



**БИОСИНТЕЗ АУКСИНА И КАРОТИНА PGPR-БАКТЕРИЙ *PANTOEA SP.*
НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА**

Гильванова Е.А. *, Мильман П.Ю.

Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук,
Россия, 450054, Уфа, Проспект Октября, 69, *e-mail: gelena@anrb.ru

Резюме

Изучено влияние состава питательной среды на продукцию фитогормона индолил-3-уксусной кислоты и каротина при культивировании эпифитного штамма *Pantoea sp.* IB-BF. Уровень ауксина и каротина в культуральной жидкости предложенных вариантов питательных сред варьировал от 2 до 21 мкг/мл и от 0,06 до 0,172 ОП₄₆₁/мг сух. биомассы соответственно. Отмечен значительный эффект от присутствия белкового компонента (триптон, пептон или дрожжевой экстракт) на биосинтез ауксина. Секреция каротина существенно возросла в условиях пониженного содержания азота и повышенного отношения C:N (картофельно-глюкозная среда). В присутствии 100 мкг/мл триптофана зафиксировано достоверное увеличение выхода ИУК на 18% по сравнению с уровнем ауксина на среде без триптофана. Синтез индолил-3-уксусной кислоты и каротина, успешная колонизация корней пшеницы штаммом *Pantoea sp.* IB-BF с увеличением численности более чем на 10⁴, осуществлялись в условиях абиотической нагрузки, аналогичной присутствию хлорида натрия не менее 100 мкМ в среде.

Ключевые слова: PGPR-бактерии, фитогормоны, индолил-3-уксусная кислота, *Pantoea*, каротины, биопрепараты

Цитирование: Гильванова Е.А., Мильман П.Ю. Биосинтез ауксина и каротина PGPR-бактерий *Pantoea sp.* на питательных средах различного состава // Биомика. 2020. Т.12(2). С. 218-223. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-12

© Авторы

**BIOSYNTHESIS OF AUXIN AND CAROTENE DURING THE GROWTH OF PGPR-BACTERIA
PANTOEA SP. ON NUTRIENT MEDIA OF DIFFERENT COMPOSITION**

Gilvanova E.A. *, Milman P.Yu.

Ufa Institute of Biology of Ufa Federal Reserach Centre of Russian Academy of Sciences,
69 Prospekt Oktyabra, Ufa, 450054, Russia, *e-mail: gelena@anrb.ru

Resume

The effect of the composition of the nutrient medium on the production of the phytohormone indolyl-3-acetic acid and carotene during the cultivation of the epiphytic strain *Pantoea sp.* IB-BF was studied. The level of auxin and carotene in the culture fluid of the proposed variants of nutrient media varied from 2 to 21 µg/ml and from 0.06 to 0.172 OD₄₆₁/mg dry biomass, respectively. A significant effect of the presence of a protein component (tryptone, peptone or yeast extract) on the biosynthesis of auxin was noted. The secretion of carotene increased considerably under conditions of low nitrogen content and high C:N ratio (potato-glucose medium). In the presence of 100 µg/ml tryptophan, a reliable increase in the IAA yield was recorded by 18% compared to the auxin level on the medium without tryptophan. Synthesis of indole-3-

acetic acid and carotene, successful colonization of wheat roots with the *Pantoea* sp. IB-BF with an increase in the number KOE of more than 10^4 , were carried out under conditions of an abiotic load similar to the presence of sodium chloride of at least 100 μM in the medium.

Keywords: PGPR-bacteria, phytohormones, indolyl-3-acetic acid, *Pantoea*, carotenes, biologics

Citation: Gilvanova E.A., Milman P.Yu. Biosynthesis of auxin and carotene during the growth of PGPR-bacteria *Pantoea* sp. on nutrient media of different composition. *Biomics*. 2020. Vol. 12(2). P. 218-223. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-12 (In Russian)

© The Authors

Введение

Известно, что ассоциативные бактерии, способные продуцировать экзометаболиты, в том числе фитогормоны ауксины, участвуют в регуляции роста и развития растений. Так, при обработке эндофитными бактериями у растений при солевом стрессе повышается активность ферментативных антиоксидантов (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза) и содержание низкомолекулярных протекторов (пролин) [Damodaran et al., 2014]. Также появились данные о том, что ИУК играет роль в адаптации растений к солевому стрессу [Fahad et al., 2015; Iqbal et al., 2017], улучшает рост корней и побегов растений, произрастающих в условиях засоленности или загрязнения тяжелыми металлами [Egamberdieva, 2009; Ullah et al., 2015]. Штамм PGPR *Pantoea agglomerans*, выделенный из корней пшеницы, использовал адаптированную к среде обитания стратегию симбиоза, что способствовало ослаблению солевого стресса у растений твердой пшеницы и значительному росту растения в неблагоприятной среде [Cherif-Silini et al., 2019]. Помимо данных о стимуляции роста растений есть исследования авторов утверждающих, что бактериальный эндофит *Pantoea agglomerans* защищает растение фасоли от заражения патогенной бактерией *Curtobacterium flaccumfaciens* [Hsieh et al., 2005]. Представители рода *Pantoea* также были обнаружены среди бактерий с антифунгальной активностью против грибных патогенов томата – *Botrytis cinerea*, *Fulvia fulva*, *Atletmaria solani*, обитающих на листьях томата [Enya et al., 2007]. Эпифитные бактерии кишечной группы *Pantoea agglomerans* также перспективны в качестве основы биопрепаратов для сельского хозяйства. Помимо продукции фитогормонов и антифунгальных веществ, привлекательным свойством этих бактерий является синтез каротиноидных пигментов, значение которых заключается в выраженном антиоксидантном действии [Bible et al., 2016]. Таким образом, биопрепараты, содержащие ростстимулирующие бактерии, востребованы и конкурентноспособны по сравнению с препаратами химического синтеза, а с точки зрения экологической безопасности

превосходят их [Франк Кищенко (Frank, Kishchenko), 2008]. Первоочередной задачей в процессе создания подобных биопрепаратов является оптимизация питательной среды и условий для периодического культивирования продуцентов ростстимулирующих веществ.

Целью исследования явилось определение максимального выхода ИУК и каротина в предложенных вариантах питательной среды при культивировании бактерии *Pantoea* sp. IB-BF, заявленной в качестве PGPR-микроорганизма.

Объекты и методы исследования

Объектом исследования выбран ассоциативный штамм эпифитной бактерии *Pantoea* sp. IB-BF, выделенный из семян пшеницы сорта Омская 37. Способность штамма синтезировать β -каротин фенотипически проявлялась в формировании желтой окраски колоний. Анализ последовательности гена 16S рРНК выявил сходство штамма IB-BF к *Pantoea plantarum* (99,65%), *Pantoea agglomerans* (99,52%) и *Pantoea pleuroti* (99,42%). Для более точного видового статуса необходимо провести дополнительные исследования, в том числе мультилокусный анализ, включающий определение и сравнение последовательностей генов домашнего хозяйства (atpD, gyrB, infB, groB) [Brady et al., 2008]. Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК штамма IB-BF была включена в базу данных Genbank под номером MT809041.

Для оценки уровня продукции внеклеточной ИУК, каротина и бактериального роста штамм IB-BF выращивали в колбах Эрленмейера объемом 250 мл на шейкере-инкубаторе Innova 40R при 250 min^{-1} в течении 8 суток на следующих средах: 1) Luria-Bertani (LB); 2) LB+L-триптофан (0,01%=100 $\mu\text{g}/\text{ml}$); 3) BS: дрожжевой экстракт – 10 г/л, $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ – 2 г/л; 4) K1: крахмал -10 г/л, пептон – 5 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, $\text{K}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ – 2 г/л; 5) КОТ -картофельный отвар, глюкоза -10 г/л; температурный и pH режим культивирования – 28°C, pH 7,5. Во все варианты сред был добавлен хлорид натрия в количестве 10 г/л. Культивирование каждого варианта питательной

среды в колбах было выполнено в трехкратной повторности.

Бактериальный рост оценивали по оптической плотности культуральной жидкости при 600 нм (ОП₆₀₀), измеренной на спектрофотометре СФ-56 («ЛОМО-спектр», Россия) каждые 24 ч на протяжении 2-8 дней, учитывая значения оптической плотности соответствующего контроля питательной среды.

Продукцию ИУК определяли по методике с применением реактива Сальковского [Hung et al., 2004] в культуральной жидкой среде, используя в качестве инокулята 24-часовую культуру. Отбор проб для анализа осуществляли посуточно в период 2-8 дней. В качестве контролей в каждом варианте сред использовали соответствующую неинокулированную стерилизованную питательную среду. В нашем эксперименте триптофан (100 мкг/мл) был добавлен в одну из сред в качестве предполагаемого метаболитического прекурсора ИУК. Содержание ИУК в вариантах опыта было определено по калибровочной кривой с использованием стандартных растворов ИУК (0.01–10 мкг/мл). Опыт был проведен в 3-х аналитических повторностях.

Для количественного определения каротиноидов штамм IB-BF выращивали при упомянутых выше условиях. Клетки из 1,5 мл культуральной жидкости осаждали центрифугированием и экстракцию пигментов из биомассы проводили 1,2 мл смеси метанол-хлороформ (2:1) в течение 60 мин [Hundle et al., 1991]. Далее измеряли оптическую плотность супернатанта при длине волны 461 нм (пик поглощения β-каротина). Биомассу из взятых для анализа образцов сушили до постоянного веса при температуре 95°C. Продукцию каротиноидов выражали в единицах ОП₄₆₁ на 1 мг сухой биомассы.

Способность к колонизации на растениях оценивали, учитывая бактериальный титр (КОЕ) на обработанных семенах и титр на корнях (КОЕ/1 г сух. корня) на 4 сутки. В начале опыта семена пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Омская 35 стерилизовали смесью перекиси водорода и этилового спирта, обрабатывали суспензией клеток культуры IB-BF, создавая титр 10⁵ КОЕ/зерно. Далее обработанные семена раскладывали в стерильные чашки Петри по 20 штук в 3 повторах для каждого варианта и выращивали при постоянной температуре 20-22°C. Опыт был выполнен в двух вариантах: без внесения NaCl, и на фоне 100 мМ NaCl (0,6%). Для статистической обработки и визуализации полученных результатов использовали стандартные методы, реализованные с помощью программы OriginPro2017(b.9.4.2.380).

Результаты и их обсуждение

В предварительных экспериментах по изучению динамики синтеза ауксина в процессе периодического культивирования ряда штаммов была подтверждена конгруэнтность результатов, полученных двумя разными методами: иммуноферментного анализа после эфирной экстракции в соответствующей тест-системе [Veselov et al., 1992] и коллометрическим с использованием реактива Сальковского. Несмотря на существенную разницу в номинальных значениях концентраций ауксина, имело смысл использовать методику с реактивом Сальковского для рутинных измерений ИУК при оптимизации питательной среды. В том же эксперименте установлено, что оптимальное время отбора культуральной жидкости бактерий-продуцентов для определения ИУК приходится на 4-5 сутки – в стационарную фазу периодической культуры [Гильванова, Архипова (Gilvanova, Arkhipova), 2019]. Результаты по изучению бактериального роста и способности штамма *Pantoea* sp. IB-BF к синтезу ИУК в процессе культивирования приведены на графиках (рис.1 А и Б), а максимальные значения показателей представлены на гистограмме (рис. 2). Как видно из графиков, уровень ауксина существенно отличается между собой и зависит от типа питательной среды, тогда как время максимального выхода целевого продукта практически совпадало во всех вариантах опыта с разницей в сутки (4 - 5 сутки). Мониторинг ауксина в культуральной жидкости (КЖ) ассоциативного штамма IB-BF ожидаемо показал, что максимальный выход зафиксирован на средах LB и LB_{тпр}. Отсутствие пептона в составе среды BS, содержавшей дрожжевой экстракт, не приводило к снижению уровня ИУК по сравнению с ее уровнем на среде K1, значения ауксина одного порядка (10-11 мкг/мл), что может указывает на взаимозаменяемость пептона и дрожжевого экстракта в качестве источника субстрата для синтеза ИУК. При росте культуры IB-BF на среде LB почти двухкратное увеличение концентрации ИУК по сравнению с уровнем фитогормона на средах BS и K1 вполне объяснимо дополнительным присутствием триптона (1%), который вероятно обеспечивает физиологические потребности культуры IB-BF, необходимые для дополнительного синтеза фитогормона. Самой низкопродуктивной питательной средой по накоплению ИУК оказался вариант КОТ – углеводная среда, имеющая в своем составе 1% глюкозы и незначительное содержание белкового азота 1,5-2,5%, что в 5-7 раз ниже, чем в остальных вариантах сред (в пересчете на содержание азота в дрожжевом экстракте, пептоне и триптоне). Наши данные о предпочтении белковых субстратов в биосинтезе ауксина в сравнении с углеводными

подтверждаются схожими результатами других исследователей [Apine and Jadhav, 2011]. При культивировании штамма IB-BF на сбалансированной белково-углеводной среде K1 (рис.1 и 2) обнаружено усиленное накопление биомассы по сравнению с показателями ОП₆₀₀ на среде BS, при этом концентрация ауксина зафиксирована примерно на одном уровне. Таким образом, максимально возможный выход фитогормона обеспечивался не большей плотностью популяции, а качественным составом среды. В данном случае, обе среды K1 и BS

имели соизмеримое содержание белкового азота в виде пептона и дрожжевого экстракта. В присутствии 0,01% триптофана (100 мкг/мл) концентрация ИУК возрастала на 18% от максимального уровня обнаруженного на среде LB (5 сут), при этом показатели бактериального роста на обеих средах практически не различались. Триптофан проявил стимулирующий эффект с высокой степенью достоверности на продукцию ауксина, тем самым подтверждая триптофанзависимый путь образования ИУК.

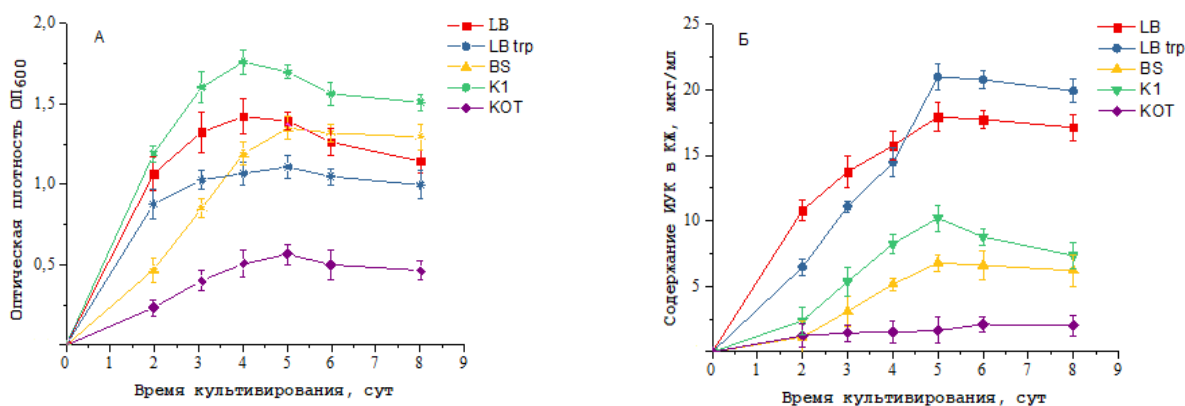


Рис. 1. Оптическая плотность ОП₆₀₀ (А) и содержание ИУК (Б) в культуральной жидкости штамма *Pantoea* sp. IB-BF при культивировании на 5 типах сред в течении 6 суток.

Fig. 1. Optical density OD₆₀₀ (A) and IAA content (B) in the culture liquid of the strain *Pantoea* sp. IB-BF during cultivation for 6 days on five types of media.

Максимальный выход второго целевого продукта β-каротина был обнаружен при культивировании штамма IB-BF на средах LB и KOT на 5 и 6 сутки соответственно (рис.2). В условиях пониженного содержания азота и высокого соотношения C:N, при культивировании на среде KOT, наблюдали существенный рост уровня каротина в КЖ, несмотря на самые низкие показания плотности популяции по ОП₆₀₀. Второй максимум при более высоких показателях плотности ОП₆₀₀ наблюдали в условиях культивирования штамма на среде LB, где параллельно идет синтез ИУК и накопление каротина. Взаимосвязь биосинтеза каротиноидов и ИУК была обнаружена на примере создания ауксиндефицитных мутантов, у которых уровень секреции каротина и способность к колонизации были ниже, а чувствительность к оксидативному стрессу выше [Bible et al., 2016]. Интересным представляется тот факт, что внесение дополнительного триптофана в количестве 100 мкг/мл приводило к одновременному снижению концентрации каротина на 34% и росту концентрации ИУК при соразмерной плотности популяции на 5 сутки культивирования.

Сопоставление данных по составу сред и продукции целевых продуктов позволило выбрать наиболее оптимальный вариант питательной среды для максимального выхода фитогормона ауксина (LB) и каротина (LB, KOT) у предложенного штамма. По накоплению ИУК в культуральной жидкости ассоциативные бактерии рода *Pantoea* не уступают известным представителям группы PGPR-бактерий (флавобактерии, агробактерии, азоспириллы), оказывающих стимулирующее влияние на рост растений. При этом необходимо принять во внимание тот факт, что наша культура осуществляла микробный синтез ауксина и без внесения предшественника гормона – триптофана на средах, содержащих 1% NaCl. Инокуляция растений штаммом IB-BF приводила к увеличению плотности популяции на корнях проростков более чем на четыре порядка в обоих вариантах опыта без NaCl и присутствии 0,6% хлорида натрия. Полученные результаты свидетельствуют о широком диапазоне роста культуры, не зависящем от присутствия данной концентрации хлорида натрия и не ингибируемом синтезе ауксина и каротина при концентрации соли в среде 10 г/л.

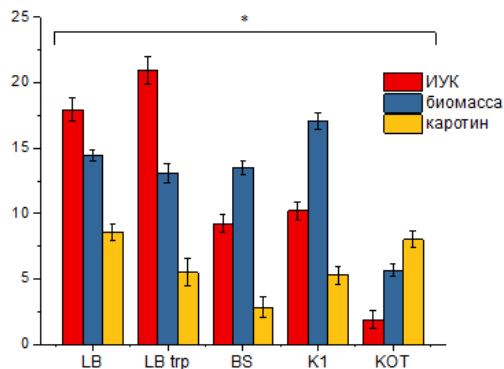


Рис.2. Содержание максимальных значений ИУК, каротина и биомассы в КЖ штамма *Pantoea* sp. IB-BF на 5 сут при культивировании на разных типах сред (исключение для каротина на среде KOT - 6 сут): ИУК, мкг/мл; биомасса, ОП₆₀₀, ×50; каротин, ОП₄₆₁/мг сух. биомассы, ×50.

* - данные статистически достоверны при $p \leq 0.05$.

Fig.2. Content of the maximum IAA, carotene and the biomass density values in the CL of the strain *Pantoea* sp. IB-BF on fifth day when cultivated on different types of media (except for carotene on KOT medium - 6 days):

IAA, $\mu\text{g/ml}$; biomass, OD_{600} , ×50; carotene, $\text{OD}_{461}/\text{mg dry biomass}$, ×50.

* - the data are statistically significant at $p \leq 0.05$.

Таким образом, выбранный штамм *Pantoea* sp. IB-BF с учетом правильно подобранных условий культивирования, может быть предложен в качестве потенциального объекта агробιοтехнологии для разработки на его основе биопрепарата, стимулирующего рост и повышающего продуктивность растений, как в нормальных условиях, так и в засушливых и подверженных засолению регионах.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект №18-04-00577 А) в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № АААА-А18-118022190098.

Литература

1. Гильванова Е.А., Архипова Т.Н. Колонизация корней пшеницы галотолерантными бактериями и их влияние на рост растений в условиях солевого стресса // *Экобиотех.* 2019. Т. 2. №4 С. 439–444. doi: 10.31163/2618-964X-2019-2-4-439-444
2. Франк Р.И., Кищенко В.И. Биопрепараты в современном земледелии // *Защита и карантин растений.* 2008. №4. С. 30–32.
3. Apine O.A., Jadhav J.P. Optimization of medium for indole-3-acetic acid production using *Pantoea agglomerans* strain PVM // *J. Appl. Microbiol.* 2011. V.

110. I. 5. P. 1235–1244. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.04976.x

4. Bible A.N., Fletcher S.J., Pelletier D.A., Schadt C.W., Jawdy S.S., Weston D.J., Engle N.L., Tschaplinski T., Masyuko R., Poliseti S. A carotenoid-deficient mutant in *Pantoea* sp. YR343, a bacteria isolated from the rhizosphere of *Populus deltoides*, is defective in root colonization // *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. P. 491. doi: 10.3389/fmicb.2016.00491

5. Brady C., Cleenwerck I., Venter S., Vancanneyt M., Swings J., Coutinho T. Phylogeny and identification of *Pantoea* species associated with plants, humans and the natural environment based on multilocus sequence analysis (MLSA) // *Syst Appl Microbiol.* 2008. V. 31. № (6-8). P. 447-460. doi:10.1016/j.syapm.2008.09.004

6. Cherif-Silini H., Thissera B., Bouket A.C., Saadaoui N., Silini A., Eshellli M., Alenezi F.N., Vallat A., Luptakova L., Yahiaoui B. Durum wheat stress tolerance induced by endophyte *Pantoea agglomerans* with genes contributing to plant functions and secondary metabolite arsenal // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. P. 1–36. doi: 10.3390/ijms20163989

7. Damodaran T., Rai R.B., Jha S.K., Kannan R., Pandey B.K., Sah Vijayalaxmi, Mishra V.K., Sharma D.K. Rhizosphere and endophytic bacteria for induction of salt tolerance in gladiolus grown in sodic soils // *J. Plant Interactions.* 2014. V. 9. I. 1. P. 577–584. doi: 10.1080/17429145.2013.873958

8. Egamberdieva D. Alleviation of salt stress by plant growth regulators and IAA producing bacteria in wheat // *Acta Physiologiae Plantarum.* 2009. V. 31. № 4. P. 861–864. doi: 10.1007/s11738-009-0297-0

9. Enya J., Shinohara H., Yohida S., Tsukiboshi T., Negishi H., Suyama K., Tsushima S. Culturable leaf-associated bacteria on tomato plants and their potential as biological control agents // *Microb. Ecol.* 2007. V. 53. P. 524–536. doi: 10.1007/s00248-006-9085-1

10. Fahad Sh. Hussain S., Saud S., Tanveer M., Bajwa A.A., Hassan S., Shah A.N., Ullah A., Wu Ch., Khan F.Ah., Shah F. A biochar application protects rice pollen from high-temperature stress // *Plant Physiol. Biochem.* 2015. V. 96. P. 281–287. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.08.009

11. Hsieh T.F., Huang H.C., Erickson R.S. Biological control of bacterial wilt of bean using a bacterial endophyte *Pantoea agglomerans*. *J. Phytopathol.* 2005. V. 153. I. 10. P. 608–614. doi:10.1111/j.1439-0434.2005.01027.x

12. Hung P.Q., Annapurna K. Isolation and characterization of endophytic bacteria in soybean (*Glycine* sp.) // *Omonrice.* 2004. V. 12. P. 92–101. doi: 10.1007/s11104-004-6894-1

13. Hundle B.S., Beyer P., Kleinig H. Carotenoids of *E. herbicola* and an *E. coli* HB 101 strain carrying the *E. herbicola* carotenoid gene cluster // *Photochem.*

Photobiol. 1991. V. 54. № 1. P. 89–93. doi: 10.1111/j.1751-1097.1991.tb01989.x

14. Iqbal M., Raja N.I., Mashwani Z.U.R., Hussain M., Ejaz M., Yasmeen F. Effect of silver nanoparticles on growth of wheat under heat stress // *Iran. J. Sci. Technol. Trans. Sci.* 2017. doi: 10.1007/s40995-017-0417-4

15. Ullah A., Heng S., Munis M.F.H., Fahad S., Yang X. Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: a review // *Environ. Exp. Bot.* 2015. V. 117. P. 28-40. doi: 10.1016/J.ENVEXPBOT.2015.05.001

16. Veselov S., Kudoyarova G., Egutkin N., Gyuli-Zade V., Mustafma A., Kof E. Modified solvent partitioning scheme providing increased specificity and rapidity of immunoassay for indole 3-acetic acid // *Physiol. Plantarum.* 1992. V. 86. P. 93–96. doi: 10.31163/2618-964X-2018-1-3-161-176

References

1. Apine O.A., Jadhav J.P. Optimization of medium for indole-3-acetic acid production using *Pantoea agglomerans* strain PVM. *J. Appl. Microbiol.* 2011. V. 110(5). P. 1235–1244. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.04976.x

2. Bible A.N., Fletcher S.J., Pelletier D.A., Schadt C.W., Jawdy S.S., Weston D.J., Engle N.L., Tschaplinski T., Masyuko R., Poliseti S. A carotenoid-deficient mutant in *Pantoea* sp. YR343, a bacteria isolated from the rhizosphere of *Populus deltoides*, is defective in root colonization. *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. P. 491. doi: 10.3389/fmicb.2016.00491

3. Brady C., Cleenwerck I., Venter S., Vancanneyt M., Swings J., Coutinho T. Phylogeny and identification of *Pantoea* species associated with plants, humans and the natural environment based on multilocus sequence analysis (MLSA). *Syst Appl Microbiol.* 2008. V. 31(6-8). P. 447-460. doi:10.1016/j.syapm.2008.09.004

4. Cherif-Silini H., Thissera B., Bouket A.C., Saadaoui N., Silini A., Eshellli M., Alenezi F.N., Vallat A., Luptakova L., Yahiaoui B. Durum wheat stress tolerance induced by endophyte *Pantoea agglomerans* with genes contributing to plant functions and secondary metabolite arsenal. *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. P. 1–36. doi: 10.3390/ijms20163989

5. Damodaran T., Rai R.B., Jha S.K., Kannan R., Pandey B.K., Sah Vijayalaxmi, Mishra V.K., Sharma D.K. Rhizosphere and endophytic bacteria for induction of salt tolerance in gladiolus grown in sodic soils. *J. Plant Interactions.* 2014. V. 9(1). P. 577–584. doi: 10.1080/17429145.2013.873958

6. Egamberdieva D. Alleviation of salt stress by plant growth regulators and IAA producing bacteria in wheat.

Acta Physiologiae Plantarum. 2009. V. 31(4). P. 861–864. doi: 10.1007/s11738-009-0297-0

7. Enya J., Shinohara H., Yohida S., Tsukiboshi T., Negishi H., Suyama K., Tsushima S. Culturable leaf-associated bacteria on tomato plants and their potential as biological control agents. *Microb. Ecol.* 2007. V. 53. P. 524–536. doi: 10.1007/s00248-006-9085-1

8. Fahad Sh. Hussain S., Saud S., Tanveer M., Bajwa A.A., Hassan S., Shah A.N., Ullah A., Wu Ch., Khan F.Ah., Shah F. A biochar application protects rice pollen from high-temperature stress. *Plant Physiol. Biochem.* 2015. V. 96. P. 281–287. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.08.009

9. Frank R.I., Kishchenko V.I. Biologics in modern agriculture. *Plant protection and quarantine.* 2008. №. 4. P. 30–32. [Biologics in modern agriculture.] (In Russian)

10. Gilvanova E.A., Arkhipova T.N. Colonization of wheat root by halotolerant bacteria and their influence on plant grown under salt stress. *Ecobiotech.* 2019. V. 2(4). P. 439–444. [Colonization of wheat root by halotolerant bacteria and their influence on plant grown under salt stress.] (In Russian) doi: 10.31163/2618-964X-2019-2-4-439-444

11. Hsieh T.F., Huang H.C., Erickson R.S. Biological control of bacterial wilt of bean using a bacterial endophyte *Pantoea agglomerans*. *J. Phytopathol.* 2005. V. 153(10). P. 608–614. doi:10.1111/j.1439-0434.2005.01027.x

12. Hung P.Q., Annapurna K. Isolation and characterization of endophytic bacteria in soybean (*Glycine* sp.). *Omonrice.* 2004. V. 12. P. 92–101. doi: 10.1007/s11104-004-6894-1

13. Hundle B.S., Beyer P., Kleinig H. Carotenoids of *E. herbicola* and an *E. coli* HB 101 strain carrying the *E. herbicola* carotenoid gene cluster. *Photochem. Photobiol.* 1991. V. 54(1). P. 89–93. doi: 10.1111/j.1751-1097.1991.tb01989.x

14. Iqbal M., Raja N.I., Mashwani Z.U.R., Hussain M., Ejaz M., Yasmeen F. Effect of silver nanoparticles on growth of wheat under heat stress. *Iran. J. Sci. Technol. Trans. Sci.* 2017. doi: 10.1007/s40995-017-0417-4

15. Ullah A., Heng S., Munis M.F.H., Fahad S., Yang X. Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: a review. *Environ. Exp. Bot.* 2015. V. 117. P. 28-40. doi: 10.1016/J.ENVEXPBOT.2015.05.001

16. Veselov S., Kudoyarova G., Egutkin N., Gyuli-Zade V., Mustafma A., Kof E. Modified solvent partitioning scheme providing increased specificity and rapidity of immunoassay for indole 3-acetic acid. *Physiol. Plantarum.* 1992. V. 86. P. 93–96. doi: 10.31163/2618-964X-2018-1-3-161-176