

ГОРМОНПРОДУЦИРУЮЩИЕ И РОСТ-СТИМУЛИРУЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ СНИЖАЮТ УРОВЕНЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ НА ФОНЕ ЗАСОЛЕНИЯ

Архипова Т.Н.*, Кузьмина Л.Ю., Кудоярова Г.Р.

Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Россия, 450054, Уфа, Проспект Октября, 69, *E-mail: TNArhipova@mail.ru

Резюме

Применение рост-стимулирующих бактерий можно рассматривать как способ повышения устойчивости растений к засолению и изучению механизмов их действия уделяется много внимания. Проводили бактеризацию семян пшеницы *Triticum aestivum* L. Омская 35 суспензией клеток фосфатмобилизующей бактерии *Advenella kashmirensis* IB-K1, цитокининпродуцирующей *Bacillus subtilis* IB-22 и *Pseudomonas extremaustralis* IB-K13-1A, характеризующейся высоким уровнем фосфатмобилизации и продукции ауксинов. На фоне 100 мМ NaCl обработка семян фосфатмобилизующими бактериями не оказывала влияния на рост проростков пшеницы, в то время как обработка гормонпродуцирующими бактериями давала положительный эффект. Присутствие гормонпродуцирующих бактерий защищало растения от оксидативного стресса, о чем свидетельствуют более низкие значения малонового диальдегида, но наилучшее действие оказывали цитокининпродуцирующие бактерии. Максимальное содержание пролина наблюдалось у растений при обработке *A. kashmirensis* IB-K1. Оно в 2.5 раза превышало уровень пролина при обработке семян *B. subtilis* IB-22 и в 1.5 в случае обработки *P. extremaustralis* IB-K13-1A. Делается вывод о влиянии микробных гормонов на снижение уровня активных форм кислорода и о том, что повышение скорости роста при бактеризации семян пшеницы гормонпродуцирующими микроорганизмами не коррелирует с накоплением пролина.

Ключевые слова: засоление, PGPR, фитогормоны, оксидативный стресс, пшеница

Цитирование: Архипова Т.Н., Кузьмина Л.Ю., Кудоярова Г.Р. Гормонпродуцирующие и рост-стимулирующие микроорганизмы снижают уровень оксидативного стресса у растений пшеницы на фоне засоления. *Биомика*. 2018. Т. 10(4). С. 365-371. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-47

HORMONE-PRODUCING AND GROWTH-STIMULATING BACTERIA REDUCE THE LEVEL OF OXIDATIVE STRESS IN SALT-STRESSED WHEAT PLANTS

*Arhipova T.N., Kuzmina L. Yu, Kudoyarova G.R.

Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre, RAS, Russia, 450054, Ufa, Pr. Oktyabrya, 69

*E-mail: TNArhipova@mail.ru

Resume

Soil salinity inhibits growth of glycophyte plants, to whom cultivated plants belong, resulting in their decreased productivity. The area of salinized soil increases due to aridness of climate and watering, demanding the study of the mechanisms of growth inhibiting action of salinity and an increase in salt

resistance. Application of growth promoting bacteria is a mean to increase plant resistance to salinity and the study of the mechanisms of their action attracts great attention. The goal of the present work was in testing suggestion that the increase in salt resistance brought about by growth promoting bacteria is due to plant protection from oxidative stress.

We performed bacterization of wheat seeds with phosphate mobilizing bacteria *Advenella kashmirensis* IB-K1, cytokinins producing *Bacillus subtilis* IB-22 and *Pseudomonas extremaustralis* IB-K13-1 characterized by high level of phosphate mobilization and auxins production. Seeds of wheat Omskaya 35 (*Triticum aestivum* L.) were placed into Petri dishes on water or 100 mM NaCl. On the third day of experiment, seedlings were weighted and MDA, proline concentration was estimated.

On the background of 100 mM NaCl, seed treatment with phosphate mobilizing bacteria did not influence the growth of wheat seedlings, whereas the treatment with hormone producing bacteria resulted in positive effect. Presence hormone producing bacteria protected plants from oxidative stress suggested by lower levels of MDA, but the best results were obtained with cytokinins producing bacteria. Maximal accumulation of proline was detected in the plants treated with *A. kashmirensis* IB-K1 that was 2.5 higher than in the variants with the seed treatment with *B. subtilis* IB-22 and 1.5 higher in the variant with *P. extremaustralis* IB-K13-1A treatment.

It is concluded that the effect of microbial hormones on the reduction of the level of reactive oxygen species and that the increase in growth rate during bacterization of wheat seeds by hormone-producing microorganisms is not associated with proline accumulation.

Key words: salinity, PGPR, phytohormones, oxidative stress, wheat

Citation: Arkhipova T.N., Kuzmina L.Yu, Kudoyarova G.R. Hormone-producing and growth-stimulating bacteria reduce the level of oxidative stress in salt-stressed wheat plants. *Biomics*. 2018. V.10(4). P. 365-371. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-47 (In Russian)

Funding: This work was partially supported by RFBR Grant No 18-04-00577/18.

Введение

Проблема засоления почвы, ее деградация и сокращение в связи с этим пахотных земель является одной из общемировых проблем. При засолении почвы ингибируется рост гликофитных растений, к которым относятся возделываемые культуры, и снижается их урожайность. Из-за усиливающейся аридности климата и применения поливного земледелия площади засоленных почв постоянно растут, что требует изучения механизмов роста-ингибирующего действия засоления и повышения солеустойчивости растений. Интродукция в ризосферу растений рост-стимулирующих бактерий является одним из эффективных способов повышения устойчивости растений к засолению [Воеводина, Балакай (Voevodina, Balakai), 2017; Numan et al., 2018]. Однако механизмы защитного действия рост-стимулирующих бактерий остаются не до конца понятными. Известно, что большинство стрессовых воздействий, включая засоление, сопровождается оксидативным стрессом и защита от него растений обеспечивает повышение солеустойчивости [Abd-Elgawad et al., 2016]. Вместе с тем, данные литературы свидетельствуют о способности фитогормонов ауксинов и цитокининов индуцировать реакции, направленные на защиту растений от оксидативного стресса, повышая тем

самым их стресс-устойчивость [Merewitz et al., 2011; Kim et al., 2013]. Цель данной работы – проверить предположение о том, что повышение солеустойчивости растений при действии гормонпродуцирующих и рост-стимулирующих бактерий связано с защитой растений от оксидативного стресса.

Материалы и методы

Объектами исследований служили штаммы из Коллекции микроорганизмов Уфимского института биологии УФИЦ РАН, выделенные из почв сельскохозяйственного назначения (*Bacillus subtilis* IB22) и из грунтов пещеры Киндерлинская, Республика Башкортостан (*Advenella kashmirensis* IB-K1 (ВКМ В-3251) и *Pseudomonas extremaustralis* IBK13-1A (ВКМ В-3249)).

Бактериальные инокуляты для обработки семян получали культивированием штаммов на средах: бактерии рода *B. subtilis* IB-22 росли на среде K1G [крахмал (10 г/л), кукурузный экстракт, пептон, дрожжевой экстракт (3 г/л каждого), (NH₄)₂SO₄ and KН₂PO₄ (2 г/л каждого), *A. kashmirensis* IB-K1 – на среде Г1G (вариант среды K1G, где вместо крахмала была использована глюкоза в той же концентрации) и *P. extremaustralis* IB-K13-1A на среде Кинг Б [King, 1954]. Штаммы микроорганизмов культивировали в

колбах Эрленмейера с соответствующей питательной средой на шейкерах – бациллы в течение 72 ч при температуре 37°C, грамотрицательные бактерии – 48 часов при 28°C. Биомассу отделяли центрифугированием и разводили в стерильной водопроводной воде, создавая плотность инокулята при обработке 10⁵ КОЕ/семя.

Стерилизацию семян мягкой пшеницы сорта Омская 35 (*Triticum aestivum* L.) проводили их замачиванием в растворе 96% этанола и 3% H₂O₂ (1:1) в течение 3 минут. Затем, после многократной промывки семян стерильной водопроводной водой, проводили их бактеризацию. Для этого семена обрабатывали необходимым количеством биомассы известного титра с добавлением Na-карбоксиметилцеллюлозы (4%).

Семена пшеницы раскладывали по 20 штук в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную 4 мл стерильной водопроводной воды или 100 мМ раствором NaCl. Контролем служил вариант без обработки семян микроорганизмами. Чашки Петри находились в темноте при комнатной температуре в течение трех суток. В конце эксперимента оценивали длину coleoptilia, длину корней, сырую массу проростков, содержание в тканях растений малонового диальдегида (МДА) и пролина. Содержание МДА определяли согласно [Малый практикум по физиологии растений, 1994]. Определение содержания свободного пролина в образцах растений пшеницы (0,2 - 0,3 г проростков) проводили по классическому методу Bates [Bates et al., 1973] в модификации Калинкиной с соавт.

[Калинкина и др., 1990] с использованием кислого нингидринового реактива.

Способность штаммов расти при разном градиенте содержания NaCl изучали в жидком бульоне Хоттингера при концентрациях от 1 до 10% с шагом в один процент. Питательную среду засеивали клетками 24ч культуры (0.1 мл с титром 10⁶ КОЕ/мл). Через 5 сут оценивали рост штаммов.

Статистическую обработку данных проводили по стандартным программам MS Excel. На рисунке и в таблице представлены средние значения и ошибка средней. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Использованные нами бактерии характеризуются различной способностью к фосфатмобилизации и продукции гормонов: *P. extremaustralis* IB-K13-1A, наряду с высоким уровнем фосфатмобилизации, способна продуцировать ауксины [Кузьмина и др. (Kuzmina et al.), 2015], *B. subtilis* IB-22 является цитокининпродуцирующей культурой [Arkhipova et al., 2005], *A. kashmirensis* IB-K1 имеет высокую фосфатмобилизующую активность (табл. 1). Однако все использованные в работе культуры микроорганизмов можно отнести к галотолерантным бактериям: штамм *P. extremaustralis* IB-K13-1A мог расти при концентрации соли в среде культивирования до 4 - 5% NaCl, а штаммы *B. subtilis* IB-22 и *A. kashmirensis* IB-K1 способны расти при 7% NaCl.

Таблица. 1

Влияние бактеризации семян пшеницы на уровень малонового диальдегида (МДА) и пролина в 3-х суточных проростках (побег + корень) пшеницы в норме и при засолении (100 мМ NaCl).
Effect of seed bacterization on the MDA and proline content of 3-days old wheat seedlings (shoot + root) under normal conditions and in the presence of 100 mM NaCl

Обработка семян суспензией клеток Seed bacterization of microbe biomass	МДА, нМ/г сырой массы MDA, nM/g fresh mass	Концентрация пролина, мкМ/г сырой массы Proline content, μM/g fresh mass
Без добавления NaCl Without NaCl		
Контроль (без бактеризации) control without treatment	31,8±0,2 ^a	1,43±0,03 ^a
<i>A. kashmirensis</i> IB-K1	33,7±0,3 ^a	1,77±0,1 ^б
<i>P. extremaustralis</i> IB-K13-1A	34,1±0,2 ^a	2,53±0,07 ^в
<i>B. subtilis</i> IB-22	33,5±1,1 ^a	2,36±0,02 ^в
В присутствии 100 мМ NaCl With 100 mM NaCl		
Контроль (без бактеризации) control without treatment	63,0±0,3 ^в	1,79±0,11 ^б
<i>A. kashmirensis</i> IB-K1	45,8±4,2 ^{бв}	4,06±0,05 ^г
<i>P. extremaustralis</i> IB-K13-1A	46,0±0,6 ^б	2,49±0,07 ^в
<i>B. subtilis</i> IB-22	35,8±3,5 ^a	1,66±0,03 ^б

В таблице указаны средние значения и ошибки средней. Значимые различия между средними в столбцах обозначены различными буквами (p≤0,05, ANOVA).

Values are means±SE. Significantly different means in columns are labeled with different letters (p ≤0.05, ANOVA).

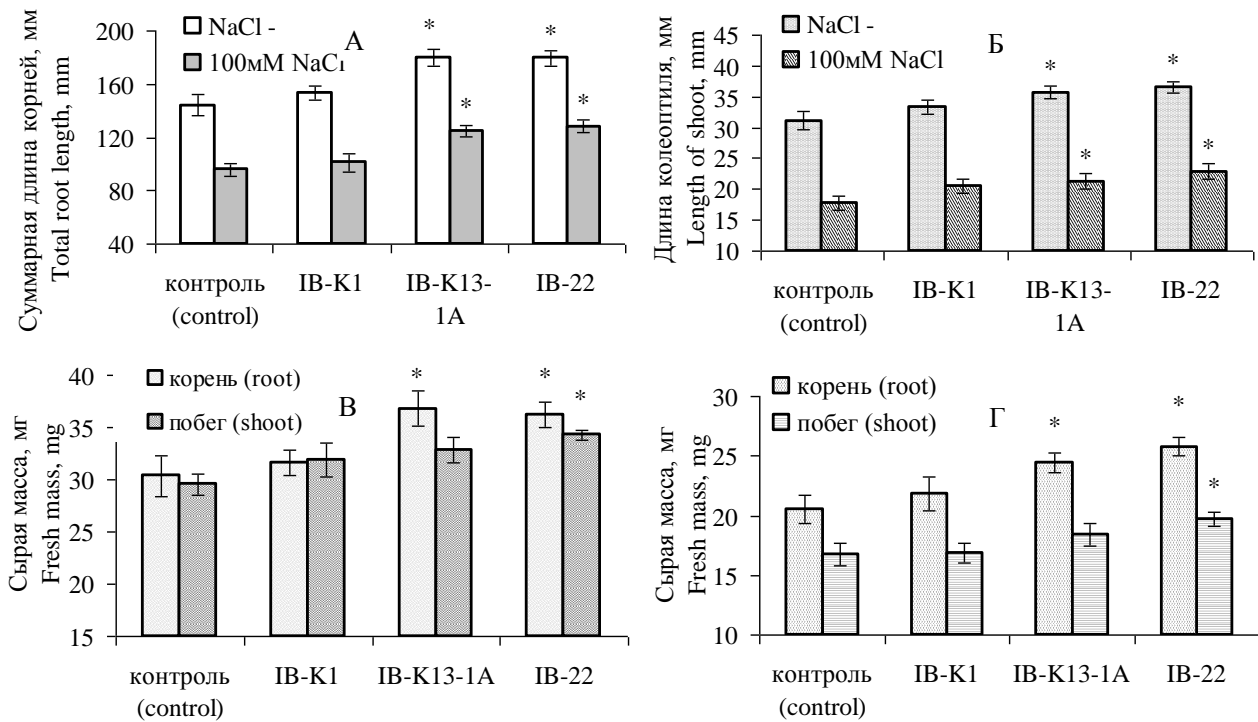


Рис. 1. Влияние бактеризации семян фосфатмобилизующей бактерией *A. kashmirensis* IB-K1, фосфатмобилизующей и ауксинпродуцирующей бактерией *P. extremaustralis* IB-K13-1A и цитокининпродуцирующей бактерией *B. subtilis* IB-22 на рост 3-х суточных проростков пшеницы.

(А) - суммарная длина всех корней, (Б) - длина coleoptilia, сырая масса проростков без воздействия соли (В) и при 100 мМ NaCl (Г). *Различия средних по сравнению с контролем без бактеризации достоверны при $p \leq 0.05$, *t*-тест.

Fig. 1. Effect of seed bacterization by phosphate-mobilizing bacteria *A. kashmirensis* IB-K1, auxin producing bacteria *P. extremaustralis* IB-K13-1A and cytokinin-producing bacteria *B. subtilis* IB-22 on the growth of 3-days old wheat seedlings. (A) - sum root length, (B) - shoot length and fresh mass of seedlings without NaCl (C) and with 100 mM NaCl (D). *The differences in the mean compared to the control without bacterization are significant ($p \leq 0.05$, *t*-test).

Из рис.1 можно видеть, что обработка семян фосфатмобилизующей бактерией *A. kashmirensis* IB-K1 не оказывала влияния на рост проростков пшеницы ни на фоне 100 мМ NaCl, ни в отсутствии засоления. В тоже время обработка гормонпродуцирующими бактериями *P. extremaustralis* IB-K13-1A и *B. subtilis* IB-22 давала положительный эффект. В отсутствии засоления на этой стадии роста растений пшеницы бактериализация в большей степени повлияла на рост корней, чем побегов: корни стали длиннее на 24% в обоих вариантах бактериальной обработки (*P. extremaustralis* IB-K13-1A и *B. subtilis* IB-22) и увеличилась их масса на 21% и 18% соответственно. Прибавка длины и массы побега была максимальной при обработке цитокининпродуцирующей бактерией *B. subtilis* IB-22 и составила 17% и 15% соответственно, против 14% и 11% при бактериализации

семян клетками ауксинпродуцирующей бактерией *P. extremaustralis* IB-K13-1A. Т.е. мы наблюдали ожидаемое ускорение роста проростков под действием гормонпродуцирующих микроорганизмов.

Присутствие 100 мМ NaCl тормозило рост проростков пшеницы: длина и масса побега была на 40%, а суммарная длина и масса корней на 30% меньше, чем у растений без бактериализации, выращенных на воде. На фоне засоления при обработке семян пшеницы цитокининпродуцирующей бактерией наблюдалось удлинение корней и побегов на 33% и 29%, соответственно и увеличение сырой массы и корней, и побегов на 20%, в то время как присутствие ауксинпродуцирующей бактерии стимулировало только рост корней. Корни в этом случае удлинились на 30%, а прибавка их сырой массы составила 15%. Следовательно, применение гормонпродуцирующих бактерий в данных условиях

на данном этапе развития растений повышает устойчивость растений к засолению.

Общим интегральным процессом, характеризующим негативное действие стрессоров различной природы, включая засоление, является усиление генерации активных форм кислорода (АФК). Активные формы кислорода постоянно генерируются клеточными органеллами в качестве метаболического побочного продукта и функционируют как сигнальные молекулы, но их синтез резко возрастает в стрессовых условиях. АФК являются крайне реакционными и их взаимодействие с белками, липидами, нуклеиновыми кислотами приводит к нарушению структуры и функции мембран, активности ферментов, мутагенезу и, в итоге, к остановке клеточного цикла и апоптозу [ApeI, Hert, 2004]. Интегральным маркером уровня окислительного стресса, возникающего при нарушении баланса между образованием АФК и их разрушением, считается интенсивность образования малонового диальдегида (МДА) – конечного продукта перекисного окисления липидов. Уменьшение МДА в клетках при стрессе свидетельствует о сохранении липидных компонентов биомембран и о большей устойчивости растений к абиотическим факторам. В нашем эксперименте внесение гормонпродуцирующих ростстимулирующих бактерий защищало растения пшеницы от окислительного стресса, о чем свидетельствуют более низкие по сравнению с контролем значения концентрации МДА (табл. 1). При засолении наилучшее действие оказывали цитокининпродуцирующие бактерии: уровень МДА в этом случае составил 50% от содержания МДА в контрольных, неинокулированных растениях. При обработке семян ауксинпродуцирующей бактерией уровень МДА составил 70% от контроля. Таким образом, можно сделать вывод о роли гормонов в снижении уровня активных форм кислорода. В литературе есть сведения об опытах с трансгенными растениями со сверхэкспрессией гена YUCCA, кодирующего фермент, обеспечивающий синтез ауксинов, когда было показано, что мутантные растения лучше переносят засуху по сравнению с растениями дикого типа, и авторы объясняют это более эффективной защитой трансгенных растений от окислительного стресса благодаря повышенной продукции ауксинов [Kim et al., 2013].

В функционировании защитных систем растения значительная роль отводится пролину [Szatados, Savoure, 2009; Carvalho et al., 2013]. Увеличение концентрации пролина при воздействии абиотических стрессовых факторов (засолении, засухе, УФ-облучении, тяжелых металлов и др.) считается универсальной реакцией растений. В

настоящее время в литературе преобладает гипотеза о полифункциональных биологических свойствах пролина в растениях в условиях стресса. В нашем эксперименте бактериализация семян увеличивала содержание пролина на 25%, 77% и 65% для *A. kashmirensis* IB-K1, *P. extremaustralis* IB-K13-1A и *B. subtilis* IB-22, соответственно по сравнению с контрольными, неинокулированными растениями в отсутствие засоления (табл. 2). В литературе есть данные о том, что накопление пролина происходит в ответ на инфицирование растений авирулентными патогенами [Fabro et al., 2004], то есть штаммы *P. extremaustralis* IB-K13-1A и *B. subtilis* IB-22 можно рассматривать как слабые патогены. При 100 мМ хлоридном засолении у проростков пшеницы, семена которых не обрабатывались бактериями, содержание пролина возросло на 25%. Присутствие *A. kashmirensis* IB-K1 на фоне засоления приводило к 2,5 кратному увеличению содержания пролина в обработанных растениях по сравнению с контролем. В то время как при обработке семян *P. extremaustralis* IB-K13-1A уровень пролина был повышенным, но одинаковым в обоих вариантах опыта (в норме и при стрессе), а в присутствии цитокининпродуцирующей бактерии *B. subtilis* IB-22 содержание пролина на засолении не отличалось от контроля (неинокулированных растений, которые росли в отсутствие засоления). Полученные нами данные согласуются с мнением J. Widodo с соавторами [Widodo et al., 2009] о том, что накопление пролина не всегда коррелирует с повышением скорости роста растений и не является адаптивным ответом на засоление. Таким образом, в наших экспериментах именно в вариантах обработки семян гормонпродуцирующими бактериями наблюдалось их ростстимулирующее действие на фоне засоления, в отличие от бактериализации семян *A. kashmirensis* IB-K1, проявляющей только фосфатмобилизующую активность.

Работа выполнена с использованием приборной базы ЦКП «Агидель» и при частичной поддержке гранта Российского Фонда Фундаментальных Исследований №18-04-00577/18.

Литература

1. Воеводина Л.А., Балакай Г.Т. Обзор новых направлений исследований по использованию микроорганизмов для повышения биопродуктивности засоленных земель. *Научный журнал Российского НИИ проблем мелиорации*. 2017. №4(28). С. 154–169.
2. Калинин Л.Г., Назаренко Л.В., Гордеева Е.Е. Модифицированный метод выделения свободных аминокислот для определения на

- аминокислотном анализаторе. *Физиология растений*. 1990. Т. 37. С. 617-621.
3. Кузьмина Л.Ю., Высоцкая Л.Б., Галимзянова Н.Ф., Гильванова Е.А., Рябова А.С., Мелентьев А. Новые штаммы фосфатмобилизующих бактерий, продуцирующих ауксин, перспективные для сельскохозяйственной биотехнологии *Известия Уфимского научного центра Российской академии наук*. 2015. № 1. С. 40-46.
 4. Малый практикум по физиологии растений / А.Т. Мокроносов (ред.). М.: МГУ, 1994, 184 с.
 5. Abd-Elgawad H., Zinta G., Hega M.M., Pandey R., Asard H., Abuelsoud W. High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. *Front Plant Sci*. 2016. V. 7. P. 276. DOI: 10.3389/fpls.2016.00276
 6. Apel K., Hert H. Reactive oxygen species metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2004. 55. P. 373-399. DOI: 10.4161/psb.23681
 7. Arkhipova T.N., Melentiev A.I., Martynenko E.V., Kudoyarova G.R., Veselov S.U. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil*. 2005. V. 272. № 1-2. P. 201-209. DOI: 10.1007/s11104-004-5047-x
 8. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of proline for water stress studies. *Plant Soil*. 1973. V. 39, P. 205-207. DOI: 10.1007/BF00018060
 9. Szabados L., Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci*. 2009. V. 15, № 2. PP. 89-97. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.11.009
 10. Carvalho K., Campos M.K., Domingues D.S., Pereira L.F., Vieira L.G. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic *Swingle citrumelo*. *Mol. Biol. Rep.* 2013. V. 40. P. 3269-3279. DOI: 10.1007/s11033-012-2402-5
 11. Fabro G., Kovacs I., Pavet V., Szabados L., Alvarez M.E. Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant-pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2004. V. 17. P. 343-350. DOI.org/10.1094/MPMI.2004.17.4.343
 12. Kim J. I., Baek D., Park H. C., Chun H. J., Oh D.-H., Lee M. K., Cha J.-Y., Kim W.-Y., Kim M. C., Chung W. S., Bohnert H. J., Lee S. Y., Bressan R. A., Lee S.-W., Yun D.-J. Overexpression of *Arabidopsis YUCCA6* in potato results in high-auxin developmental phenotypes and enhanced resistance to water deficit. *Molecular Plant*. 2013. V. 6. №. 2. P. 337-349. DOI.org/10.1093/mp/sss100.
 13. King E.O., Ward M.K., Raney D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 1954. V. 44. P. 301-307.
 14. Merewitz E. B., Gianfagna T., Huang B. Protein accumulation in leaves and roots associated with improved drought tolerance in creeping bentgrass expressing an *ipt* gene for cytokinin synthesis. *J. Exp Botany*. 2011. V. 62. PP. 5311-5333. DOI:10.1093/jxb/err166
 15. Numan M., Bashir S., Khan Y., Mumtaza R., Shinwar Z. K., Khan A. L., Khan A., AL-Harrasi A. Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review. *Microbiological Research*. 2018. V. 209. P. 21-32. DOI.org/10.1016/j.micres.2018.02.003
 16. Widodo J.H.P., Newbigun E., Tester M., Bacic A., Roessner U. Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *J. Exp. Bot.* 2009. V. 60. P. 4089-4103. DOI: 10.1093/jxb/erp243

References

1. Abd-Elgawad H., Zinta G., Hega M.M., Pandey R., Asard H., Abuelsoud W. High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. *Front Plant Sci*. 2016. V. 7. P. 276. DOI: 10.3389/fpls.2016.00276
2. Apel K., Hert H. Reactive oxygen species metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2004. 55. P. 373-399. DOI: 10.4161/psb.23681
3. Arkhipova T.N., Melentiev A.I., Martynenko E.V., Kudoyarova G.R., Veselov S.U. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil*. 2005. V. 272. № 1-2. P. 201-209. DOI: 10.1007/s11104-004-5047-x
4. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of proline for water stress studies. *Plant Soil*. 1973. V. 39, P. 205-207. DOI: 10.1007/BF00018060
5. Szabados L., Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Sci*. 2009. V. 15, № 2. PP. 89-97. DOI: 10.1016/j.tplants.2009.11.009
6. Carvalho K., Campos M.K., Domingues D.S., Pereira L.F., Vieira L.G. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic *Swingle citrumelo*. *Mol. Biol. Rep.* 2013. V. 40. P. 3269-3279. DOI: 10.1007/s11033-012-2402-5

7. Fabro G., Kovacs I., Pavet V., Szabados L., Alvarez M.E. Proline accumulation and ATP5CS2 gene activation are induced by plant-pathogen incompatible interactions in *Arabidopsis*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2004. V. 17. P. 343–350. DOI.org/10.1094/MPMI.2004.17.4.343
8. Kalinkina L.G., Nazarenko L.V., Gordeyeva E.E. Modifitsirovannyi metod vydeleniya svobodnykh aminokislot dlya opredeleniya na aminokislotnom analizatore. *Fiziologiya rasteniy.* 1990. T. 37. S. 617–621. [Modified free amino acid isolation method for determination on an amino acid analyzer] (In Russian).
9. Kim J. I., Baek D., Park H. C., Chun H. J., Oh D.-H., Lee M. K., Cha J.-Y., Kim W.-Y., Kim M. C., Chung W. S., Bohnert H. J., Lee S. Y., Bressan R. A., Lee S.-W., Yun D.-J. Overexpression of *Arabidopsis YUCCA6* in potato results in high-auxin developmental phenotypes and enhanced resistance to water deficit. *Molecular Plant.* 2013. V. 6. №. 2. P. 337–349. DOI.org/10.1093/mp/sss100.
10. King E.O., Ward M.K., Raney D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 1954. V. 44. P. 301–307.
11. Kuzmina L.Yu., Vysotskaya L.B., Galimzyanova N.F., Gilvanova E.A., Ryabova A.S., Melentyev A. Novyye shtammy fosfatmobilizuyushchikh bakteriy. produtsiruyushchikh auksin. perspektivnyye dlya selskokhozyaystvennoy biotekhnologii *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk.* 2015. № 1. S. 40–46. [New strains of phosphate-mobilizing bacteria producing auxin, promising for agricultural biotechnology] (In Russian)
12. Malyy praktikum po fiziologii rasteniy / A.T. Mokronosov (red.). M.: MGU. 1994. 184 s. [Plant physiology practicum]. (In Russian)
13. Merewitz E. B., Gianfagna T., Huang B. Protein accumulation in leaves and roots associated with improved drought tolerance in creeping bentgrass expressing an *ipt* gene for cytokinin synthesis. *J. Exp Botany.* 2011. V. 62. PP. 5311–5333. DOI:10.1093/jxb/err166
14. Numan M., Bashir S., Khan Y., Mumtaza R., Shinwar Z. K., Khan A. L., Khan A., AL-Harrasi A. Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review. *Microbiological Research.* 2018. V. 209. P. 21–32. DOI.org/10.1016/j.micres.2018.02.003
15. Voevodina L.A., Balakay G.T. Obzor novykh napravleniy issledovaniy po ispolzovaniyu mikroorganizmov dlya povysheniya bioproduktivnosti zasolennykh zemel. *Nauchnyy zhurnal Rossiyskogo NII problem melioratsii.* 2017. №4(28). S. 154–169. [Review of new research directions on the use of microorganisms to improve the bioproductivity of saline lands] (In Russian).
16. Widodo J.H.P., Newbiggin E., Tester M., Bacic A., Roessner U. Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *J. Exp. Bot.* 2009. V. 60. P. 4089–4103. DOI: 10.1093/jxb/erp243