

УДК 581.1

ПОВЫШЕНИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ *Triticum aestivum* L. К СОЛЕВОМУ СТРЕССУ 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 01.12.22 г.

После доработки 06.12.2022 г.

Принята к публикации 06.12.2022 г.

Изучено влияние солевого стресса на растения *Triticum aestivum* L., инокулированные эндофитными штаммами *B. subtilis*. Показано, что обработка *Triticum aestivum* L. эндофитными штаммами бактерий *B. subtilis* повышает устойчивость растений к стресс-фактору, снижает развитие окислительного стресса, проникновение ионов натрия в надземную часть растений. Антистрессовый эффект и способность эндофитных штаммов *B. subtilis* снижать поглощение ионов натрия растениями *Triticum aestivum* L. может быть использовано для стимуляции роста растений при выращивании их на засоленных территориях.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, *Bacillus subtilis*, солевой стресс, рост, антиоксидантные ферменты, фенольные соединения, малоновый диальдегид, пролин, содержание натрия и калия, антистрессовый эффект

DOI: 10.31857/S001533032260070X, EDN: IBLFFL

ВВЕДЕНИЕ

Засоление почвы становится широко распространенным явлением во многих регионах мира и представляет собой глобальную проблему для сельского хозяйства. Длительное воздействие метеорологических факторов (дождь, ветер и др.) может привести к образованию полузасушливых и засушливых районов с естественным засолением почв. Антропогенная деятельность человека и применение нерациональных агротехнических приемов усугубляют ситуацию [1–3].

Засоление является одним из неблагоприятных факторов внешней среды, ограничивающих продуктивность сельскохозяйственных культур. Минерализация почвы ведет к осмотическому стрессу и нарушению ионного гомеостаза. В клетках возникает дефицит ионов K^+ и одновременно происходит увеличение концентрации ионов Na^+ внутри растений, что является токсичным для растений, затрудняется поглощение других ионов и питательных веществ, снижается скорость фотосинтеза, накопление биомассы и др. [4, 5].

Ионный дисбаланс и гиперосмотическое давление при засолении почвы ведут к развитию окислительного стресса. Возникают изменения в молекулярных и биохимических путях, участвующих в стрессоустойчивости растений, что в конечном

итоге, проявляется в снижении физиологической адаптации растений [6].

Засоление почвы, таким образом, приводит к сочетанию множественных стрессов, кумулятивно действующих на растения. Снижение мобилизации питательных веществ, гормональная нестабильность, образование активных форм кислорода (АФК), ионная токсичность и осмотический стресс ведут к ингибированию роста и развития растений в условиях засоления [7, 8].

Известно, что некоторые микроорганизмы, в том числе и бактерии, стимулирующие рост (PGPB), как *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* и др., при засолении среды повышают толерантность сельскохозяйственных культур к стрессу [4, 7, 8]. Доказано, что PGPB способны синтезировать фитогормоны (ауксины, абсцизовую кислоту, гиббереллины, цитокинин) и повышать уровень эндогенных гормонов растений, активируя так называемую индуцированную системную толерантность (ИСТ). ИСТ включает изменение физиологических и биохимических процессов растения, которые смягчают негативные последствия экологических стрессов [9–11]. Применение PGPB также может вызывать усиление антиоксидантной системы для смягчения пагубного воздействия АФК. Положительные эффекты при солевом стрессе

обусловлены и продукцией бактериальной АЦК-деаминазы (1-аминоциклопропан-1-карбоксилат), что ведет к снижению уровня этилена и считается ключевым признаком смягчения стресса RGPB [9].

Многочисленные исследования свидетельствуют, что растение может легче приспосабливаться к стрессу, мутуалистически взаимодействуя с различными бактериальными популяциями, в сравнении с отсутствием подобного рода взаимоотношений с микроорганизмами [1, 2]. Усилия ученых в настоящее время направлены на поиск эффективных штаммов микроорганизмов, повышающих солеустойчивость растений, и оценку биохимических и молекулярных реакций растений, подвергшихся засолению и бактериальной инокуляции. Цель работы — изучение влияния эндофитных штаммов бактерий *B. subtilis* 26Д и 11ВМ на повышение солеустойчивости растений *Triticum aestivum* L.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал. Объектом исследования служили растения пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Омская 35). Эксперименты проводили в лабораторных условиях. Семена перед посадкой промывали в мыльной воде, стерилизовали 96%-ым этанолом в течение 1 мин, трижды ополаскивали в дистиллированной воде, подсушивали [16]. В экспериментах использовали бактерии *B. subtilis* штамма 26Д (коллекция ВНИИСХМ, №128) и штамма 11ВМ (ВНИИСХМ, №519). Семена обрабатывали в ламинар-боксе 20-часовой культурой бактерий, выращенной на мясопептонном агаре при +37°C. Клетки бактерий отмывали раствором 0.001 М KCl. Суспензию клеток доводили до необходимой концентрации по оптической плотности. Расход бактериальной суспензии (10^6 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 искусственном равномерном освещении (среднесуточный световой интеграл 200–250 мкмоль/(м² с)) и 16-часовом фотопериоде. Использовали чернозем выщелоченный (верхний гумусовый слой).

Солевой стресс имитировали однократным поливом почвы раствором NaCl в концентрациях 3, 4, 5, 6 г соли в 1 кг почвы после посева семян растений. Контрольные растения поливали дистиллированной водой. Через 30 сут отбирали только побеги для биохимического анализа.

Получение экстрактов из растительных тканей. Побеги растений, выращенных в почве с различ-

ной концентрацией соли, 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 диальдегида) в соотношении навеска (г) : экстрагент (мл) — 1 : 10, центрифугировали 10 мин при 3500 g на центрифуге (СМ-50, “Elmi”, Латвия). Надосадочную жидкость центрифугировали еще 10 мин при 15300 g. Надосадочную жидкость использовали для определения активности ферментов и малонового диальдегида.

Определение активности ферментов и малонового диальдегида. Активность пероксидазы оценивали согласно методике Хайруллина с соавторами, исходя из количества окисленного ортофенилендиамина. 1 единица активности фермента соответствовала количеству окисленного ортофенилендиамина (Sigma, США), дающего в описанных условиях приращение оптической плотности $\Delta A_{492} = 1$ за 1 с, приведенное к сырой массе навески (мг растительного материала) [14]. Активность каталазы определяли согласно методике Королюк с соавторами. Принцип метода основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. За единицу активности каталазы принимали превращение 1 ммоль перекиси водорода за 1 с при заданных условиях, приведенное к сырой массе навески (мг растительного материала) [15].

Содержание МДА измеряли, используя метод Costa с соавторами, основанный на образовании окрашенного комплекса между МДА и тиобарбитуровой кислотой при нагревании [16]. Измерение оптической плотности окрашенных растворов проводили на спектрофотометре Unico 2800 (United products and Instruments, США).

Определение содержания фенольных соединений. Содержание растворимых фенольных соединений определяли по методу Фолина и Чокальтеу (Folin, Ciocalteu, 1927) в модификации Синглтона и Росси [17, 18]. 50 мг навески воздушно-сухих побегов растирали в ступке, добавляли 1.5 мл 80%-ого этанола, помещали в пробирки и выдерживали на водяной бане при 80°C в течение 30 мин. Экстракт центрифугировали 5 мин при 7500 g. К 0.5 мл супернатанта добавляли 2.5 мл реактива Фолина-Чокальтеу, приготовленного по прописи [17, 18]. Через 3 мин реакцию останавливали добавлением 2.0 мл 7.5%-ного раствора карбоната натрия. В холостую пробу вместо растительного экстракта вносили 0.5 мл этилового спирта. Пробирки с реакционной смесью встряхивали, оставляли на 2 ч, затем измеряли оптическую плотность спектрофотометром при длине волны 765 нм.

Содержание фенольных соединений в экстракте оценивали по калибровочной кривой.

Таблица 1. Влияние обработки семян бактериями на сырую массу надземной части (мг) 30-дневных растений пшеницы сорта Омская 35 при разной концентрации хлорида натрия в почве

Концентрация NaCl, г/кг почвы	Масса надземной части растения, мг		
	контроль	<i>B. subtilis</i> 26Д	<i>B. subtilis</i> 11ВМ
0	22.5 ± 0.9	26.9 ± 1.0*	33.1 ± 1.1*
3	21.1 ± 0.7	23.7 ± 0.7*	20.8 ± 0.9
4	18.4 ± 0.9	21.8 ± 0.8*	18.6 ± 0.7
5	18.0 ± 0.5	20.4 ± 0.7*	18.2 ± 0.6
6	17.0 ± 0.8	18.0 ± 0.9	17.3 ± 0.8

В качестве стандарта использовали галловую кислоту (Acros organics, Бельгия). Содержание фенольных соединений выражали в мг-экв. галловой кислоты.

Определение содержания свободного пролина. Экстракцию и определение свободного пролина проводили по модифицированной методике Шихалеевой с соавт. [19], используя кислый нингидриновый реактив, приготовленный без нагревания (навеску 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. Пробу инкубировали 20 мин на водяной бане при температуре 100°C, после чего быстро охлаждали до комнатной температуры на льду. 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) [19].

Определение содержания калия и натрия в побегах растений. Содержание влаги и гигровлаги определяли по ГОСТ 57059-2016 [20]. Содержание калия и натрия определяли согласно ГОСТ 32250-2013 с помощью фотометра КФК-3 (Загорский оптико-механический завод, Россия). Макроэлементы калий и натрий определяли на пламенном фотометре ФПА (Загорский оптико-механический завод, Россия) [21].

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 соли на рост растений. При солевом стрессе происходило угнетение роста растений, как необработанных, так и обработанных бактериями (табл. 1). С увеличением концентрации соли токсический эффект усиливался. Так, у неинкулированных растений при концентрации NaCl 3, 4, 5, 6 г/кг почвы наблюдали уменьшение биомассы на 6, 18, 20 и 24.4%, соответственно, в сравнении с растениями, выросшими в почве без хлорида натрия.

При отсутствии соли в почве надземная часть растений, семена которых были инокулированы клетками бактерий *B. subtilis* 26Д и 11ВМ была больше, чем у контрольных растений на 22 и 47%, соответственно.

У растений, обработанных суспензией клеток штамма *B. subtilis* 26Д, масса надземной части при тех же концентрациях NaCl была больше на 12.3, 33, 18.4, 13.3 и 6% соответственно, в сравнении с массой необработанных растений и выросших при тех же условиях. При обработке клетками *B. subtilis* 11ВМ ростовые показатели растений при действии солевого стресса достоверно не отличались от показателей у стрессированных неинкулированных растений.

Влияние соли на активность антиоксидантных ферментов, уровень МДА, содержание фенольных соединений. Анализ активности одного из антиоксидантных ферментов, каталазы, выявил, что у растений, инокулированных клетками *B. subtilis* 26Д и 11ВМ и выросших в почве без воздействия стрессового фактора, активность изначально была выше в данном эксперименте в 2.16 и 1.75 раза, соответственно, чем у неинкулированных растений (табл. 2).

Показатели активности каталазы у неинкулированных бактериями растений, выросших при различных концентрациях NaCl, были высокими

Таблица 2. Влияние обработки семян суспензией клеток *B. subtilis* на активность каталазы и пероксидазы, содержание МДА и фенолов в надземной части пшеницы сорта Омская 35 в условиях солевого стресса

Вариант	Активность каталазы, мкат/мг сырого веса	Активность пероксидазы, опт. ед./мг сырого веса с	Содержание МДА, мкмоль/г сырого веса	Содержание фенолов, мг экв. галловой кислоты/г сухого веса
Без NaCl (0 г/кг почвы)				
Контроль	1.2 ± 0.1	10.1 ± 0.05	18.1 ± 0.3	0.15 ± 0.01
<i>B. subtilis</i> 26Д	2.6* ± 0.1	16.4* ± 0.1	18.7 ± 0.3	0.16 ± 0.01
<i>B. subtilis</i> 11ВМ	2.1* ± 0.07	14.4* ± 0.07	18.3 ± 0.4	0.16 ± 0.01
NaCl (3 г/кг почвы)				
Контроль	2.1 ± 0.1	10.2 ± 0.3	21.9* ± 0.4	0.18 ± 0.01
<i>B. subtilis</i> 26Д	2.6* ± 0.03	17.6* ± 0.4	19.4* ± 0.4	0.19 ± 0.01
<i>B. subtilis</i> 11ВМ	2.6* ± 0.04	14.9* ± 0.3	19.4* ± 0.5	0.19* ± 0.01
NaCl (4 г/кг почвы)				
Контроль	2.6* ± 0.1	11.3* ± 0.5	26.2* ± 0.6	0.25* ± 0.01
<i>B. subtilis</i> 26Д	2.9* ± 0.1	18.3* ± 0.3	23.2* ± 0.3	0.28* ± 0.02
<i>B. subtilis</i> 11ВМ	2.6* ± 0.1	18.9* ± 0.2	24.2* ± 0.1	0.28* ± 0.01
NaCl (5 г/кг почвы)				
Контроль	2.2* ± 0.1	13.0* ± 0.1	34.5* ± 0.3	0.27* ± 0.02
<i>B. subtilis</i> 26Д	2.4* ± 0.1	11.6* ± 0.2	23.9* ± 0.4	0.29* ± 0.02
<i>B. subtilis</i> 11ВМ	2.4* ± 0.09	12.9 ± 0.1	24.3* ± 0.4	0.27 ± 0.02
NaCl (6 г/кг почвы)				
Контроль	1.9* ± 0.06	15.0* ± 0.7	35.2* ± 1.0	0.20* ± 0.01
<i>B. subtilis</i> 26Д	2.3* ± 0.1	9.8* ± 0.1	24.1* ± 0.2	0.20 ± 0.01
<i>B. subtilis</i> 11ВМ	2.1* ± 0.05	10.1* ± 0.08	25.8* ± 0.5	0.19 ± 0.01

по сравнению с контрольными растениями (выросшими в почве без соли) (табл. 2). Так, при внесении в почву NaCl в концентрации 3 г/кг почвы активность фермента увеличивалась в 1.8 раза, при 4 г/кг почвы – в 2.3 раза, при 5 г/кг – в 1.8 раза, при 6 г/кг почвы – в 1.7 раза.

При обработке семян клетками штамма *B. subtilis* 26Д активность каталазы в побегах была всегда выше в сравнении с необработанными растениями, растущими в чистой почве. Предобработка семян клетками штамма 11ВМ также приводила к увеличению активности каталазы в побегах в сравнении с контрольными растениями, однако стимуляция была менее выражена, чем при обработке *B. subtilis* 26Д.

Активность другого фермента, пероксидазы, в побегах неинокулированных бактериями растений с увеличением концентрации NaCl в почве возрастала (табл. 2). Так, при внесении в почву NaCl в концентрации 6 г/кг почвы активность фермента увеличивалась на 48.5%, по сравнению со значением у контрольных растений. У инокулированных бактериями *B. subtilis* 26Д растений,

выросших в почве с содержанием 3 г и 4 г соли в кг, отмечалось увеличение активности пероксидазы.

Предобработка семян клетками штамма 11ВМ приводила к достоверному увеличению активности пероксидазы в побегах в сравнении с контрольными растениями лишь при действии соли в концентрации 4 г/кг почвы. При дальнейшем увеличении концентрации соли активность фермента снижалась – при 6 г NaCl в кг почвы вплоть до уровня в побегах контрольных растений, растущих в чистой почве.

Содержание МДА как у инокулированных, так и неинокулированных растений при засолении почвы возрастало так, что с увеличением концентрации соли повышался и уровень МДА (табл. 2). У неинокулированных клетками бактерий обоих штаммов растений уровень МДА при концентрации NaCl 3, 4, 5, 6 г/кг почвы повышался на 20.9, 44.7, 90.6 и 94.5% (в 1.94 раза), по сравнению с контрольными растениями, выросшими в почве без содержания соли.

У инокулированных клетками бактерий растений уровень МДА был ниже, чем у неинокулиро-

Таблица 3. Влияние обработки семян суспензией клеток *B. subtilis* на содержание пролина в тканях надземной части 30-дневных растений пшеницы Омская 35 в условиях солевого стресса

Концентрация NaCl, г/кг почвы	Содержание пролина, мкмоль/г сырой массы		
	контроль	<i>B. subtilis</i> 26Д	<i>B. subtilis</i> 11ВМ
0	125.7 ± 4.5	165.0* ± 3.9	155.1* ± 1.8
3	215.0* ± 6.7	220.2* ± 1.6	255.1* ± 5.5
4	220.3* ± 3.4	215.9* ± 2.4	290.0* ± 9.0
5	322.5* ± 6.8	405.1* ± 4.2	445.8* ± 4.9
6	342.5* ± 8.8	415.9* ± 5.0	455.0* ± 9.0

Таблица 4. Изменение содержания натрия и калия (% к массе золы) в тканях надземной части пшеницы сорта Омская 35 под влиянием суспензии клеток бактерий *B. subtilis*

Концентрация NaCl, г/кг почвы	Контроль		<i>B. subtilis</i> 26Д		<i>B. subtilis</i> 11ВМ	
	К, %	Na, %	К, %	Na, %	К, %	Na, %
0	5.2 ± 0.1	0.20 ± 0.01	5.4* ± 0.1	0.20 ± 0.01	4.9* ± 0.08	0.20 ± 0.01
3	4.1 ± 0.05	1.09 ± 0.01	5.3* ± 0.1	0.77* ± 0.04	4.2 ± 0.06	0.77* ± 0.04
4	3.9* ± 0.1	1.20* ± 0.02	4.9* ± 0.1	0.88* ± 0.01	3.8 ± 0.1	1.09* ± 0.01
5	3.5* ± 0.05	2.20* ± 0.02	3.7 ± 0.07	1.44* ± 0.1	3.7 ± 0.1	1.60* ± 0.1
6	2.6* ± 0.08	2.28* ± 0.01	3.5* ± 0.07	1.64* ± 0.05	3.4* ± 0.01	2.04* ± 0.02

ванных при тех же концентрациях соли. Так, у растений, инокулированных клетками бактерий *B. subtilis* 26Д, уровень МДА при концентрациях NaCl 3, 4, 5, 6 г/кг почвы был на 11.4, 11.4, 30.7 и 31.5% ниже, соответственно, чем у неинокулированных при той же концентрации. У растений, инокулированных клетками бактерий *B. subtilis* 11ВМ, уровень МДА при концентрации NaCl 3, 4, 5, 6 г/кг почвы был на 11.4, 7.6, 29.5 и 26.7% ниже, соответственно, чем у неинокулированных при той же концентрации.

Содержание фенольных соединений с увеличением содержания NaCl повышалось как у необработанных, так и обработанных бактериями растений (табл. 2). Так, у необработанных бактериями растений при концентрации NaCl 3, 4, 5, 6 г/кг почвы уровень фенольных соединений повышался на 16, 56, 68 и 27%, соответственно. У растений, обработанных клетками бактерий обоих штаммов, содержание фенольных соединений в побегах было достоверно больше лишь при росте растений в почве, содержащей 4 г/кг соли (штаммом 26Д – на 12%, штаммом 11ВМ – 15%), а при обработке клетками штамма 26Д и при концентрации 5 г/кг почвы по сравнению с контрольными растениями, выросшими в почве без содержания соли. При концентрации NaCl 6 г/кг почвы содержание фенольных соединений в побегах было примерно равно таковому у побегов растений, растущих в почве с минимальной концентрацией соли (3 г/кг).

Влияние соли на уровень пролина. Изменение содержания пролина увеличивалось по мере возрастания интенсивности солевого стресса (табл. 3). У необработанных бактериями растений при концентрации NaCl 3 и 4 г/кг почвы содержание пролина повышалось на 71–75.3%, а при 5 г/кг и 6 г/кг – в 2.5–2.7 раза, соответственно. У обработанных клетками *B. subtilis* 26Д растений уровень пролина, так же, как и у неинокулированных, повышался, однако достоверные отличия по сравнению с необработанными и выросшими в тех же условиях, были обнаружены при концентрации соли 5 г/кг и 6 г/кг, показатели были выше в среднем 1.2 раза. У растений, инокулированных бактериями *B. subtilis* 11ВМ уровень пролина в побегах при концентрации NaCl в почве 3, 4, 5, 6 г/кг был выше на 18.6 и 31.6%, в 1.4 раза и 1.3 раза, соответственно, чем у неинокулированных при тех же условиях.

Влияние соли на содержание калия и натрия в побегах растений. Увеличение концентрации NaCl в почве приводило к повышению содержания Na⁺ и уменьшению количества ионов K⁺ в побегах растений (табл. 4). У инокулированных бактериями растений, растущих в засоленной почве, содержание ионов Na⁺ в побегах было меньше, а ионов K⁺ – больше по сравнению с неинокулированными растениями. Так, у инокулированных клетками *B. subtilis* 26Д и 11ВМ растений при концентрации NaCl 3 г/кг почвы, содержание Na⁺ в

побегах было меньше в среднем на 29.3%; при концентрации NaCl 4, 5, 6 г/кг почвы — на 26.7 и 9.2%; 34.5 и 27.3%; 28.1 и 10.5%, соответственно, в сравнении с необработанными.

Обработка семян клетками штамма 11ВМ практически не влияла на содержание калия в побегах, за исключением варианта с концентрацией соли 6 г/кг. У растений пшеницы, предварительно инокулированных бактериями *B. subtilis* 26Д, содержание калия в побегах при концентрации NaCl в почве 3, 4, 5, 6 г/кг было больше на 29.3, 25.6, 5.7, 34.6%, соответственно, чем у неинокулированных.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наличие соли в почве вызывает значительные изменения физиологических и морфологических показателей растений [4, 7]. Засоление ведет к развитию осмотического стресса, во время которого растения сталкиваются с компромиссом между получением воды и риском обезвоживания клеток, что в конечном итоге подавляет рост и деление клеток [4]. В наших экспериментах подавление роста под действием соли наблюдалось как у необработанных растений, так и у обработанных бактериями *B. subtilis*. Более высокие показатели роста в условиях засоления у растений, инокулированных бактериями, по сравнению с неинокулированными, были отмечены только в отношении *B. subtilis* 26Д, хотя оба штамма проявляли ростостимулирующий эффект на незасоленной почве. Известно, что оба исследованных штамма продуцируют различные биологически активные вещества, в том числе и фитогормоны, способны улучшать минеральное питание растений, защищать от патогенов, стимулировать рост корней и побегов, повышая тем самым стрессоустойчивость растений [22, 23]. Повышенный рост инокулированных растений в контролируемой и стрессовой среде, скорее всего, связан с синтезом ИУК PGPB [4].

Наряду с осмотическим стрессом еще одним негативным эффектом засоления является генерация АФК, вызывающих окислительный стресс. Накопление АФК в цитоплазме растительных клеток увеличивает риск повреждения мембран клеток и органелл, снижает стабильность белков и нуклеиновых кислот. В растениях в ответ на стрессовый фактор активируются различные системы антиоксидантной защиты, в которых участвуют такие ферменты, как пероксидаза, каталаза и др [24, 25].

У растений, инокулированных бактериями, наблюдались повышенные активности каталазы и пероксидазы (особенно у штамма 26Д), вследствие чего такие растения испытывали меньший стресс в условиях засоления. Оба фермента, как известно, участвуют в удалении перекиси водоро-

да, что уменьшает силу негативного ее влияния на рост растений через различные механизмы [1, 2].

Уровень малонового диальдегида у обработанных бактериями растений был ниже, чем у неинокулированных. Повышенное накопление МДА при солевом стрессе может быть связано с повреждением мембран солью [3, 4]. Бактеризация семян, таким образом, может способствовать, вероятно, сохранению целостности мембранных структур растительных клеток пшеницы.

Известно, что в условиях солевого стресса метаболизм модифицируется и осмопротекторы (например, пролин) накапливаются для поддержания ионного баланса в клетке [30]. Было обнаружено, что индуцированное солевым стрессом накопление пролина было значительно выше у инокулированных бактериями растений. Проллин, как известно, улучшает способность клеток удерживать воду, участвует в регулировании осмотического давления и обладает другими защитными функциями, не нарушая нормальный обмен веществ. Считается, что осмотически активные вещества помогают растениям противостоять экстремальному осмотическому стрессу на протяжении всего жизненного цикла растения, защищают белки и другие клеточные мембраны от различных стрессовых воздействий [7]. Исследования показали, что под влиянием клеток штамма 11ВМ при выращивании растений в условиях солевого стресса пролина накапливалось больше в надземной части пшеницы, чем под влиянием штамма 26Д. Егоршиной было показано, что обработка семян пшеницы клетками бактерий *B. subtilis* 26Д и 11ВМ приводит к увеличению содержания АБК в побегах растений, что и могло привести к увеличению уровня синтеза пролина, так как известно, что АБК участвует в регуляции синтеза пролина [23].

Фенольные соединения играют жизненно важную роль в устойчивости растений к абиотическим стрессам, как, например, антиоксиданты в виде сложных эфиров, флавоноидов и других веществ, а также способствуя балансу минеральных компонентов в некоторых растительных органах [20, 26].

В большинстве случаев хлорид натрия является основным солевым токсикантом, и его негативный эффект может наблюдаться в виде снижения продуктивности или гибели растений. Засоление почвы вызывает у растений осмотический и токсический стрессы. Устойчивость растительных организмов к таким неблагоприятным факторам, наряду с другими механизмами, связана, в том числе с уменьшением количества ионов Na^+ , поступающих в растение и оттока ионов K^+ [1, 6, 9]. Установлено, что обработка растений бактериями в условиях засоления снижало поступление Na^+ в побеги. Аналогичные результаты были получены при использовании в экспериментах и

других видов бактерий [7]. Известно, что стимулирующие рост растений ризобактерии (PGPR) модулируют архитектуру корней, расширяя ризосферу, уменьшая долю негативно действующих ионов и помогая, тем самым, растению поддерживать ионное равновесие [24]. Известно, что бактерии *B. subtilis*, синтезируют гормоны и разнообразные органические кислоты. Спектр кислот, синтезируемых *B. subtilis* 11BM, более разнообразен, и бактерии этого штамма синтезируют их значительно больше, чем *B. subtilis* 26Д [23]. Наличие органических кислот, продуцируемых бактериями *B. subtilis* 11BM в ризосфере, может увеличивать степень диссоциации ионов, в том числе Na^+ , что наряду с некоторыми негативными процессами, например, усилением перекисного окисления липидов, косвенным свидетельством которому является накопление МДА, большее, чем при действии бактерий *B. subtilis* 26Д, могло повышать уровень ионов натрия, поступающих в растения, которые конкурировали с ионами калия, чем и может быть объяснен более низкий уровень содержания этого иона в побегах растений, инокулированных клетками штамма 11BM.

Таким образом, исследованные эндофитные штаммы *B. subtilis* 26Д и 11BM обладают хорошим потенциалом для адаптации растений к солевому стрессу, однако протекторный эффект у штамма 26Д выражен лучше, чем у 11BM. Исследованные эндофиты повышают активность антиоксидантных ферментов, снижают уровень МДА как продукта перекисного окисления липидов; повышают уровень фенольных соединений и пролина; уменьшают количество поступающих в ткани ионов натрия и могут быть применены для повышения устойчивости растений к солевому стрессу.

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. Ji C., Tian H., Wang X., Song X., Ju R., Li H., Gao Q., Li C., Zhang P., Li J., Hao L., Wang C., Zhou Y., Xu R., Liu Y. et al. *Bacillus subtilis* HG-15, a halotolerant rhizoplane bacterium, promotes growth and salinity tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) // BioMed Research International. 2022. V. 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/9506227>
2. Gamalero E., Bona E., Todeschini V., Lingua G. Saline and arid soils: impact on bacteria, plants, and their interaction // Biology. 2020. V. 9: 116. <https://doi.org/10.3390/biology9060116>
3. Polash M.A., Sakil M.A., Hossain M.A. Plants responses and their physiological and biochemical defense mechanisms against salinity: A review // Trop. Plant Res. 2019. V. 6. P. 250.
4. Fortt J., González M., Morales P., Araya N., Remonsellez F., Coba de la Peña T., Ostria-Gallardo E., Stoll A. Bacterial modulation of the plant ethylene signaling pathway improves tolerance to salt stress in lettuce (*Lactuca sativa* L.) // Front. Sustain. Food Syst. 2022. V. 6: 768250. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.768250>
5. Ren C.-G., Kong C.-C., Liu Z.-Y., Zhong Z.-H., Yang J.-C., Wang X.-L., Qin S. A perspective on developing a plant 'holobiont' for future saline agriculture // Front. Microbiol. 2022. V. 13: 763014. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.763014>
6. Gao Y., Zou H., Wang B., Yuan F. Progress and applications of plant growth-promoting bacteria in salt tolerance of crops // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23: 7036. <https://doi.org/10.3390/ijms23137036>
7. Krishnamoorthy R., Roy Choudhury A., Walitang D.I., Anandham R., Senthilkumar M., Sa T. Salt stress tolerance-promoting proteins and metabolites under plant-bacteria-salt stress tripartite interactions // Appl. Sci. 2022. V. 12: 3126. <https://doi.org/10.3390/app12063126>
8. Gupta A., Mishra R., Rai S., Bano A., Pathak N., Fujita M., Kumar M., Hasanuzzaman M. Mechanistic insights of plant growth promoting bacteria mediated drought and salt stress tolerance in plants for sustainable agriculture // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23: 3741. <https://doi.org/10.3390/ijms2307374>
9. Kumar A., Singh S., Gaurav A.K., Srivastava S., Verma J.P. Plant growth-promoting bacteria: biological tools for the mitigation of salinity stress in plants // Front. Microbiol. 2020. V. 11: 1216. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01216>
10. Hameed A., Ahmed M.Z., Hussain T., Aziz I., Ahmad N., Gul B., Nielsen B.L. Effects of salinity stress on chloroplast structure and function // Cells. 2021. V. 10: 2023. <https://doi.org/10.3390/cells10082023>
11. Ahmad R., Anjum M.A., Khalid M.F., Saqib M., Hassan A. Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms in plants under salt stress // Plant Abiotic Stress Tolerance / Eds. Hasanuzzaman M. et al. Springer, Cham. 2019. P. 475. https://doi.org/10.1007/978-3-030-06118-0_8
12. Pal K.K., Dey R., Sherathia D.N., Devidayal Mangalassery S., Kumar A., Rupapara R.B., Mandalaya M., Rawal P., Bhadania R.A., Thomas M., Patel M.B., Maida P., Nawade B.D., Ahmad S., Dash P., Radhakrishnan T. Alleviation of salinity stress in peanut by application of endophytic bacteria // Front. Microbiol. 2021. V. 12: 650771. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.650771>
13. 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.
14. 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.
15. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. 1988. № 1. С. 16.

16. 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.
17. Folin O., Ciocalteu O. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins // J. Biol. Chem. 1927. V. 73. P. 627.
18. Singleton V.L., Rossi J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolyb-dicphoungstic acid reagent // Am. J. Enol. Vitic. 1965. V. 16. P. 144.
19. 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. С. 168.
20. ГОСТ 57059-2016. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. экспресс метод определения влаги. Москва: Стандартинформ, 2020. 6 с. <https://internet-law.ru/gosts/gost/62895/>
21. ГОСТ 32250-2013 (ISO 7485:2000). Корма, комбикорма. Метод определения содержания калия и натрия с применением пламенно-эмиссионной спектрометрии. Москва: Стандартинформ, 2020. 13 с.
22. Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus* Соhс в агроэкосистемах. Москва: Наука, 2007. 147 с.
23. 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.
24. Fatima A., Hussain S., Hussain S., Ali B., Ashraf U., Zulfikar U., Aslam Z., Al-Robai S.A., Alzahrani F.O., Hano C., El-Esawi M.A. Differential morphophysiological, biochemical, and molecular responses of maize hybrids to salinity and alkalinity stresses // Agron. 2021. V. 11: 1150. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061150>
25. Khan I., Muhammad A., Chattha M.U., Skalicky M., Bilal Chattha M., Ahsin Ayub M., Rizwan Anwar M., Soufan W., Hassan M.U., Rahman M.A., Brestic M., Zivcak M., El Sabagh A. Mitigation of salinity-induced oxidative damage, growth, and yield reduction in fine rice by sugarcane press mud application // Front. Plant Sci. 2022. V. 13: 840900. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.840900>
26. Santander C., Vidal G., Ruiz A., Vidal C., Cornejo P. Salinity eustress increases the biosynthesis and accumulation of phenolic compounds that improve the functional and antioxidant quality of red lettuce // Agronomy. 2022. V. 12: 598. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030598>