

DOI 10.17516/1997-1389-0390

EDN: BMIDID

УДК 579

The Influence of Hydrocarbon-Oxidizing Auxin-Producing Bacteria on the Growth, Biochemical Parameters, and Hormonal Status of Barley Plants in the Process of Bioremediation of Oil-Contaminated Soil

**Gulnaz F. Rafikova,
Elena V. Kuzina, Lidia B. Vysotskaya,
Tatiana N. Arkhipova, Tatiana Yu. Korshunova*,
Darya V. Chetverikova, Margarita D. Bakaeva,
Guzel R. Kudoyarova and Sergey P. Chetverikov**
*Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of RAS
Ufa, Russian Federation*

Received 07.06.2021, received in revised form 29.12.2021, accepted 08.02.2022

Abstract. Extensive research has been done to investigate the relationship between bacteria and plants in the process of bioremediation of soils contaminated with oil, but the effect of oil-degrading bacteria that synthesize phytohormones on the content and distribution of these compounds in plants has been poorly studied. The aim of the field experiment was to study the effect of hydrocarbon-oxidizing bacteria producing auxins on the growth, biochemical parameters, and hormonal status of barley plants in the presence of oil and the prospects for using bacterial-plant associations for treating soil that contains oil (2.7 %, on average). Treatment of plants with cultures of *Enterobacter* sp. UOM 3 and *Pseudomonas hunanensis* IB C7 led to an increase in the length and mass of roots and shoots and the leaf surface index and an improvement in the parameters of the components of the crop structure that were suppressed by the pollutant. As a result of bacterization, the contents of chlorophyll and flavonoids increased, and the amount of proline decreased. The most noticeable effect of bacteria on the hormonal system of plants was a decrease in the accumulation of abscisic acid. The data obtained indicate that the treatment of plants with bacterial cultures alleviated the negative consequences of

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

* Corresponding author E-mail address: korshunovaty@mail.ru

ORCID: 0000-0001-7655-5588 (Rafikova G.); 0000-0002-6905-0108 (Kuzina E.); 0000-0001-9348-9316 (Vysotskaya L.); 0000-0002-6971-1084 (Arkhipova T.); 0000-0002-6186-0827 (Korshunova T.); 0000-0002-4917-0831 (Chetverikova D.); 0000-0001-8738-4534 (Bakaeva M.); 0000-0001-6409-9976 (Kudoyarova G.); 0000-0002-7961-1503 (Chetverikov S.)

abiotic stress caused by the presence of oil for plants. The use of oil-degrading bacteria and plants in combination rather than separately more effectively reduced the content of hydrocarbons in the soil and increased its microbiological activity. The microbial-plant combinations studied in this work are regarded as promising for the bioremediation of oil-contaminated soils.

Keywords: oil pollution, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Hordeum vulgare* L., phytohormones, chlorophyll, flavonoids, nitrogen balance index, proline.

Acknowledgments. This work was supported by the state budget (No. AAAA-A18-118022190100-9) and the grant of the Russian Foundation for Basic Research No. 18–29–05025.

Citation: Rafikova G. F., Kuzina E. V., Vysotskaya L. B., Arkhipova T. N., Korshunova T. Yu., Chetverikova D. V., Bakaeva M. D., Kudoyarova G. R., Chetverikov S. P. The influence of hydrocarbon-oxidizing auxin-producing bacteria on the growth, biochemical parameters, and hormonal status of barley plants in the process of bioremediation of oil-contaminated soil. *J. Sib. Fed. Univ. Biol.*, 2022, 15(3), 314–332. DOI: 10.17516/1997-1389-0390



Влияние углеводородокисляющих бактерий, продуцирующих ауксины, на рост, биохимические показатели и гормональный статус растений ячменя в процессе биоремедиации нефтезагрязненной почвы

**Г. Ф. Рафикова, Е. В. Кузина, Л. Б. Высоцкая,
Т. Н. Архипова, Т. Ю. Коршунова, Д. В. Четверикова,
М. Д. Бакаева, Г. Р. Кудоярова, С. П. Четвериков**
*Уфимский институт биологии
Уфимского федерального исследовательского центра РАН
Российская Федерация, Уфа*

Аннотация. Взаимосвязи бактерий и растений в процессе биоремедиации почв, загрязненных нефтью, уделяется много внимания, однако воздействие бактерий-деструкторов нефти, синтезирующих фитогормоны, на содержание и распределение этих соединений в самих растениях, исследовано слабо. Целью полевого опыта было изучение влияния углеводородокисляющих бактерий, продуцирующих ауксины, на ростовые, биохимические показатели и гормональный статус растений ячменя в присутствии нефти и перспективы применения их ассоциаций для очистки почвы, содержащей нефть (в среднем 2,7 %). Обработка растений штаммами *Enterobacter* sp. UOM 3 и *Pseudomonas hunanensis* IB C7 приводила к увеличению длины и массы корней и побегов, индекса листовой поверхности и улучшению показателей элементов структуры урожая, которые были угнетены под воздействием

поллютанта. В результате бактеризации повышалось содержание хлорофилла, флавоноидов и снижалось количество пролина. Наиболее заметным проявлением влияния бактерий на гормональную систему растений было уменьшение накопления абсцизовой кислоты. Полученные данные свидетельствуют о том, что интродукция микроорганизмов ослабляла для растений негативные последствия абиотического стресса, вызванного присутствием нефти. Совместное применение бактерий-нефтедеструкторов и растений эффективнее снижало содержание углеводов в почве и увеличивало ее микробиологическую активность по сравнению с использованием их по отдельности. Изученные микробно-растительные комплексы признаны перспективными для биоремедиации нефтезагрязненных почв.

Ключевые слова: нефтяное загрязнение, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Hordeum vulgare* L., фитогормоны, хлорофилл, флавоноиды, индекс азотного баланса, пролин.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке средств государственного бюджета (№ АААА-А18-118022190100-9) и гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 18-29-05025.

Цитирование: Рафикова, Г.Ф. Влияние углеводородоксилирующих бактерий, продуцирующих ауксины, на рост, биохимические показатели и гормональный статус растений ячменя в процессе биоремедиации нефтезагрязненной почвы / Г.Ф. Рафикова, Е.В. Кузина, Л.Б. Высоцкая, Т.Н. Архипова, Т.Ю. Коршунова, Д.В. Четверикова, М.Д. Бакаева, Г.Р. Кудоярова, С.П. Четвериков // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2022. 15(3). С. 314–332. DOI: 10.17516/1997-1389-0390

Введение

Функционирование нефтедобывающей и нефтеперерабатывающей промышленности приводит к глобальному загрязнению окружающей среды углеводородами, токсичными для растений, животных и человека. Наиболее экологически чистым и экономически целесообразным решением данной проблемы является применение биологических технологий и, в частности, микробно-растительных комплексов. Они состоят из микроорганизмов, разрушающих органические загрязнители или трансформирующих их в менее токсичные соединения, и растений, создающих оптимальные условия существования и размножения бактерий (Koshlaf, Ball, 2017). Корни обеспечивают поверхности для прикрепления микроорганизмов и выделяют экссудаты, которые способствуют возрастанию их численности в ризосфере (Rohrbacher, St-

Arnaud, 2016; Chetverikov et al., 2021), а также синтезируют ферменты, осуществляющие деградацию органических субстратов, находящихся в почве (Muratova et al., 2015). В целом развитие корневой системы увеличивает пористость почвы, что усиливает массовый перенос субстрата и акцепторов электронов в процессе окисления компонентов нефти (Gkorezis et al., 2016). Ризосферные микроорганизмы, в свою очередь, активируют антиоксидантную систему растений (Kim et al., 2013), которая помогает им справляться с неблагоприятными условиями при нефтяном загрязнении, и могут интенсифицировать рост растений путем выделения различных биологически активных веществ, улучшения фосфорного, азотного питания и повышения стрессоустойчивости, а также опосредованной стимуляции за счет антагонизма в отношении фитопатогенных агентов (Korshunova

et al., 2019; Viesser et al., 2020). Таким образом, взаимодействие растений и микроорганизмов в загрязненной нефтью почве представляется идеальным примером взаимовыгодного партнерства, что может использоваться в процессах очистки и восстановления антропогенно нарушенных территорий. Однако несмотря на то, что влияние бактерий на растения в процессе биоремедиации почв, контаминированных углеводородами, активно изучается, некоторые его аспекты, например, воздействие бактерий-деструкторов нефти, синтезирующих гормоны, на содержание и распределение гормонов в самих растениях, практически не исследованы, хотя в случае некоторых других стрессовых факторов (засуха, засоление) такие эксперименты были проведены (Habib et al., 2016; Arkhipova et al., 2020). Чтобы восполнить этот пробел, нами был проведен ряд лабораторных опытов (Bakaeva et al., 2020; Vysotskaya et al., 2021). Полученные в них результаты были использованы при подготовке полевого эксперимента, целью которого было оценить влияние углеводородокисляющих ауксинпродуцирующих бактерий на ростовые, биохимические показатели и гормональный статус растений ячменя в присутствии нефти и эффективность применения данных микробно-растительных комплексов для биоремедиации нефтезагрязненной почвы.

Материалы и методы

Исследование проводили на территории Уфимского района Республики Башкортостан со 2 июня по 8 сентября 2020 г. (98 суток). Погодные показатели в этот период находились в пределах среднестатистических параметров за последние 5 лет.

В работе использовали растения ячменя (*Hordeum vulgare* L., районированный сорт Челябинский 99) как нефтеустойчивые и высокочувствительные к инокуляции углево-

дородокисляющими бактериями (Высоцкая и др., 2019; Bakaeva et al., 2020) и штаммы-нефтедеструкторы из коллекции Уфимского института биологии УФИЦ РАН *Enterobacter* sp. UOM 3 и *Pseudomonas hunanensis* IB C7, синтезирующие индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) (Четвериков и др., 2019; Bakaeva et al., 2020).

Экспериментальную площадку, почва которой (чернозем глинисто-иллювиальный, 3,7 % C_{орг}, 6,6 % гумуса, pH водной вытяжки 5,7) была загрязнена товарной нефтью марки Urals, разбили на участки по 1,5 м². Среднее содержание нефти составило 2,7 %. Опыт закладывали в 7 вариантах в трех повторностях каждый:

1. Чистая почва + растения ячменя без бактериальной обработки (контроль)
2. Нефтезагрязненная почва
3. Нефтезагрязненная почва + растения ячменя без бактериальной обработки
4. Нефтезагрязненная почва + *Enterobacter* sp. UOM 3
5. Нефтезагрязненная почва + *Enterobacter* sp. UOM 3 + растения ячменя
6. Нефтезагрязненная почва + *Pseudomonas hunanensis* IB C7
7. Нефтезагрязненная почва + *P. hunanensis* IB C7 + растения ячменя

Инокуляция семян жидкой культурой бактерий в количестве 10⁶ КОЕ/семя (КОЕ – колониеобразующие единицы) проходила непосредственно перед посевом. Небактеризованные семена смачивали водой. После обработки семена высаживали либо в чистую, либо в загрязненную почву (600 шт./м²) на глубину 4–5 см. После чего участки вариантов с 4 по 7 сразу поливали 5 л жидкой культуры бактерий (титр 1·10⁸ КОЕ/мл). Лабораторная всхожесть семян составляла 92 %.

Через 10 и 34 дня после появления всходов измеряли ростовые характеристики и не-

которые биохимические показатели растений. Выбор указанных сроков связан с тем, что в настоящем эксперименте на 10-е сутки растения ячменя находились в процессе активного роста, и их биомасса была уже достаточной для оценки биохимических характеристик. На 34-е сутки приходилась фаза цветения растений, и различия между ними на контрольных и опытных участках были очень заметны, поэтому в эти сроки анализировали их биохимические показатели. В указанный период ростовые показатели корней не измеряли, т.к. мочковатая корневая система злаковых растений достаточно разрослась, и извлечь растение из почвы, не повредив при этом корни, не представлялось возможным. Содержание в листьях хлорофилла ($a+b$), флавоноидов и индекс азотного баланса (NBI) измеряли с помощью прибора DUALEX SCIENTIFIC+ (FORCE-A, France) согласно рекомендациям производителя, а свободного пролина – по методу Бейтса (Bates et al., 1973), используя толуол в качестве экстрагента. Индекс листовой поверхности, представляющий собой относительную величину, показывающую уровень покрытия листьями поверхности почвы, оценивали, анализируя фотографии с помощью программы ImageJ (v. 1.48, National Institutes of Health, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>).

В конце эксперимента был проведен анализ отдельных элементов структуры урожая. Так как растения рассматривались только как агенты биорекультивации, использование растительной продукции в качестве пищи для человека и животных не предусматривалось. В связи с этим качественные и количественные показатели зерна не измерялись.

На 34-е и 94-е сутки после появления всходов были отобраны образцы почвы на микробиологические исследования и содержание углеводов. Численность ге-

теротрофных микроорганизмов определяли посевом почвенной суспензии на мясопептонный агар, олигонитрофильных – на среду Эшби, углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ) – на среду Раймонда с добавлением дизельного топлива (Raymond, 1961; Держинская, 2008). Содержание нефтепродуктов в почве измеряли гравиметрическим методом (ПНД Ф 16.1.41–04).

Через 10 суток после появления всходов оценивали концентрацию гормонов в побегах и корнях. Экстракцию ИУК и абсцизовой кислоты (АБК) осуществляли согласно (Veselov et al., 1992; Kudoyarova et al., 2017). Очистку и анализ цитокининов (зеатин, его рибозид и нуклеотид) проводили согласно (Kudoyarova et al., 2014). Содержание гормонов определяли методом ИФА с использованием соответствующих антител (Веселов, 1998).

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных программ MS Excel. На рисунках и в таблицах данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка. Достоверность различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты

Присутствие нефти ингибировало рост корней и побегов на начальной стадии развития растений. Длина этих органов была меньше контрольных значений в 1,6 и 2,6 раза соответственно (рис. 1). При обработке штаммом *P. hunanensis* IB C7 длина корней увеличивалась по сравнению с необработанным нефтезагрязненным вариантом. Инокуляция бактериями *Enterobacter* sp. UOM 3 и *P. hunanensis* IB C7 вызывала удлинение побегов на 12–13 %. Аналогичная тенденция была отмечена при анализе сырой массы корней и побегов (табл. 1). Под влиянием нефти она снизилась на 27 и 80 % соответственно, при этом соот-

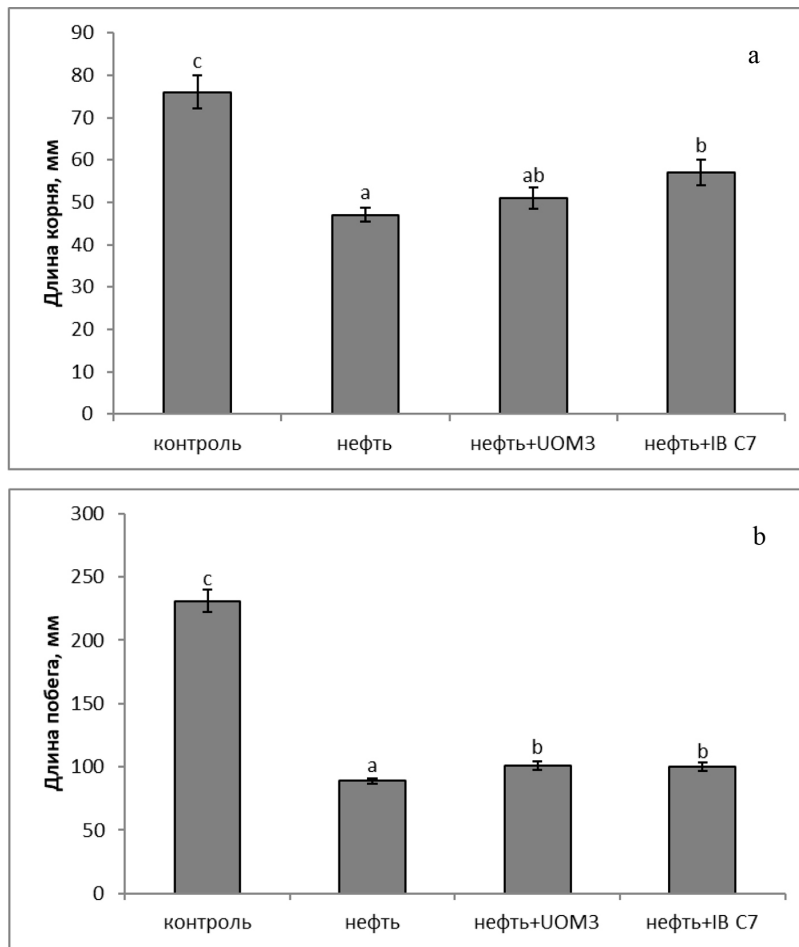


Рис. 1. Длина корней (а) и побегов (б) растений ячменя через 10 суток после появления всходов. Статистически отличающиеся средние значения для каждого показателя отмечены разными буквами ($n=15$, $p \leq 0,05$). UOM 3 и IB C7 – варианты экспериментов с внесением *Enterobacter* sp. UOM 3 и *P. humanensis* IB C7 соответственно.

Fig. 1. Root (a) and shoot (b) length of barley plants 10 days after germination. Statistically different means for each indicator are marked with different letters ($n=15$, $p \leq 0.05$). UOM 3 and IB C7 – treatments with *Enterobacter* sp. UOM 3 and *P. humanensis* IB C7, respectively

Таблица 1. Масса побегов и корней растений ячменя через 10 суток после появления всходов

Table 1. The mass of shoots and roots of barley plants 10 days after germination

Вариант опыта	Сырая масса, мг		Масса корня/ масса побега
	корня	побега	
Контроль	34,4±2,0 ^b	318,4±7,5 ^c	0,11±0,012 ^a
Нефть	25,1±1,1 ^a	64,9±1,0 ^a	0,39±0,080 ^b
Нефть + UOM 3	30,1±2,1 ^{ab}	80,3±4,3 ^{ab}	0,37±0,058 ^b
Нефть + IB C7	41,9±0,8 ^c	85,9±2,8 ^b	0,49±0,043 ^b

Примечание. Статистически отличающиеся средние значения для каждого показателя отмечены разными буквами, $n=15$ ($p \leq 0,05$). UOM 3 и IB C7 – варианты экспериментов с внесением *Enterobacter* sp. UOM 3 и *P. humanensis* IB C7 соответственно

ношение масс корня и побега повышалось с 0,11 в контроле до 0,37–0,49 в загрязненной почве. При использовании штамма бактерий *P. hunanensis* IB C7 наблюдалась достоверная прибавка массы корней и побегов по сравнению с данными показателями в нефтезагрязненной почве без обработки.

Определение длины надземной части растений через 34 дня после появления всходов показало, что в целом закономерности в изменении показателей роста побегов сохранились (рис. 2). Ингибирующий эффект нефти на рост растений ячменя со временем не снижался: длина растений, выращенных в контаминированной почве, была в 3 раза ниже, чем в чистой. Бактеризация благоприятно воздействовала на растения: при обработке штаммами *Enterobacter* sp. UOM 3 и *P. hunanensis* IB C7 их длина была больше

на 31 и 43 % соответственно, чем в нефтезагрязненной почве.

Индекс листовой поверхности растений, подвергшихся воздействию нефти, был в 2,4 раза ниже, чем в контроле (рис. 2). При внесении штаммов *Enterobacter* sp. UOM 3 и *P. hunanensis* IB C7 он увеличивался на 45 и 50 % соответственно.

Оценка влияния нефти и бактериализации на некоторые показатели роста и развития растений ячменя в конце опыта представлена в табл. 2. Загрязнение почвы снижало массу побегов в 2,6 раза, кустистость – в 2,8 раза, длину побегов – в 1,9 раза. Обработка растений штаммами бактерий оказывала стимулирующий эффект, который выражался в увеличении этих показателей на 3–15 %.

Количество колосьев, которые образовались у растений, выращенных в контамини-

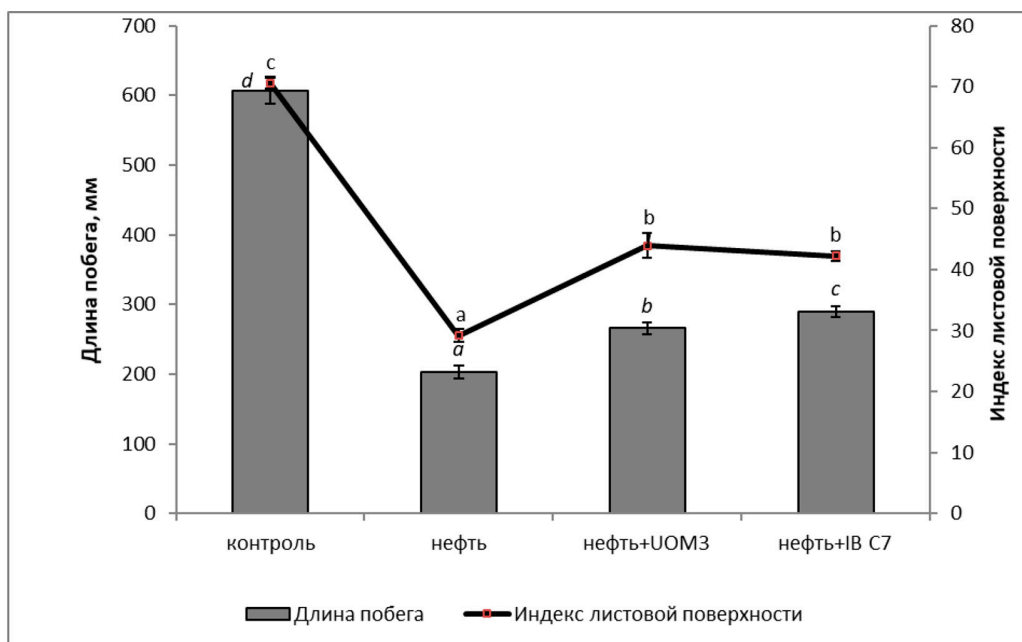


Рис. 2. Длина побегов и индекс листовой поверхности растений ячменя через 34 дня после появления всходов. Статистически отличающиеся средние значения для каждого показателя отмечены разными буквами ($n=50$, $p \leq 0,05$). Обозначения вариантов как на рис. 1.

Fig. 2. Shoot length and leaf area index of barley plants 34 days after germination. Statistically different means for each indicator are marked with different letters ($n=50$, $p \leq 0,05$). Notations of treatments are the same as in Fig. 1.

Таблица 2. Влияние загрязнения нефтью и обработки бактериями на некоторые показатели роста и развития растений ячменя (через 94 дня после появления всходов)

Table 2. The influence of oil pollution and treatment with bacteria on some indicators of growth and development of barley plants 94 days after germination

Вариант опыта	Количество побегов кущения, шт.	Длина побега, см	Количество колосьев на одно растение, шт.	Длина главного колоса, см	Число колосков в главном колосе, шт.	Сухая масса побега, г
Контроль	4,96±0,28 ^c	52,24±1,34 ^c	2,96±0,26 ^c	6,50±0,23 ^d	15,82±0,65 ^d	0,496±0,022 ^c
Нефть	1,80±0,05 ^a	28,00±0,45 ^a	1,32±0,05 ^a	1,87±0,08 ^a	5,38±0,20 ^a	0,185±0,009 ^a
Нефть + УОМ 3	1,93±0,06 ^b	29,44±0,47 ^b	1,43±0,05 ^a	2,57±0,07 ^c	6,06±0,19 ^c	0,213±0,009 ^b
Нефть + ИВ С7	1,91±0,06 ^b	28,82±0,41 ^b	1,61±0,05 ^b	2,25±0,07 ^b	5,69±0,20 ^b	0,213±0,010 ^b

Примечание. Статистически отличающиеся средние значения для каждого показателя отмечены разными буквами, n=200 (p<0,05). Обозначения вариантов как в таблице 1.

нированной почве, было в 2,2 раза меньше, чем в чистой. Оно повышалось на 22 % при интродукции штамма *P. hunanensis* ИВ С7 по сравнению с данным показателем у необработанных растений в почве с нефтью. Наиболее сильное ингибирующее действие поллютант оказывал на колос: на фоне нефтяного загрязнения длина главного колоса снизилась в 3,5 раза, а число колосков в колосе – в 2,9 раза. Применение бактерий приводило к увеличению этих параметров. Более выраженное положительное воздействие оказывал штамм *Enterobacter* sp. УОМ 3, при обработке которым длина главного колоса и число колосков в колосе увеличивались на 37 и 12 % соответственно, тогда как при использовании *P. hunanensis* ИВ С7 – на 20 и 6 % соответственно.

Внесение бактерий-деструкторов ускоряло процесс разложения нефти. Так, к концу эксперимента в почве без растений интродукция штаммов *Enterobacter* sp. УОМ 3 и *P. hunanensis* ИВ С7 уменьшала содержание углеводов по сравнению с необработанным вариантом на 26 и 18 % соответственно (рис. 3). Совместное использование углеводородокисляющих микроорганизмов и растений было эффективнее на 29–33 %

по сравнению с вариантом, где растения не подвергались бактериальной обработке.

Количество гетеротрофных микроорганизмов в отсутствие растений в загрязненной почве на протяжении эксперимента оставалось на одном уровне (табл. 3). Внесение бактерий-нефтедеструкторов увеличивало данный показатель к концу испытания. В почве с растениями общая численность микроорганизмов была выше, чем в почве без растений. Интродукция штаммов *Enterobacter* sp. УОМ 3 и *P. hunanensis* ИВ С7 в контаминированную почву с растениями повышала количество гетеротрофных микроорганизмов в 1,6–2,2 раза.

Как и в случае с гетеротрофными микроорганизмами, плотность популяции УОМ в почве с нефтью без растений оставалась стабильной на протяжении опыта. Внесение углеводородокисляющих бактерий на порядок повышало численность УОМ к концу эксперимента. В вариантах с растениями этот показатель был выше приблизительно в 2–3 раза, чем в почве без растений. В целом степень деструкции углеводов коррелировала с количеством УОМ ($r = 0,45, p < 0,05$).

Численность олигонитрофильных микроорганизмов в загрязненной почве без рас-

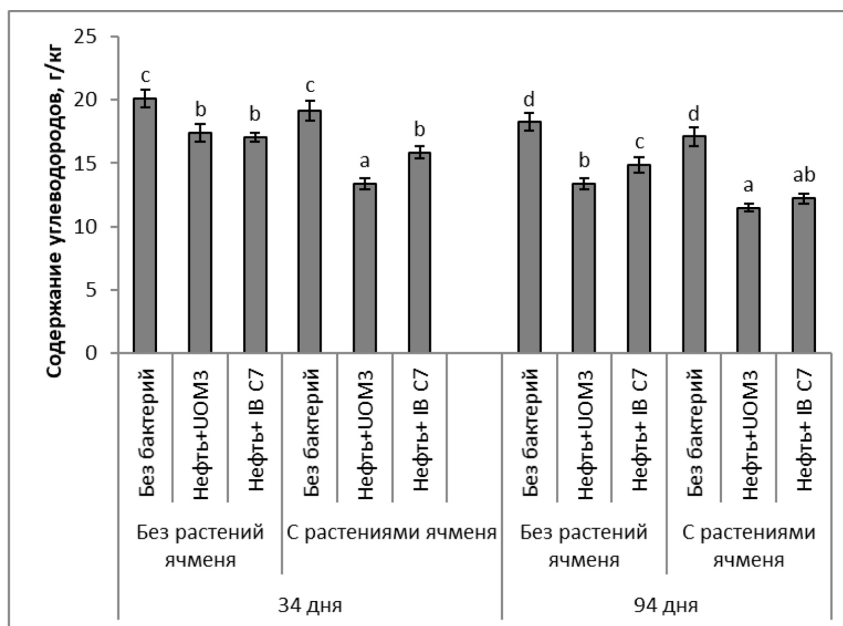


Рис. 3. Содержание углеводов в почве через 34 и 94 дня после появления всходов. Статистически отличающиеся средние значения для каждого показателя отмечены разными буквами ($p \leq 0,05$). Обозначения вариантов как на рис. 1.

Fig. 3. Hydrocarbon contents in the soil 34 and 94 days after germination. Statistically different means for each indicator are marked with different letters ($p \leq 0.05$). Notations of treatments are the same as in Fig. 1

Таблица 3. Численность микроорганизмов в нефтезагрязненной почве, КОЕ/г

Table 3. The number of microorganisms in the oil contaminated soil, CFU/g

Вариант опыта		Гетеротрофные микроорганизмы, $\times 10^7$		Углеродородокисляющие микроорганизмы, $\times 10^6$		Олигонитрофильные микроорганизмы, $\times 10^5$	
		34 дня после появления всходов	94 дня после появления всходов	34 дня после появления всходов	94 дня после появления всходов	34 дня после появления всходов	94 дня после появления всходов
Без растений	Без бактерий	1,1±0,2 ^a	1,2±0,2 ^a	1,4±0,3 ^a	1,5±0,3 ^a	0,3±0,1 ^a	2,0±0,1 ^a
	UOM 3	1,6±0,4 ^{ab}	2,4±0,6 ^{bc}	7,2± 1,5 ^c	13,8±3,9 ^c	2,0±0,3 ^b	9,1±1,2 ^b
	IB C7	1,6±0,2 ^{ab}	3,0±0,6 ^{bc}	6,7±2,0 ^c	14,3±3,0 ^c	1,8± 0,3 ^b	10,6± 1,5 ^b
С растениями	Без бактерий	1,8±0,1 ^b	2,1±0,3 ^b	2,7±0,2 ^b	3,3±0,4 ^b	1,9±0,2 ^b	8,5±0,6 ^b
	UOM 3	2,3±0,4 ^{bc}	4,6±0,4 ^d	19,3± 2,9 ^d	25,5±2,9 ^d	3,9± 0,5 ^c	29,9±2,3 ^d
	IB C7	3,0±0,3 ^c	3,3±0,4 ^c	21,9±2,4 ^d	29,5±3,8 ^d	4,1± 0,4 ^c	20,8± 2,4 ^c

Примечание. Статистически отличающиеся средние значения для каждого показателя отмечены разными буквами ($p \leq 0,05$). Обозначения вариантов как в таблице 1

тений и бактеризации со временем незначительно увеличивалась. При использовании обоих штаммов в вариантах эксперимента без растений количество микроорганизмов данной группы возрастало в 4,6–5,3 раза. В почве с растениями ячменя их численность была выше, чем в отсутствие растений. После внесения бактерий-нефтедеструкторов к концу эксперимента наблюдалось повышение количества олигонитрофилов в 2,4–3,5 раза по сравнению с вариантом с растениями без обработки.

Не было установлено достоверных различий в содержании ИУК в корнях ячменя без нефти и в ее присутствии (рис. 4). В вариантах, где на фоне загрязнения проводилась обработ-

ка семян штаммами *Enterobacter* sp. UOM 3 и *P. hunanensis* IB C7, содержание ИУК в корнях растений было ниже, чем в контроле в 1,6 и 1,9 раза соответственно. В варианте без нефти ИУК было значительно больше в корнях, чем в побегах ячменя. По сравнению с контролем содержание ИУК в побегах ячменя, росшего на почве с загрязнителем, увеличилось приблизительно в 3 раза.

Содержание абсцизовой кислоты в побегах во всех вариантах опыта было ниже, чем в корнях (в среднем в 2,1–6,1 раза). На фоне нефтяного загрязнения повышение уровня АБК было обнаружено только у не инокулированных растений (рис. 4). Заметнее это проявилось в корнях, где ее концентрация

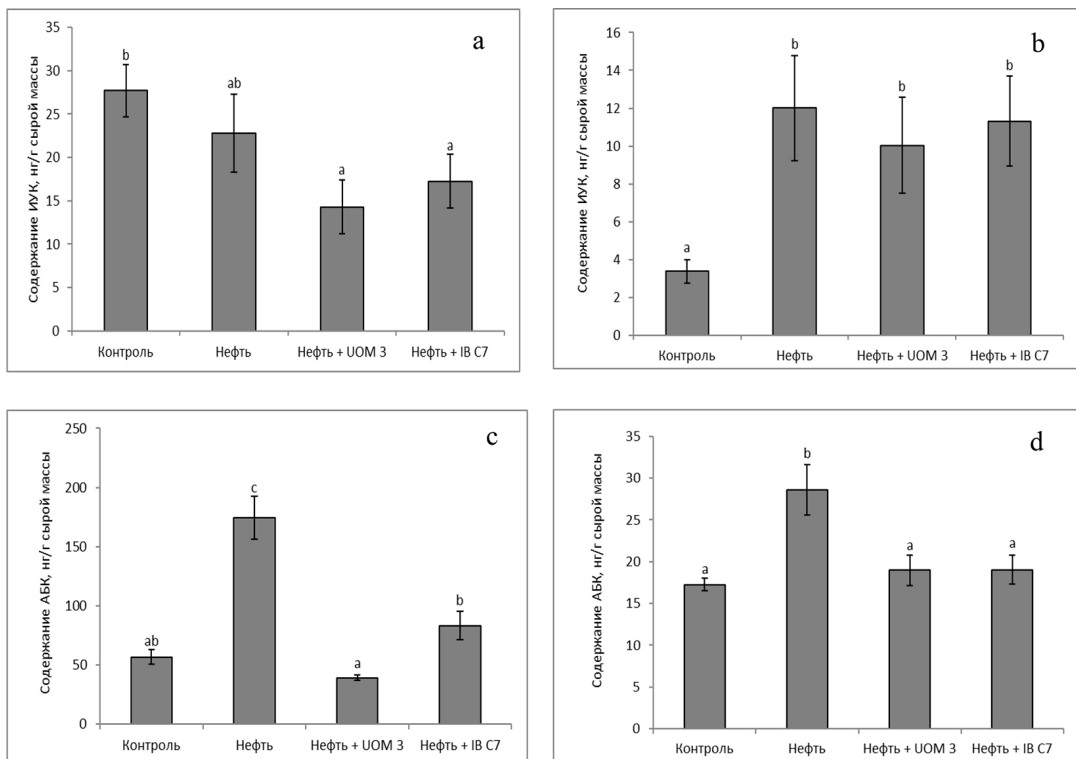


Рис. 4. Содержание индолил-3-уксусной и абсцизовой кислоты в корнях (а и с соответственно) и побегах (b и d соответственно) растений ячменя. Статистически отличающиеся средние значения для каждого показателя отмечены разными буквами ($n=9$, $p \leq 0,05$). Обозначения вариантов как на рис. 1.

Fig. 4. Indole-3-acetic acid and abscisic acid content in roots (a and c respectively) and shoots (b and d respectively) of barley plants. Statistically different means for each indicator are marked with different letters ($n=9$, $p \leq 0.05$). Notations of treatments are the same as in Fig. 1.

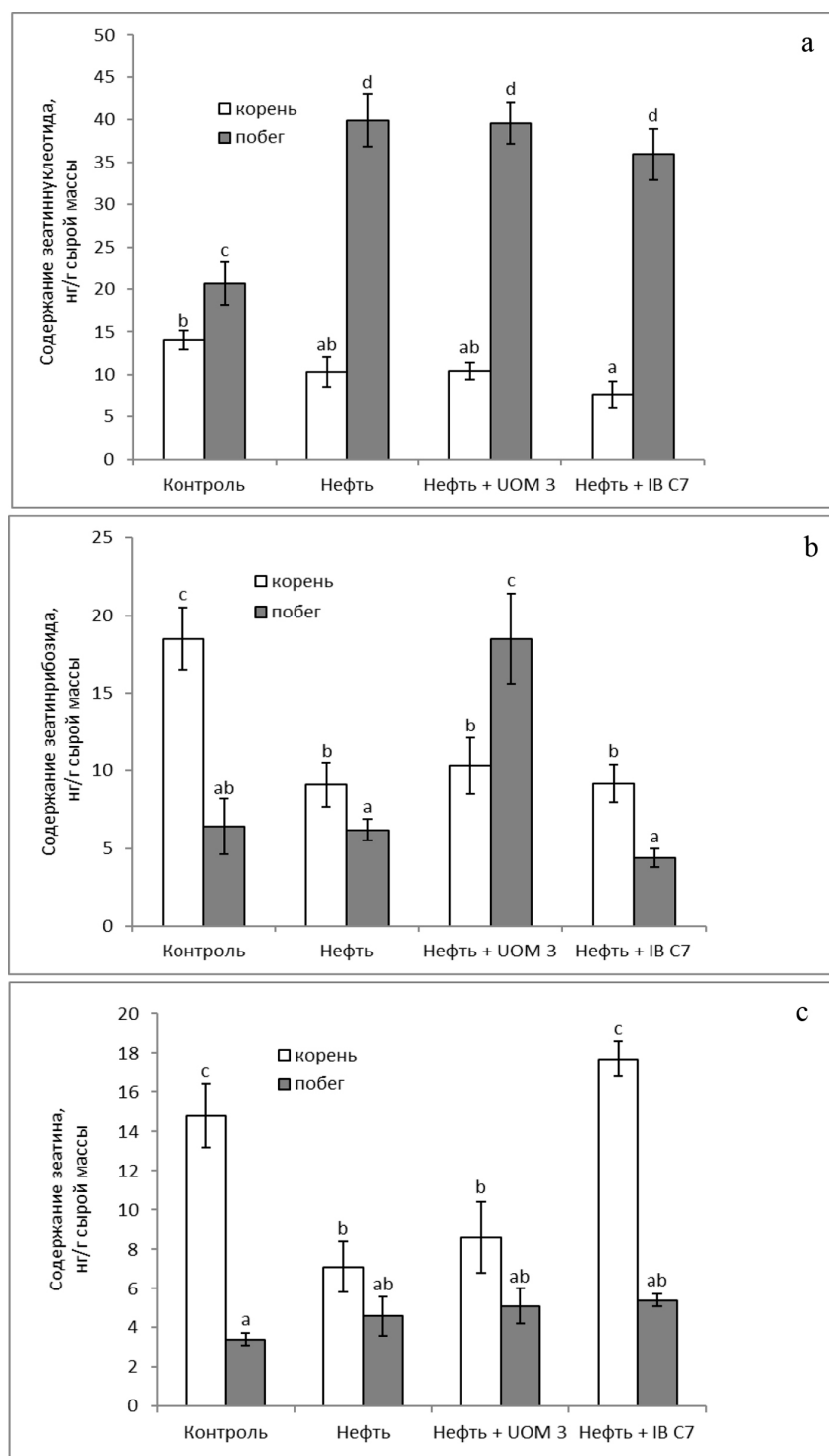


Рис. 5. Содержание зеатиннуклеотида (а), зеатинрибозида (б) и зеатина (с) в корнях и побегах растений ячменя. Статистически отличающиеся средние значения для каждого показателя отмечены разными буквами (n=9, p<0,05). Обозначения вариантов как на рис. 1.

Fig. 5. Zeatin nucleotide (a), zeatin riboside (b), and zeatin (c) contents in roots and shoots of barley plants. Statistically different means for each indicator are marked with different letters (n=9, p<0.05). Notations of treatments are the same as in Fig. 1

выросла в 3,1 раза. Использование микроорганизмов для обработки растений, высаженных на почву с нефтью, привело к тому, что значение этого показателя как в корнях, так и в побегах снизилось до уровня контроля.

Содержание всех трех анализируемых форм цитокинина в корнях растений ячменя составило в контроле 14,0–18,5 нг/г сырой массы (рис. 5). Под воздействием нефти наиболее заметно снизилось содержание зеатина и его рибозилированной формы (в 2 раза в каждом случае). Интродукция штаммов бактерий на фоне загрязнения не повлияла на уровень зеатиннуклеотида и зеатинрибозидов в корнях растений, он остался практически таким же, как и в варианте с нефтью без бактериализации. Вместе с тем растения ячменя, растущие в присутствии нефти, откликнулись на обработку штаммом *P. hunanensis* IB C7 повышением в корнях свободной формы зеатина. Содержание зеатина и зеатинрибозидов в побегах было меньше, чем в корнях во всех вариантах опыта (рис. 5), за исключением резкого (почти в 3 раза) повышения количества зеатинрибозидов при использовании

штамма *Enterobacter* sp. UOM 3 для бактериализации растений в контаминированной почве. Нефтяное загрязнение послужило толчком к накоплению в побегах зеатиннуклеотида: в растениях, высаженных на почву с нефтью, его было в 1,7–1,9 раза больше, чем в контрольных.

Содержание хлорофилла в побегах ячменя через 10 дней после появления всходов в растениях, растущих в присутствии нефти, было в 2 раза ниже, чем в контрольном варианте (табл. 4). Эта же тенденция сохранилась в дальнейшем. В тех случаях, когда растения в загрязненной почве обрабатывали штаммами бактерий, его обнаружено на 22,2–33,3 % больше, чем в варианте с нефтью, но без бактериализации.

Минимальный уровень флавоноидов выявлен у контрольных растений (табл. 4). При наличии нефти в почве у молодых растений количество флавоноидов было выше, чем в контроле в 1,6 раза, при повторном отборе – в 1,1 раза. В начале вегетации инокуляция бактериями не оказывала влияния на накопление этих пигментов. По мере дальнейшего

Таблица 4. Биохимические показатели растений ячменя

Table 4. Biochemical indicators of barley plants

Варианты опыта	Хлорофилл (мкг/см ²)	Флавоноиды (у.е.)	NBI (у.е.)	Пролин (мкг/г)
10 дней после появления всходов				
Контроль	35,1±1,0 ^e	0,56±0,02 ^a	62,7±2,0 ^f	26,4±3,3 ^a
Нефть	16,3±1,0 ^a	0,90±0,02 ^c	18,1±1,0 ^a	79,3±2,8 ^c
Нефть + UOM 3	18,4±1,0 ^{ab}	0,89±0,02 ^c	20,7±1,0 ^b	29,5±2,9 ^a
Нефть + IB C7	18,2±1,0 ^{ab}	0,87±0,02 ^c	20,9±1,0 ^b	35,5±3,2 ^a
34 дня после появления всходов				
Контроль	32,0±0,6 ^d	0,65±0,02 ^b	49,2±1,4 ^c	52,9±4,5 ^b
Нефть	18,9±0,7 ^b	0,74±0,01 ^c	24,7±1,0 ^c	115,9±4,2 ^d
Нефть + UOM 3	22,1±0,9 ^c	0,81±0,01 ^d	27,3±0,8 ^c	61,9±2,7 ^b
Нефть + IB C7	24,1±0,5 ^c	0,79±0,01 ^d	30,5±0,6 ^d	80,7±3,4 ^c

Примечание. Статистически отличающиеся средние значения для каждого показателя отмечены разными буквами ($p \leq 0,05$). Обозначения вариантов как в таблице 1

развития растений содержание флавоноидов в ячмене, растущем в почве с нефтью без обработки микроорганизмами, было ниже, чем у бактериализованных растений на 7–10 %.

Изменения в содержании хлорофилла и флавоноидов, происходящие в растениях с течением времени, а также под воздействием нефтяного загрязнения, наглядно описываются индексом азотного баланса растений, который является индикатором изменения соотношения C/N в листьях. Через 10 суток после появления всходов в условиях стресса NBI был меньше, чем в контроле в 3,0–3,5 раза, через две недели он вырос до 24,7–30,5 у.е., но по-прежнему был ниже, чем в контрольном варианте (в 1,6–1,9 раза). Наибольшего значения NBI достиг в варианте с инокуляцией растений штаммом *P. hunanensis* IB C7 (табл. 4).

Содержание пролина в побегах ячменя в контрольном варианте на начальном этапе вегетации составляло 26,4 мкг/г сырой массы (табл. 4). В присутствии нефти его количество увеличилось в 3 раза (79,3 мкг/г). Однако в вариантах, где на фоне поллютанта проводилась интродукция штаммов бактерий, количество этой аминокислоты в листьях было заметно ниже. Там, где использовался штамм *P. hunanensis* IB C7, оно составляло 35,5 мкг/г, при применении штамма *Enterobacter* sp. UOM 3 – было близко к контрольному значению. По ходу эксперимента уровень пролина увеличивался во всех вариантах опыта в среднем в 1,5–2,3 раза. При этом в случаях, где на фоне нефтяного загрязнения осуществлялась бактериальная обработка, его количество по-прежнему было значительно ниже, чем в варианте с нефтью без интродукции микроорганизмов (на 30–47 %).

Обсуждение

Известно (Skrypnik et al., 2021), что основной признак угнетающего влияния нефтяных

углеводородов на растения – это торможение их роста, которое приводит к уменьшению накопления биомассы. В наших опытах выращивание растений на нефтезагрязненных почвах также приводило к замедлению роста растений ячменя, что могло быть связано с ее непосредственным токсическим действием, вызывающим ингибирование процесса деления клеток (Macoustra et al., 2015; Itheme et al., 2017).

С другой стороны, попадание нефти в почву приводит к снижению ее влагоудерживающей способности и аэрируемости, а также к изменению ряда химических свойств, pH, доступности элементов минерального питания (Devatha et al., 2019). Все указанные причины в совокупности могли приводить к ухудшению роста и развития растений ячменя в контаминированной почве (табл. 1, 2 и рис. 1, 2).

Интродукция микроорганизмов частично компенсировала неблагоприятное воздействие загрязнителя, что очень важно при проведении биоремедиации. Вероятно, положительный эффект бактериализации проявлялся как в ускорении разложения поллютанта, так и в выработке микроорганизмами веществ, стимулирующих рост и развитие растений-фиторемедиантов (Viesser et al., 2020). Используемые в настоящем исследовании штаммы разлагают нефть, нефтепродукты и продуцируют ИУК (Четвериков и др., 2019; Вакаева et al., 2020). Обнаруженная нами ранее в лабораторных опытах способность штаммов *Enterobacter* sp. UOM 3 и *P. hunanensis* IB C7 к увеличению длины и массы побегов и корней на фоне углеводородного стресса (Вакаева et al., 2020; Vysotskaya et al., 2021) проявилась и в полевых условиях.

Известно, что гормоны действуют на рост и развитие растений не изолированно, а через комплекс взаимосвязанных сигналов (Bielach

et al., 2017). При этом по-прежнему до конца не выяснено, каким образом взаимное влияние этих биологически активных веществ помогает растениям справиться со стрессом. В настоящем эксперименте воздействие нефтяного загрязнения на гормональную систему растений ячменя проявлялось в повышении уровня ИУК в побегах и снижении ее содержания в корнях (рис. 4а и 4б). Такое изменение в распределении гормонов может быть результатом ингибирования их транспорта по флоэме из побега в корни. Ранее было описано, что накопление ауксинов в побегах растений и торможение их оттока в корни происходит под влиянием флавоноидов (Buer et al., 2013; Peer et al., 2013). Увеличение содержания флавоноидов в присутствии нефти (табл. 4) может иметь отношение к регуляции распределения ауксинов в растениях ячменя. Аккумуляция ИУК в побегах могла содействовать защите растений от оксидативного стресса, сопровождающего многие неблагоприятные воздействия (Sharma et al., 2012), поскольку известна способность этого гормона активировать антиоксидантную систему (Kim et al., 2013). Несколько неожиданным было отсутствие влияния бактерий, которые были способны продуцировать ауксины *in vitro* (Четвериков и др., 2019; Вакаева et al., 2020), на содержание ИУК в растениях ячменя (рис. 4а и 4б). Возможно, что повышения ее концентрации под влиянием микроорганизмов не наблюдалось в связи с высоким уровнем флавоноидов, активирующих окислительный распад ауксинов (Buer et al., 2013).

Присутствие в почве нефти в меньшей степени подавляло рост корней, чем побегов. Перераспределение биомассы в пользу корней – характерный ростовой ответ на дефицит воды и элементов минерального питания (Vysotskaya et al., 2009; Xu et al., 2015). Поскольку наличие загрязнителя снижает

доступность воды и ионов для растений, поддержание роста корней – важная реакция растений, обеспечивающая их адаптацию к данным стрессовым условиям. С другой стороны, развитие корневой системы существенно для колонизации ризосферы бактериями. Известно, что цитокинины способны стимулировать рост побега, но подавляют рост корней (Werner et al., 2003). В настоящем эксперименте под влиянием загрязнения наблюдалась относительная (по сравнению с побегом) активация роста корней, которая проявлялась в увеличении соотношения массы корней к массе побега (табл. 1) и сопровождалась снижением содержания цитокининов в корнях (рис. 5). В данном случае уменьшение уровня этих гормонов в подземных органах можно рассматривать как один из механизмов, обеспечивающих активацию их роста. Снижение в присутствии нефти в корнях растений ячменя содержания рибозида зеатина, являющегося транспортной формой цитокининов, может свидетельствовать о перераспределении цитокининов между корнями и побегами. Повышенное под влиянием загрязнения содержание цитокининов в побегах растений сопровождалось активацией их роста только на фоне интродукции бактерий (рис. 5). Проявлению стимуляции роста под влиянием повышенного уровня цитокининов могло помешать накопление АБК, содержание которой в отсутствие бактериализации возросло в побегах в 1,7 раза по сравнению с растениями, которые росли в чистой почве. Как известно, АБК является антагонистом цитокининов в регуляции роста растений (Huang et al., 2018). Ее содержание снижалось под влиянием микроорганизмов *Enterobacter* sp. UOM 3 и *P. hunanensis* IB C7 до контрольных значений, приводя к увеличению соотношения общего количества цитокининов к количеству АБК в 1,4 и 1,9 раза соответственно,

что объясняет активацию роста побега под влиянием бактериализации.

Уменьшение накопления АБК в растениях было наиболее заметным проявлением влияния бактерий на гормональную систему растений. Накопление этого гормона является индикатором неблагоприятных условий для роста растений (прежде всего дефицита воды и элементов минерального питания) (He et al., 2021). Бактериализация уменьшала содержание углеводов в почве, что могло способствовать улучшению снабжения растений водой и элементами минерального питания.

Торможение роста побега в условиях дефицита воды при нефтяном загрязнении приводит к формированию более мелких листьев, что нашло свое отражение в снижении индекса листовой поверхности в 2,4 раза по сравнению с контрольными растениями в чистой почве (рис. 2). Это согласуется с нашими более ранними исследованиями (Vysotskaya et al., 2021). Инокуляция штаммами бактерий приводила к снижению содержания АБК (рис. 4с и 4d), что могло способствовать увеличению устьичной проводимости, скорости фотосинтеза и приводить к увеличению индекса листовой поверхности (рис. 2).

Показано, что углеводороды оказывают ингибирующее действие на фотосинтез и содержание хлорофилла в частности (Kreslavski et al., 2017). Содержание флавоноидов увеличивается при низкой доступности азота и, как правило, обратно пропорционально содержанию хлорофилла (Padilla et al., 2014). Поэтому соотношение между количеством хлорофилла и флавоноидов, известное как индекс азотного баланса, было предложено в качестве индикатора азотного статуса растений (Padilla et al., 2014). Растения, выращенные в нефтезагрязненной почве, показали самое низкое значение NBI, значительно отличающееся от значений, полученных

в контрольных растениях (табл. 4). Некоторое повышение NBI в результате бактериализации штаммом *P. hunanensis* IB C7, возможно, связано с наличием у него азотфиксирующей способности (Bakaeva et al., 2020), однако это предположение нуждается в дальнейшем изучении.

Одной из ранних адаптивных реакций растений на неблагоприятные условия среды является увеличение ими синтеза различных низкомолекулярных соединений, например пролина. Он участвует в регуляции осмотического потенциала клеток, стабилизирует клеточную структуру и удаляет избыток АФК, тем самым повышая устойчивость растений к стрессу (Gong et al., 2020). Данные об изменении уровня этой аминокислоты в растениях при различных концентрациях нефти в почве достаточно противоречивы и определяются как типом загрязнителя, так и видом (и даже сортом) растений (Skrypnik et al., 2021). В настоящем эксперименте наличие нефти приводило к резкому увеличению его содержания в листьях по сравнению с контролем (табл. 4). Снижение количества пролина в результате бактериализации говорит о том, что внесение штаммов-нефтедеструкторов уменьшает уровень абиотического стресса, вызванного присутствием токсических веществ в почве.

Интродукция углеводородокисляющих бактерий заметно усиливала разложение люлентанта (рис. 3), что, вероятно, связано с хорошей приживаемостью и активным функционированием привнесенной микробной популяции. Одновременное использование растений и бактерий привело к ускорению деградации углеводов в почве по сравнению с вариантами без растений. Это объясняется увеличением микробной биомассы в ризосфере растений (табл. 3), корневая система которых за счет выделения биологически ак-

тивных веществ создает комфортную среду для роста микроорганизмов (Rohrbacher, St-Arnaud, 2016; Chetverikov et al., 2021). Кроме того, развитие корней улучшает аэрацию почвы за счет создания воздушных каналов, что важно для аэробной микробиоты.

Значительный вклад в численность гетеротрофных микроорганизмов в почве вносили углеводородоокисляющие микроорганизмы (табл. 3). Это подтверждает одинаковая тенденция по изменению количества обеих эколого-трофических групп (коэффициент корреляции $r = 0,981$, $p \leq 0,5$). Отмечено увеличение со временем пула олигонитрофильных микроорганизмов, наиболее заметное в вариантах с интродукцией штаммов. Очевидно, это было связано с уменьшением токсичности почвы вследствие снижения содержания в ней нефти (как в результате испарения, так и биологического разложения), поскольку данная группа микроорганизмов является чувствительной к загрязнению различными

поллютантами, в том числе углеводородами (Tomkiel et al., 2018).

Заключение

В ходе полевого эксперимента показано, что на фоне нефтяного загрязнения одновременное использование ауксинпродуцирующих бактерий-нефтедеструкторов *P. humanensis* IB C7 и *Enterobacter* sp. UOM 3 и растений ячменя способствует более значительному снижению содержания углеводородов в почве по сравнению с применением бактерий и растений по отдельности. Установлено положительное влияние бактериализации на рост растений ячменя, что очень важно при проведении биоремедиации. Обработка микроорганизмами смягчала для растений отрицательные последствия абиотического стресса, вызванного присутствием нефти в почве, за счет влияния, оказываемого на гормональный статус растений, а также на системы осморегуляции и фотосинтеза.

Список литературы / References

Веселов С. Ю. (1998) *Использование антител для количественного определения, очистки и локализации регуляторов роста*. Уфа, БашГУ, 138 с. [Veselov S. Yu. (1998) *Use of antibodies to quantify, purify, and localize growth regulators*. Ufa, Bashkir State University, 138 p. (in Russian)]

Высоцкая Л. Б., Архипова Т. Н., Кузина Е. В., Рафикова Г. Ф., Ахтямова З. А., Иванов Р. С., Тимергалина Л. Н., Кудоярова Г. Р. (2019) Сравнение реакции растений различных видов на нефтяное загрязнение. *Биомика*, 11(1): 86–100 [Vysotskaya L. B., Arkhipova T. N., Kuzina E. V., Rafikova G. F., Akhtyamova Z. A., Ivanov R. S., Timergalina L. N., Kudoyarova G. R. (2019) Comparison of responses of different plant species to oil pollution. *Biomics* [Biomika], 11(1): 86–100 (in Russian)]

Дзержинская И. С. (2008) *Питательные среды для выделения и культивирования микроорганизмов*. Астрахань, АГТУ, 348 с. [Dzerzhinskaya I. S. (2008) *Culture media for the isolation and cultivation of microorganisms*. Astrakhan, Astrakhan State Technical University, 348 p. (in Russian)]

ПНД Ф 16.1.41–04 *Методика выполнения измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах почв гравиметрическим методом* (2004) М., МПР, 12 с. [State environmental normative document 16.1.41–04 *Methods for measuring the mass concentration of oil products in soil samples by the gravimetric method* (2004) Moscow, Department of Natural Resources, 12 p. (in Russian)]

Четвериков С. П., Бакаева М. Д., Коршунова Т. Ю., Кузина Е. В., Рафикова Г. Ф., Четверикова Д. В., Высоцкая Л. Б., Логинов О. Н. (2019) Новый штамм *Enterobacter* sp. UOM 3 – деструктор

нефти и продуцент индолилуксусной кислоты. *Естественные и технические науки*, 7: 37–40 [Chetverikov S. P., Bakaeva M. D., Korshunova T. Y., Kuzina E. V., Rafikova G. F., Chetverikova D. V., Vysotskaya L. B., Loginov O. N. (2019) New strain *Enterobacter* sp. UOM 3 – destructor of oil and producer of indole acetic acid. *Natural and Technical Sciences* [Estestvennye i tekhnicheskie nauki], 7: 37–40 (in Russian)]

Arkhipova T., Martynenko E., Sharipova G., Kuzmina L., Ivanov I., Garipova M., Kudoyarova G. (2020) Effects of plant growth promoting rhizobacteria on the content of abscisic acid and salt resistance of wheat plants. *Plants*, 9(11): 1429

Bakaeva M., Kuzina E., Vysotskaya L., Kudoyarova G., Arkhipova T., Rafikova G., Chetverikov S., Korshunova T., Chetverikova D., Loginov O. (2020) Capacity of *Pseudomonas* strains to degrade hydrocarbons, produce auxins and maintain plant growth under normal conditions and in the presence of petroleum contaminants. *Plants*, 9(3): 379

Bates L. S., Waldren R. P., Teare I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39(1): 205–207

Bielach A., Hrtyan M., Tognetti V. B. (2017) Plants under stress: involvement of auxin and cytokinin. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7): 1427

Buer C. S., Kordbacheh F., Truong T. T., Hocart C. H., Djordjevic M. A. (2013) Alteration of flavonoid accumulation patterns in transparent testa mutants disturbs auxin transport, gravity responses, and imparts long-term effects on root and shoot architecture. *Planta*, 238(1): 171–189

Chetverikov S., Vysotskaya L., Kuzina E., Arkhipova T., Bakaeva M., Rafikova G., Korshunova T., Chetverikova D., Hkudaygulov G., Kudoyarova G. (2021) Effects of association of barley plants with hydrocarbon-degrading bacteria on the content of soluble organic compounds in clean and oil-contaminated sand. *Plants*, 10(5): 975

Devatha C. P., Vishnu Vishal A., Purna Chandra Rao J. (2019) Investigation of physical and chemical characteristics on soil due to crude oil contamination and its remediation. *Applied Water Science*, 9: 89

Gkorezis P., Daghighio M., Franzetti A., Van Hamme J. D., Sillen W., Vangronsveld J. (2016) The interaction between plants and bacteria in the remediation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1836

Gong Z., Chen W., Bao G., Sun J., Ding X., Fan C. (2020) Physiological response of *Secale cereale* L. seedlings under freezing-thawing and alkaline salt stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(2): 1499–1507

Habib S. H., Kausar H., Saud H. M. (2016) Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes. *BioMed Research International*, 2016: 6284547

He Y., Liu Y., Li M., Lamin-Samu A. T., Yang D., Yu X., Izhar M., Jan I., Ali M., Lu G. (2021) The *Arabidopsis* SMALL AUXIN UP RNA32 protein regulates ABA-mediated responses to drought stress. *Frontiers in Plant Science*, 12: 625493

Huang X., Hou L., Meng J., You H., Li Z., Gong Z., Yang S., Shi Y. (2018) The antagonistic action of abscisic acid and cytokinin signaling mediates drought stress response in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, 11(7): 970–982

Iheme P. O., Akinola M. O., Njoku K. L. (2017) Evaluation on the growth response of Peanut (*Arachis hypogaea*) and Sorghum (*Sorghum bicolor*) to crude oil contaminated soil. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 21(6): 1169–1173

- Kim J.I., Baek D., Park H.C., Chun H.J., Oh D.H., Lee M.K., Cha J.Y., Kim W.Y., Kim M.C., Chung W.S., Bohnert H.J., Lee S.Y., Bressan R.A., Lee S.W., Yun D.J. (2013) Overexpression of *Arabidopsis* YUCCA6 in potato results in high-auxin developmental phenotypes and enhanced resistance to water deficit. *Molecular Plant*, 6(2): 337–349
- Korshunova T. Yu., Chetverikov S.P., Bakaeva M.D., Kuzina E.V., Rafikova G.F., Chetverikova D.V., Loginov O.N. (2019) Microorganisms in the elimination of oil pollution consequences (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 55(4): 344–354
- Koshlaf E., Ball A.S. (2017) Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments. *AIMS Microbiology*, 3(1): 25–49
- Kreslavski V.D., Brestic M., Zharmukhamedov S.K., Lyubimov V.Y., Lankin A.V., Jajoo A., Allakhverdiev S.I. (2017) Mechanisms of inhibitory effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in photosynthetic primary processes in pea leaves and thylakoid preparations. *Plant Biology*, 19(5): 683–688
- 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.Y. (2017) Effect of auxin producing and phosphate solubilizing bacteria on mobility of soil phosphorus, growth rate, and P acquisition by wheat plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(11): 253
- Kudoyarova G.R., Melentiev A.I., Martynenko E.V., Timergalina L.N., Arkhipova T.N., Shendel G.V., Kuz'mina L.Y., Dodd I.C., Veselov S.Y. (2014) Cytokinin producing bacteria stimulate amino acid deposition by wheat roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 83: 285–291
- Macoustra G.K., King C.K., Wasley J., Robinson S.A., Jolley D.F. (2015) Impact of hydrocarbons from a diesel fuel on the germination and early growth of subantarctic plants. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 17(7): 1238–1248
- Muratova A., Dubrovskaya E., Golubev S., Grinev V., Chernyshova M., Turkovskaya O. (2015) The coupling of the plant and microbial catabolisms of phenanthrene in the rhizosphere of *Medicago sativa*. *Journal of Plant Physiology*, 188: 1–8
- Padilla F.M., Pena-Fleitas M.T., Gallardo M., Thompson R.B. (2014) Evaluation of optical sensor measurements of canopy reflectance and of leaf flavonols and chlorophyll contents to assess crop nitrogen status of muskmelon. *European Journal of Agronomy*, 58: 39–52
- Peer W.A., Cheng Y., Murphy A.S. (2013) Evidence of oxidative attenuation of auxin signalling. *Journal of Experimental Botany*, 64(9): 2629–2639
- Raymond R.L. (1961) Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons. *Developments in Industrial Microbiology*, 2(1): 23–32
- Rohrbacher F., St-Arnaud M. (2016) Root exudation: the ecological driver of hydrocarbon rhizoremediation. *Agronomy*, 6(1): 19
- Sharma P., Jha A.B., Dubey R.S., Pessarakli M. (2012) Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012: 217037
- Skrypnik L., Maslennikov P., Novikova A., Kozhikin M. (2021) Effect of crude oil on growth, oxidative stress and response of antioxidative system of two rye (*Secale cereale* L.) varieties. *Plants*, 10(1): 157
- Tomkiel M., Baćmaga M., Borowik A., Wyszowska J., Kucharski J. (2018) The sensitivity of soil enzymes, microorganisms and spring wheat to soil contamination with carfentrazone-ethyl. *Journal of Environmental Science and Health. Part B*, 53(2): 97–107

Veselov S. Y., Kudoyarova G. R., Egutkin N. L., Gyuli-Zade V. Z., Mustafina A. R., Kof E. M. (1992) Modified solvent partitioning scheme providing increased specificity and rapidity of immunoassay for indole-3-acetic acid. *Physiologia Plantarum*, 86(1): 93–96

Viesser J. A., Sugai-Guerios M. H., Malucelli L. C., Pincerati M. R., Karp S. G., Maranhão L. T. (2020) Petroleum-tolerant rhizospheric bacteria: isolation, characterization and bioremediation potential. *Scientific Reports*, 10(1): 2060

Vysotskaya L. B., Korobova A. V., Veselov S. Y., Dodd I. C., Kudoyarova G. R. (2009) ABA mediation of shoot cytokinin oxidase activity: assessing its impacts on cytokinin status and biomass allocation of nutrient deprived durum wheat. *Functional Plant Biology*, 36(1): 66–72

Vysotskaya L. B., Kudoyarova G. R., Arkhipova T. N., Kuzina E. V., Rafikova G. F., Akhtyamova Z. A., Ivanov R. S., Chetverikov S. P., Chetverikova D. V., Bakaeva M. D., Korshunova T. Yu., Loginov O. N. (2021) The influence of the association of barley plants with petroleum degrading bacteria on the hormone content, growth and photosynthesis of barley plants grown in the oil-contaminated soil. *Acta Physiologiae Plantarum*, 43(4): 67

Werner T., Motyka V., Laucou V., Smets R., Van Onckelen H., Schmulling T. (2003) Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *Plant Cell*, 15(11): 2532–2550

Xu W., Cui K., Xu A., Nie L., Huang J., Peng S. (2015) Drought stress condition increases root to shoot ratio via alteration of carbohydrate partitioning and enzymatic activity in rice seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(2): 9