudis, C. Unraveling root developmental programs initiated by beneficial *Pseudomonas spp.* bacteria / C. Zamioudis, P. Mastranesti, P. Dhonukshe, I. Blilou, C.M. Pieterse // Plant Physiol. – 2013. – V. 162. – № 1. – P. 304-318.

336. Zhang, H. Rhizobacterial volatile emissions regulate auxin homeostasis and cell expansion in *Arabidopsis* / H. Zhang, M.S. Kim, V. Krishnamachari, P. Payton, Y. Sun, M. Grimso, M.A. Farag, C.M. Ryu, R. Allen, I.S. Melo, P.W. Paré // Planta. – 2007. – V. 226. – P. 839-851.

337. Zhang, R.B. Expression of mRNA coding for kidney and red cell water channels in *Xenopus* oocytes / R.B. Zhang, K.A. Logee, A.S. Verkman // Journal of Biological Chemistry. – 1990. – V. 265. – № 26. – P. 15375-15378.

338. Zhang, W.D. *SOS1*, *HKT1;5*, and *NHX1* Synergistically Modulate Na⁺ Homeostasis in the Halophytic Grass *Puccinellia tenuiflora* / W.D. Zhang, P. Wang, Z. Bao, Q. Ma, L.J. Duan, A.K. Bao, J.L. Zhang, S.M. Wang // Frontiers in Plant Science. – 2017. – V. 13. – № 8. – P. 576.

339. Zhang, X. The influence of rhizosphere soil fungal diversity and complex community structure on wheat root rot disease / X. Zhang, H. Wang, Y. Que, D. Yu, H. Wang // PeerJ. – 2021. – V. 9. – e12601.

340. Zhang, Y. Regulation of Oncogene Expression in T-DNA-Transformed Host Plant Cells / Y. Zhang, C.-W. Lee, N. Wehner, F. Imdahl, S. Veselova, C. Weiste, W. Dröge-Laser, R. Deeken // PLoS Pathogens. – 2015. – V. 11. – № 1. – P. e1004620.

341. Zimmermann, H.M. Chemical composition of apoplastic transport barriers in relation to radial hydraulic conductivity of corn roots (*Zea mays* L.) / H.M. Zimmermann, K. Hartmann, L. Schreiber, E. Steudle // Planta. – 2000. – V. 210. – P. 302-311.

342. Zubo, Y.O. Role of the Cytokinin-Activated Type-B Response Regulators in Hormone Crosstalk / Y.O. Zubo, G.E. Schaller // *Plants*. – 2020. – V. 9. – № 2. – P. 166.

343. Zwiewka, M. The Nuts and Bolts of PIN Auxin Efflux Carriers / M. Zwiewka, V. Bilanovičová, Y.W. Seifu, T. Nodzyński // *Frontiers in Plant Science*. – 2019. – V. 10. – P. 985.