

УДК 581.1

ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ЗАСУХЕ С ПОМОЩЬЮ ЭНДОФИТНЫХ ШТАММОВ *Bacillus subtilis*

© 2023 г. З. М. Курамшина^а, *, Р. М. Хайруллин^б

^аСтерлитамакский филиал Уфимского университета науки и технологий, Стерлитамак, Россия

^бИнститут биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

*e-mail: kuramshina_zilya@mail.ru

Поступила в редакцию 13.12.22 г.

После доработки 22.12.2022 г.

Принята к публикации 22.12.2022 г.

Изучено влияние засухи на растения *Triticum aestivum* L., *Zea mays* L., *Pisum sativum* L., *Bromopsis inermis* L., инокулированные эндофитными штаммами бактерий *B. subtilis*. Показано, что обработка эндофитами повышает устойчивость растений к данному неблагоприятному фактору, стимулирует их рост, подавляет развитие окислительного стресса. Обработка растений изученными эндофитными штаммами *B. subtilis*, способными проявлять антистрессовый эффект и усиливать активность антиоксидантной системы может быть использована для выращивания сельскохозяйственных культур в засушливых условиях.

Ключевые слова: сельскохозяйственные растения, эндофиты *B. subtilis*, засуха, антиоксидантные ферменты, малоновый диальдегид, пролин, антистрессовый эффект

DOI: 10.31857/S0015330322600760, **EDN:** IBTMOJ

ВВЕДЕНИЕ

Среди абиотических стрессов дефицит воды рассматривается как один из наиболее тяжелых факторов, препятствующих росту и развитию различных растений. Прогнозируется, что засуха станет в ближайшие годы распространенным явлением во многих регионах мира из-за уменьшения количества осадков и увеличения испарения воды вследствие глобального изменения климата [1, 2]. Воздействие засухи сильно сказывается на сельском хозяйстве, так как независимо от видов выращиваемых культурных растений, их качество и урожайность напрямую зависят от наличия влаги в почве. Ситуация усугубляется истощением доступных водных ресурсов и увеличением спроса на продовольствие из-за роста населения [1–3].

Последствия засухи проявляются у растений на морфологическом, физиологическом, биохимическом и молекулярном уровнях. Засуха влияет на все фенологические стадии роста растений. Семена не могут прорасти при недостатке воды, поскольку для прорастания семян требуется достаточное ее количество. Деление и удлинение клеток — систематические процессы, протекающие одновременно с ростом растений, затормаживаются при нехватке воды. Стресс, возникающий при засухе, значительно уменьшает урожайность важных сельскохозяйственных культур [1, 2].

Одной из первых реакций растения на засуху является закрытие устьиц и уменьшение концентрации CO₂, подавление фотосинтеза, что потенциально может привести к гибели растительного организма при сильном стрессе [4–6]. Длительное воздействие засухи разрушает хлоропласты и гранулы крахмала, что напрямую влияет на фотохимическую активность и снижает скорость транспирации растения [3, 5, 7].

Дефицит воды влияет на усвоение корнями минеральных веществ, таких как азот, фосфор, кремний, кальций, магний и др., их транспортировку к побегам, что может привести к снижению роста и развития [7].

В условиях засухи в растениях происходят глубокие изменения в обмене веществ, резко увеличивается образование активных форм кислорода (АФК), таких как супероксидные радикалы, перекись водорода и гидроксильные радикалы, что приводит к окислительному стрессу [3, 5, 8]. При высоких концентрациях АФК происходит перекисное окисление липидов, разрушение мембран, деградация белков, липидов и нуклеиновых кислот [8].

Негативные последствия абиотических стрессов, в частности засухи, могут быть успешно преодолены ростостимулирующими бактериями (PGPB), естественными обитателями ризосферы

растений. Большинство таких бактерий обладают способностью улучшать рост и повышать продуктивность с.-х. культур благодаря активации синтеза в растительных клетках аминокислот и фитогормонов, фиксации азота, а также увеличению доступного количества минеральных веществ [7, 8]. Использование RGPB в качестве биоудобрений представляет собой дешевый и экологически чистый способ стимуляции роста и развития растений в условиях засухи, что позволяет отнести такие микроорганизмы к важным и необходимым инструментам в растениеводстве [7, 8].

Важным фактором эффективности применения ростостимулирующих бактерий является их способность колонизировать различные виды сельскохозяйственных культур [7]. В связи с этим целью работы являлось изучение влияния эндофитных штаммов бактерий *B. subtilis* 26Д и 11ВМ на засухоустойчивость растений *Triticum aestivum* L., *Zea mays* L., *Pisum sativum* L., *Bromopsis inermis* L.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал. Объектами исследования служили яровая мягкая пшеница (*Triticum aestivum* L.) сорта Омская 35, кукуруза (*Zea mays* L.) сорта РИК-340, горох (*Pisum sativum* L.) сорта Чишминский 95, кострец безостый (*Bromopsis inermis* L.). Эксперименты проводили в лабораторных условиях. Семена перед посевом промывали в мыльной воде, стерилизовали 96%-ым этанолом в течение 1 мин, трижды ополаскивали в дистиллированной воде, подсушивали [9].

В экспериментах использовали бактерии *B. subtilis* штамма 26Д (коллекция ВНИИСХМ, №128) и штамма 11ВМ (ВНИИСХМ, №519). Семена обрабатывали в ламинарном боксе 20-часовой культурой бактерий, выращенной на мясopептонном агаре при +37°C. Клетки бактерий отмывали раствором 0.001 М КСl. Суспензию клеток доводили до необходимой концентрации по оптической плотности. Расход бактериальной суспензии (10⁶ кл/мл) составлял 20 мкл на 1 г семян. Обработанные семена выдерживали в течение часа, затем использовали в экспериментах. Контрольные семена обрабатывали дистиллированной водой.

Инокулированные и контрольные семена выращивали в вегетационных сосудах (20 × 20 см) при температуре 18–20°C при искусственной равномерной освещенности (среднесуточный световой интеграл 200–250 мкмоль / (м² с)) и 16-часовом фотопериоде. В качестве субстрата для выращивания растений использовали чернозем выщелоченный (верхний гумусовый слой).

После посева семян в почву ее поливали дистиллированной водой до влажности 70% от предельной полевой влагоемкости (ППВ), которую определяли по ГОСТ 53764-2009 [10]. После по-

явления всходов контрольные растения поливали, поддерживая исходную влажность. Стресс имитировали уменьшением влажности почвы, при котором начинали визуально проявляться симптомы увядания листьев. Определение влажности такой почвы выявило значение на уровне 30% от ППВ. Для биохимических исследований на 30 сут отбирали только побеги.

Получение экстрактов из растительных тканей. Побеги растений промывали в дистиллированной воде, удаляли избыток воды фильтровальной бумагой, взвешивали. Растительный материал гомогенизировали в 0.1 М К-фосфатном буфере pH 6.0 (при определении пероксидазы) или в Трис-содержащем буфере pH 7.8 (при определении каталазы и малонового альдегида) в соотношении навеска (г) : экстрагент (мл) — 1 : 10, центрифугировали 10 мин при 8000 об/мин, центрифугировали 10 мин при 3500 g (СМ-50, “Elmi”, Латвия). Надосадочную жидкость центрифугировали еще 10 мин при 15300 g и использовали для определения активности ферментов и малонового диальдегида.

Определение активности ферментов и содержания малонового диальдегида. Активность пероксидазы оценивали согласно методике Хайруллина с соавторами, исходя из количества окисленного ортофенилендиамина (“Sigma”, США) [11], и определяли по формуле (1):

$$A = D_{492} / (mt), \quad (1)$$

где A — активность в единицах; D_{492} — оптическая плотность раствора окисленного ортофенилендиамина в единицах показания спектрофотометра; m (мг) — сырая масса растительного материала; t (с) — время от начала и до остановки реакции добавлением 0.05 N раствора серной кислоты.

Значение m определяли по формуле (2):

$$m = M(V_o/V_s) \quad (2)$$

где M — масса образца растительного материала для получения экстракта; V_o (мл) — объем образца, взятого для анализа активности пероксидазы; V_s — объем экстракта всей растительной ткани, взятой в анализ. Соответственно, единица активности равнялась единице оптической плотности.

Активность каталазы определяли согласно методике Королюк с соавторами [12]. Принцип метода основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Активность каталазы определяли по формуле, приведенной выше (1), соответственно измеряя оптическую плотность D при длине волны 410 нм. Содержание МДА измеряли, используя метод Costa с соавторами, основанный на образовании окрашенного комплекса между МДА и тиобарбитуровой кислотой при нагрева-

Таблица 1. Морфометрические показатели растений пшеницы сорта Омская 35 и костреца безостого при разной влажности почвы.

Вариант	<i>Triticum aestivum</i> L.		<i>Bromus inermis</i> L.	
	70% ППВ	30% ППВ	70% ППВ	30% ППВ
Длина побегов, см				
Без обработки	38.9 ± 3.3	28.8 ± 2.2	20.14 ± 2.0	12.7 ± 1.1
<i>B. subtilis</i> 26Д	40.6 ± 2.3	32.3 ± 3.1	22.6 ± 2.3	14.5 ± 1.1
<i>B. subtilis</i> 11 ВМ	40.0 ± 1.9	32.0 ± 3.0	27.2 ± 2.6	16.4 ± 1.3
Масса побега г				
Контроль без обработки	26.8 ± 1.9	16.0 ± 0.9	6.6 ± 0.4	3.4 ± 0.7
<i>B. subtilis</i> 26Д	32.0 ± 1.0	18.8 ± 0.07	6.7 ± 0.3	3.6 ± 0.1
<i>B. subtilis</i> 11 ВМ	31.0 ± 0.9	18.3 ± 0.06	7.1 ± 0.3	4.5 ± 0.2
Масса корней, г				
Контроль без обработки	5.0 ± 0.3	2.6 ± 0.2	3.6 ± 0.1	1.2 ± 0.1
<i>B. subtilis</i> 26Д	5.3 ± 0.2	3.8 ± 0.05	4.1 ± 0.2	1.5 ± 0.05
<i>B. subtilis</i> 11 ВМ	5.2 ± 0.1	3.9 ± 0.04	5.7 ± 0.1	1.5 ± 0.04

нии [13]. Измерение оптической плотности окрашенных растворов проводили на спектрофотометре Unico 2800 (“United products and Instruments”, США).

Определение содержания свободного пролина. Экстракцию и определение свободного пролина проводили по модифицированной методике Шихалеевой с соавт. [14], используя кислый нингидриновый реактив, приготовленный без нагревания (1.25 г нингидрина (“Acros organics”, Бельгия) растворяли в 30 мл ледяной уксусной кислоты и 20 мл 6 М раствора H_3PO_4). Навеску свежей листовой пластины (200 мг) заливали 20 мл кипящей дистиллированной воды и выдерживали 10 мин на водяной бане при температуре 100°C. Затем в пробирку заливали 2 мл ледяной уксусной кислоты, 2 мл нингидринового реактива и добавляли 2 мл приготовленного экстракта. Пробы инкубировали 20 мин на водяной бане при температуре 100°C, после чего быстро охлаждали до комнатной температуры на лед. Измеряли оптическую плотность продуктов реакции при длине волны 520 нм. Содержание пролина рассчитывали с помощью калибровочной кривой, используя в качестве стандарта пролин компании “Sigma” (США) [14].

Статистическая обработка результатов. Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью стандартных программ пакета Microsoft Office, данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение. Все эксперименты проводили в трех биологических повторностях. Достоверность различий между средними определяли по критерию Стьюдента при уровне значимости $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние засухи на рост растений. Исследования показали, что при нехватке воды угнетается рост растений, как необработанных, так и обработанных бактериями. Так, у инокулированных бактериями растений пшеницы, костреца, гороха и кукурузы длина надземной части была меньше на 25.9, 36.8, 54.4 и 36.4%, соответственно, в сравнении с растениями, растущими при нормальном увлажнении (не испытывающих стресс) (табл. 1, 2). Биомасса побегов пшеницы, костреца, гороха и кукурузы при засухе была меньше, чем у контрольных растений на 40.2, 48.8, 15.0 и 50.0% соответственно. Биомасса корней указанных культур уменьшилась на 48.0, 66.6, 44.7 и 51.6% соответственно (табл. 1, 2).

При отсутствии стресс-фактора длина надземной части растений пшеницы, костреца, гороха и кукурузы, семена которых были инокулированы клетками бактерий *B. subtilis* 26Д была больше, чем у контрольных на 4.3, 12.2, 7.2 и 16.5% соответственно, а при обработке семян клетками *B. subtilis* 11ВМ — на 2.8, 30.5, 5.22 и 11.6% соответственно. Инокуляция семян бактериями положительно сказывалась и на показателях биомассы побегов и корней исследованных растений. У обработанных бактериями *B. subtilis* 26Д растений пшеницы, костреца, гороха и кукурузы масса побегов была больше, чем у необработанных на 19.4, 1.4, 6.5 и 12.8%, масса корней — на 6.0, 13.8, 6.5 и 7.6% соответственно. Инокуляция семян клетками эндофита *B. subtilis* 11ВМ увеличивала массу побегов в сравнении с необработанными указанными выше растениями, соответственно, на 15.6, 7.5, 4.9 и 12.1%. Масса корней у растений пшеницы, кост-

Таблица 2. Влияние обработки семян эндофитами на морфометрические показатели растений гороха и кукурузы при имитации почвенной засухи.

Вариант	<i>Pisum sativum</i> L.		<i>Zea mays</i> L.	
	70% ППВ	30% ППВ	70% ППВ	30% ППВ
Длина побегов, см				
Контроль без обработки	40.2 ± 2.2	18.3 ± 1.1	41.2 ± 2.1	26.2 ± 1.2
<i>B. subtilis</i> 26Д	43.1 ± 1.2	25.7 ± 1.9	48.0 ± 1.1	27.2 ± 1.2
<i>B. subtilis</i> 11ВМ	42.3 ± 1.6	24.9 ± 1.8	46.0 ± 1.8	28.5 ± 1.8
Масса побега, г				
Контроль без обработки	1.83 ± 0.06	1.55 ± 0.03	1.40 ± 0.10	0.70 ± 0.03
<i>B. subtilis</i> 26Д	1.95 ± 0.05	1.64 ± 0.02	1.58 ± 0.05	0.76 ± 0.02
<i>B. subtilis</i> 11ВМ	1.92 ± 0.09	1.60 ± 0.03	1.57 ± 0.1	0.79 ± 0.09
Масса корня, г				
Контроль без обработки	0.38 ± 0.03	0.21 ± 0.01	0.91 ± 0.03	0.44 ± 0.02
<i>B. subtilis</i> 26Д	0.35 ± 0.04	0.36 ± 0.03	0.98 ± 0.02	0.50 ± 0.09
<i>B. subtilis</i> 11ВМ	0.37 ± 0.01	0.31 ± 0.02	0.94 ± 0.04	0.56 ± 0.07

реца и кукурузы, семена которых были инокулированы этим эндофитом, увеличивалась на 4.0, 58.3 и 3.2% в сравнении с не испытывающими стресс контрольными растениями, соответственно. Интересно, что масса корней инокулированных бактериями *B. subtilis* 11ВМ растений гороха, растущих во влажной почве, была меньше на 2.6% в сравнении с необработанными растениями, растущими в почве с влажностью 70% от ППВ (табл. 1, 2).

В условиях имитации почвенной засухи у обработанных бактериями *B. subtilis* 26Д и 11ВМ растений пшеницы длина надземной части была больше, чем у необработанных растений на 12.2 и 11.1%, у костреца безостого — на 14 и 29%, у гороха — на 40 и 36%, у кукурузы — на 3.9 и 8.8%. Одновременно с этим инокуляция растений бактериями увеличивала и массу органов. У обработанных бактериями штаммов 26Д и 11ВМ растений пшеницы масса надземной части была больше, чем у необработанных на 17.5 и 14.3%, у костра безостого — на 5.8 и 32.3%, у гороха — на 5.8 и 3.2%, у кукурузы — на 8.5 и 12.8% соответственно (табл. 1, 2).

Масса корней растений, обработанных бактериями *B. subtilis* 26Д и 11ВМ была больше, чем у необработанных растений: у пшеницы — на 46.1 и 50%, у костреца — на 25 и 20.8%, у гороха — на 71.4 и 47.6%, у кукурузы — на 13.6% и 27.3% соответственно (табл. 1, 2).

Влияние засухи на активность антиоксидантных ферментов и уровень МДА. При имитации засухи (30% ППВ) активность каталазы в побегах необработанных проростков пшеницы достоверно не отличалась от показателей необработанных растений, выросших при оптимальном увлажнении; у костреца и кукурузы имела недостоверная в эксперименте тенденция к увеличению (на 33.3 и

28.5%, соответственно), а у растений гороха увеличивалась в 2.1 раза (рис. 1).

Обработка семян бактериями *B. subtilis* 26Д у растений пшеницы и костреца способствовала повышению активности каталазы при оптимальном увлажнении (70% от ППВ), не влияла на этот показатель у растений кукурузы, а у растений гороха наблюдалась недостоверная тенденция к снижению уровня активности. При использовании клеток штамма 11ВМ активность каталазы в обработанных и необработанных растениях пшеницы, растущих на влажной почве, была практически одинаковой, в то время как в тканях растений других культур достоверно повышалась (у костреца, кукурузы и гороха на 16.5, 62.4, 74.4% соответственно).

В условиях имитации засухи у растений пшеницы и кукурузы, обработанных клетками эндофита *B. subtilis* 26Д активность каталазы увеличивалась на 46.5 и 88.8%, соответственно, в сравнении с необработанными растениями, выросшими также в условиях засухи. Такой же ответ повышения активности каталазы в условиях засухи проявлялся у растений пшеницы, инокулированных клетками штамма 11ВМ. В остальных вариантах опыта обработка семян костреца, гороха и кукурузы бактериями исследованных штаммов приводила к падению уровня активности фермента в тканях инокулированных бактериями растений, растущими при почвенной засухе, в сравнении с неинокулированными растениями, также испытывающими стресс (рис. 1).

Активность пероксидазы в тканях побегов растений, обработанных эндофитом *B. subtilis* 26Д и растущих при увлажнении почвы 70% от ППВ достоверно увеличивалась в тканях костреца (на 62.7%), а при использовании клеток штамма 11ВМ

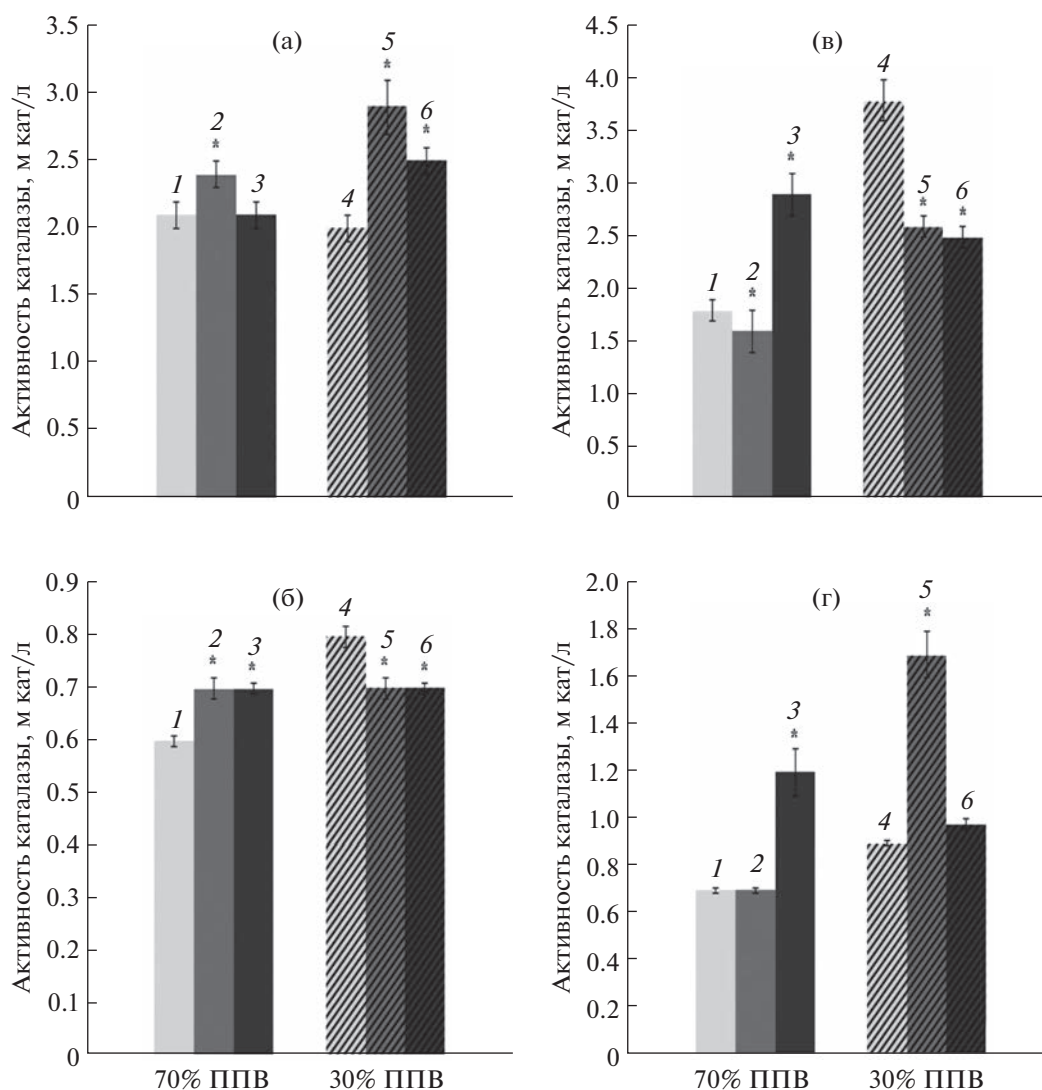


Рис. 1. Влияние обработки семян клеточной суспензией эндофитных штаммов бактерий на активность каталазы в побегах 30-дневных растений в условиях засухи: (а) пшеница, (б) коострец, (в) горох, (г) кукуруза. (*) Различия между показателями обработанных и необработанных бактериями растений при разной степени влажности почвы достоверны при $P \leq 0.05$. 1 – без обработки 70% ППВ; 2 – *B. subtilis* 26Д 70% ППВ; 3 – *B. subtilis* 11ВМ 70% ППВ; 4 – без обработки 30% ППВ; 5 – *B. subtilis* 26Д 30% ППВ; 6 – *B. subtilis* 11ВМ 30% ППВ.

и в тканях пшеницы, коостреца и гороха на 15.0, 91.2 и 14.1% соответственно (рис. 2). Интересно, что обработка семян кукурузы клетками обоих штаммов приводила к существенному снижению уровня активности этого фермента в тканях побегов, в сравнении с контрольными растениями, растущими во влажной почве.

У инокулированных бактериями *B. subtilis* 11ВМ растений пшеницы, коостреца и гороха, растущих в почве с влажностью 30% от ППВ, активность пероксидазы достоверно увеличивалась на 5.2, 20.3 и 11.1%, в то время как в тканях кукурузы, наоборот, достоверно уменьшалась (рис. 2). В условиях засухи обработка семян пшеницы и кукурузы клетками бактерий *B. subtilis* 26Д не влияла на

активность фермента в тканях побегов в сравнении с контрольными растениями, растущими в таких же условиях, а при выращивании растений коостреца и кукурузы уровень активности этого фермента в тканях побегов был ниже, в сравнении с контрольными культурами, испытывающими аналогичный стресс.

Уровень МДА в тканях побегов растений пшеницы и коостреца, инокулированных бактериями двух штаммов, и гороха, обработанных клетками эндофита *B. subtilis* 26Д, не изменился по сравнению с контрольными необработанными растениями, растущими в почве с влажностью 70% от ППВ, а у растений кукурузы достоверно был ниже, чем в контроле (рис. 3). При инокуляции се-

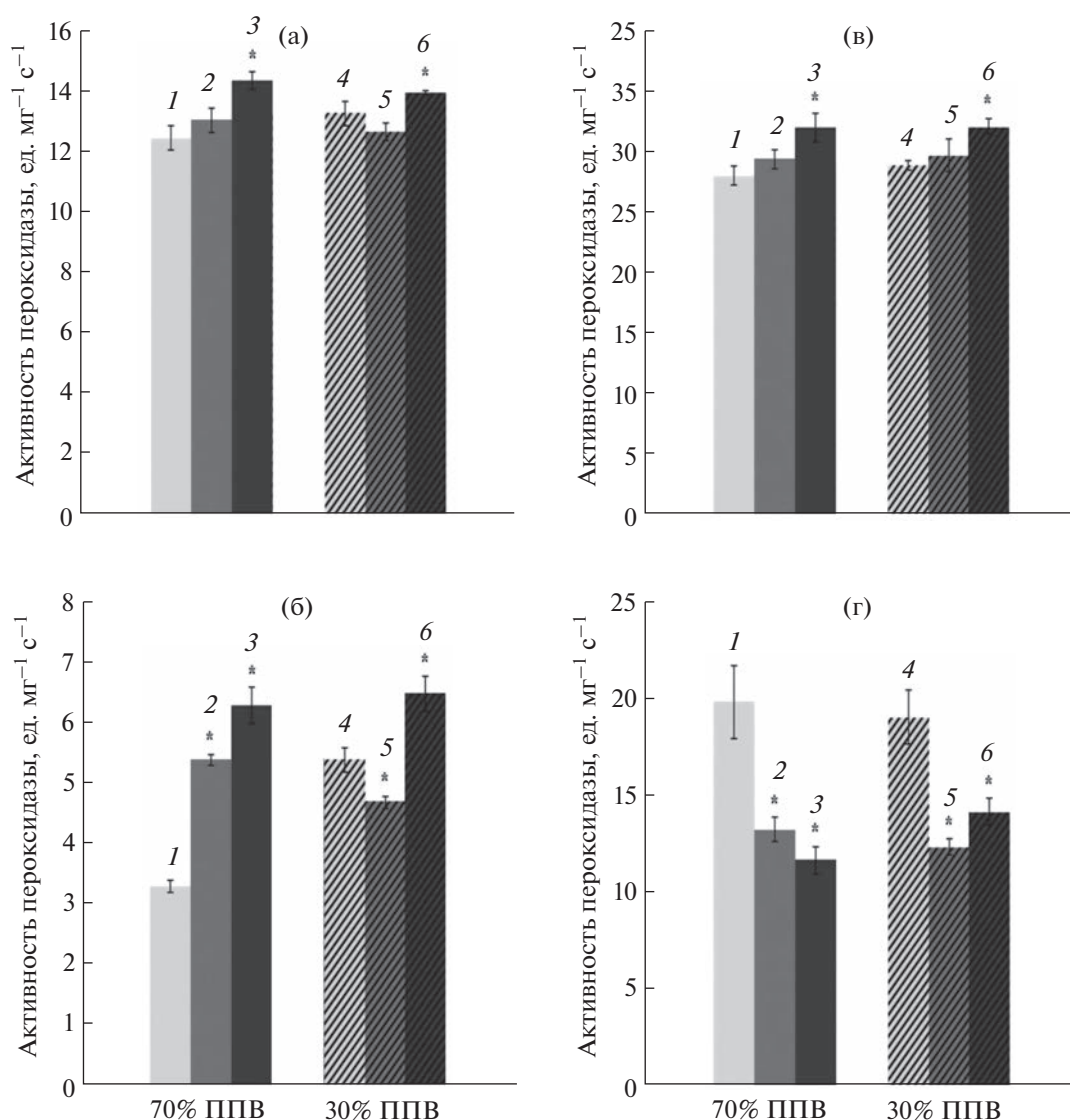


Рис. 2. Изменения активности пероксидазы в побегах 30-дневных растений в условиях имитации засухи: (а) пшеница, (б) кострец, (в) горох, (г) кукуруза. (*) Различия между показателями обработанных и необработанных бактериями растений при разной степени влажности почвы достоверны при $P \leq 0.05$. 1 – без обработки 70% ППВ; 2 – *B. subtilis* 26Д 70% ППВ; 3 – *B. subtilis* 11ВМ 70% ППВ; 4 – без обработки 30% ППВ; 5 – *B. subtilis* 26Д 30% ППВ; 6 – *B. subtilis* 11ВМ 30% ППВ.

мян гороха клетками эндوفита *B. subtilis* 11ВМ содержание МДА в тканях надземной части растений статистически значимо повысилось по отношению к таковому неинокулированных растений.

При действии почвенной засухи содержание МДА повышалось в тканях побегов как необработанных, так и инокулированных бактериями растений пшеницы и гороха, в сравнении с показателями в тканях культур, растущих в контрольной почве (70% влажности от ППВ), соответственно. Однако по сравнению с неинокулированными растениями, растущими в условиях засухи, содержание МДА в тканях инокулированных эндوفитами обоих штаммов было меньше. В условиях почвенной засухи уровень МДА повышался также в тка-

нях необработанных растений костреца и гороха, в сравнении с необработанными культурами растущими в контрольной почве. При этом инокуляция семян этих растений клетками как бактерий *B. subtilis* 26Д, так и 11ВМ способствовала снижению уровня МДА в сравнении с необработанными растениями, подвергнутых действию стресса.

Влияние стресса на уровень пролина. Содержание пролина в побегах инокулированных клетками *B. subtilis* штамма 26Д или 11ВМ растений пшеницы, растущих как во влажной почве, так и при дефиците влаги было больше в сравнении с неинокулированными (рис. 4). В условиях засухи это превышение было больше, в сравнении с аналогичным показателем в тканях растений, расту-

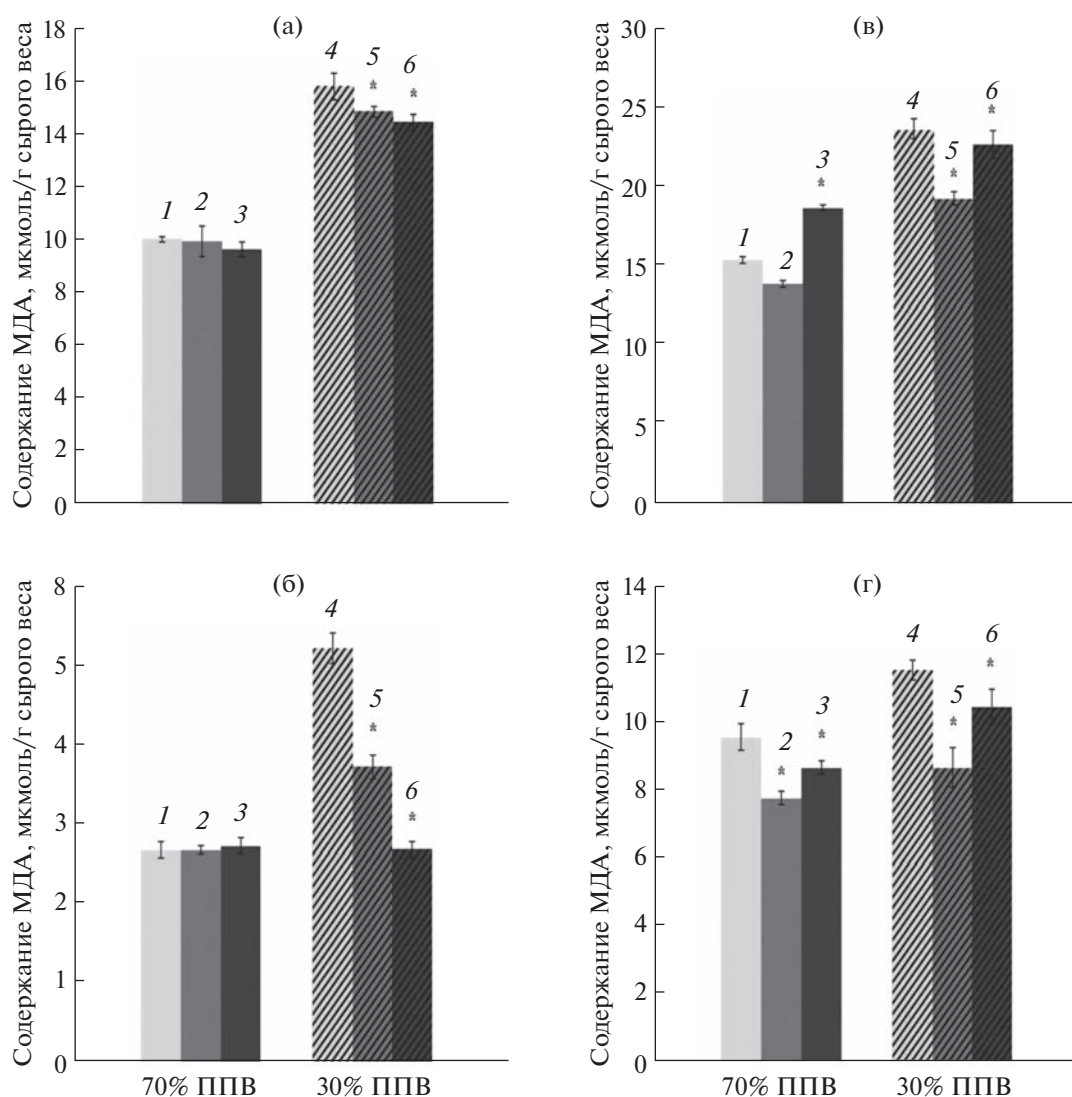


Рис. 3. Влияние эндофитных штаммов *B. subtilis* на содержание МДА в побегах 30-дневных растений в условиях засухи: (а) пшеница, (б) кострец, (в) горох, (г) кукуруза. (*) Различия между показателями обработанных и необработанных бактериями растений при разной степени влажности почвы достоверны при $P \leq 0.05$. 1 – без обработки 70% ППВ; 2 – *B. subtilis* 26Д 70% ППВ; 3 – *B. subtilis* 11ВМ 70% ППВ; 4 – без обработки 30% ППВ; 5 – *B. subtilis* 26Д 30% ППВ; 6 – *B. subtilis* 11ВМ 30% ППВ.

щих в контрольной почве. При действии засухи содержание пролина практически не менялось в контрольных, необработанных бактериями тканях побегов костреца в сравнении с растениями, растущими в контрольной почве. В стрессовых условиях содержание пролина в тканях обработанных бактериями растений достоверно увеличилось в сравнении с необработанными, выросшими также в условиях почвенной засухи. Обработка семян гороха клетками бактерий штамма 26Д не влияла на содержание пролина в тканях надземной части растений, выросших во влажной почве, а обработка штаммом 11ВМ способствовала достоверному увеличению в сравнении с необработанными растениями. Стресс привел к мно-

гократному увеличению содержания пролина в тканях побегов как контрольных, необработанных растений, так и инокулированных бациллами в сравнении с растениями, растущими в почве влажностью 70% от ППВ. При этом у обработанных бактериями стрессированных растений содержание этой аминокислоты было в среднем на 50% больше в сравнении с необработанными. Так же, как и у растений костреца, при действии засухи содержание пролина практически не менялось в контрольных необработанных бактериями тканях побегов кукурузы в сравнении с растениями, растущими в контрольной почве. Аналогичная картина наблюдалась и при инокуляции растений эндофитом штамма 26Д. При действии засухи уро-

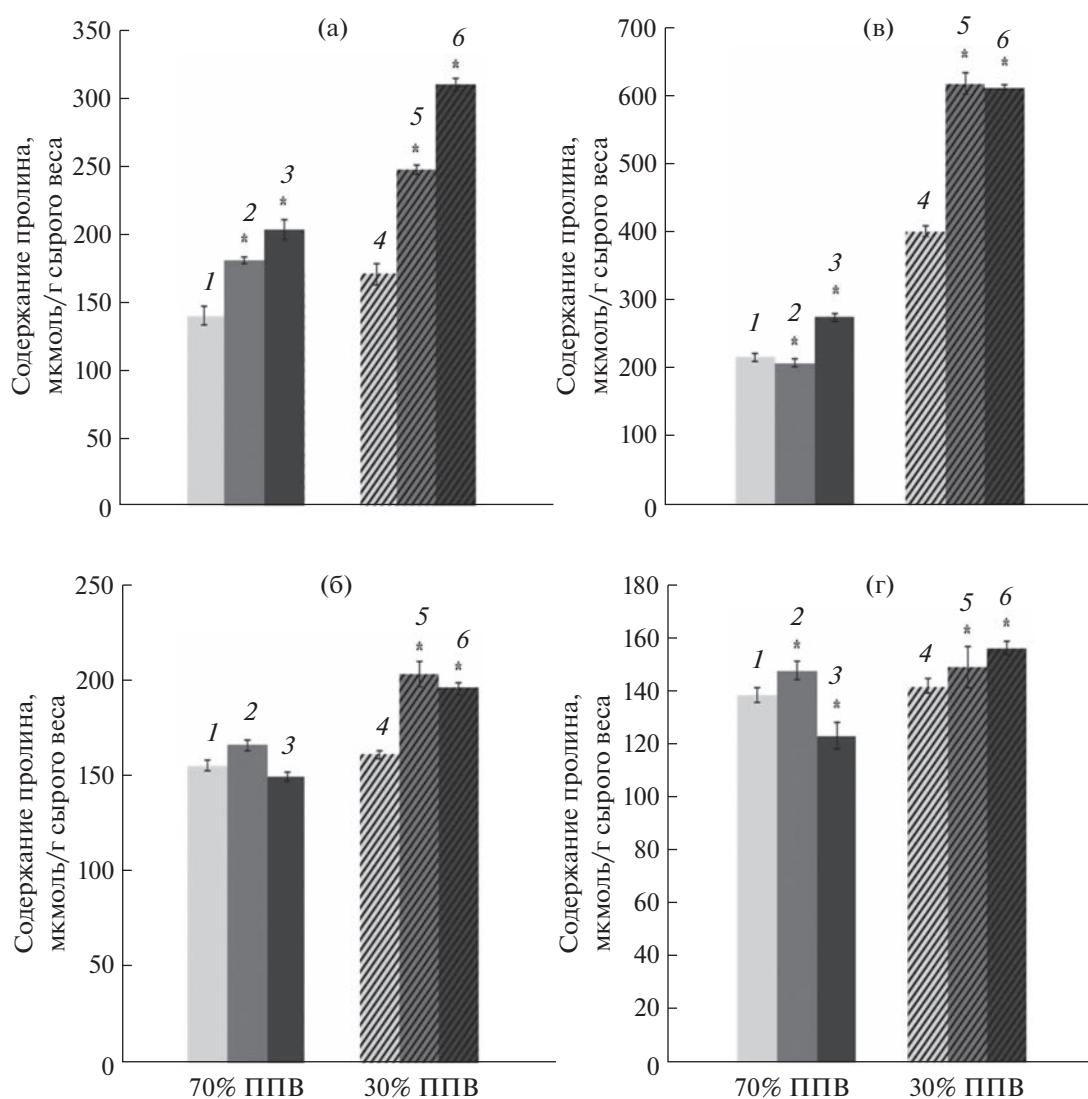


Рис. 4. Содержание пролина в побегах 30-дневных растений в условиях засухи: (а) пшеница, (б) кострец, (в) горох, (г) кукуруза. (*) Различия между показателями обработанных и необработанных бактериями растений при разной степени влажности почвы достоверны при $P \leq 0.05$. 1 – без обработки 70% ППВ; 2 – *B. subtilis* 26Д 70% ППВ; 3 – *B. subtilis* 11ВМ 70% ППВ; 4 – без обработки 30% ППВ; 5 – *B. subtilis* 26Д 30% ППВ; 6 – *B. subtilis* 11ВМ 30% ППВ.

вень содержания пролина повышался в тканях побегов кукурузы, обработанных бактериями штамма 11ВМ в сравнении как с контрольными обработанными и не подвергшимися стрессу растениями, так и со стрессированными необработанными.

Корреляционный анализ выявил, что содержание пролина положительно коррелировало с длиной побегов ($r = 0.8247$, $P < 0.01$), массой побегов ($r = 0.7700$, $P < 0.01$) и корней ($r = 0.8985$, $P < 0.01$) растений, использованных в эксперименте независимо от их вида.

ОБСУЖДЕНИЕ

Подавление роста и уменьшение биомассы растений при недостатке воды в почве наблюдалось

как у необработанных, так и у обработанных бактериями *B. subtilis* растений, однако у инокулированных эндофитами растений показатели были больше в сравнении с неинокулированными. Известно, что бактерии обоих исследованных штаммов способны продуцировать различные биологически активные вещества, в том числе и фитогормоны (ИУК), улучшать минеральное питание растений благодаря растворению фосфатов, что, вероятно, лежит в основе выявленного нами протекторного эффекта этих эндофитов [1–8].

Следует отметить, что несмотря на то, что оба штамма проявляли антистрессовый эффект на рост растений, степень ответной реакции по морфометрическим показателям у исследованных культур была разной, как при действии стресса, так и без

него. Так, при достаточном увлажнении растения *B. inermis* сильнее отзывались на обработку бактериями штамма 11ВМ, а растения *Z. mays* были одинаково отзывчивы на действия как одного, так и другого эндофита. В отсутствии стресс-фактора показатели стимуляции роста растений гороха были меньше в сравнении с другими культурами, однако в условиях засухи картина была противоположной: разница в длине побегов и биомассы корней инокулированных бактериями растений гороха в сравнении с неинокулированными была больше относительно аналогичных показателей у трех остальных культур, при этом стимуляция роста гороха под влиянием клеток штамма 26Д была выражена сильнее, чем под действием бактерий штамма 11ВМ. Эффект влияния обработки семян на рост растений пшеницы и коостреца в условиях стресса в сравнении с его отсутствием был примерно одинаков не зависимо от штамма. Протекторный эффект на рост растений кукурузы в условиях стресса сильнее проявлялся при обработке семян бактериями штамма 11ВМ. Эти данные согласуются с ранее сформулированным нами выводом о видовой (и сортовой) отзывчивости растений на обработку бактериями [18, 19]. Полученные результаты помогают определить эффективность бактериализации семян разных видов культур, а также наиболее подходящие эндофитные штаммы бактерий.

Известно, что засуха, как стрессовый фактор, приводит к накоплению АФК, образующихся, в основном, в хлоропластах, и, в некоторой степени, в митохондриях, что вызывает окислительный стресс, связанный с воздействием на молекулярные и клеточные структуры супероксид-анион радикала (O_2^-), гидроксильного радикала (ОН), синглетного кислорода (1O_2), перекиси водорода (H_2O_2) и других соединений. Потеря целостности и функции клеточной мембраны, как полагают, непосредственно коррелирует с массовым накоплением АФК при засухе [20, 21]. Детоксифицировать окислительный стресс растения могут различными антиоксидантами, которые уменьшают степень окислительного повреждения и придают засухоустойчивость, например, благодаря активации таких ферментов, как пероксидаза, каталаза и др. [20–22]. Известно также, что при слабой и средней степени засухи активность антиоксидантных систем повышается, а при дальнейшем увеличении силы стресса наблюдается уменьшение активности защитных ферментов [20–24].

Повышение активности каталазы в условиях засухи наблюдалось в тканях растений пшеницы, инокулированных бактериями любого из изученных штаммов, тогда как растения гороха не реагировали по этому показателю в сравнении с неинокулированными. Активность пероксидазы была выше в стрессированных растениях пшеницы, коостреца и гороха лишь при инокуляции клетка-

ми бактерий штамма 11ВМ в сравнении с неинокулированными растениями, растущими также в условиях засухи. Интересно, что обработка семян кукурузы привела к снижению активности этого фермента в тканях побегов при стрессе в сравнении с контрольными растениями.

Содержание МДА, являющегося конечным продуктом перекисного окисления липидов клеточных мембран и одним из важных признаков их повреждения [20–23] при действии стресса, в отсутствии инокуляции семян увеличивалось в тканях побегов всех исследованных растений. Однотипная общая закономерность меньшего содержания МДА в тканях стрессированных и инокулированных растений в сравнении с такими же стрессированными, но неинокулированными растениями позволяет на основании совокупности указанных данных сделать вывод об уровне этого соединения в растительных тканях, как интегрального показателя, свидетельствующего как о действии стресса, так и о протекторном эффекте эндофитов, независимо от штамма, а также о повышении при этом засухоустойчивости, подтвержденной морфометрическими показателями.

Таким же интегральным показателем протекторного эффекта, как и в случае анализа содержания МДА, может быть количественный уровень пролина в тканях надземной части растений, который при стрессе был выше в побегах всех исследованных культур, в сравнении с неинокулированными растениями. Известно, что пролин участвует в стабилизации белков, мембран и субклеточных структур при действии стрессов и может служить фактором уменьшения уровня АФК, что позволяет растениям противостоять засухе [21–23].

Итак, из четырех исследованных биохимических показателей содержание МДА и пролина может служить достаточно четким показателем для скрининга микробиологических препаратов на способность повышать устойчивость растений к обезвоживанию.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bijalwan P., Sharma M., Kaushik P. Review of the effects of drought stress on plants: a systematic approach // Preprints. 2022. 2022020014. <https://doi.org/10.20944/preprints202202.0014.v1>
2. Wu C., Wang T. Evaluating cumulative drought effect on global vegetation photosynthesis using numerous GPP products // Front. Environ. Sci. 2022. V. 10: 908875. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.908875>
3. Vidal C., González F., Santander C., Pérez R., Gallardo V., Santos C., Aponte H., Ruiz A., Cornejo P. Management

- of rhizosphere microbiota and plant production under drought stress: A Comprehensive Review // *Plants*. 2022. V. 11: 2437. <https://doi.org/10.3390/plants11182437>
4. Verma H., Kumar D., Kumar V., Kumari M., Singh S.K., Sharma V.K., Droby S., Santoyo G., White J.F., Kumar A. The potential application of endophytes in management of stress from drought and salinity in crop plants // *Microorganisms*. 2021. V. 9: 1729. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081729>
 5. Poudel M., Mendes R., Costa L.A.S., Bueno C.G., Meng Y., Folimonova S.Y., Garrett K.A., Martins S.J. The role of plant-associated bacteria, fungi, and viruses in drought stress mitigation // *Front. Microbiol.* 2021. V. 12: 743512. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.743512>
 6. Abideen Z., Cardinale M., Zulfiqar F., Koyro H.-W., Rasool S.G., Hessini K., Darbali W., Zhao F., Siddique K.H.M. Seed endophyte bacteria enhance drought stress tolerance in *Hordeum vulgare* by regulating, physiological characteristics, antioxidants and minerals uptake // *Front. Plant Sci.* 2022. V. 3: 980046. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.980046>
 7. Verma H., Kumar D., Kumar V., Kumari M., Singh S.K., Sharma V.K., Droby S., Santoyo G., White J.F., Kumar A. The potential application of endophytes in management of stress from drought and salinity in crop plants // *Microorganisms*. 2021. V. 9: 1729. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081729>
 8. Fadji A.E., Santoyo G., Yadav A.N., Babalola O.O. Efforts towards overcoming drought stress in crops: Revisiting the mechanisms employed by plant growth-promoting bacteria // *Front. Microbiol.* 2022. V. 13: 962427. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.962427>
 9. Bezrukova M.V., Lubyanova A.R., Fatkhutdinova R.A. The involvement of wheat and common bean lectins in the control of cell division in the root apical meristems of various plant species // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2011. V. 58. P. 174.
 10. ГОСТ Р 53764-2009. Качество почвы. Определение содержания почвенной влаги в виде объемной доли с применением трубок для отбора пробы грунта. Гравиметрический метод. Москва: Стандартинформ, 2010. 6с. <https://files.stroyinf.ru/Index2/1/4293823/4293823118.htm>
 11. Khairullin R.M., Yarullina L.G., Troshina N.B., Akhmetova I.E. Chitoooligosaccharide-induced activation of o-phenylenediamine oxidation by wheat seedlings in the presence of oxalic acid // *Biochemistry (Moscow)*. 2001. V. 66. P. 286.
 12. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // *Лаб. дело*. 1988. № 1. С. 16.
 13. Costa H., Gallego S.M., Tomaro M.L. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons // *Plant Sci.* 2002. V. 162. P. 939.
 14. Шихалеева Г.Н., Будняк А.К., Шихалеев И.И., Иващенко О.Л. Модифицированная методика определения пролина в растительных объектах // *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія*. 2014. Вип. 21. № 1112. С. 168.
 15. Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus* Cohc в агроэкосистемах. Москва: Наука, 2007. 147 с.
 16. Egorshina A.A., Luk'yantsev M.A., Khairullin R.M., Sakhabutdinova A.R. Involvement of phytohormones in the development of interaction between wheat seedlings and endophytic *Bacillus subtilis* strain 11BM // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2012. V. 59. P. 134.
 17. Bogati K., Walczak M. The Impact of Drought Stress on Soil Microbial Community, Enzyme Activities and Plants // *Agronomy*. 2022. V. 12: 189. <https://doi.org/10.3390/agronomy12010189>
 18. Кураמיшина З.М., Смирнова Ю.В., Хайруллин Р.М. Видовая отзывчивость сельскохозяйственных культур на инокуляцию семян клетками эндофитных бактерий *B. subtilis* // *Научная жизнь*. 2019. Т. 14. С. 279. <https://doi.org/10.26088/INOB.2019.91.29682>
 19. Кураמיшина З.М., Хайруллин Р.М., Смирнова Ю.В. Сортная отзывчивость *Triticum aestivum* L. на инокуляцию клетками эндофитных штаммов *Bacillus subtilis* // *Российская сельскохозяйственная наука*. 2019. № 6. С. 3. <https://doi.org/10.31857/S2500-2627201963-6>
 20. Abdelaal K., AlKahtani M., Attia K., Hafez Y., Király L., Künstler A. The role of plant growth-promoting bacteria in alleviating the adverse effects of drought on plants // *Biology*. 2021. V. 10: 520. <https://doi.org/10.3390/biology10060520>
 21. Ebrahimi M., Zamani G.R., Alizadeh Z. Antioxidant activity: a strategy for alleviating the effects of drought on *Calendula officinalis* L. // *European Journal of Medicinal Plants*. 2016. V. 15. P. 1. <https://www.researchgate.net/publication/305450047>
 22. Alharbi K., Rashwan E., Hafez E., Omara A.E.-D., Mohamed H.H., Alshaal T. Potassium Humate and Plant Growth-Promoting Microbes Jointly Mitigate Water Deficit Stress in Soybean Cultivated in Salt-Affected Soil // *Plants*. 2022 V. 11: 3016. <https://doi.org/10.3390/plants11223016>
 23. Cruz C., Cardoso P., Santos J., Matos D., Figueira E. Bioprospecting soil bacteria from arid zones to increase plant tolerance to drought: growth and biochemical status of maize inoculated with plant growth-promoting bacteria isolated from sal island, cape verde // *Plants*. 2022. V. 11: 2912. <https://doi.org/10.3390/plants11212912>
 24. Zhang L., Zhang W., Li Q., Cui R., Wang Z., Wang Y., Zhang Y.-Z., Ding W., Shen X. Deciphering the root endosphere microbiome of the desert plant *Alhagi sparsifolia* for drought resistance-promoting bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* 2020. V. 86: e02863-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.02863-19>