



**ЛОКАЛИЗАЦИЯ И СИНТЕЗ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩИХ БЕЛКОВ У РАСТЕНИЙ ГОРОХА, ОБРАБОТАННЫХ ШТАММОМ РОСТ СТИМУЛИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ, И ИХ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ ПОЯСКОВ КАСПАРИ И РЕГУЛЯЦИИ ГИДРАВЛИЧЕСКОЙ ПРОВОДИМОСТИ**

<sup>1</sup>Архипова Т.Н.\*, <sup>1</sup>Мартыненко Е.В., <sup>1</sup>Ахиярова Г.Р., <sup>1</sup>Шарипова Г.В., <sup>1</sup>Галин И.Р.,  
<sup>1</sup>Иванов Р.С., <sup>1</sup>Кузьмина Л.Ю., <sup>1</sup>Нужная Т.В., <sup>2</sup>Финкина Е.И.

<sup>1</sup>Уфимский институт биологии УФИЦ РАН, Проспект Октября 69, 450054, Уфа, Россия

<sup>2</sup>Институт биоорганической химии Российской академии наук, ул. Миклухо-Маклая 16/10, 117997, Москва, Россия

\*E-mail: [TNArkhipova@mail.ru](mailto:TNArkhipova@mail.ru)

**Резюме**

Присутствие в ризосфере рост-стимулирующих бактерий положительно влияет на рост растений и повышает их продуктивность как в благоприятных, так и в стрессовых условиях. Несмотря на то, что различным механизмам действия рост-стимулирующих бактерий на растения уделяется много внимания, аспект действия бактерий на изменения в формировании апопластных барьеров и их влияние на транспорт воды остается почти неизученным. Ранее было показано, что штамм *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 ускорял образование поясков Каспари у растений пшеницы, хотя участие в этом процессе ЛТБ (липид-транспортующие белки) не изучалось. Целью настоящего исследования было выяснить влияние бактериальной инокуляции на синтез ЛТБ в корнях растений гороха (*Pisum sativum*) и его связь с образованием апопластных барьеров и гидравлической проводимостью. Мы стремились проверить гипотезу о том, что снижение гидравлической проводимости из-за усиленного образования апопластных барьеров может быть компенсировано повышенной активностью водных каналов аквапоринов. Была обнаружена активация генов, кодирующих PsLTP, и увеличение количества липид-транспортующих белков во флоэме корней гороха, вызванное обработкой *P. mandelii* IB-Ki14. Инокуляция сопровождалась усилением отложения суберина в поясах Каспари, при этом гидравлическая проводимость не снижалась. Применение реактива Фентона, являющегося ингибитором аквапоринов, показало, что в большей степени снижалась гидравлическая проводимость обработанных бактериями растений по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об увеличении активности аквапоринов под влиянием бактерий. Таким образом, *P. mandelii* IB-Ki14 стимулирует отложение суберина, в биосинтезе которого участвуют липид-транспортующие белки, и повышает активность аквапоринов, что, в свою очередь, предотвращает возможное снижение гидравлической проводимости за счет образования апопластных барьеров в корнях гороха.

**Ключевые слова:** *Pisum sativum*, *Pseudomonas mandelii*, липид-транспортующие белки, ЛТБ, пояски Каспари, аквапорины, гидравлическая проводимость

**Цитирование:** Архипова Т.Н., Мартыненко Е.В., Ахиярова Г.Р., Шарипова Г.В., Галин И.Р., Иванов Р.С., Кузьмина Л.Ю., Нужная Т.В., Финкина Е.И. Локализация и синтез липид-транспортующих белков у растений гороха, обработанных штаммом рост стимулирующих бактерий, и их роль в формировании поясков Каспари и регуляции гидравлической проводимости // *Biomics*. 2023. V.15(1). С. 7-18. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-2

© Авторы

## LOCALIZATION AND SYNTHESIS OF LIPID-TRANSFER PROTEINS IN PEA PLANTS AFTER TREATMENT BY STRAIN OF GROWTH-STIMULATING BACTERIA AND THEIR ROLE IN THE FORMATION OF CASPARIAN BANDS AND THE REGULATION OF HYDRAULIC CONDUCTANCE

<sup>1</sup>Arkhipova T.N.\*, <sup>1</sup>Martynenko E.V., <sup>1</sup>Akhiyarova G.R., <sup>1</sup>Sharipova G.V., <sup>1</sup>Galina I.R.,  
<sup>1</sup>Ivanov R.S., <sup>1</sup>Kuzmina L.Yu., <sup>1</sup>Nuzhnaya T.V., <sup>2</sup>Finkina E.I.

<sup>1</sup>Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre, RAS, 69 Prospekt Oktyabrya, Ufa, 450054, Russia

<sup>2</sup>Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, 16/10 Miklukho-Maklaya str., 117997 Moscow, Russia

\*E-mail: [TNArkhipova@mail.ru](mailto:TNArkhipova@mail.ru)

The presence of PGP bacteria in the rhizosphere has a positive effect on plant growth and increases their productivity both under favorable and stressful conditions. Despite the fact that much attention is paid to the various mechanisms of action of growth-promoting bacteria on plants, the aspect of the effect of bacteria on changes in the formation of apoplastic barriers and their effect on water transport remains almost unexplored. Previously, it was shown that *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 accelerated the formation of Casparian bands in wheat plants, although the involvement of LTPs (Lipid Transfer Proteins) in this process has not been shown. The aim of this study was to elucidate the effect of bacterial inoculation on LTP synthesis in the roots of the pea (*Pisum sativum*) and its relation to the formation of apoplastic barriers and hydraulic conductance. We aimed to test the hypothesis that the decrease in hydraulic conductance due to increased formation of apoplastic barriers can be compensated by increased activity of aquaporin water channels. Activation of genes encoding PsLTP and an increase in the amount of lipid-transporting proteins in pea root phloem induced by *P. mandelii* IB-Ki14 treatment were found. Inoculation was accompanied by an increase in suberin deposition in the Casparian bands, while hydraulic conductivity did not decrease. The use of Fenton's reagent, which is an inhibitor of aquaporins, showed that the hydraulic conductivity of plants treated with bacteria decreased to a greater extent compared to the control group, which indicates an increase in the activity of aquaporins under the influence of bacteria. We conclude that *P. mandelii* IB-Ki14 stimulates the deposition of suberin, the biosynthesis of which involves lipid-transporting proteins, and increases the activity of aquaporins, which, in turn, prevents a possible decrease in hydraulic conductivity due to the formation of apoplastic barriers in pea roots.

**Key words:** *Pisum sativum*, *Pseudomonas mandelii*, lipid transfer proteins, LTP, Casparian bands, aquaporins, hydraulic conductance

**Citation:** Arkhipova T.N., Martynenko E.V., Akhiyarova G.R., Sharipova G.V., Galina I.R., Ivanov R.S., Kuzmina L.Yu., Nuzhnaya T.V., Finkina E.I. Localization and synthesis of lipid-transfer proteins in pea plants after treatment by strain of growth-stimulating bacteria and their role in the formation of Casparian bands and the regulation of hydraulic conductance. *Biomics*. 2023. T.15(1). C. 7-18. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-2 (In Russian)

© Authors

### Введение

Присутствие в ризосфере рост-стимулирующих бактерий (PGPB) положительно влияет на рост растений и повышает их продуктивность как в благоприятных, так и в стрессовых условиях [Kudoyarova et al., 2019; Ruzzi, Agosa, 2015; Backer et al., 2018; Petrillo et al., 2022]. В то время как различные механизмы действия бактерий на растения активно исследовались, аспекту действия бактерий на изменения в формировании апопластных барьеров и их влиянию на транспорт воды уделялось гораздо меньше внимания.

Апопластные барьеры представляют собой отложения лигнина и суберина в виде поясков Каспари [Boursiac et al., 2022] в эндодерме и экзодерме корня растений, контролирующие транспорт воды и растворенных в ней веществ [Cui et al., 2021]. Также они участвуют в защите растений от заражения патогенами [Lee et al., 2019].

Недавние исследования продемонстрировали связь между отложением суберина и увеличением количества белков-переносчиков липидов в горохе на фоне засоления [Akhiyarova et al., 2020]. Эти белки обратимо связывают фосфолипиды и жирные

кислоты (в том числе предшественники суберина) внутри своей гидрофобной полости, участвуя в их переносе как внутри клетки, так и в апопласте [Edqvist et al., 2018; Finkina et al., 2016]. Экспрессия многих липид-транспортирующих белков может быть индуцирована биотическими и абиотическими стрессами ([Gao et al., 2022] и ссылки в ней). Недавно нами было показано, что инокуляция ризосферы твердой пшеницы стимулирующим рост растений штаммом *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 усиливала отложение суберина и лигнина и снижала накопление натрия в условиях засоления [Martynenko et al., 2022].

Повышенное отложение суберина в апопласте играет защитную роль для растений в условиях солевого стресса как механизм, ограничивающий проницаемость апопласта и поступление токсичных ионов с транспирационным током. Однако апопластные барьеры снижают гидравлическую проводимость [Li et al., 2022], что может приводить к закрытию устьиц [Flexas et al., 2018] и ограничению газообмена и фотосинтеза [Lawson, Violet-Chabrand, 2019]. А высокая скорость транспирации, как известно, коррелирует с повышением урожайности при благоприятных условиях [Moshelion et al., 2015]. Предполагалось, что ограничение тока воды по апопластному пути может быть компенсировано за счет усиления межклеточного пути через мембранные каналы для воды – аквапорины [Aroca et al., 2012]. Поэтому целью настоящего исследования было выяснить влияние бактериальной инокуляции на синтез липид-транспортирующих белков в корнях растений гороха и его связь с образованием апопластных барьеров и гидравлической проводимостью. Мы стремились проверить гипотезу о том, что снижение гидравлической проводимости из-за усиленного образования апопластных барьеров может быть компенсировано повышенной активностью аквапоринов.

Штамм *P. mandelii* IB-Ki14 был выбран для инокуляции ризосферы гороха, так как было установлено, что обработка этим штаммом стимулировала отложение суберина и лигнина в растениях пшеницы на фоне засоления [Martynenko et al., 2022] и повышала содержание абсцизовой кислоты (АБК). Поскольку известно, что этот гормон влияет как на отложение суберина в горохе [Akhiyarova et al., 2021] и рисе [Shiono et al., 2022], так и на содержание аквапоринов [Olaetxea et al., 2015; Sharipova et al., 2016], в данном исследовании также планировалось оценить влияние инокуляции на распределение АБК в тканях корня.

### Материалы и методы

В качестве объекта исследований использовали растения *Pisum sativum* (сорт Сахарный 2). Семена

гороха стерилизовали раствором 96% этанола : 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1:1, по объему) в течение 5 мин, а затем, после многократного промывания водой, их оставляли в дистиллированной воде на 24 ч (с аэрацией для улучшения прорастания семян). Затем семена помещали во влажную фильтровальную бумагу и проращивали в темноте при комнатной температуре в течение двух суток. В дальнейшем растения выращивали в вегетационных сосудах с песком объемом 500 см<sup>3</sup> по пять проростков гороха в сосуде. Для обеспечения дренажа на дно сосудов укладывали слой гравия. После установки стеклянной трубки для газообмена в сосуды насыпали 0,55 кг песка, стерилизованного прокаливанием для исключения присутствия нежелательных бактерий, и добавляли по 110 мл 10% раствора Хогланда-Арнона. Трехдневные проростки (длина корня 1,5 см, длина coleoptilia 0,5 см) высаживали в сосуды и инокулировали 2 мл бактериальной суспензии *P. mandelii* IB-Ki14 на проросток (суспензия содержала 10<sup>8</sup> КОЕ/мл). В качестве контроля использовали растения без инокуляции бактериями. Растения выращивали на светопопадке при освещенности 400–500 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> ФАР, 14-часовом фотопериоде и температурном режиме 25/20°C (день/ночь). Влажность песка поддерживали на уровне 80% от полной влагоемкости путем ежедневного полива сосудов дистиллированной водой.

Для инокуляции растений использовали грамотрицательные бактерии *P. mandelii* IB-Ki14 из коллекции микроорганизмов Уфимского института биологии УФИЦ РАН (Всероссийская коллекция микроорганизмов В-3250). Бактериальный препарат для обработки растений получали культивированием штамма IB-Ki14 на среде Кинг Б (2% пептона, 1% глицерина, 0,15% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,15% MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) в колбах Эрленмейера на шейкере Innova 40R (New Brunswick, NJ, USA) в течение 48 ч при 28°C, 160 об/мин.

На 7-й день после инокуляции проводили опыт по ингибированию аквапоринов, для чего в половину сосудов контрольной и опытной групп вносили по 50 мл реактива Фентона (раствор перекиси водорода с двухвалентным железом: смесь Fe<sup>2+</sup> 0,83 г/л и 100 мкл 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). В результате реакции Фентона образуются высокорекреационноспособные гидроксидные радикалы, которые реагируют с аквапоринами, тем самым нарушая их функцию [Henzler, Stuedle, 2004].

Параметры водного обмена у растений, обработанных реактивом Фентона, измеряли одновременно с контрольными растениями. Перед измерением транспирации сосуды с растениями (по 5 сосудов на вариант обработки) накрывали

полиэтиленовой пленкой с отверстиями для растений во избежание испарения воды с поверхности песка. Транспирацию измеряли каждые 10 минут в течение 1 часа. При обнаружении снижения транспирации у растений, обработанных реактивом Фентона, измеряли водный потенциал у растений всех групп. Для этого использовали диски, вырезанные из дифференцированных листьев, и определяли их водный потенциал с помощью психрометра (PSYPRO, Wescor, США). Гидравлическую проводимость растений рассчитывали, как описано [Bunce, Ziska, 1998; Akhiyarova et al., 2021], по формуле:  $L = T / (\Psi_s - \Psi_l)$ , где  $T$  — транспирация, измеренная в течение последних 10 минут перед отбором проб для измерения водного потенциала, а  $\Psi_s$  и  $\Psi_l$  — водный потенциал питательного раствора и листа, соответственно.

Для определения отложения суберина поперечные срезы из базальной части корней растений окрашивали спиртовым раствором Судана III (Sigma, США) для выявления развития поясков Каспари [Efetova et al., 2007]. Суберинизированные ткани окрашивались в темно-оранжевый цвет.

Для иммунолокализации ЛТБ и абсцисовой кислоты (АБК) кусочки, вырезанные из базальной части корней растений, фиксировали в 0,1 М фосфатно-солевом буфере (ФСБ) pH 7,4, содержащем 4% карбодиимида (Merck, Германия) в течение 12 ч при 4°C, а затем в 4% параформальдегиде (Riedel de Haen, Германия) и 0,1% глутаральдегиде (Sigma, Германия). После чего ткани корней трижды промывали фосфатным буфером и после обезвоживания этаноле возрастающей концентрации (от 10% до 96%) заливали в смолу JB4 (Electron Microscopy Sciences, США). Гистологические срезы толщиной 1,5 мкм получали на ротационном микротоме (HM 325, MICROM Laborgerate, Германия). После нанесения блокирующего раствора на 30 мин (PBS, содержащий 0,2% желатина и 0,05% Tween-20) поперечные срезы корней инкубировали с сывороткой, содержащей поликлональные кроличьи анти-ЛТБ (разведение 1:200) или анти-АБК (разведение 1:80) антитела в течение ночи при 4°C. Затем срезы корней трижды промывали в ФСБ с 0,05% Tween-20 с последующей инкубацией в течение 3 ч при 37°C с вторичными антителами против кроличьего IgG, конъюгированными с Alexa Fluor 555 (Invitrogen, США). После многократной промывки в ФСБ срезы накрывали покровным стеклом и затем анализировали с помощью конфокальной микроскопии с использованием FV3000 Fluoview (FV31-HSD) (Olympus, Япония) при длине волны 561 нм и эмиссии 568 нм.

Экстракция РНК и анализ содержания мРНК липид-транспортующих белков. Выделение

тотальной РНК из контрольных и опытных 7-суточных растений ячменя проводили с использованием реагента “Trizol” согласно протоколу фирмы поставщика (Sigma, Германия). Концентрацию нуклеиновых кислот измеряли при A260/A280 на спектрофотометре Smart Spec Plus (Bio-Rad, США). Для синтеза кДНК проводили реакцию обратной транскрипции с использованием M-MuLV обратной транскриптазы (Синтол, Россия). На основе кДНК осуществляли ПЦР в амплификаторе типа ТП4-ПЦР-01-Терцик (ДНК-Технология, Россия). Анализ экспрессии генов ЛТБ проводили методом количественной ПЦР в режиме реального времени на приборе “CFX Connect real-time PCR Detection System” (BioRad, США) с использованием интеркалирующего красителя EVA Green I (Синтол, Россия). Протокол количественной ПЦР был следующим: 95°C в течение 5 мин; 40 циклов при 95°C в течение 15 с, при 60°C в течение 20 с и при 72°C в течение 30 с. В работе был использован следующий набор праймеров (5'-3'): Ps-LTP1 (KJ569141; F – GCTGCCGGTTCTATTCCTAAA; R – GTTGGTGGAGGTAAGTCTTG), Ps-LTP2 (KJ569142; F – TGGTAGTTATTGCGCCTATGG; R – GGTGGAGGACTGGCATTATTAG), Ps-LTP3 (KJ569143; F – TGGCGATGTGCATGTTAGT; R – GGGTGAAGGACTGGCATTTATTA) Ген  $\beta$ -тубулина (X54844.1; F – GCTCCCAGCAGTACAGGACTCT; R – TGGCATCCCACATTTGTTGA) был выбран в качестве внутреннего контроля для нормализации количества общей РНК, присутствующей в каждой реакции. Изменения в экспрессии интересующего гена определяли на основании вычисления уровня нормализованной экспрессии генов с помощью программного обеспечения “CFX Connect real-time PCR Detection System (BioRad Laboratories, США). Измерения проводили в трех химических и биологических повторностях.

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных программ MS Excel. На рисунке 1 и в таблице 2 показаны средние значения и их стандартные ошибки. Достоверность различий оценивали с помощью  $t$ -критерия или ANOVA с последующим критерием Дункана ( $p \leq 0,05$ ).

### Результаты и обсуждение

Количественная ПЦР показала, что бактериальная обработка значительно увеличивала относительное количество транскриптов *Ps-LTP1* (в 1,6 раза) и *Ps-LTP2* (в 1,9 раза) по сравнению с контролем (рис. 1). Увеличение количества транскриптов *Ps-LTP3* было статистически незначимым.

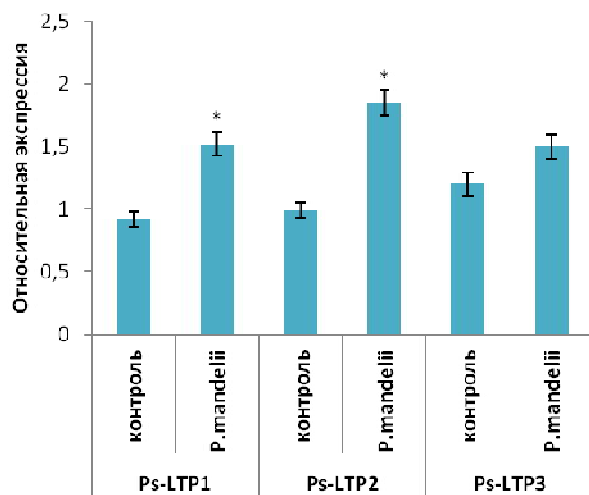


Рис. 1. Относительное количество транскриптов генов *Ps-LTP* в корнях контрольных растений гороха и растений, инокулированных *P. mandelii* IB-Ki14. Значения, достоверно отличающиеся от контроля, отмечены звездочками ( $n = 3$ ,  $t$ -test).

Figure 1. Relative amounts of *Ps-LTP* gene transcripts in the roots of control pea plants and plants inoculated with *P. mandelii* IB-Ki14. Values significantly different from control are marked with asterisks ( $n = 3$ ,  $t$ -test).

Эти данные согласуются с результатами, полученными при иммуноокрашивании корней гороха антителами к липид-транспортующим белкам. При окрашивании поперечных срезов корней контрольных растений наблюдалась слабая флуоресценция, соответствующая низкому содержанию ЛТБ (рис. 2а). Бактериальная обработка увеличивала яркость флуоресценции, особенно в области флоэмы, где ЛТБ присутствовали в клеточных стенках (рис. 2в). На срезах корней растений, обработанных *P. mandelii* IB-Ki14 (рис. 2б), можно видеть отложения суберина в области эндодермы (темно-оранжевая окраска), чего не наблюдается у контрольных растений (рис. 2г).

Иммуноокрашивание специфической сывороткой против АБК выявило флуоресценцию, соответствующую присутствию этого гормона в клетках корней и вокруг них. Флуоресценция была более яркой во флоэме и ксилеме, расположенных в центральном цилиндре корня, чем в клетках коры (рис. 3). Как видно из рисунка разницы в локализации АБК в корнях между контрольной и экспериментальной группами обнаружено не было. (рис. 3).

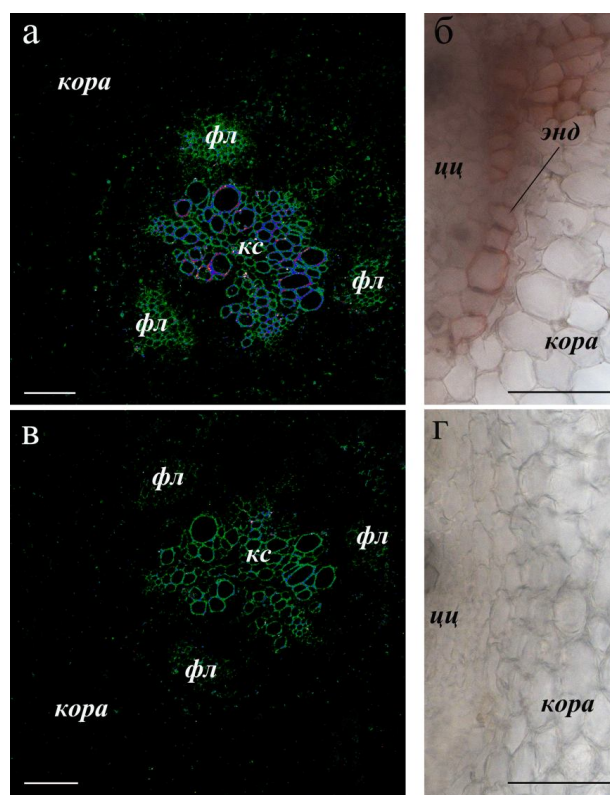


Рис. 2. Влияние бактериальной инокуляции на локализацию ЛТБ в центральном цилиндре (а, в) и на отложение суберина (б, г) в базальной части корня. Поперечные срезы базальной части корней гороха, обработанных *P. mandelii* IB-Ki14 (а, б), и контрольных растений (в, г). Масштабная линейка составляет 50 мкм. энд – эндодерма, кс – ксилема; ф – флоэма; цц – центральный цилиндр

Figure 2. Effect of bacterial inoculation on LTP localization in the central cylinder (a, c) and on suberin deposition (b, d) in the basal part of the root. Cross sections of the basal part of pea roots treated with *P. mandelii* IB-Ki14 (a, b) and control plants (c, d). The scale bar is 50  $\mu$ m.

При оценке некоторых параметров водного обмена было выявлено, что бактериальная инокуляция не влияла ни на водный потенциал листьев, ни на гидравлическую проводимость растений гороха (таблица 2). Ингибирование активности аквапоринов реагентом Фентона, как и ожидалось, снижало гидратацию листьев в обоих вариантах, хотя эффект был выше у инокулированных растений (70% против 30% снижения у растений контрольной группы). И только у инокулированных растений ингибирование аквапоринов приводило к достоверному снижению гидравлической проводимости по сравнению с другими вариантами опыта.

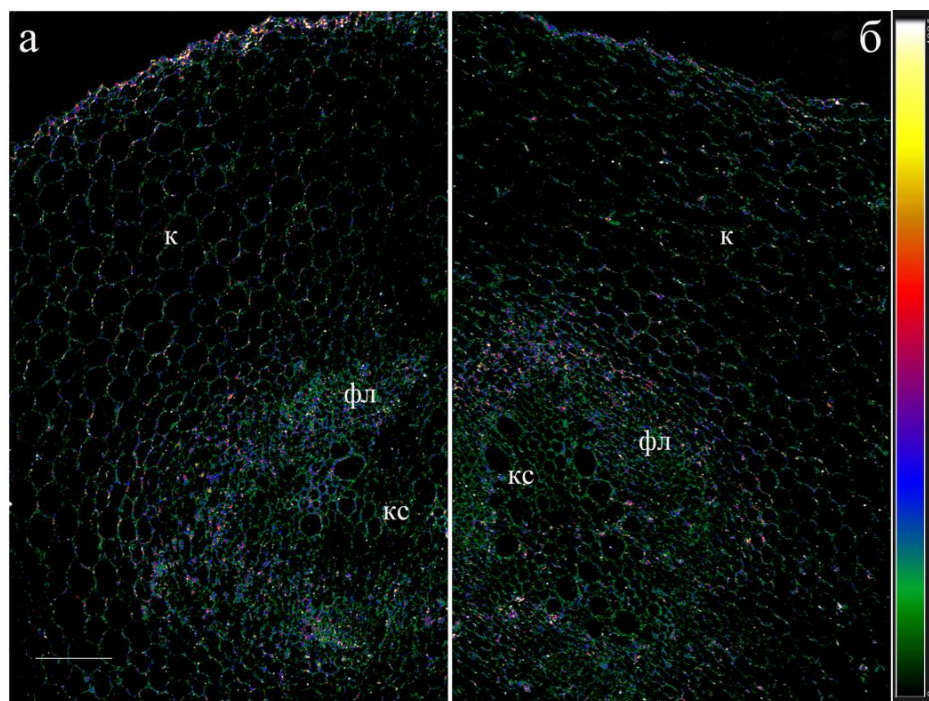


Рис. 3. Иммунолокализация АБК на поперечных срезах базальной части корней гороха, необработанных (а) и обработанных *P. mandelii* IB-Ki14 (б). Тепловая карта с цветовой кодировкой показывает интенсивность флуоресцентного сигнала. Наиболее слабое свечение кодируется зеленым цветом, наиболее яркое свечение соответствует белому цвету. Масштабная линейка составляет 100 мкм. *кс* – ксилема; *фл* – флоэма; *к* – кора.

Figure 3. ABA immunolocalization on transverse sections of the basal part of pea roots, untreated (a) and treated with *P. mandelii* IB-Ki14 (b). A color-coded heat map shows the intensity of the fluorescent signal. The weakest glow is encoded in green, the brightest glow corresponds to white. The scale bar is 100  $\mu\text{m}$ .

Таблица 1.

Влияние ингибирования аквапоринов с помощью реактива Фентона на водный потенциал листьев и на гидравлическую проводимость контрольных и инокулированных *P. mandelii* IB-Ki14 растений гороха.

Table - Effect of inhibition of aquaporins by Fenton's reagent on the leaf water potential and on the hydraulic conductance of uninoculated and inoculated by *P. mandelii* IB-Ki14 pea plants

Вариант обработки / Treatment		Водный потенциал листа, МПа Leaf water potential, MPa	Гидравлическая проводимость, мг воды·час <sup>-1</sup> ·МПа <sup>-1</sup> Hydraulic conductance, mg H <sub>2</sub> O·h <sup>-1</sup> ·MPa <sup>-1</sup>
Контроль (без бактериальной обработки) Control (without bacteria)	– реактив Фентона – Fenton's reagent	–0,255±0,010 <sup>a</sup>	592±70 <sup>a</sup>
	+ реактив Фентона + Fenton's reagent	–0,335±0,020 <sup>o</sup>	450±89 <sup>ab</sup>
Инокуляция <i>P. mandelii</i> Inoculation by <i>P. mandelii</i>	– реактив Фентона – Fenton's reagent	–0,257±0,025 <sup>a</sup>	559±60 <sup>a</sup>
	+ реактив Фентона + Fenton's reagent	–0,439±0,010 <sup>b</sup>	327±35 <sup>o</sup>

Достоверно различающиеся средние значения обозначены разными буквами (критерий Дункана,  $p \leq 0,05$ ,  $n = 6$ ). Means significantly different from the control are labeled with different letters (Duncan's test,  $p \leq 0.05$ ,  $n=6$ ).

В настоящем исследовании мы обнаружили, что инокуляция ризосферы гороха штаммом рост-стимулирующей бактерии *P. mandelii* ИВ-К114 повышала экспрессию генов, кодирующих ЛТБ, что сопровождалось увеличением количества ЛТБ и усиленным отложением суберина в апопластных барьерах.

ЛТБ принадлежат к семейству белков основных полипептидов с молекулярной массой 9 кДа, широко распространенных в царстве растений [Gonzalez-Klein et al., 2021]. Первоначально эти белки привлекли внимание исследователей из-за их роли паналлергенов в пищевых продуктах растительного происхождения [Scheurer et al., 2021]. В последнее время наблюдается растущее признание критической важности этого семейства белков в развитии растений, и, следовательно, исследовательские усилия были сосредоточены на нерешенных вопросах, связанных с их внутриклеточной локализацией, профилем экспрессии и биологической функцией [Missaoui et al., 2022].

Одной из функций, приписываемых ЛТБ, является перемещение липидов и между клетками [Megeressa et al., 2020]. Наши результаты подтверждают участие ЛТБ гороха в отложении суберина, вероятно, из-за их способности переносить гидрофобные вещества, включая предшественники суберина. В нашем предыдущем иммуногистохимическом исследовании локализации ЛТБ мы обнаружили ЛТБ в клеточных стенках флоэмы [Akhiyarova et al., 2020; Akhiyarova et al., 2021], что согласуется с настоящей работой. Наши данные свидетельствуют об участии ЛТБ в транспорте предшественников суберина через гидрофильную клеточную стенку, чтобы обеспечить отложение суберина в апопласте и разгрузку флоэмы. Флоэма является основным путем для ассимилятов и других питательных веществ. При этом транспорте липидов по флоэме уделялось мало внимания [Benning et al., 2012], так как в гидрофильной фазе ситовидных элементов не ожидалось присутствия гидрофобных веществ. В то же время открытие липидов, связанных с белками в крови человека [Kaluvarachchi et al., 2018], повышает вероятность того, что липиды и соответствующие им липид-связывающие белки во флоэме могут иметь сходные функции у растений.

Данные о влиянии микроорганизмов на уровень ЛТБ в растениях немногочисленны. Показано, например, что транскрипт гена *LTP3 Arabidopsis* накапливался в ответ на патогенный штамм *Pseudomonas* [Gao et al., 2016]. Есть данные о накоплении транскрипта *LTP4* в табаке в ответ на заражение *Ralstonia solanacearum* [Xu et al., 2018]. Мутация гена, кодирующего белок-переносчик

липидов, изменила липидный состав кутикулы у арабидопсиса и повысила его восприимчивость к заражению грибковым патогеном [Lee et al., 2003]. Кроме того, гены ЛТБ были экспрессированы в корнях и клубеньках бобовых, в то время как анализы ПЦР в реальном времени показали активацию некоторых генов ЛТБ в корнях *Phaseolus vulgaris*, инокулированных ризобиями во время образования клубеньков [Fonseca-Garcia et al., 2021]. Эти данные демонстрируют важность ЛТБ как для патогенных, так и для RGP микроорганизмов. Тем не менее, участию ЛТБ в отложении суберина и формировании апопластных барьеров у растений, обработанных бактериями, уделялось мало внимания. Формирование апопластного барьера рассматривалось как механизм, ограничивающий попадание патогенов в очаг инфекции и, таким образом, придающий растениям устойчивость к патогенам [Lee et al., 2019]. В то же время, более широкие аспекты важности ускоренного формирования апопластных барьеров в растениях, обработанных бактериями, недостаточно изучены. Было показано, что бактерии, стимулирующие рост растений, усиливают отложение лигнина и суберина в растениях пшеницы на фоне солевого стресса [Martynenko et al., 2022]. Но связь индуцированного бактериями образования апопластных барьеров с бактериальным действием на ЛТБ была изучена только в настоящих экспериментах. В настоящей работе мы показали, что индуцированное бактериями увеличение отложения суберина в эндодерме сопровождается соответствующим увеличением экспрессии генов ЛТБ и количества ЛТБ в корнях. Хотя усиленное образование апопластных барьеров защищает растения от неограниченного проникновения токсичных ионов, сам по себе этот эффект вряд ли будет способствовать росту растений в нормальных условиях, так как снижение транспорта воды по апопласту может приводить к закрытию устьиц и нарушению газообмена. Было высказано предположение [Aroca et al., 2012], что уменьшение потока воды по апопластному пути может быть скомпенсировано усилением транспорта воды через аквапорины. Результаты настоящих экспериментов с ингибитором аквапоринов (реактив Фентона) подтверждают это предположение. Мы обнаружили большее снижение гидравлической проводимости под действием ингибитора аквапоринов у инокулированных растений по сравнению с растениями контрольной группы при действии реактива Фентона. Это указывает на вызванное бактериями увеличение вклада водных каналов в транспорт воды по сравнению с контрольными (не инокулированными) растениями.

Ранее было показано снижение средней скорости транспорта воды под действием ингибитора аквапоринов [Zhao et al., 2017]. Однако связь между активностью аквапоринов и формированием апопластных барьеров показана нами впервые.

Предыдущие эксперименты показали, что либо усиленное образование апопластных барьеров, либо повышенные уровни аквапоринов могут быть вызваны накоплением АБК. Этот гормон влиял на отложение суберина у гороха [Akhiyarova et al., 2021]. Индуцированный АБК биосинтез суберина оказался быстрым, хотя и преходящим ответом у растений арабидопсиса [Wang et al., 2020]. Считается, что АБК играет регулируемую роль в опробковении клубней картофеля [Woolfson et al., 2022]. Этот гормон также мог влиять на уровни аквапоринов в ячмене [Sharipova et al., 2016]. Повышенная концентрация АБК усиливала экспрессию некоторых аквапоринов для повышения засухоустойчивости за счет увеличения транспорта воды в трансгенном табаке [Sorrentino et al., 2016]. Засоление [Akhiyarova et al., 2021] и инокуляция *P. mandelii* IB-Ki14 в настоящих экспериментах увеличивали количество ЛТБ в корнях гороха, что сопровождалось усиленным отложением суберина. Тем не менее, несмотря на то, что эффект как засоления, так и бактериальной обработки был сходным с точки зрения их воздействия на ЛТБ и уровень суберина, их механизмы, вероятно, различались. Эффекты засоления, очевидно, зависели от накопления АБК в растениях, подвергавшихся солевому стрессу, в то время как инокуляция бактериями не влияла на содержание АБК в корнях гороха, поэтому бактериальные эффекты не зависели от АБК. Кроме того, отличием действия засоления и инокуляции было отсутствие влияния засоления на экспрессию генов ЛТБ, в то время как *P. mandelii* IB-Ki14 увеличивал экспрессию этих генов. Следовательно, эффекты засоления на обилие ЛТБ, вероятно, реализуются на посттранскрипционном уровне, тогда как эффекты, вызываемые бактериями, зависят от транскрипции генов.

#### Благодарности.

Исследования были поддержаны Российским Научным Фондом (грант № 21-14-00070).

Работа проводилась с использованием оборудования центра коллективного пользования УФИЦ РАН «Агидель».

#### Литература

1. Akhiyarova G.R., Finkina E.I., Ovchinnikova T.N., Veselov D.S., Kudoyarova G.R. Role of pea LTPs and abscisic acid in salt-stressed roots // *Biomolecules*. 2020. V.10(1). 15. doi: 10.3390/biom10010015
2. Akhiyarova G.R., Ivanov R.S., Ivanov I.I., Finkina E.I., Melnikova D.N., Bogdanov I.V., Nuzhnaya T.V., Ovchinnikova T.V., Veselov D.S., Kudoyarova G.R. Effects of salinity and abscisic acid on lipid transfer protein accumulation, suberin deposition and hydraulic conductance in pea roots // *Membranes*. 2021. V.11. 762. doi: 10.3390/membranes11100762
3. Aroca R., Porcel R., Ruiz-Lozano J.M. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions // *Journal of Experimental Botany*. 2012. V.1(63). P.43–57. doi: 10.1093/jxb/err266
4. Backer R., Rokem J.S., Ilangumaran G., Lamont J., Praslickova D., Ricci E., Subramanian S., Smith D.L. Plant growth- promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture // *Frontiers in Plant Science*. 2018. V.9. 1473. doi: 10.3389/fpls.2018.01473
5. Benning U.F., Tamot B., Guelette B.S., Hoffmann-Benning S. New aspects of phloem-mediated long-distance lipid signaling in plants // *Frontiers in Plant Science*. 2012. V.3 P.53. doi: 10.3389/fpls.2012.00053
6. Boursiac Y., Protto V., Rishmawi L., Maurel C. Experimental and conceptual approaches to root water transport // *Plant and Soil*. 2022. V.478(1-2). P.349-370. doi: 10.1007/s11104-022-05427-z
7. Bunce J.A., Ziska L.H. Decreased hydraulic conductance in plants at elevated carbon dioxide // *Plant Cell Environ*. 1998. V.21. P.121–126. doi: 10.1046/j.1365-3040.1998.00256.x
8. Cui B., Liu R., Flowers T.J., Song J. Casparian bands and suberin lamellae: Key targets for breeding salt tolerant crops? // *Environmental and Experimental Botany*. 2021. V.191. 104600. doi: 10.1016/j.envexpbot.2021.104600
9. Edqvist J., Blomqvist K., Nieuwland J., Salminen T.A. Plant lipid transfer proteins: Are we finally closing in on the roles of these enigmatic proteins? // *J. Lipid Res*. 2018. V.59. P.1374–1380. doi: 10.1194/jlr.R083139
10. Efetova M., Zeier J., Riederer M., Lee C.W., Stinkl N., Mueller M., Hartung W., Hedrich R., Deeken R. A central role of abscisic acid in drought stress protection of *Agrobacterium*-induced tumors on *Arabidopsis* // *Plant Physiology*. 2007. V.145(3). P.853–862. doi: 10.1104/pp.107.104851
11. Finkina E.I., Melnikova D.N., Bogdanov I.V., Ovchinnikova T.V. Lipid transfer proteins as components of the plant innate immune system: Structure, functions, and applications // *Acta Naturae*. 2016. V.8. P.47–61. doi: 10.32607/20758251-2016-8-2-47-61

12. Flexas J., Carriqui M., Nadal M. Gas exchange and hydraulics during drought in crops: who drives whom? // *Journal of Experimental Botany*. 2018. V.69(16). P.3791–3795. doi: 10.1093/jxb/ery235
13. Fonseca-Garcia C., Solis-Miranda J., Pacheco R., Quinto C. Non-specific lipid transfer proteins in legumes and their participation during root-nodule symbiosis // *Frontiers in Agronomy*. 2021. V.3. 660100. doi: 10.3389/fagro.2021.660100
14. Gao S., Guo W., Feng W., Liu L., Song X., Chen J., Hou W., Zhu H., Tang S., Hu J. LTP3 contributes to disease susceptibility in Arabidopsis by enhancing abscisic acid (ABA) biosynthesis // *Molecular Plant Pathology*. 2016. V.17. P.412–426. doi: 10.1111/mpp.12290
15. Gao H., Ma K., Ji G., Pan L., Zhou Q. Lipid transfer proteins involved in plant–pathogen interactions and their molecular mechanisms // *Molecular Plant Pathology*. 2022. V.23. P.1815–1829. doi: 10.1111/mpp.13264
16. Gonzalez-Klein Z.; Cuevas-Zuñiga B.; Wangorsch A., Hernandez-Ramirez G., Pazos-Castro D., Oeo-Santos C., Romero-Sahagun A., Pacios L.F., Tome-Amat J., Scheurer S., Diaz-Perales A., Garrido-Arandia M. The key to the allergenicity of lipid transfer protein (LTP) ligands: A structural characterization // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2021. V.1866. 158928. doi: 10.1016/j.bbalip.2021.158928
17. Henzler T.Ye., Steudle Q.E. Oxidative gating of water channels (aquaporins) in Chara by hydroxyl radicals // *Plant, Cell and Environment*. 2004. V.27(9). P.1184–1195. doi: 10.1111/j.1365-3040.2004.01226.x
18. Kaluarachchi M., Boulange C.L., Karaman I., Lindon J.C., Ebbels T.M.D., Elliott P., Tracy R.P., Olson N.C. A comparison of human serum and plasma metabolites using untargeted 1H NMR spectroscopy and UPLC-MS // *Metabolomics*. 2018. V.14(3). P.32. doi: 10.1007/s11306-018-1332-1
19. Kudoyarova G., Arkhipova T., Korshunova T., Bakaeva M., Loginov O., Dodd I.C. Phytohormone mediation of interactions between plants and non-symbiotic growth promoting bacteria under edaphic stresses // *Frontiers in Plant Science*. 2019. V.10. 1368. doi: 10.3389/fpls.2019.01368
20. Lawson T., Vialet-Chabrand S. Speedy stomata, photosynthesis and plant water use efficiency // *New Phytologist*. 2019. V.221. P.93–98. doi: 10.1111/nph.15330
21. Lee S.B., Go Y.S., Bae H.J., Park J.H., Cho S.H., Cho H.J., Lee D.S., Park O.K., Hwang I., Suh M.C. Disruption of glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein gene altered cuticular lipid composition, increased plastoglobules, and enhanced susceptibility to infection by the fungal pathogen *Alternaria brassicicola* // *Plant Physiology*. 2009. V.150(1). P.42–54. doi: 10.1104/pp.109.137745
22. Lee M.-H., Jeon H.S., Kim S.H., Chung J.H., Roppolo D., Lee H.-J., Cho H.J., Tobimatsu Y., Ralph J., Park O.K. Lignin based barrier restricts pathogens to the infection site and confers resistance in plants // *The EMBO Journal*. 2019. V.38. e101948. doi: 10.15252/embj.2019101948
23. Li L., Pan S., Melzer R., Fricke W. Apoplastic barriers, aquaporin gene expression and root and cell hydraulic conductivity in phosphate-limited sheepgrass plants // *Physiologia Plantarum*. 2020. V.168. P.118–132. doi: 10.1111/ppl.12981
24. Martynenko E., Arkhipova T., Safronova V., Seldimirova O., Galin I., Akhtyamova Z., Veselov D., Ivanov R., Kudoyarova G. Effects of phytohormone-producing rhizobacteria on casparian band formation, ion homeostasis and salt tolerance of durum wheat // *Biomolecules*. 2022. V.12. 230. doi: 10.3390/biom12020230
25. Megeressa M., Siraj B., Zarina S., Ahmed A. Structural characterization and in vitro lipid binding studies of non-specific lipid transfer protein 1 (nsLTP1) from fennel (*Foeniculum vulgare*) seeds // *Scientific Reports*. 2020. V.10. 21243. doi: 10.1038/s41598-020-77278-6
26. Missaoui K., Gonzalez-Klein Z., Pazos-Castro D., Hernandez-Ramirez G., Garrido-Arandia M., Brini F., Perales A.D., Tome-Amat J. Plant non-specific lipid transfer proteins // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2022. V.171. P.115–127. doi: 10.1016/j.plaphy.2021.12.026
27. Moshelion M., Halperin O., Wallach R., Oren R., Way D.A. Role of aquaporins in determining transpiration and photosynthesis in water-stressed plants: crop water-use efficiency, growth and yield // *Plant, Cell and Environment*. 2015. V.38. P.1785–1793. doi: 10.1111/pce.1241010.1111/pce.12410
28. Olaetxea M., Mora V., Bacaico E., Garnic M., Fuentes M., Casanova E., Zamarreco A.M., Iriarte J.C., Etayo D., Ederri I., Gonzalo R., Baigorri R., Garcia-Mina J.M. Abscisic acid regulation of root hydraulic conductivity and aquaporin gene expression is crucial to the plant shoot growth enhancement caused by rhizosphere humic acids // *Plant Physiology*. 2015. V.169. P.2587–2596. doi: 10.1104/pp.15.00596
29. Petrillo C., Vitale E., Ambrosino P., Arena C., Istitato R. Plant growth-promoting bacterial consortia as a strategy to alleviate drought stress in *Spinacia oleracea* // *Microorganisms*. 2022. V.10. 1798. doi: 10.3390/microorganisms10091798
30. Ruzzi M., Aroca R. Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture // *Scientia Horticulturae*. 2015. V.196. P.124–134. doi: 10.1016/j.scienta.2015.08.042

31. Scheurer S., Van Ree R., Vieths S. The role of lipid transfer proteins as food and pollen allergens outside the mediterranean area // *Current Allergy and Asthma Reports*. 2021. V.21. 7. doi: 10.1007/s11882-020-00982-w
  32. Sharipova G., Veselov D., Kudoyarova G., Fricke W., Dodd I., Katsuhara M., Furuichi T., Ivanov I., Veselov S. Exogenous application of abscisic acid (ABA) increases root and cell hydraulic conductivity and abundance of some aquaporin isoforms in the ABA deficient barley mutant *Az34* // *Annals of Botany*. 2016. V.118(4). P.777-785. doi: 10.1093/aob/mcw117
  33. Shiono K., Yoshikawa M., Kreszies T., Yamada S., Hojo Y., Matsuura T., Mori I.C., Schreiber L., Yoshioka T. Abscisic acid is required for exodermal suberization to form a barrier to radial oxygen loss in the adventitious roots of rice (*Oryza sativa*) // *New Phytologist*. 2022. V.233. P.655-669. doi: 10.1111/nph.17751
  34. Sorrentino G., Haworth M., Wahbi S.; Mahmood T., Zuomin S., Centritto M. Abscisic acid induces rapid reductions in mesophyll conductance to carbon dioxide // *PLoS One* 2016. V.11(2). e0148554. doi: 10.1371/journal.pone.0148554
  35. Wang C., Wang H., Li P., Li H., Xu C., Cohen H., Aharoni A., Wu S. Developmental programs interact with abscisic acid to coordinate root suberization in *Arabidopsis* // *The Plant Journal*. 2020. V.104. P.241-251. doi: 10.1111/tbj.14920
  36. Woolfson K.N., Esfandiari M., Bernards M.A. Suberin biosynthesis, assembly and regulation // *Plants*. 2022. V.11(4). P.555. doi: 10.3390/plants11040555
  37. Xu Y., Zheng X., Song Y., Zhu L., Yu Z., Gan L., Zhou S., Liu H., Wen F., Zhu C. NtLTP4, a lipid transfer protein that enhances salt and drought stresses tolerance in *Nicotiana tabacum* // *Scientific Reports*. 2018. V.8. P.1–14. doi: 10.1038/s41598-018-27274-8
  38. Zhao M., Tan H.-T., Scharwies J., Levin K., Evans J.R., Tyerman S.D. Association between water and carbon dioxide transport in leaf plasma membranes: assessing the role of aquaporins // *Plant, Cell and Environment*. 2017. V.40. P.789–801. doi: 10.1111/pce.12830
- References**
1. Akhiyarova G.R., Finkina E.I., Ovchinnikova T.N., Veselov D.S., Kudoyarova G.R. Role of pea LTPs and abscisic acid in salt-stressed roots. *Biomolecules*. 2020. V.10(1). 15. doi: 10.3390/biom10010015
  2. Akhiyarova G.R., Ivanov R.S., Ivanov I.I., Finkina E.I., Melnikova D.N., Bogdanov I.V., Nuzhnaya T.V., Ovchinnikova T.V., Veselov D.S., Kudoyarova G.R. Effects of salinity and abscisic acid on lipid transfer protein accumulation, suberin deposition and hydraulic conductance in pea roots. *Membranes*. 2021. V.11. 762. doi: 10.3390/membranes11100762
  3. Aroca R., Porcel R., Ruiz-Lozano J.M. Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *Journal of Experimental Botany*. 2012. V.1(63). P.43–57. doi: 10.1093/jxb/err266
  4. Backer R., Rokem J.S., Ilangumaran G., Lamont J., Praslickova D., Ricci E., Subramanian S., Smith D.L. Plant growth- promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*. 2018. V.9. 1473. doi: 10.3389/fpls.2018.01473
  5. Benning U.F., Tamot B., Guelette B.S., Hoffmann-Benning S. New aspects of phloem-mediated long-distance lipid signaling in plants. *Frontiers in Plant Science*. 2012. V.3 P.53. doi: 10.3389/fpls.2012.00053
  6. Boursiac Y., Protto V., Rishmawi L., Maurel C. Experimental and conceptual approaches to root water transport. *Plant and Soil*. 2022. V.478(1-2). P.349-370. doi: 10.1007/s11104-022-05427-z
  7. Bunce J.A., Ziska L.H. Decreased hydraulic conductance in plants at elevated carbon dioxide. *Plant Cell Environ*. 1998. V.21. P.121–126. doi: 10.1046/j.1365-3040.1998.00256.x
  8. Cui B., Liu R., Flowers T.J., Song J. Casparian bands and suberin lamellae: Key targets for breeding salt tolerant crops? *Environmental and Experimental Botany*. 2021. V.191. 104600. doi: 10.1016/j.envexpbot.2021.104600
  9. Edqvist J., Blomqvist K., Nieuwland J., Salminen T.A. Plant lipid transfer proteins: Are we finally closing in on the roles of these enigmatic proteins? *J. Lipid Res*. 2018. V.59. P.1374–1380. doi: 10.1194/jlr.R083139
  10. Efetova M., Zeier J., Riederer M., Lee C.W., Stingl N., Mueller M., Hartung W., Hedrich R., Deeken R. A central role of abscisic acid in drought stress protection of *Agrobacterium*-induced tumors on *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 2007. V.145(3). P.853–862. doi: 10.1104/pp.107.104851
  11. Finkina E.I., Melnikova D.N., Bogdanov I.V., Ovchinnikova T.V. Lipid transfer proteins as components of the plant innate immune system: Structure, functions, and applications. *Acta Naturae*. 2016. V.8. P.47–61. doi: 10.32607/20758251-2016-8-2-47-61
  12. Flexas J., Carriqui M., Nadal M. Gas exchange and hydraulics during drought in crops: who drives whom? *Journal of Experimental Botany*. 2018. V.69(16). P.3791–3795. doi: 10.1093/jxb/ery235
  13. Fonseca-Garcia C., Solis-Miranda J., Pacheco R., Quinto C. Non-specific lipid transfer proteins in

- legumes and their participation during root-nodule symbiosis. *Frontiers in Agronomy*. 2021. V.3. 660100. doi: 10.3389/fagro.2021.660100
14. Gao S., Guo W., Feng W., Liu L., Song X., Chen J., Hou W., Zhu H., Tang S., Hu J. LTP3 contributes to disease susceptibility in Arabidopsis by enhancing abscisic acid (ABA) biosynthesis. *Molecular Plant Pathology*. 2016. V.17. P.412–426. doi: 10.1111/mpp.12290
  15. Gao H., Ma K., Ji G., Pan L., Zhou Q. Lipid transfer proteins involved in plant–pathogen interactions and their molecular mechanisms. *Molecular Plant Pathology*. 2022. V.23. P.1815–1829. doi: 10.1111/mpp.13264
  16. Gonzalez-Klein Z.; Cuevas-Zuñiga B.; Wangorsch A., Hernandez-Ramirez G., Pazos-Castro D., Oeo-Santos C., Romero-Sahagun A., Pacios L.F., Tome-Amat J., Scheurer S., Diaz-Perales A., Garrido-Arandia M. The key to the allergenicity of lipid transfer protein (LTP) ligands: A structural characterization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2021. V.1866. 158928. doi: 10.1016/j.bbalip.2021.158928
  17. Henzler T.Ye., Steudle Q.E. Oxidative gating of water channels (aquaporins) in Chara by hydroxyl radicals. *Plant, Cell and Environment*. 2004. V.27(9). P.1184–1195. doi: 10.1111/j.1365-3040.2004.01226.x
  18. Kaluarachchi M., Boulange C.L., Karaman I., Lindon J.C., Ebbels T.M.D., Elliott P., Tracy R.P., Olson N.C. A comparison of human serum and plasma metabolites using untargeted 1H NMR spectroscopy and UPLC-MS. *Metabolomics*. 2018. V.14(3). P.32. doi: 10.1007/s11306-018-1332-1
  19. Kudoyarova G., Arkhipova T., Korshunova T., Bakaeva M., Loginov O., Dodd I.C. Phytohormone mediation of interactions between plants and non-symbiotic growth promoting bacteria under edaphic stresses. *Frontiers in Plant Science*. 2019. V.10. 1368. doi: 10.3389/fpls.2019.01368
  20. Lawson T., Violet-Chabrand S. Speedy stomata, photosynthesis and plant water use efficiency. *New Phytologist*. 2019. V.221. P.93–98. doi: 10.1111/nph.15330
  21. Lee S.B., Go Y.S., Bae H.J., Park J.H., Cho S.H., Cho H.J., Lee D.S., Park O.K., Hwang I., Suh M.C. Disruption of glycosylphosphatidylinositol-anchored lipid transfer protein gene altered cuticular lipid composition, increased plastoglobules, and enhanced susceptibility to infection by the fungal pathogen *Alternaria brassicicola*. *Plant Physiology*. 2009. V.150(1). P.42–54. doi: 10.1104/pp.109.137745
  22. Lee M.-H., Jeon H.S., Kim S.H., Chung J.H., Roppolo D., Lee H.-J., Cho H.J., Tobimatsu Y., Ralph J., Park O.K. Lignin based barrier restricts pathogens to the infection site and confers resistance in plants. *The EMBO Journal*. 2019. V.38. e101948. doi: 10.15252/embj.2019101948
  23. Li L., Pan S., Melzer R., Fricke W. Apoplastic barriers, aquaporin gene expression and root and cell hydraulic conductivity in phosphate-limited sheepgrass plants. *Physiologia Plantarum*. 2020. V.168. P.118–132. doi: 10.1111/ppl.12981
  24. Martynenko E., Arkhipova T., Safronova V., Seldimirova O., Galin I., Akhtyamova Z., Veselov D., Ivanov R., Kudoyarova G. Effects of phytohormone-producing rhizobacteria on casparian band formation, ion homeostasis and salt tolerance of durum wheat. *Biomolecules*. 2022. V.12. 230. doi: 10.3390/biom12020230
  25. Megeressa M., Siraj B., Zarina S., Ahmed A. Structural characterization and in vitro lipid binding studies of non-specific lipid transfer protein 1 (nsLTP1) from fennel (*Foeniculum vulgare*) seeds. *Scientific Reports*. 2020. V.10. 21243. doi: 10.1038/s41598-020-77278-6
  26. Missaoui K., Gonzalez-Klein Z., Pazos-Castro D., Hernandez-Ramirez G., Garrido-Arandia M., Brini F., Perales A.D., Tome-Amat J. Plant non-specific lipid transfer proteins. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2022. V.171. P.115–127. doi: 10.1016/j.plaphy.2021.12.026
  27. Moshelion M., Halperin O., Wallach R., Oren R., Way D.A. Role of aquaporins in determining transpiration and photosynthesis in water-stressed plants: crop water-use efficiency, growth and yield. *Plant, Cell and Environment*. 2015. V.38. P.1785–1793. doi: 10.1111/pce.12410.1111/pce.12410
  28. Olaetxea M., Mora V., Bacaico E., Garnic M., Fuentes M., Casanova E., Zamarreco A.M., Iriarte J.C., Etayo D., Ederri I., Gonzalo R., Baigorri R., Garcia-Mina J.M. Abscisic acid regulation of root hydraulic conductivity and aquaporin gene expression is crucial to the plant shoot growth enhancement caused by rhizosphere humic acids. *Plant Physiology*. 2015. V.169. P.2587–2596. doi: 10.1104/pp.15.00596
  29. Petrillo C., Vitale E., Ambrosino P., Arena C., Istitico R. Plant growth-promoting bacterial consortia as a strategy to alleviate drought stress in *Spinacia oleracea*. *Microorganisms*. 2022. V.10. 1798. doi: 10.3390/microorganisms10091798
  30. Ruzzi M., Aroca R. Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*. 2015. V.196. P.124–134. doi: 10.1016/j.scienta.2015.08.042
  31. Scheurer S., Van Ree R., Vieths S. The role of lipid transfer proteins as food and pollen allergens outside the mediterranean area. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2021. V.21. 7. doi: 10.1007/s11882-020-00982-w

32. Sharipova G., Veselov D., Kudoyarova G., Fricke W., Dodd I., Katsuhara M., Furuichi T., Ivanov I., Veselov S. Exogenous application of abscisic acid (ABA) increases root and cell hydraulic conductivity and abundance of some aquaporin isoforms in the ABA deficient barley mutant *Az34*. *Annals of Botany*. 2016. V.118(4). P.777-785. doi: 10.1093/aob/mcw117
33. Shiono K., Yoshikawa M., Kreszies T., Yamada S., Hojo Y., Matsuura T., Mori I.C., Schreiber L., Yoshioka T. Abscisic acid is required for exodermal suberization to form a barrier to radial oxygen loss in the adventitious roots of rice (*Oryza sativa*). *New Phytologist*. 2022. V.233. P.655-669. doi: 10.1111/nph.17751
34. Sorrentino G., Haworth M., Wahbi S.; Mahmood T., Zuomin S., Centritto M. Abscisic acid induces rapid reductions in mesophyll conductance to carbon dioxide. *PLoS One* 2016. V.11(2). e0148554. doi: 10.1371/journal.pone.0148554
35. Wang C., Wang H., Li P., Li H., Xu C., Cohen H., Aharoni A., Wu S. Developmental programs interact with abscisic acid to coordinate root suberization in Arabidopsis. *The Plant Journal*. 2020. V.104. P.241-251. doi: 10.1111/tbj.14920
36. Woolfson K.N., Esfandiari M., Bernards M.A. Suberin biosynthesis, assembly and regulation. *Plants*. 2022. V.11(4). P.555. doi: 10.3390/plants11040555
37. Xu Y., Zheng X., Song Y., Zhu L., Yu Z., Gan L., Zhou S., Liu H., Wen F., Zhu C. NtLTP4, a lipid transfer protein that enhances salt and drought stresses tolerance in *Nicotiana tabacum*. *Scientific Reports*. 2018. V.8. P.1–14. doi: 10.1038/s41598-018-27274-8
38. Zhao M., Tan H.-T., Scharwies J., Levin K., Evans J.R., Tyerman S.D. Association between water and carbon dioxide transport in leaf plasma membranes: assessing the role of aquaporins. *Plant, Cell and Environment*. 2017. V.40. P.789–801. doi: 10.1111/pce.12830