

DOI 10.33952/2542-0720-2020-3-23-59-69

УДК 579.69:581.135:577.175.1

Высоцкая Л. Б., Четвериков С. П., Кузина Е. В., Архипова Т. Н., Рафикова Г. Ф., Шарипов Д. А., Худайгулов Г. Г., Четверикова Д. В., Бакаева М. Д., Коршунова Т. Ю., Логинов О. Н., Кудоярова Г. Р.

## ВЛИЯНИЕ АУКСИНПРОДУЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ НА СОДЕРЖАНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРИКОРНЕВОЙ ЗОНЕ ЯЧМЕНЯ ПРИ НЕФТЯНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ

ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»

**Реферат.** Растения-фитомелиоранты часто используют для восстановления качества нефтезагрязненных почв. Однако роль бактерий в регуляции экссудации корней в процессе биodeградации нефти практически не изучена. Цель исследований – оценить влияние двух продуцирующих ауксины штаммов бактерий *Pseudomonas lupanensis* IB C7 и *Enterobacter* sp. UOM 3 на содержание в корневой зоне растений ячменя *Hordeum vulgare* L. органических кислот, сахаров и фитогормонов в условиях нефтяного загрязнения. Исследования проводили в 2019–2020 гг. Ячмень выращивали на светоплощадке в простерилизованном песке, пропитанном питательным раствором Хогланда-Арнона. Перед посадкой проростки замачивали в суспензии бактериальных клеток. Содержание органических кислот и сахаров в пропитывающем песок растворе определяли методом капиллярного электрофореза, гормонов – методом иммуноферментного анализа. Повторность вариантов опыта – десятикратная. В результате применения обоих штаммов бактерий в растворе отмечено увеличение суммарного количества органических кислот на 4–7 %, моносахаридов – на 12–15 %, возрастание доли лимонной и молочной кислот, фруктозы и глюкозы, а в корнях ячменя зафиксирован рост содержания ауксинов на 46–98 % по сравнению с нефтезагрязненным вариантом без микроорганизмов. Предположительно, вызванное бактериями и загрязнением накопление ауксинов в растениях стимулирует корневую экссудацию, а бактерии за счет своей метаболической активности вносят вклад в изменение состава экссудатов. Полученные результаты свидетельствуют о повышении уровня корневой экссудации в присутствии нефти и ауксинпродуцирующих бактерий. Это должно способствовать колонизации корней бактериями, обеспечивая возрастание эффективности разложения углеводородов нефти.

**Ключевые слова:** корневые экссудаты, фитогормоны, нефтяное загрязнение, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Hordeum vulgare* L.

### Введение

Поступление растворимых органических соединений в почву в виде корневых экссудатов играет важную роль в поддержании размножения бактерий в ризосфере. Показано, что при стрессе уровень экссудации меняется, способствуя росту бактерий в неблагоприятных условиях [1, 2]. Приток в ризосферу продуцируемых растениями растворимых органических соединений – один из наиболее важных факторов, обеспечивающих микроорганизмы источником энергии для окисления углеводородов и биоремедиацию загрязненной нефтью почвы [3]. Однако эффективность ассоциации растений и бактерий в процессе фиторемедиации определяется их взаимодействием, при котором не только растения обеспечивают микроорганизмы необходимыми веществами, но и бактерии могут влиять на рост корней, от чего зависит процесс экссудации [3]. Кроме того,

микроорганизмы могут оказывать и непосредственное воздействие на уровень корневого выделения [1]. В этом важную роль играют образуемые ими фитогормоны, например, ауксины и цитокинины, усиливающие этот процесс [4, 5]. Ранее нами показано положительное влияние некоторых представителей родов *Pseudomonas* и *Enterobacter* на рост растений в присутствии углеводов за счет снижения содержания токсиканта в почве и синтеза фитогормонов [6, 7]. Вместе с тем, роль бактерий в регуляции экссудации корней в ходе биодegradации нефти практически не изучена.

**Цель исследований** – оценка воздействия бактерий *P. humanensis* IB C7 и *Enterobacter sp.* UOM 3 на накопление в зоне корней растений ячменя органических кислот и сахаров в условиях нефтяного загрязнения.

#### **Материалы и методы исследований**

Исследования проводили в 2019–2020 г. в ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук».

Объектом изучения служили растения ячменя (*Hordeum vulgare* L.) сорта Челябинский 99. Исследования проводили в условиях модельного эксперимента на стерильном песке, который насыщали 100 %-м питательным раствором Хогланда-Арнона следующего состава: 0,5 мМ KNO<sub>3</sub>, 0,5 мМ Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,1 мМ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,1 мМ MgSO<sub>4</sub> и соли микроэлементов. В опытные варианты вносили товарную нефть в количестве 2 % по массе. Перед посадкой проростки ячменя замачивали в жидкой культуре бактерий *P. humanensis* IB C7 и *Enterobacter sp.* UOM 3 с титром 10<sup>6</sup> клеток/мл и высаживали по шесть штук в сосуд объемом 500 мл в десятикратной повторности. Дополнительно в песок вносили жидкую культуру вышеупомянутых бактерий до концентрации порядка 2–3×10<sup>6</sup> клеток/г. Растения выращивали на светоплощадке при освещенности 240 мкмоль м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> ФАР, 14-часовом фотопериоде и 22–26 °С. Влажность поддерживали на уровне 60–90 % от полной влагоемкости. Через две недели после появления всходов оценивали показатели роста растений ячменя, содержание органических кислот, сахаров и фитогормонов в пропитывающем песок растворе. Для этого 50 мл дистиллированной воды порциями наливали на поверхность песка и собирали вытекающую из сосуда жидкость (элюат, корневой смыв), в которой определяли содержание органических веществ и гормонов (масса/сосуд).

Анализ состава сахаров и органических кислот в элюатах проводили с использованием метода капиллярного электрофореза на системе «Капель-104 РТ» («Люмэкс», Россия) с ультрафиолетовым детектором с длиной волны 254 нм, с кварцевым капилляром (эффективная длина – 0,5 м, внутренний диаметр – 75 мкм). Электролитом для определения органических кислот являлся бензимидазол [8], для углеводов – раствор следующего состава: 0,5 % сорбата калия, 0,62 % цетилтриметиламмоний бромид и 0,02 % гидроксида калия. Пробы дозировали гидродинамически. Рекомендуемое отрицательное напряжение – 16 кВ (для сахаров) и 20 кВ (для органических кислот). Перед анализом элюаты фильтровали через мембранные фильтры с порами 0,22 мкм.

Для определения гормонов методом иммуноферментного анализа пробы побегов и корней помещали в жидкий азот. Цитокинины в аликвоте после экстракции этиловым спиртом из растений или в аликвоте элюата концентрировали на картридже С-18 и разделяли при помощи тонкослойной хроматографии для оценки содержания зеатина (Z) и его рибозида (ZR) [9]. Абсцизовую кислоту (АБК) и индолилуксусную кислоту (ИУК) из аликвоты водного остатка и корневого смыва экстрагировали диэтиловым эфиром после упаривания последнего, осадок растворяли в этиловом спирте для выполнения иммуноферментного анализа [10].

Статистическую обработку данных проводили по стандартным программам MS Excel. На рисунках и в таблицах данные представлены как среднее и стандартная ошибка. Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

### Результаты и их обсуждение

В смывах из обработанного бактериями песка без растений выявлена только яблочная кислота в низкой концентрации (около 0,8 мкг/сосуд), а присутствие остальных органических кислот и сахаров не обнаружено. Для элюата из всех вариантов с растениями характерно низкое содержание яблочной кислоты (менее 0,5 мкг/сосуд). Без интродукции бактерий в песке под ячменем доминировала янтарная кислота, содержание которой составляло около 50 % от суммы всех органических кислот, а молочная кислота отсутствовала (таблица 1).

**Таблица 1 – Содержание органических кислот в сосудах с растениями ячменя, мкг/сосуд**

Вариант опыта		Кислота				
		щавелевая	лимонная	янтарная	молочная	суммарно
Без нефти	без бактерий	5,37 ± 0,07 <sup>a</sup>	74,68 ± 0,12 <sup>a</sup>	110,20 ± 0,84 <sup>d</sup>	менее 0,5	190,25 ± 0,88 <sup>a</sup>
	<i>Enterobacter sp.</i> UOM 3	5,18 ± 0,02 <sup>a</sup>	123,58 ± 0,16 <sup>c</sup>	8,33 ± 0,04 <sup>c</sup>	65,93 ± 0,18 <sup>c</sup>	203,03 ± 0,38 <sup>b</sup>
	<i>P. humanensis</i> IB C7	5,23 ± 0,02 <sup>a</sup>	178,65 ± 0,48 <sup>e</sup>	5,22 ± 0,03 <sup>b</sup>	34,68 ± 0,07 <sup>a</sup>	223,78 ± 0,58 <sup>c</sup>
2 % нефти	без бактерий	10,18 ± 0,02 <sup>b</sup>	100,88 ± 0,07 <sup>b</sup>	119,97 ± 0,30 <sup>e</sup>	менее 0,5	231,03 ± 0,37 <sup>d</sup>
	<i>Enterobacter sp.</i> UOM 3	10,28 ± 0,02 <sup>b</sup>	123,82 ± 0,22 <sup>c</sup>	5,57 ± 0,09 <sup>c</sup>	100,27 ± 0,49 <sup>c</sup>	239,93 ± 0,78 <sup>e</sup>
	<i>P. humanensis</i> IB C7	10,52 ± 0,04 <sup>b</sup>	175,70 ± 0,42 <sup>d</sup>	4,92 ± 0,02 <sup>a</sup>	55,77 ± 0,12 <sup>b</sup>	246,90 ± 0,26 <sup>f</sup>

**Примечание.** Внутри группы достоверно отличающиеся значения помечены разными буквами ( $p \leq 0,05$ ).

Обработка растений бактериями приводила к резкому (более чем десятикратному) снижению содержания янтарной кислоты, повышению – лимонной и появлению молочной кислоты, не обнаруженной в варианте с растениями без бактериальной инокуляции. Содержание молочной кислоты было выше при применении штамма *Enterobacter sp.* UOM 3, чем *P. humanensis* IB C7. При отсутствии нефти количество лимонной кислоты возросло под влиянием штаммов *Enterobacter sp.* UOM 3 и *P. humanensis* IB C7 в 1,7 и 2,4 раза соответственно, а ее доля в суммарном содержании идентифицированных органических кислот увеличилась до 60 и 80 % соответственно.

В условиях загрязнения суммарное количество органических кислот, выявленных в прикорневой зоне, повысилось в варианте без бактериализации примерно на 20 %, а содержание лимонной кислоты – на 35 %. Содержание щавелевой кислоты в присутствии нефти возросло наиболее значительно (вдвое), но так как этот показатель был на порядок меньше, чем у лимонной кислоты, ее вклад в пул органических кислот был небольшим. Обработка растений бактериями на фоне загрязнения сопровождалась дополнительным возрастанием содержания лимонной кислоты на 22 % в варианте с *Enterobacter sp.* UOM 3 и на 74 % – в случае *P. humanensis* IB C7.

Суммарное содержание моносахаридов в элюате из песка на порядок превышало количество органических кислот (таблица 2). Уровень фруктозы и глюкозы возрастал как под влиянием внесения бактерий, так и присутствия нефти, а мальтозы, напротив, снижался в 2,6–2,7 раза, если бактерии и нефть присутствовали одновременно. Заметным было влияние инокуляции на количество фруктозы. В отсутствие нефти прибавка ее содержания от бактериализации была достоверной в случае *P. humanensis* IB C7, а на фоне загрязнения – при использовании обоих штаммов. Увеличение содержания фруктозы под влиянием штамма *P. humanensis* IB C7 составило

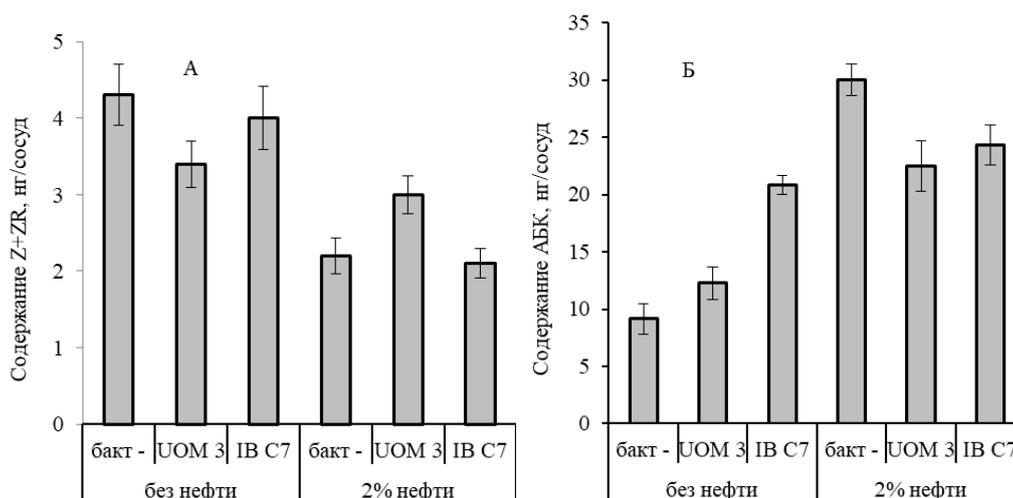
при загрязнении 32 %, а без поллютанта – 21 %. В целом, обработка штаммом *P. humanensis* IB C7 являлась более эффективной, чем *Enterobacter sp.* UOM 3.

**Таблица 2 – Содержание сахаров в сосудах с растениями ячменя, мкг/сосуд**

Вариант опыта		Сахара			
		фруктоза	глюкоза	мальтоза	суммарно
Без нефти	без бактерий	163 ± 5 <sup>a</sup>	1579 ± 42 <sup>a</sup>	167 ± 1 <sup>c</sup>	1909 ± 47 <sup>a</sup>
	<i>Enterobacter sp.</i> UOM 3	182 ± 8 <sup>ab</sup>	1692 ± 8 <sup>a</sup>	168 ± 5 <sup>bc</sup>	2042 ± 11 <sup>a</sup>
	<i>P. humanensis</i> IB C7	198 ± 2 <sup>b</sup>	1814 ± 37 <sup>b</sup>	164 ± 1 <sup>b</sup>	2176 ± 39 <sup>b</sup>
2 % нефти	без бактерий	235 ± 1 <sup>c</sup>	1753 ± 55 <sup>ab</sup>	189 ± 6 <sup>bc</sup>	2156 ± 57 <sup>ab</sup>
	<i>Enterobacter sp.</i> UOM 3	290 ± 5 <sup>d</sup>	2068 ± 89 <sup>bc</sup>	65 ± 1 <sup>a</sup>	2423 ± 90 <sup>bc</sup>
	<i>P. humanensis</i> IB C7	311 ± 4 <sup>e</sup>	2108 ± 50 <sup>c</sup>	63 ± 2 <sup>a</sup>	2482 ± 55 <sup>c</sup>

*Примечание.* Внутри группы достоверно отличающиеся значения помечены разными буквами ( $p \leq 0,05$ ).

Цитокинины в элюате из песка без растений не детектировались, а содержание АБК было на пределе чувствительности метода. В присутствии растений содержание этих гормонов оставалось незначительным (не более 5 нг/сосуд для цитокининов и 30 нг/сосуд – в случае АБК). Количество цитокининов снижалось, а АБК – возрастало под влиянием нефтяного загрязнения (рисунок 1). Содержание АБК менялось наиболее значительно (в три раза по сравнению с вариантом без нефти) в варианте без бактерий.

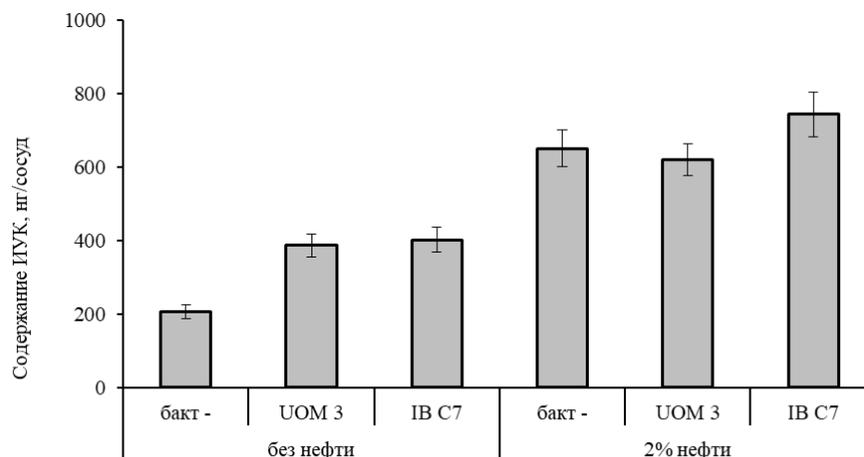


**Рисунок 1 – Содержание цитокининов (Z+ZR) (А) и АБК (Б) в элюате из песка, на котором выращивали растения ячменя**

*Примечание.* «Бакт -» – растения, не подвергавшиеся бактериальной обработке; UOM 3 – растения, инокулированные штаммом *Enterobacter sp.* UOM 3; IB C7 – растения, инокулированные штаммом *P. humanensis* IB C7.

Содержание ИУК в элюате из песка, на котором росли растения, составляло 207 нг/сосуд, что на порядок выше, чем АБК и цитокининов (рисунок 2). Оно возросло в присутствии нефти до 650 нг/сосуд, но обработка бактериями оказывала влияние на концентрацию ИУК только в отсутствие нефти, вызывая повышение уровня этого гормона в два раза по сравнению с вариантом без бактериализации. Одинаковая прибавка зарегистрирована при применении обоих штаммов. В чистом песке в присутствии микроорганизмов, но без растений, содержание гормона было в 20 раз ниже, чем при наличии растений. На фоне загрязнения количество ИУК в

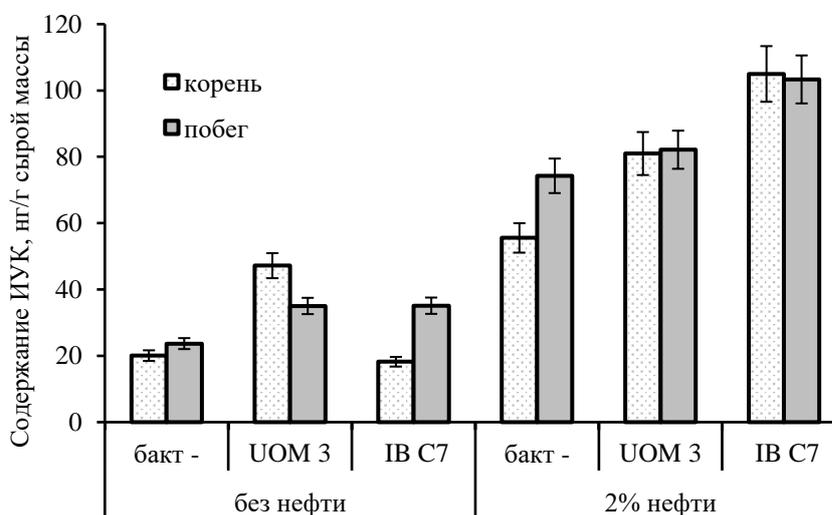
песке без растений увеличилось до 45 нг/сосуд, а при сочетании нефти с обработкой штаммом *Enterobacter sp.* UOM 3 – до 162 нг/сосуд.



**Рисунок 2 – Содержание ИУК в элюате из песка**

**Примечание.** «Бакт -» – растения, не подвергавшиеся бактериальной обработке; UOM 3 – варианты опыта с внесением штамма *Enterobacter sp.* UOM 3; IB C7 – варианты опыта с внесением штамма *P. humanensis* IB C7.

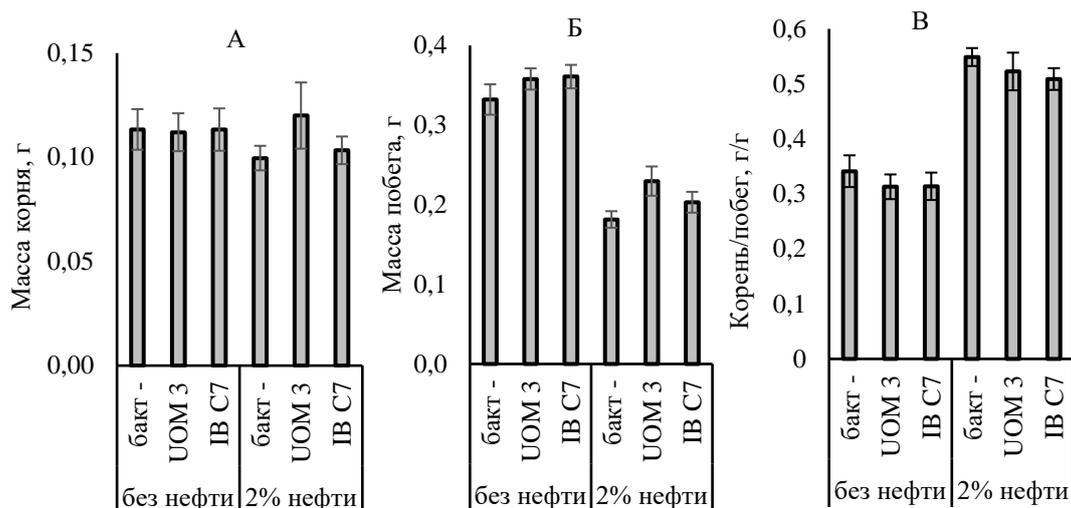
Под влиянием нефти и бактериальной обработки содержание ауксинов в растениях возросло (рисунок 3). На фоне загрязнения прибавка содержания ИУК в корнях и побегах была больше в случае *P. humanensis* IB C7 (почти в два раза по сравнению с вариантом без внесения бактерий).



**Рисунок 3 – Содержание ИУК в побегах и корнях растений ячменя**

**Примечание.** «Бакт -» – варианты опыта без бактериальной обработки, UOM 3 – варианты опыта с внесением штамма *Enterobacter sp.* UOM 3; IB C7 – варианты опыта с внесением штамма *P. humanensis* IB C7.

Присутствие нефти приводило к резкому снижению массы побега по сравнению с растениями, которые росли в чистом песке, но не влияло на массу корней, в результате чего соотношение масс корней и побегов резко возрастало (рисунок 4).



**Рисунок 4 – Изменение массы вегетативных органов растений ячменя**

**Примечания:** А – масса корней, Б – побегов, В – соотношение масс корень/побег растений ячменя; «бакт -» – варианты опыта без бактериальной обработки; UOM 3 – варианты опыта с внесением штамма *Enterobacter sp. UOM 3*; IB C7 – варианты опыта с внесением штамма *P. hunanensis IB C7*.

Отсутствие сахаров и большинства органических кислот в песке, в котором не росли растения, явилось ожидаемым результатом, который соответствует роли растений как первичного источника растворимых органических соединений в ризосфере [11]. Вместе с тем, интродукция бактерий в ризосферу влияла на состав органических соединений: в элюате резко снижалось содержание янтарной кислоты, увеличивалось количество лимонной и появлялась молочная кислота; содержание фруктозы и глюкозы также возрастало, хотя и в меньшей степени, чем кислот. В присутствии нефти содержание органических соединений также повышалось, что соответствует данным литературы об усилении корневой экссудации растений в стрессовых условиях [1, 2]. Увеличение содержания органических кислот под влиянием нефтяного загрязнения более заметно проявлялось на фоне бактериализации. Состав органических соединений может отражать особенности метаболизма бактерий (синтез одних соединений и катаболизм других). Углеводороды нефти могут быть источником для синтеза органических соединений. Так, в результате бета-окисления алифатических цепей углеводов образуется ацилКоА, который, вступая в цикл Кребса, может способствовать накоплению лимонной кислоты [12]. Наибольшая прибавка лимонной кислоты в пуле органических кислот была выявлена при интродукции штамма псевдомонад. Эти результаты представляют интерес в связи с данными литературы о наличии у представителей этого рода хемотоксичных белков, реагирующих на лимонную кислоту и способствующих их аттракции к поверхности корней и колонизации [3]. В присутствии нефти и бактерий резко снижалась концентрация мальтозы, что может указывать на активную утилизацию этого соединения микроорганизмами.

Ранее мы обнаружили, что цитокинины, продуцируемые бациллами, влияют на экссудацию аминокислот [5]. Но на фоне загрязнения нефтью не зарегистрировано повышения уровня этих гормонов в растениях [13], а их количество в элюате было низким (см. рисунок 1). Поэтому большее внимание в работе сосредоточено на результатах анализа ауксинов.

Известно, что ауксины способны повышать уровень корневой экссудации [4] и в этом плане представляет интерес обнаруженное в наших опытах возрастание

содержания этих гормонов как в элюате из песка, так и самих растениях под влиянием нефтяного загрязнения. Влияние ауксина на корневую экссудацию может быть обусловлено его действием на рост корней [13, 14]. Однако в опытах (относительно короткая экспозиция), которые проводили в песчаной культуре, увеличения массы корней на фоне стресса не зарегистрировано (см. рисунок 4). Поэтому возрастание количества органических соединений в элюате отражало изменение активности экссудации, независимое от массы корней. Механизм действия ауксинов на корневую экссудацию может быть связан со способностью этих гормонов активировать мембранную АТФазу [15], обеспечивающую транспорт веществ против градиента их концентрации. Другие исследователи утверждают, что корневая экссудация сахаров происходит пассивно [16]. Тем не менее, повышение содержания ауксинов способствует оттоку сахаров в корни [17], что должно сказаться на корневой экссудации.

Оба изученных штамма бактерий способны синтезировать ауксины [6]. Их концентрация в элюате возрастала в результате бактеризации (в отсутствие нефти), что могло способствовать повышению корневой экссудации и увеличению концентрации органических соединений (таблицы 1 и 2). Но на фоне нефтяного загрязнения прибавки количества ауксинов в элюате при интродукции бактерий не зарегистрировано. Вместе с тем, в растениях содержание этих гормонов возрастало как под влиянием нефти, так и бактеризации (рисунок 3). Очевидно, что в варианте без введения микроорганизмов, увеличение количества ауксинов под воздействием нефти как в элюате, так и растениях было следствием синтеза этих веществ растениями. Однако дополнительное возрастание уровня ауксинов в растениях при бактериальной обработке вполне можно объяснить способностью штаммов продуцировать ауксины и активизировать их поглощение растением [18].

#### Выводы

Таким образом, в результате применения бактерий *P. hunanensis* IB С7 и *Enterobacter sp.* UOM 3 в присутствии нефти в растворе отмечено увеличение суммарного количества органических кислот на 4–7 %, моносахаридов на 12–15 %, возрастание доли лимонной, молочной кислот, фруктозы и глюкозы по сравнению с загрязненным вариантом без микроорганизмов. Усиление корневой экссудации может быть связано с увеличением содержания ауксинов в корнях ячменя на 46–98 % под влиянием этих бактерий и должно способствовать колонизации корней бактериями (в частности, деструкторами нефти), обеспечивая возрастание эффективности разложения углеводов.

*Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-29-05025/19, ГЗ Минобрнауки России № 075-00326-19-00 по теме № АААА-А19-119021390081-1 и № АААА-А18-118022190100-9 с использованием оборудования ЦКП УФИЦ РАН «Агидель».*

#### Литература

1. Шапошников А. И., Пухальский Я. В., Кравченко Л. В., Белимов А. А. Роль корневой экссудации в трофических взаимодействиях растений с ризосферными микроорганизмами. СПб.: Информнавигатор, 2016. 101 с.
2. Williams A., de Vries F. T. Plant root exudation under drought: implications for ecosystem functioning // *New Phytologist*. 2020. Vol. 225. No. 5. P. 1899–1905.
3. Rohrbacher F., St-Arnaud M. Root exudation: the ecological driver of hydrocarbon rhizoremediation // *Agronomy*. 2016. Vol. 6. No. 1. DOI: 10.3390/agronomy6010019.
4. Wittenmayer L., Merbach W. Plant responses to drought and phosphorus deficiency: contribution of phytohormones in root-related processes // *Journal of plant nutrition and soil science*. 2005. Vol. 168. P. 531–540. DOI: 10.1002/jpln.200520507 531.
5. Kudoyarova G. R., Melentiev A. I., Martynenko E. V., Timergalina L. N., Arkhipova T. N., Shendel G. V., Kuz'mina L. Dodd I. C., Veselov S. Cytokinin producing bacteria stimulate amino acid

deposition by wheat roots // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2014. Vol. 83. P. 285–291. DOI: 10.1016/j.plaphy.2014.08.015.

6. Bakaeva M., Kuzina E., Vysotskaya L., Kudoyarova G., Arkhipova T., Rafikova G., Chetverikov S., Korshunova T., Chetverikova D., Loginov O. Capacity of *Pseudomonas* strains to degrade hydrocarbons, produce auxins and maintain plant growth under normal conditions and in the presence of petroleum contaminants // *Plants*. 2020. Vol. 9. No. 3. DOI: 10.3390/plants9030379.

7. Бакаева М. Д., Кузина Е. В., Рафикова Г. Ф., Четверикова Д. В., Столярова Е. А., Мухаматдырова С. Р., Кудоярова Г. Р. Влияние бактерий-деструкторов углеводородов нефти на прорастание и рост растений // *Экобиотех*. 2019. Т. 2. № 2. С. 175–183. DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-2-175-183.

8. Комарова Н. В., Каменцев Я. С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ». СПб.: ООО «Веда», 2006. 212 с.

9. Kudoyarova G. R., Vysotskaya L. B., Cherkozyanova A., Dodd I. C. Effect of partial rootzone drying on the concentration of zeatin-type cytokinins in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) xylem sap and leaves // *Journal of Experimental Botany*. 2007. Vol. 58. P. 161–168.

10. Vysotskaya L. B., Arkhipova T. N., Kudoyarova G. R., Veselov S. Yu. Dependence of growth inhibiting action of increased planting density on capacity of lettuce plants to synthesize ABA // *Journal of Plant Physiology*. 2018. Vol. 220. P. 69–73.

11. Gunina A., Kuzyakov Y. Sugars in soil and sweets for microorganisms: review of origin, content, composition and fate // *Soil Biology & Biochemistry*. 2015. Vol. 90. P. 87–100.

12. Truskewycz A., Gundry T. D., Khudur L. S., Kolobaric A., Taha M., Aburto-Medina A., Ball A. S., Shahsavari E. Petroleum hydrocarbon contamination in terrestrial ecosystems – fate and microbial responses // *Molecules*. 2019. Vol. 24. No. 18. DOI: 10.3390/molecules24183400.

13. Высоцкая Л. Б., Ахтямова З. А., Архипова Т. Н., Кузина Е. В., Рафикова Г. Ф., Феоктистова А. В., Тимергалина Л. Н., Четверикова Д. В., Бакаева М. Д. Влияние ассоциации растений ячменя с бактериями-деструкторами нефти на содержание гормонов и рост растений ячменя на фоне нефтяного загрязнения // *Экобиотех*. 2020. Т. 3. № 1. С. 51–58. DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-1-51-58.

14. Kudoyarova G. R., Vysotskaya L. B., Arkhipova T. N., Kuzmina L. Yu, Galimsyanova N. F., Sidorova L. V., Gabbasova I. M., Melentiev A. I., Veselov S. Yu. Effect of auxin producing and phosphate solubilizing bacteria on mobility of soil phosphorus, growth rate, and P acquisition by wheat plants // *Acta Physiologiae Plantarum*. 2017. Vol. 39. No. 11. DOI: 10.1007/s11738-017-2556-9.

15. Altabella T., Palazon J., Ibarz E., Piñol M. T., Serrano R. Effect of auxin concentration and growth phase on the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase of tobacco calli // *Plant Science*. 1990. Vol. 70. P. 209–214.

16. Canarini A., Kaiser C., Merchant A., Richter A., Wanek W. Root exudation of primary metabolites: mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli // *Frontiers in Plant Science*. 2019. Vol. 10. DOI: 10.3389/fpls.2019.00157

17. Li Z., Zhang X., Zhao Y., Li Y., Zhang G., Peng Z., Zhang J. Enhancing auxin accumulation in maize root tips improves root growth and dwarfs plant height // *Plant Biotechnology Journal*. 2018. Vol. 16. P. 86–99.

18. Poupin M. J., Greve M., Carmona V., Pinedo I. A Complex molecular interplay of auxin and ethylene signaling pathways is involved in *Arabidopsis* growth promotion by *Burkholderia phytofirmans* PsJN // *Frontiers in Plant Science*. 2016. Vol. 7. DOI: 10.3389/fpls.2016.00492.

## References

1. Shaposhnikov A. I., Pukhalsky Ya. V., Kravchenko L. V., Belimov A. A. Role of root exudation in trophic interactions of plants with rhizospheric microorganisms. Saint-Petersburg: Informnavigator, 2016. 101 p.

2. Williams A., de Vries F. T. Plant root exudation under drought: implications for ecosystem functioning // *New Phytologist*. 2020. Vol. 225. No. 5. P. 1899–1905.

3. Rohrbacher F., St-Arnaud M. Root exudation: the ecological driver of hydrocarbon rhizoremediation // *Agronomy*. 2016. Vol. 6. No. 1. DOI: 10.3390/agronomy6010019.

4. Wittenmayer L., Merbach W. Plant responses to drought and phosphorus deficiency: contribution of phytohormones in root-related processes // *Journal of plant nutrition and soil science*. 2005. Vol. 168. P. 531–540. DOI: 10.1002/jpln.200520507 531.

5. Kudoyarova G. R., Melentiev A. I., Martynenko E. V., Timergalina L. N., Arkhipova T. N., Shendel G. V., Kuz'mina L. Dodd I. C., Veselov S. Cytokinin producing bacteria stimulate amino acid deposition by wheat roots // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2014. Vol. 83. P. 285–291. DOI: 10.1016/j.plaphy.2014.08.015.

6. Bakaeva M., Kuzina E., Vysotskaya L., Kudoyarova G., Arkhipova T., Rafikova G., Chetverikov S., Korshunova T., Chetverikova D., Loginov O. Capacity of *Pseudomonas* strains to degrade hydrocarbons, produce auxins and maintain plant growth under normal conditions and in the presence of petroleum contaminants // *Plants*. 2020. Vol. 9. No. 3. DOI: 10.3390/plants9030379.

7. Bakaeva M. D., Kuzina E. V., Rafikova G. F., Chetverikova D. V., Stolyarova E. A., Muhamatdyarova S. R., Kudoyarova G. R. The influence of bacteria-destructors hydrocarbons of petroleum

on germination and growth of plants // *Ecobiotech.* 2019. Vol. 2. No. 2. P. 175–183. DOI: 10.31163/2618-964X-2019-2-2-175-183.

8. Komarova N. V., Kamentsev Ya. S. Practical guide for the use of capillary electrophoresis systems “DROP”. Saint-Petersburg: Veda LLC, 2006. 212 с.

9. Kudoyarova G. R., Vysotskaya L. B., Cherkozyanova A., Dodd I. C. Effect of partial rootzone drying on the concentration of zeatin-type cytokinins in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) xylem sap and leaves // *Journal of Experimental Botany.* 2007. Vol. 58. P. 161–168.

10. Vysotskaya L. B., Arkhipova T. N., Kudoyarova G. R., Veselov S. Yu. Dependence of growth inhibiting action of increased planting density on capacity of lettuce plants to synthesize ABA // *Journal of Plant Physiology.* 2018. Vol. 220. P. 69–73.

11. Gunina A., Kuzyakov Y. Sugars in soil and sweets for microorganisms: review of origin, content, composition and fate // *Soil Biology & Biochemistry.* 2015. Vol. 90. P. 87–100.

12. Truskewycz A., Gundry T. D., Khudur L. S., Kolobaric A., Taha M., Aburto-Medina A., Ball A. S., Shahsavari E. Petroleum hydrocarbon contamination in terrestrial ecosystems – fate and microbial responses // *Molecules.* 2019. Vol. 24. No. 18. DOI: 10.3390/molecules24183400.

13. Vysotskaya L. B., Akhtyamova Z. A., Arkhipova T. N., Kuzina E. V., Rafikova G. F., Feoktistova A. V., Timergalina L. N., Chetverikova D. V., Bakaeva M. D. The influence of the association of barley plants with bacteria-destroyers of oil on the hormone content and growth of barley plants against the background of oil pollution // *Ecobiotech.* 2020. Vol. 3. No. 1. P. 51–58. DOI: 10.31163/2618-964X-2020-3-1-51-58.

14. Kudoyarova G. R., Vysotskaya L. B., Arkhipova T. N., Kuzmina L. Yu., Galimsyanova N. F., Sidorova L. V., Gabbasova I. M., Melentiev A. I., Veselov S. Yu. Effect of auxin producing and phosphate solubilizing bacteria on mobility of soil phosphorus, growth rate, and P acquisition by wheat plants // *Acta Physiologiae Plantarum.* 2017. Vol. 39. No. 11. DOI: 10.1007/s11738-017-2556-9.

15. Altabella T., Palazon J., Ibarz E., Piñol M. T., Serrano R. Effect of auxin concentration and growth phase on the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase of tobacco calli // *Plant Science.* 1990. Vol. 70. P. 209–214.

16. Canarini A., Kaiser C., Merchant A., Richter A., Wanek W. Root exudation of primary metabolites: mechanisms and their roles in plant responses to environmental stimuli // *Frontiers in Plant Science.* 2019. Vol. 10. DOI: 10.3389/fpls.2019.00157.

17. Li Z., Zhang X., Zhao Y., Li Y., Zhang G., Peng Z., Zhang J. Enhancing auxin accumulation in maize root tips improves root growth and dwarfs plant height // *Plant Biotechnology Journal.* 2018. Vol. 16. P. 86–99.

18. Poupin M. J., Greve M., Carmona V., Pinedo I. A Complex molecular interplay of auxin and ethylene signaling pathways is involved in *Arabidopsis* growth promotion by *Burkholderia phytofirmans* PsJN // *Frontiers in Plant Science.* 2016. Vol. 7. DOI: 10.3389/fpls.2016.00492.

UDC 579.69:581.135:577.175.1

Vysotskaya L. B., Chetverikov S. P., Kuzina E. V., Arkhipova T. N., Rafikova G. F., Sharipov D. A., Khudaygulov G. G., Chetverikova D. V., Bakaeva M. D., Korshunova T. Yu., Loginov O. N., Kudoyarova G. R.

### INFLUENCE OF AUXIN PRODUCING BACTERIA ON THE AMOUNT OF ORGANIC COMPOUNDS IN THE ROOT ZONE OF BARLEY DURING OIL POLLUTION

**Summary.** *Phytomeliorants are often used to restore the characteristics of oil-contaminated soils. However, the role of bacteria in regulating root exudation during the process of oil biodegradation has not been studied. The aim of the study was to evaluate the effect of two auxin-producing strains Pseudomonas hunanensis IB C7 and Enterobacter sp. UOM 3 on the content of organic acids, sugars and phytohormones in the root zone of barley (Hordeum vulgare L.) under oil pollution. The research was conducted in 2019-2020. Barley was grown on a light site in sterilized sand filled with Hoagland-Arnon nutrient solution. Before planting, the seedlings were soaked in a suspension of bacterial cells. The amount of organic acids and sugars in the water eluate was measured by capillary electrophoresis; hormones were detected by enzyme immunoassay. The experiment was replicated ten times. Under the influence of bacteria in the eluate, the percentage of citric, lactic acid, fructose and glucose increased; the sum of organic acids increased by 4–7 %; the sum of monosaccharides – by 12–15 %; auxins in the of barley roots – by 46–98 % compared to the oil-contaminated version without microorganisms. It is suggested that the accumulation of auxins in plants provoked by*

*bacteria and pollutants stimulates root exudation, while bacteria change the composition of exudates due to their metabolic activity. The obtained results indicate an increase in the root exudation in the presence of oil and auxin-producing bacteria, which should contribute to the roots' colonization by bacteria and make oil hydrocarbons decomposition more efficient.*

**Keywords:** *root exudates, phytohormones, oil pollution, Enterobacter, Pseudomonas, Hordeum vulgare L.*

Высоцкая Лидия Борисовна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии растений ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: vysotskaya@anrb.ru.

Четвериков Сергей Павлович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией агробиологии ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: che-kov@mail.ru.

Кузина Елена Витальевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: misshalen@mail.ru.

Архипова Татьяна Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии растений ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: tmarkhipova@mail.ru.

Рафикова Гульназ Фаилевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: rgf07@mail.ru.

Шарипов Данил Альмирович, младший научный сотрудник лаборатории агробиологии ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: male886@yandex.ru.

Худайгулов Гайсар Гараевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории агробиологии ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: bio.logos@yandex.com.

Четверикова Дарья Владимировна, кандидат технических наук, научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: belka-strelka8031@yandex.ru

Бакаева Маргарита Дмитриевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: margo22@yandex.ru.

Коршунова Татьяна Юрьевна, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биотехнологии ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: korshunovaty@mail.ru.

Логинов Олег Николаевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; biolab316@yandex.ru.

Кудоярова Гюзель Радомесовна, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией физиологии растений ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; 450054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, 69; e-mail: kudoyarova1953@yandex.ru.

Vysotskaya Lidia Borisovna, Dr. Sc. (Biol.), leading researcher at the Laboratory of plant physiology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: vysotskaya@anrb.ru.

Chetverikov Sergey Pavlovich, Dr. Sc. (Biol.), head of the Laboratory of agrobiology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: che-kov@mail.ru.

Kuzina Elena Vitalievna, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher at the Laboratory of biotechnology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: misshalen@mail.ru.

Arkhipova Tatyana Nikolaevna., Cand. Sc. (Biol.), senior researcher at the Laboratory of plant physiology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: tmarkhipova@mail.ru.

Rafikova Gulnaz Failevna, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher of the Laboratory of biotechnology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: rgf07@mail.ru.

Sharipov Danil Almirovich, junior researcher at the Laboratory of agrobiolology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: male886@yandex.ru.

Khudaygulov Gaisar Garayevich, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher at the Laboratory of agrobiolology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: bio.logos@yandex.com.

Chetverikova Darya Vladimirovna, Cand. Sc. (Tech.), researcher of the Laboratory of biotechnology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: belka-strelka8031@yandex.ru.

Bakaeva Margarita Dmitrievna, Cand. Sc. (Biol.), senior researcher of the Laboratory of biotechnology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: margo22@yandex.ru.

Korshunova Tatyana Yurievna, Dr. Sc. (Biol.), head of the Laboratory of biotechnology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: korshunovaty@mail.ru.

Loginov Oleg Nikolaevich, Dr. Sc. (Biol.), Professor, chief researcher of the Laboratory of biotechnology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: biolab316@yandex.ru.

Kudoyarova Guzel Radomesovna, Dr. Sc. (Biol.), Professor, head of the Laboratory of plant physiology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences; 69 Oktyabrya av., Ufa, 450054, Russia; e-mail: kudoyarova1953@yandex.ru.

*Дата поступления в редакцию – 01.07.2020.*

*Дата принятия к печати – 22.07.2020.*