

**ABSTRACT BOOK**  
**Third International Scientific Conference PLAMIC2022**  
**«Plants and Microbes: the Future of Biotechnology»**  
**Russia, Saint Petersburg, 3-8 October 2022**



**СБОРНИК ТЕЗИСОВ**  
**Третья Международная научная конференция**  
**PLAMIC2022**  
**«Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего»**  
**Санкт-Петербург, 3-8 октября 2022 г.**



**Под редакцией:**

Тихонович И.А., Проворов Н.А., Паштецкий В.С., Матора Л.Ю., Андронов Е.Е., Баймиев Ал.Х., Баймиев Ан.Х., Белимов А.А., Гоголев Ю.В., Жуков В.А., Камнев А.А., Комахин Р.А., Кудоярова Г.Р., Максимов И.В., Маркова Ю.А., Матвеева Т.В., Николайчик Е.А., Халилуев М.Р., Цыганов В.Е., Цыганова А.В., Чумаков М.И., Щеголев С.Ю., Эльконин Л.А.

**Оргкомитет:**

Председатель – Вершинина З.Р.  
Сопредседатель — Цыганов В.Е.  
Заместители председателя – Бурьгин Г.Л., Михайлова Е.В., Полякова Н.Ю.  
plamic2022@mail.ru

Материалы 3-ей Международной научной конференции PLAMIC2022 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» 3-8 октября 2022 г., Санкт-Петербург / отв. ред. И.А. Тихонович – 2022. – 249 с. – ISBN 978-5-6041302-2-3

В сборнике представлены материалы международной научной конференции PLAMIC2022 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего». Авторы несут ответственность за содержание представленных ими материалов.

© Автономная некоммерческая организация содействия научному развитию «Центр поддержки академических инициатив», 2022

Электронное издание.  
Постоянный адрес размещения <http://plamic.ru/sbornik/>  
ISBN 978-5-6041302-2-3



# НАУКА И УНИВЕРСИТЕТЫ

## ОРГАНИЗАТОРЫ



## ПАРТНЕРЫ



## СПОНСОРЫ



## Contents

<b>Abdurashytova E. R., Melnichuk T. N., Abdurashytov S. F.</b> Biological activity of the rhizosphere of <i>Sorghum bicolor</i> during the interaction of microbial agents with plants in the steppe.....	12
<b>Abdurashytov S.F., Gritsevich K.S., Kameneva I.A.</b> Detection of strains of associative microorganisms in the <i>Sorghum bicolor</i> rhizosphere after seed bacterization.....	13
<b>Avalbaev A.M., Lubyanova A.R., Zikrina I.I., Plotnikov A.A., Yuldashev R.A., Allagulova Ch.R.</b> Hormonal system involvement in growth-promoting and protective effects of nitric oxide on wheat plants under dehydration	14
<b>Avalbaev A.M., Yuldashev R.A., Egorova A.M., Allagulova Ch.R., Shakirova F.M.</b> Proteomic analysis of response to nitric oxide in wheat plants.....	15
<b>Aksyonova A. I., Rayko M. P., Lapidus A. L.</b> Analysis of Chernevaya Taiga soils of Western Siberia and identification factors associated with the phenomenon of plant gigantism.....	16
<b>Alikulov B.S., Ismailov Z.F., Davranov K.</b> Diversity of endophytic bacteria in some halophytic plants of South-western Uzbekistan.....	17
<b>Alistratova F.I., Gusenkov E.A., Sokornova S.V.</b> <i>Nicotiana tabacum</i> BY-2 cell culture as a model for screening elicitors of fungal origin.....	18
<b>Allagulova Ch.R., Yuldashev R.A., Zikrina I.I., Lubyanova A.R., Avalbaev A.M.</b> Effectiveness of exogenous NO-treatment in the increasing of the drought tolerance of different wheat varieties.....	19
<b>Allagulova Ch.R., Plotnikov A.A., Lastochkina O.V., Yuldashev R.A., Avalbaev A.M.</b> Perspectives of seed priming technology in the increasing of stress tolerance and productivity of crops.....	20
<b>Allahverdiyev V.V., Sidorova T.M., Tomashevich N.S., Asaturova A.M.</b> Study of the metabolomic profile of new promising bacterial strains of the genus <i>Bacillus</i> , promising for the biological control of phytopathogenic fungi.....	21
<b>Ananyeva I.N., Aleschenkova Z.M., Safronova H.V., Fedorenchik A.A.</b> Identification of seed-introduced endophytic bacteria localized in winter wheat plants.....	22
<b>Andronov E.E., Igolkina A.A., Kimeklis A.K., Karasev E.S., Soloviyov Ya.V., Porozov Yu.B., Provorov N.A.</b> Geometric and topological approaches in the simulation of microbial evolution.....	23
<b>Antonets K.S., Shikov A.E., Malovichko Y.V., Nizhnikov A.A.</b> Genomics of <i>Bacillus thuringiensis</i> : determination of economically important properties.....	24
<b>Astashov A.N., Zaitsev S.A.</b> Improvement of safflower cultivation technology to increase yield and product quality in arid regions of the Russian Federation.....	25
<b>Akhapkina S.S., Seleznev A.O., Efimova V.A., Lyakhovchenko N.S., Senchenkov V.Y., Solyanikova I.P.</b> Microbial communities of soils with intensive agricultural load: biodiversity and source of new bacteria.....	26
<b>Akhtemova G.A., Vasilyeva E.N., Afonin A.M., Gladkov G.V., Borisov A.Yu., Zhukov V.A.</b> Cultivated endophytic bacteria of aerial parts of peas ( <i>Pisum sativum</i> L.).....	27
<b>Akhtyamova Z.A., Martynenko E.V., Arkhipova T.N., Seldimirova O.V., Galin I.R., Ivanov R.S., Veselov D.S., Kudoyarova G.R.</b> Influence of rhizospheric bacteria on the formation of Casparian bands and hydraulic conductivity in wheat plants under optimal growth conditions.....	28
<b>Babina D.D., Podobed M.Yu., Mitsenyk A.S., Prazyan A.A., Makarenko E.S., Bondarenko E.V., Volkova P.Yu.</b> Anthers cultures of barley cultivars Ratnik and Leon, contrasting in sensitivity to $\gamma$ -irradiation.....	29
<b>Bagdalova A.Z., Rodina T.V.</b> Structure of nitrogen-fixing tissue of root nodules of the symbiosis of vicia.....	30
<b>Baymiev Al.Kh., Vladimirova A.A., Matniyazov R.T., Filyaeva K.Yu.</b> Antibacterial agents in the regulation of rhizobial communities.....	31
<b>Baymiev An.Kh., Akimova E.S., Koryakov I.S., Vladimirova A.A.</b> Strategy for the selection of microsymbionts in different phases of vegetation by native and introduced species of perennial leguminous plants in temperate climates.....	32
<b>Baimukhametova E.A., Musin Kh.G., Shvets D.Yu., Balakhontsev G.V., Kuluev B.R.</b> Obtaining hairy roots of <i>Rhodiola iremelica</i> Boriss, accumulating valuable biologically active compounds.....	33
<b>Bakulina A.V., Popyvanov D.V., Novoselova N.V., Savintseva L.S., Tovstik E.V., Lundovskikh I.A.</b> Screening of streptomycetes antagonists of the phytopathogenic fungus <i>Parastagonospora nodorum</i> .....	34
<b>Baubekova D.G.</b> Increasing the yield, growth and shaping processes of gourds of the Astrakhan region by a biological method.....	35
<b>Baubekova D.G.</b> Effect of a biological product based on <i>Bacillus atrophaeus</i> on the incidence of downy mildew in gourds of the Astrakhan region.....	36
<b>Bakhareva D.A., Zaytsev P.A., Zaytseva A.A.</b> Investigation of the effect of bacteria-components of the microalgae microbiome on the physiological characteristics of carotenogenic microalgae.....	37
<b>Bezler N.V., Cherepukhina I.V., Kolesnikova M.V.</b> Agro-biological aspects of long-term use of <i>Humicola fuscoatra</i> VNISS 016 cellulolytic micromycete in a grain-arable crop rotation.....	38
<b>Belimov A.A., Shaposhnikov A.I., Azarova T.S., Syrova D.S., Ulyanich P.S., Yuzikhin O.S., Sekste E.A., Safronova V.I., Kitaeva A.B., Sokolova D.V., Vishnyakova M.A., Tikhonovich I.A.</b> The role of rhizobacteria in plant resistance to aluminum.....	39
<b>Belovezhets L.A., Ganenko T.V., Kuznetsova V.E., Matveeva E.A., Samultsev D.O.</b> New promising antiseptics with fungicidal activity.....	40
<b>Belyaeva A.A., Ter-Sarkisova L.A., Tkachenko O.V., Burygin G.L., Evseeva N.V.</b> The influence of rhizobacteria on the formation of productivity of wheat in the conditions of the Left Bank of the Saratov region..	41
<b>Berezhneva Z.A., Kuluev B.R.</b> Root growth of transgenic tobacco plants expressing the <i>PtXTH1</i> gene under abiotic stress conditions.....	42
<b>Biktasheva L.R., Gordeev A.S., Galieva G.Sh., Galitskaya P.Yu.</b> Screening of rhizosphere soil microorganisms with the ability to synthesize biosurfactants.....	43

<b>Bobkova V.V., Kononov S.N., Chebotar V.K.</b> Study of the Taxonomic Composition of the Bacterial Component of the Microbiome of Strawberry ( <i>Fragaria x ananassa</i> Duch.) Varieties in the Moscow Region.....	44
<b>Bobkova V.V., Kononov S.N., Chebotar V.K.</b> Characterization of bacterial endophytic communities of apple varieties when grown on soddy-podzolic soil.....	45
<b>Bovin A.D., Pavlova O.A., Dolgikh A.V., Leppyanen I.V., Dolgikh E.A.</b> The role of heterotrimeric G-proteins in regulation of rhizobium-legume symbiosis of <i>Medicago truncatula</i> Gaertn and <i>Pisum sativum</i> L.....	46
<b>Bugaev A.S., Pivovarova N.S.</b> Obtaining a callus culture of <i>Gardenia jasminoides</i> .....	47
<b>Babich O., Budenkova E., Kashirskikh E., Dolganyuk V., Anokhova V., Andreeva A.</b> Optimization of cultivation conditions for microalgae <i>Vischeria punctata</i> .....	48
<b>Bulmakova D.S., Nevzorova U.V., Suleimanova A.D.</b> Mechanisms of soil phosphate mobilization by <i>Pantoea bremeri</i> strains.....	50
<b>Burygin G.L.</b> Involvement of prophage genes in the success of bacterial colonization of plants.....	51
<b>Velichko N.S., Bagavova A.R., Fedonenko Y.P.</b> In situ localization of <i>Herbaspirillum lusitanum</i> strain P6-12 and its promotion of growth of <i>Triticum aestivum</i> L. and <i>Phaseolus vulgaris</i> L.....	52
<b>Vershinina Z.R., Mozgovoi O.S.</b> Prospects for the use of quantum chemical calculations to predict the efficiency of heavy metal binding by artificial phytochelatin.....	53
<b>Veselova S.V., Nuzhnaya T.V., Minnigalieva A.F., Rumyantsev S.D., Maksimov I.V.</b> Effector biology: promising direction in the study of plant-microbial interactions.....	54
<b>Vetchinkina E.P., Meshcherov A.R., Gorshkov V.Yu.</b> The enzymes of the lignolytic complex of the snow mold-causing phytopathogens of <i>Microdochium nivale</i> species.....	55
<b>Vetchinkina E.P., Fomin A.S., Navolokin N.A., Shirokov A.A.</b> Antitumor activity of proteins and polysaccharides from medicinal basidiomycete <i>Lentinus edodes</i> .....	56
<b>Vladimirova M.E., Roumiantseva M.L.</b> Site specific integration of phage-related sequences in <i>Sinorhizobium meliloti</i> chromosome.....	57
<b>Volkova A.L., Vershinina Z.R., Chubutkova O.Y., Matniyazov R.T.</b> <i>Pseudomonas</i> producing the DyP-type peroxidase like potential biodestructor to eliminate contaminations.....	58
<b>Volchenko N.N., Gasyuk O.A., Gronina A.D., Lazukin A.A., Samkov A.A., Khudokormov A.A.</b> Plant-microbial fuel cells as biotechnological devices.....	59
<b>Voropaeva O.V., Borisova G.G., Maleva M.G. Tugbaeva A.S., Ermoshin A.A.</b> Metal tolerance and PGP activity of <i>Buttiauxella spp.</i> and <i>Pseudomonas spp.</i> isolates from the rhizosphere of a rare orchid colonizing serpentine substrates.....	60
<b>Vychyk P., Duvalov E., Digris A., Skakun V., Nikolaichik Y.</b> BacRegDB: a database of bacterial regulatory elements coupled with web tools for transcription regulation analysis.....	61
<b>Vyalkov V.V., Lutsky E.O.</b> Changes in stilbene synthesis in the grape callus culture under the influence of light and components of culture media.....	62
<b>Gainullina K.P., Kuluev B.R., Davletov F.A.</b> The use of induced mutagenesis in the creation of the initial material for pea breeding.....	63
<b>Galieva G.Sh., Danilova N.V., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu.</b> Influence of oxytetracycline on microbiome soil and transfer of resistance genes in the endophytic microbiome of plants.....	64
<b>Galimova A.A., Ibragimova Z.A., Kuluev B.R.</b> Genetic analysis of <i>waxy</i> , <i>glu-1</i> genes in common wheat varieties ( <i>Triticum aestivum</i> L.) of Cis-Ural forest-steppe zone.....	65
<b>Gasyuk O.A., Volchenko N.N., Samkov A.A., Khudokormov A.A.</b> Growth of <i>Chlorella vulgaris</i> in the presence of the microorganism <i>Shewanella oneidensis</i> mr-1 and some heavy metals.....	66
<b>Gerasimchuk A.L., Kasymova A.A., Antsiferov D.V., Frank Y.A.</b> Utilization of fat-containing substances and biotechnological potential of <i>Microvirgula</i> representatives.....	67
<b>Gogolev Y.V., Gogoleva N.E., Osipova E.V., Konnova T.A., Khamo H., Balkin A.S.</b> Postgenomic transcriptomics of microorganisms.....	68
<b>Golovatskaya I.F., Rukhlyada K.A., Medvedeva Y.V., Kadyrbaev M.K., Boyko E.V., Matveikina D.A.</b> Dependence of <i>Astragalus alopecurus</i> culture growth on its metabolic potential.....	69
<b>Gordeev A.S., Biktasheva L.R., Sharifullina A.D.</b> Antifungal properties of biosurfactants produced by rhizobacteria against <i>Fusarium oxysporum</i> .....	70
<b>Gorshkov A.P., Kusakin P.G., Tsyganova A.V., Tsyganov V.E.</b> Effect of fungicides Vintage ME and Title Duo on the development of symbiotic pea nodules ( <i>Pisum sativum</i> L.).....	71
<b>Grigoryan M.A., Tkachenko O.V., Burygin G.L., Evseeva N.V.</b> The effect of different strains of rhizobacteria on the growth of potato micro-plants in vitro culture.....	72
<b>Grodetskaya T. A., Fedorova O. A., Evlakov P. M.</b> Prospects for the use of silver nanoparticles in the technology of <i>in vitro</i> reproduction of woody plants.....	73
<b>Guliy O.I., Zaitsev B.D., Karavaeva O.A., Borodina I.A.</b> Prospects of biosensor methods for antibacterial drugs detection.....	74
<b>Gyrnets E.Yu., Asaturova A.M.</b> The study of the multifunctional effect of entomopathogenic bacterial strains from the bioresource collection of the FSBSI FRCBPP.....	75
<b>Dalinova A.A., Fedorov A.N., Dubovik V.R., Smirnov S.N., Berestetsky A.O.</b> Structure-activity relationship of natural 10-membered lactones and their semi-synthetic derivatives.....	76
<b>Danilova Iu.V., Vasilyeva Y.A., Gilmutdinova A.I., Diadkina I.V.</b> Inactivation of <i>Bacillus pumilus</i> 3-19 genes using CRISPR-CAS9 technology.....	77
<b>Danilova Iu.V., Lutfullina G.F., Lutfullin M.T., Pudova D.S.</b> Whole-genome sequencing and the identification of genes responsible for the synthesis of growth-stimulating properties in the genome of the rhizosphere strain <i>Bacillus intestinalis</i> GM2.....	78
<b>Denisova A.Yu., Evseeva N.V., Tkachenko O.V., Burygin G.L.</b> The role of rhizobacteria in the formation of potato microclones resistance to osmotic stress <i>in vitro</i> .....	79

<b>Dzhuraeva M.M., Birkeland N.-K. , Bobodzhanova Kh.I.</b> <i>Thermobaculum tajikense</i> sp. nov., a new species of thermophilic bacteria from a high-altitude geothermal source in Tajikistan.....	80
<b>Didovich S.V., Pas' A.N., Alekseenko O.P.</b> Perspective for the creation of biogerbicides to control the number of ragweed.....	81
<b>Dolgikh A.V., Dymo A.M., Dolgikh E.A.</b> Study of the role of the BELL1-2 transcription factor in the development of legume-rhizobium symbiosis.....	82
<b>Dubovik V.R., Dalinova A.A., Berestetsky A.O.</b> Variety of natural 10-membered lactones and their biological activity.....	83
<b>Dymnich A.S., Belova M.G., Yashina A.V., Vahnina A.S., Glinskaya E.V.</b> Species diversity of the associative microorganisms of the cereal crops cultivated on the territory of Saratov region.....	84
<b>Dymo A.M., Shirobokova S.A., Kozyulina P.Yu., Pavlova O.A., Rudaya E.S., Dolgikh E.A.</b> Regulation of the immune response in legumes by bacterial signal molecules Nod factors.....	85
<b>Dymova O.V., Novakovskaya I.V., Parshukov V.S., Patova E.N.</b> Snow microalga <i>Chloromonas reticulata</i> as a potential source of chlorophylls and carotenoids.....	86
<b>Evstigneeva S.S., Karavaeva O.A., Alsowaidi A.K.M., Staroverov S.A., Fomin A.S., Guliy O.I.</b> Development of phage display technology for obtaining antibodies specific to antibacterial drugs.....	87
<b>Egovtseva A.Yu., Abdurashytova E.R., Melnichuk T.N.</b> Assessment of degree of the associativity of strains of microorganisms.....	88
<b>Zhernakov A.I., Sulima A.S., Kulaeva O.A., Shtark O.Yu., Zhukov V.A.</b> Association study between the pea symbiotic genes polymorphisms and the increases of plant trait values caused by arbuscular mycorrhiza.....	89
<b>Zhukov V.A., Aydeeva G.S., Akhtemova G.A., Gordon M.L., Zhernakov A.I., Zorin E.A., Kichigina N.E., Kliukova M.S., Kulaeva O.A., Sulima A.S., Romanyuk D.A., Shtark O.Y., Tikhonovich I.A.</b> Genetic and metabolic integration in symbioses of garden pea with nodule bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi.....	90
<b>Zaikina E.A., Kuluev B.R.</b> Transcription factor genes as DNA markers for bread wheat breeding.....	91
<b>Zaynitdinova L.I., Tashpulatov J.J., Juraeva R.N., Lazutin N.A., Mavjudova A.M., Khegay T.B.</b> Metal nanoparticles synthesized by microorganisms as plant growth stimulators.....	92
<b>Zakharova E.V., Khaliluev M.R.</b> Reactive oxygen species in the regulation of <i>in vitro</i> pollen germination and pollen tube growth in petunia ( <i>Petunia hybrida</i> L.).....	93
<b>Zakharchenko N.S., Rukavtsova E.B., Medvedeva O.O., Khramov R.N.</b> Influence of bacteria <i>Bacillus cereus</i> F on plant growth and resistance to phytopathogens.....	94
<b>Zorin E.A., Kliukova M.S., Afonin A.M., Gribchenko E.S., Gordon M.L., Sulima A.S., Zhernakov A.I., Kulaeva O.A., Romanyuk D.A., Kusakin P.G., Tsyganova A.V., Tsyganov V.E., Tikhonovich I.A., Zhukov V.A.</b> Gene family encoding NCR peptides in <i>Pisum sativum</i> : sequence diversity, expression features and evolution.....	95
<b>Zyubanova T.I., Minaeva O.M., Akimova E.E., Tereshchenko N.N., Kravets A.V., Gummer Y.M.</b> Prospects for introducing <i>Eisenia fetida</i> in artificial ecosystems to increase plant productivity.....	96
<b>Ivanova E.A., Mashkov K.A., Goncharov A.A.</b> Influence of detrital substrate on infection of winter wheat seedlings with <i>Fusarium</i> wilt.....	97
<b>Ivanova L.A., Komakhin R.A.</b> The <i>a-hairpinin SmAMP-X</i> gene promoter from <i>Stellaria media</i> plant.....	98
<b>Ivasenko D.A., Kasymova A.A., Bukhtiyarova P.A., Gerasimchuk A.L.</b> Lipophilic representatives of <i>Pseudomonas</i> from natural and anthropogenic habitats promising for industrial biotechnology.....	99
<b>Ivachenko L.E., Bondarenko O.N., Blinova N.A., Lavrent'yeva S.I.</b> The use of molecular genetics and biochemical markers to characterize wild soy and cultural of soybean.....	100
<b>Ilina E.L., Puchkova V.A., Kiryushkin A.S., Demchenko K.N.</b> Adaptation of agrobacterium-mediated transformation ( <i>Agrobacterium rhizogenes</i> ) method for buckwheat.....	101
<b>Itkina D.S., Suleymanova A.D., Sharipova M.R.</b> Rhizospheric bacteria as a basis for the development of biofertilizers in agriculture.....	102
<b>Kazakova E.A., Gorbatova I.V., Pishenin I.A., Smirnova A.S., Mitsenyk A.S., Volkova P.Yu.</b> Validation of candidate radiation hormesis genes ( <i>CML39, AOS2, PMI9L</i> homologues) for further genetic editing of barley....	103
<b>Kameneva I.A., Gritchin M.V., Yakubovskaya A.I., Smirnova I.I., Slavinskaya A.V.</b> Peculiarities of Cultivation of Microbial Associations-Biodestructors of Plant Residues.....	104
<b>Kamnev A.A., Tugarova A.V.</b> Featuring the macromolecular composition of bacterial biofilms by using Fourier transform infrared spectroscopy.....	105
<b>Karavaeva O.A., Zaitsev B.D., Borodina I.A., Semyonov A.P., Alsowaidi A.K.M., Guliy O.I.</b> Kanamycin detection by microbial sensor based on a piezoelectric resonator with a transverse electric field.....	106
<b>Kargaplova K.Yu., Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Denisova A.Yu., Kulikov A.A., Burygin G.L.</b> The role of rhizobacteria in the formation of resistance of potato microclones to <i>ex vitro</i> conditions.....	107
<b>Karlov D.S., Guro P.V., Sazanova A.L., Alekhina I.A., Laschinsky N.N., Belimov A.A., Safronova V.I.</b> Arctic rhizobia and their potential role in the formation of pasture phytocenoses in the Far North of Russia.....	108
<b>Karpenko A.E., Rzhevskaya V.S., Teplitskaya L.M., Omelchenko A.V.</b> Colonization of the roots of <i>Triticum aestivum</i> L. by lactic acid bacteria and saccharomycetes.....	109
<b>Kimeklis A.K., Safronova V.I., Sazanova A.L., Belimov A.A., Aksenova T.S., Pinaev A.G., Andronov E.E., Provorov N.A.</b> Divergence of core and symbiotic components of the genome of <i>Rhizobium leguminosarum</i> : the use of symbionts of the relict legume <i>Vavilovia formosa</i> for the analysis of microevolution and speciation.....	110
<b>Kirichek E.A., Gorshkov A.P., Tsyganova A.V., Tsyganov V.E.</b> Symbiotic nodules of pea ( <i>Pisum sativum</i> L.) induced by <i>Rhizobium laguerreae</i> strains from Spain: histology and ultrastructure.....	111
<b>Kiryushkin A.S., Guseva E.D., Ilina E.L., Kiikova T.Y., Demchenko K.N.</b> Role of <i>DEEPER ROOTING 1 (DROI)</i> genes in root system architecture formation of cucumber ( <i>Cucumis sativus</i> L.).....	112
<b>Kiseleva I.S., Darkazanli M., Tugbaeva A.S., Ermoshin A.A.</b> Diversity and biological activity of endophytic bacteria isolated from the leaves of agricultural plants.....	113

<b>Kiseleva I.S., Sinenko O.S., Trubetskoy D.V.</b> Photosynthetic CO <sub>2</sub> assimilation by the main forest-forming coniferous species at the Ural-Carbon polygon.....	114
<b>Klimenko N.N.</b> Microbial preparations in the technology of grape cultivation.....	115
<b>Klimenko O.E., Klimenko N.I., Klimenko N.N., Evtushenko A.P.</b> Influence of microbial preparations on soil fertility and productivity of peach agroecosystem in the foothill Crimea.....	116
<b>Koval E.V., Ogorodnikova S.Yu.</b> Phytoprotective effects of cyanobacteria under conditions of pollution with methylphosphonic acid.....	117
<b>Kozlova A.P., Muntyan V.S., Vladimirova M.E., Rumyantseva M.L.</b> Analysis of soil bacteriophages <i>Sinorhizobium meliloti</i> .....	118
<b>Kalubaka A.V., Shrub E.V., Ivanov R.S., Gogoleva N.E., Kudoyarova G.R., Gogolev Y.V., Nikolaichik Y.A.</b> <i>Pectobacterium versatile</i> decreases abscisic acid concentrations in <i>Solanum tuberosum</i> tubers.....	119
<b>Kolyada A.A., Ambros E.V., Tyurin M.V., Novikova T.I.</b> Effect of <i>Beauveria bassiana</i> on growth and development of <i>Fragaria × ananassa</i> Duchesne ex Rozier regenerants in <i>ex vitro</i> conditions.....	120
<b>Kosimov D.I., Zaynitdinova L.I., Jurayeva R.N., Ergashev R.B.</b> Possibilities of soil bioremediation by a polyfunctional strain of <i>Ochrobactrum intermedium</i> .....	121
<b>Kostennikova Z.S., Galimov M.A., Akosah Y.A., Vologin S.G., Mardanov A.M.</b> Fungi of the genus <i>Fusarium</i> in the microbiota of potato roots and their role in the development of tuber dry rot.....	122
<b>Kravchenko I.K., Rayko M.P., Tikhonova E.N., Konopkin A.A., Lapidus A.L.</b> Comparative characteristics of the rhizosphere microbocenoses of agricultural plants in the vegetation experiment with the Chernevaya taiga soil and zonal soil.....	123
<b>Krasova Yu.V., Fadeev V.V., Moiseeva, Ye.M., Chumakov M.I., Gusev Yu.S.</b> Optimization of the technique for obtaining maize protoplasts and evaluation of their integrity after electroporation.....	124
<b>Kruglova N.N., Zinatullina A.E.</b> Biotechnological method of embryo culture <i>in vitro</i> of autonomous embryos in the accelerated assessment of drought-resistance of breeding samples: problem statement.....	125
<b>Kryzhko A.V.</b> Optimization and influence of nutrient media composition on the <i>B. thuringiensis</i> 0371 toxin formation gene expression.....	126
<b>Kryukov A.A., Yurkov A.P., Gorbunova A.O., Kudryashova T.R., Kalinina A.A., Filatov P.V., Kovalchuk A.I.</b> SWEET transporters in plant-microbial systems on the example of arbuscular mycorrhiza.....	127
<b>Kryuchkova E.V., Burygin G.L.</b> Catabolism of aromatic compounds by <i>Achromobacter insolitus</i> LCu2.....	128
<b>Kudoyarova G.R., Arkhipova T.N., Sharipova G.V., Akhiyarova G.R., Galin I.R., Martynenko E.V., Seldimirova O.V.</b> The effects of rhizosphere inoculation with <i>Pseudomonas mandelii</i> on formation of apoplast barriers, Hvpi2 aquaporins and hydraulic conductance of barley.....	129
<b>Kudriashova T.R., Kalinina A.E., Filatov P.V., Ivanchenko O.B., Kryukov A.A., Yurkov A.P.</b> Expression of eleven SWEET genes in <i>Medicago lupulina</i> during the development of arbuscular mycorrhiza under the conditions of introducing an average level of phosphorus into the substrate.....	130
<b>Kuzina E.V., Mukhamatdyarova S.R., Loginov D.O., Sharipova Yu.Yu.</b> Oil-destroyer strain UOM 4 as a promising component of microbial-plant association for bioremediation of oil-contaminated soils.....	131
<b>Kuznetsova V.A., Blinova A.A.</b> Dynamics of changes in the activity of <i>Glycine max</i> oxidoreductases after the inoculation of its seeds with <i>Bradyrhizobium japonicum</i> .....	132
<b>Kuznetsova E.N.</b> The germination of seeds of some rare plants of Udmurtia <i>in vitro</i> .....	133
<b>Kukoleva S.S.</b> Clustering of the biochemical composition of the aboveground biomass of Sudanese grass.....	134
<b>Kulaeva O.A., Zorin E.A., Zhernakov A.I., Romanyuk D.A., Gribchenko E.S., Afonin A.M., Gordon M.L., Shtark O.Y., Tikhonovich I.A., Zhukov V.A.</b> Analysis of <i>Pisum sativum</i> (L.) microRNAs.....	135
<b>Kumar A., Maleva M.G., Borisova G.G., Voropaeva O.V., Tripti</b> <i>Brassica oleracea</i> as a putative copper stabilizer using a biochar based biofertilizer.....	136
<b>Kupryashina M.A., Ponomareva E.G., Avdeeva E.S., Pylaev T.E.</b> Decolorization of synthetic dyes using immobilized non-pathogenic bacteria.....	137
<b>Kuptsov V.N., Shmyga E.Yu., Mandrik-Litvinkovich M.N., Kolomiets E.I., Levchenko D.D.</b> Comparative evaluation of phytoprotective and growth-stimulating effects of Belarusian and Vietnamese strains of antagonistic bacteria.....	138
<b>Kuramshina Z.M., Sattarova L.R.</b> Effect of <i>Bacillus subtilis</i> on plant growth under conditions of oil pollution... ..	139
<b>Kuramshina Z.M., Sattarova L.R.</b> Effect of <i>Bacillus subtilis</i> on plant resistance to oil pollution.....	140
<b>Kuryntseva P.A., Glazunova D.M., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu.</b> Effect of biochar application inoculated with free-living nitrogen-fixing bacteria on soil microbiome.....	141
<b>Lavina A.M., Khakimova L.R., Chubukova O.V., Verzhinina Z.R.</b> Identification of the <i>wspR</i> gene in the rhizospheric <i>Pseudomonas</i> .....	142
<b>Laktionov Y.V., Kosulnikov Y.V., Kozhemyakov A.P.</b> Manufacturability of microbiological preparations in crop production.....	143
<b>Lastochkina O.V., Fedorova K.A., Ibragimov A.E., Lastochkina A.A., Garshina D.Y., Yakupova A.I., Avtushenko I.A.</b> Modulation of growth and development of wheat genotypes contrasting in drought sensitivity by endophytic bacteria <i>Bacillus subtilis</i> under the influence of herbicides and soil drought.....	144
<b>Lastochkina O.V., Avalbaev A.M., Allagulova Ch.R., Yuldashev R.A., Shakirova F.M.</b> The contribution of hormonal changes to the protective effect of bacterial endophyte <i>Bacillus subtilis</i> on wheat genotypes contrasting in drought sensitivity under dehydration.....	145
<b>Lukatkin A.A., Lukatkin A.S.</b> Determination of the growth-stimulating effect of <i>Pseudomonas</i> sp. biological preparation on cucumber plants.....	146
<b>Lukina E.G., Gomzhina M.M., Dalinova A.A., Dubovik V.R., Berestetskiy A.O.</b> Identification of the causal agent of the Canada thistle shoot bleaching and the prospects for its use in plant protection.....	147

<b>Magradze E.I.</b> The effect of streptomycetes grown on whey on the growth characteristics of crop plants.....	148
<b>Makarova L.E., Petrova I.G., Sokolova N.A., Gurina V.V.</b> The content of negative allelopathic compounds in root exudates of pea seedlings depends on the bacteria affecting their roots.....	149
<b>Maleva M.G., Voropaeva O.V., Shiryaev G.I., Borisov G.G., Kumar A.</b> Plant growth promoting activity of bacteria isolated from the rhizosphere of helophyte <i>Typha latifolia</i> growing in different technogenic impacted habitats.....	150
<b>Markova Yu.A., Belovezhets L.A., Levchuk A.A., Oborina E.N., Adamovich S.N.</b> Effect of atranes on <i>Rhodococcus qingshengii</i> VKM AC-2784D cultivated in the presence of various carbon sources.....	151
<b>Maslennikova D.R., Nasyrova K.R. Chubukova O.V., Akimova E.S, Baymiev An.Kh., Blagova D.K., Ibragimov A.E., Lastochkina O.V.</b> Assessing the physiological and protective effects of rhizobacteria on wheat plants.....	152
<b>Maslennikova D.R., Lastochkina O.V., Shakirova F.M.</b> The participation of salicylic acid and proline the implementation of the protective effect of nitric oxide on wheat plants under drought.....	153
<b>Matveeva T.V., Zhurbenko P.M., Zhidkin R.R.</b> What can agrobacterial genes of natural GMOs tell about.....	154
<b>Meshcherov A.R., Gogoleva O.A., 'Sahabutdynov I.T., Ryazanov E.A., Murzagulova G.S., Ponomareva M.L., Ponomarev S.N. Gorshkov V.Y.</b> Phenotyping and genotyping of the <i>Microdochium nivale</i> stains – the causal agents of the pink snow mold disease.....	155
<b>Minaeva O.M., Akimova E.E., Zyubanova T.I.</b> Comprehensive evaluation of applying rhizosphere bacteria in model systems for phytopathogen control and plant growth stimulation.....	156
<b>Mineev Ya.P., Musin Kh.G., Kuznetsova M.V., Kuluev B.R.</b> Cultivation of mycorrhizal fungus <i>Glomus intraradices</i> on hairy roots of carrots	157
<b>Mindubaev A.Z., Babynin E.V., Karaeva J.V.</b> Biological detoxification of pollutants.....	158
<b>Minich A.S., Minich I.B., Chursina N.L., Vasiliev S.E., Finicheva A.A., Kudryashov S.V., Ryabov A.Yu., Ocheredko A.N.</b> Application of seed treatment technology with barrier discharge plasma to improve their sowing qualities and increase the productivity of Sarepta mustard.....	159
<b>Minnigaliyeva A.F., Nuzhnaya T.V., Veselova S.V., Shoeva O.Yu., Maksimov I.V.</b> The role of the SnTox1 effector of the pathogenic fungus <i>Stagonospora nodorum</i> (Berk.) in suppressing the protective response of wheat plants due to the regulation of the components of the pro-/antioxidant system.....	160
<b>Mikheev V.S., Struchkova I.V., Ageeva M.N., Berezina E.V.</b> The use of heather endophyte fungi to improve the phosphorus nutrition of large cranberry plants.....	161
<b>Mitsenyk A.S., Bondarenko E.V., Bondarenko V.S., Volkova P.Yu.</b> Selection of target sites and guide RNA for knockout of <i>Hordeum vulgare</i> genes <i>HORVU3Hr1G109230</i> , <i>HORVU4Hr1G066230</i> , <i>HORVU5Hr1G125450</i> , homologous to <i>CML39</i> of arabidopsis and <i>AOS2</i> , <i>PM19L</i> genes of rice, involved in plant response to abiotic stress.....	162
<b>Mitsenyk A.S., Podobed M.Yu., Bondarenko E.V., Babina D.D., Bondarenko V.S., Volkova P.Yu.</b> Selection of optimal genetic constructs for knockout of <i>HORVU3Hr1G109230</i> , <i>HORVU4Hr1G066230</i> , and <i>HORVU5Hr1G125450</i> barley genes involved in response to ionizing radiation exposure.....	163
<b>Muntyan V.S., Muntyan A.N., Rumyantseva M.L.</b> Molecular phylogenetic analysis of genes of <i>Sinorhizobium meliloti</i> responsible for primary salt stress adaptation.....	164
<b>Muratova A.Yu., Gorelova S.V.</b> Rhizospheric microbial communities of Kentucky bluegrass ( <i>Poa pratensis</i> L.) grown in soils with technogenic polyelement anomalies.....	165
<b>Musin Kh.G., Gumerova G.R., Baimukhametova E.A., Kuluev B.R.</b> Effect of the <i>AtARL</i> transgene on the growth and proliferation of tobacco hairy roots.....	166
<b>Naidanova I.E., Egorova A.M.</b> Salicylate-induced changes of the pea root apoplast proteins.....	167
<b>Nekrasova D.A., Povydysh M.N.</b> Using of cell technologies for the introduction of <i>Aralia cordata</i> Thunb.....	168
<b>Nechaeva O.V., Tikhomirova E.I. Arefiev K.A., Korobeinikova A.S., Murzina Yu.I., Glinskaya E.V.</b> The development of the biological product containing <i>Bacillus</i> for the bioremediation of the soils with the accumulated environmental damage.....	169
<b>Nizhnikov A.A.</b> Amyloid proteins of plants.....	170
<b>Nikolaichik Y., Vychyk P., Kruk A., Diubo J., Kalubaka A., Sharanhovich M.</b> Transcriptional regulation of plant-microbe interactions: a <i>Pectobacterium</i> spp. example.....	171
<b>Nozhkina O.A., Perfilova A.I., Graskova I.A., Sukhov B.G.</b> The effect of a number of nanocomposite substances on oxidation processes in plants during stress.....	172
<b>Nuzhnaya T.V., Minnigaliyeva A.F., Veselova S.V., Shoyeva O.Yu., Maksimov I.V.</b> The role of SnTox1- <i>Snn1</i> interaction in the development of infection in the pathosystem of <i>Stagonospora nodorum</i> – <i>Triticum</i> spp.....	173
<b>Pavlichenko V.V., Protopopova M.V.</b> Growth features of the transgenic Berlin poplar.....	174
<b>Panfilova M.A., Khakimova L.R., Vershinina Z.R., Mikhaylova E.V.</b> Investigation of the role of the <i>HAT</i> gene in plant resistance to stress.....	175
<b>Parfirova O.I., Petrova O.E., Gogoleva N.E., Gogolev Y.V., Gorshkov V.Y.</b> The role of the siderophore enterobactin in the virulence and stress resistance of pectobacteria.....	176
<b>Parkhomenko A.N., Galperina A.R.</b> Biodiversity and promising properties of nitrogen-fixing microorganisms in the soils of the Astrakhan region.....	177
<b>Petrova O.E., Parfirova O.I., Vorob'ev V.N., Islamov B.R., Tsers I.D., Gorshkov V.Y.</b> The role of intercellular signaling in the regulation of bacterial adaptive proliferation.....	178
<b>Pecherina A.A., Ageeva M.N., Grinberg M.A., Zdobnova T.A., Vodenev V.A., Brilkina A.A.</b> Pt-GFP-encoded potato plants for the study of pHcyt changes.....	179
<b>Pilipchuk T.A., Kalamiyets E.I.</b> Physical-chemical properties and parameters of a single growth cycle viruses infecting phytopathogenic bacteria of the genus <i>Pseudomonas</i> .....	180



<b>Plotnikov A.A., Allagulova Ch.R., Zikrina I.I., Lubyanova A.R. Yuldashev R.A., Avalbaev A.M.</b> The effectiveness of seed priming by NO in stimulating of germination and increasing of wheat tolerance to oxidative damage during dehydration.....	181
<b>Poltorachenko S.A., Shvartsev A.A., Konisheva M.L., Soloviev A.A., Mazyrin E.S.</b> Development reagents kit for species differentiation of the most common <i>Sclerotinia</i> fungi.....	182
<b>Pronin A.S., Lukatkin A.S.</b> Effects of complex biological preparation on ascorbate peroxidase activity in maize leaves at chilling temperatures.....	183
<b>Rassokhina I.L., Platonov A.V.</b> Effect of suspension of <i>Pseudomonas</i> sp. GEOT18 strain on growth and productive qualities of <i>Hordeum vulgare</i> L.....	184
<b>Reney N.O., Rodina E.S., Malchevskiy V.A., Subbotin A.M., Petrov S.A.</b> Effect of bacterial metabolites isolated from permafrost on in vitro morphogenesis of potato material.....	185
<b>Rodina T.V., Astashov A.N., Bagdalova A.Z.</b> Intraspecific diversity of chumiz ( <i>Setaria italica</i> L.) as a source material for breeding.....	186
<b>Romanyuk D.A., Shtark O.Y., Bilova T.E., E.V. Kysil, Frolova N.V., Cherevatskaya M.A., Kulaeva O.A., Silinskaya S.A., Kichigina N.E., Sulima A.S., Akhtemova G.A., Frolov A.A., Zhukov V.A.</b> Alterations in pea ( <i>Pisum sativum</i> L.) seeds transcriptomic and metabolomic profiles upon inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi, nodule bacteria and its combination.....	187
<b>Rudakova N.L., Khasanov D.I.</b> The Spo-signal transduction system role in the regulation of the <i>Bacillus pumilus</i> adamalysin-like proteinase expression.....	188
<b>Rudaya E.S., Kozyulina P.Yu., Pavlova O.A., Dolgikh A.V., Ivanova A.N., Dolgikh E.A.</b> Regulation of the transcription factor NIN and participation in the control of nodule development in legumes.....	189
<b>Rumyantsev S.D., Alekseev V.Yu., Veselova S.V., Burkhanova G.F., Maksimov I.V.</b> The role of various hormonal signaling pathways in the induction of wheat resistance to the bird cherry-oat aphid <i>Rhopalosiphum padi</i> (L.).....	190
<b>Rybin D.A., Brilkina A.A., Ageyeva M.N.</b> Selection of the optimal modification of the nutrient medium for clonal micropropagation of different blueberry cultivars.....	191
<b>Ryazanov E.A., Meshеров A.R., Gogoleva O.A., Osipova E.V., Ponomareva M.L., Ponomarev S.N., Marenina E.A., Gorshkov V.Y.</b> Biodiversity and virulence of the causal agents of gray (speckled) snow mold of winter cereals.....	192
<b>Sazanova A.L., Safronova V.I., Belimov A.A., Gogolev Yu.V., Chirak E., Karlov D.S., Kuznetsova I.G., Kuzmina L.Yu., Tikhonovich I.A.</b> Isolation and identification of bacterial strains isolated from water and soil of a unique natural object - the Shulgan-Tash cave (Bashkiria).....	193
<b>Saksaganskaia A.S., Muntyan V.S., Roumiantseva M.L.</b> Intraspecific diversity and phylogeny of the <i>nodA</i> gene of alfalfa nodule bacteria from the legume plants primary gene center.....	194
<b>Sannikova A.V., Sharipova M.R., Shakirov E.V., Valeeva L.R.</b> Development of <i>Physcomitrium patens</i> knockout plants and determination of its role in telomere length regulation.....	195
<b>Seitadzhieva S.B., Abdurashytov S.F., Nevkrytaya N.V., Gorodnyaya E.V.</b> Specificity of DNA isolation from <i>Rosa</i> sp. plants various organs.....	196
<b>Sidorova T.M., Allahverdyan V.V., Asaturova A.M.</b> Influence of bacterial strains of the genus <i>Bacillus</i> on the growth and toxin production of the fungus <i>Fusarium graminearum</i> in vitro.....	197
<b>Simonova E.O., Subbotin A.M., Narushko M.V., Bazhin A.S.</b> Flavonoid content in <i>Avena nudisativa</i> seedlings grown in conditions of chloride salinization after seed bacterization with bacterial strains from permafrost.....	198
<b>Simoroz E.V., Chubukova O.V., Chumakova A.K., Khakimova L.R., Matniyazov R.T.</b> Resistance of soil strains of <i>Pseudomonas</i> sp. to the effects of heavy metal ions.....	199
<b>Sokolnikova L.V., Bulmakova D.S., Suleimanova A.D.</b> Tricalcium phosphate mobilization by <i>Pantoea brenneri</i> 3.5.2.....	200
<b>Sotnikova Yu.M., Grigoriadi A.S., Fedyaev V.V., Yamaleeva A.A., Garipova M.I., Zobkova N.V., Farkhutdinov R.G.</b> Influence of biological products on morphometric and physiological parameters of phytoremediants in the remediation of oil pollution of soils.....	201
<b>Stadnichuk I.N., Bolychevtseva Yu.V.</b> Systematics, evolutionary origin and contribution in biotechnology of acidotermophilic microalgae <i>Galdieria</i> .....	202
<b>Strelnikova S.R., Krinitsina A.A., Komakhin R.A.</b> Effective RNAi-mediated silencing of the <i>mismatch repair MSH2</i> gene induces sterility of tomato plants but not an increase in meiotic recombination.....	203
<b>Suleimanova A.D., Sokolnikova L.V., Bulmakova D.S., Itkina D.L., Sharipova M.R.</b> Production of siderophores by the soil bacterial strain <i>Pantoea brenneri</i> 3.2.....	204
<b>Sundyreva M.A., Mishko A.E., Lutskiy E.O.</b> The role of symbiotic yeast in inhibiting the development of downy mildew and stimulating the grape immunity.....	205
<b>Sundyreva M.A., Rebrov A.N., Vyalkov V.V., Mishko A.E.</b> The influence of culture medium composition creating a slight stress effect on the adaptation of grape plants to ex vitro conditions.....	206
<b>Syromyatnikova E.D., Parfirova O.I., Smolobochkin A.V., Gorshkov V.Y.</b> Regulation of extracellular phosphonate production – potential virulence factors of phytopathogenic pectobacteria.....	207
<b>Taipova R.M., Kuluev B.R.</b> Obtaining hairy roots of <i>Amaranthus cruentus</i> L. and induction of callus formation.....	208
<b>Tendiuk N.V., Konnova T.A., Osipova E.V., Petrova O.E., Mukhametzyanov T.A., Makshakova O.N., Gorshkov V.Y.</b> Structure and functions of the Sv <sub>x</sub> protein - the virulence factor of the phytopathogenic bacterium <i>Pectobacterium atrosepticum</i> .....	209
<b>Timofeeva S.N., Yudakova O.I.</b> Formation of callus and pseudocallus during clonal micropropagation of some woody plants.....	210
<b>Tkachenko O.V.</b> Strategy for the creation of <i>in vitro</i> plant-microbial associations to improve agrobiotechnologies.....	211

<b>Tomashevich N.S., Allakhverdyan V.V., Sidorova T.M., Asaturova A.M.</b> Study of the synthesis of a complex of secondary metabolites of the bacterial strain <i>Bacillus velezensis</i> BZR 336g depending on the microelements in the medium.....	212
<b>Trigubovich A.M., Mandrik-Litvinkovich M.N., Volokhanovich A.A.</b> Biological properties of psychrotolerant strains of <i>Phoma herbarum</i> , promising as the basis of weed bioherbicides.....	213
<b>Tugbaeva A.S., Ugreninov P.A., Darkazanli M., Ermoshin A.A., Kiseleva I.S.</b> Molecular identification and phylogenetic analysis of endophytic bacteria isolated from agricultural plants.....	214
<b>Tyurina T.M., Kochkin D.V., Glagoleva E.S., Titova M.V.</b> Cell cultures of <i>Panax japonicus</i> and <i>Polyscias fruticosa</i> (Araliaceae) – producers of triterpene glycosides.....	215
<b>Ulyanich P.S., Kuznetsova I.G., Sazanova A.L., Yuzikhin O.S., Karlov D.S., Vishnyakova M.A., Belimov A.A., Safronova V.I.</b> Evaluation of the specificity and symbiotic activity of guar strains on cowpea ( <i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.).....	216
<b>Fedorova O.A., Bezler N.V.</b> Prospects for the use of native strains of streptomycetes in sugar beet agroecosystem.....	217
<b>Feoktistova A.V., Timergalin M.D., Bakaeva M.D., Chetverikov S.P.</b> Influence of humic substances on the growth of rhizospheric bacteria and plants.....	218
<b>Khakimova L.R., Chubukova O.V., Muryasova A.R., Vershinina Z.R.</b> The influence of the strain <i>Pseudomonas</i> sp. OBA 2.4.1 on <i>Pisum sativum</i> L. plants exposed to cadmium salts.....	219
<b>Khaliluev M.R., Varlamova N.V., Demidenko D.V., Zakharova E.V.</b> Transgenic Solanaceae plants with intravital visualization of the tubulin cytoskeleton as an experimental model for underlying microtubule reorganization under abiotic stress.....	220
<b>Khasanov D.I., Rudakova N.L.</b> Characterization of genome-edited <i>Bacillus subtilis</i> producer strains with relation to the expression of <i>B. pumilus</i> metalloproteinase.....	221
<b>Hkudaygulov G.G., Starikov S.S., Chetverikov S.P.</b> Supposed mechanism of plant herbicide stress mitigation by <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> bacteria.....	222
<b>Khudokormov A.A., Shatalina E.S., Samkov A.A., Volchenko N.N., Moiseeva E.V.</b> Influence of some commercial oil-oxidizing biological preparations on biodiversity and oil-oxidizing activity of native soil bacteria.....	223
<b>Khudokormov A.A., Shatalina E.S., Karaseva E.V., Moiseeva E.V., Kruglova M.N.</b> The use of certain biopreparations in the biological treatment of soil contaminated with light oil.....	224
<b>Khusnutdinov E.A., Artyukhin A.E., Mikhaylova E.V.</b> <i>DFR</i> is a key gene of anthocyanin biosynthesis in <i>Brassicaceae</i> .....	225
<b>Tsvetkov V.O., Cherepanova E.A., Burkhanova G.F., Sorokan A.V., Zaikina E.A., Khabibullina V.O., Yarullina L.G.</b> Mathematical modeling of the relationship of potato resistance to biotic and abiotic stress with the activity of hydrolytic enzymes and their inhibitors, state of the pro-/antioxidant system, and the level of expression of PR-protein genes.....	226
<b>Tsivileva O.M., Shaternikov A.N., Evseeva N.V., Denisova A.Yu., Tkachenko O.V.</b> Biopreparations for plants produced with binary bacterial-mushroom cultures.....	227
<b>Tsyganova A.V., Seliverstova E.V., Brewin N.J., Tsyganov V.E.</b> Pectins of legume symbiotic nodules.....	228
<b>Tsyganov V.E., Serova T.A., Kitaeva A.B., Kusakin P.G., Gorshkov A.P., Seliverstova E.V., Tsyganova A.V.</b> Molecular and cellular responses of symbiotic nodules of pea ( <i>Pisum sativum</i> L.) to high temperature, a key stress factor of global climate change.....	229
<b>Tsygichko A.A., Asaturova A.M.</b> Screening of strains of the <i>C. pomonella</i> granulosa virus from the DBK FSBSI FRCBPP.....	230
<b>Chaikovskaya L.A., Ovsienko O.L., Klimenko N.N., Baranskaya M.I.</b> The effect of microbial preparation and mineral fertilizers on the quantitative composition of amino acids in winter wheat grain.....	231
<b>Chebotar V.K., Gancheva M.S., Chizhevskaya E.P., Pischik V.N., Zaplatkin A.N., Keleynikova O.V., Baganova M.E.</b> Endophytic bacteria are a promising resource for the development of new microbiological preparations for the protection and nutrition of plants.....	232
<b>Chetverikova D.A., Bakaeva M.D., Kendjjeva A.A., Chetverikov S.P.</b> Bacterial strain to protect agricultural plants sensitive to sulfonyleurea preparations from herbicidal stress.....	233
<b>Chetverikov S.P.</b> Compatible with herbicides biological product "AGROBIOLOG" for neutralizing plant stresses, increasing yield and grain quality.....	234
<b>Chumakova A.K., Chubukova O.V., Simoroz E.V., Maslennikova D.R., Khakimova L.R.</b> The effect of soil strains of <i>Pseudomonas</i> sp. on the resistance of alfalfa plants <i>Medicago sativa</i> L. to the action of cadmium ions..	235
<b>Chumakov M.I.</b> Genetic background for haploid-inducing maize line biotechnology.....	236
<b>Shaposhnikov A.I., Shakhnazarova V.Yu., Borodina E.V., Lebedinsky M.I., Vishnevskaya N.A., Syrova D.S., Kovaleva O.N., Strunnikova O.K.</b> Characteristics of root exudation in the barley- <i>Fusarium culmorum</i> pathosystem.....	237
<b>Sharifyanova Yu.V., Artyukhin A.Y., Mikhaylova E.V.</b> Analysis of chloroplast and nuclear genetic markers of Larches of Kuzhanovo - plants with a unique crown.....	238
<b>Shein M.Yu., Burkhanova G.F., Maksimov I.V.</b> Changes in the transcriptional activity of genes of the RNA interference system of the fungus <i>Stagonospora nodorum</i> Berk in the pathogenic system under conditions of phytoimmunity induction.....	239
<b>Shikov A.E., Malovichko Y.V., Nizhnikov A.A., Antonets K.S.</b> Bacillus' pan-genomics is a perspective approach for revealing ecological and functional features of representatives within this genus.....	240
<b>Shmarova A.A., Pivovarova N.S.</b> Risk assessment of the Baikal skullcap suspension culture technology.....	241
<b>Shmyga E.Yu., Mandryk-Litvinkovich M.N., Kozhenevskij O.Ch., Sviridov A.V., Kalamiyets E.I.</b> Effect of microbial preparation «Bioproductin» on major ecological-trophical group of soil microorganisms during grain crop cultivation.....	242

<b>Shtark O.Y., Bilova T.E., Kysil E.V., Frolova N.V., Cherevatskaya M.A., Kulaeva O.A., Romanyuk D.A., Silinskaya S.A., Kichigina N.E., Sulima A.S., Akhtemova G.A., Frolov A.A., Zhukov V.A.</b> Arbuscular mycorrhiza as a factor affecting metabolic stress responses in pea seeds when growing plants in soil with a disturbed structure.....	243
<b>Shupletsova O.N., Tovstik E.V.</b> Influence of soil backgrounds on the content of polyphenols in barley grain of varieties of different origin.....	244
<b>Shchyogolev S.Yu., Burygin G.L., Sokolov A.O., Tkachenko O.V., Dykman L.A., Sokolov O.I., Matora L.Yu.</b> GTDB technology on the way to creating a “domain-to-species taxonomic framework”: a short rest with the family <i>Micrococcaceae</i> .....	245
<b>Elkonin L.A., Gerashchenkov G.A., Borisenko N.V., Kenzhegulov O.A., Sarsenova S.Kh., Rozhnova N.A., Panin V.M.</b> Site-directed mutagenesis of kafirin genes to improve the nutritious value of sorghum grain using CRISPR/Cas technology.....	246
<b>Yurkov A.P., Kryukov A.A., Gorbunova A.O., Kudryashova T.R., Kalinina A.A., Filatov P.V., Kovalchuk A.I., Puzanskiy R.K., Mikhaylova Yu.V., Zhurbenko P.M., Rodionov A.V., Shishova M.F.</b> Arbuscular mycorrhizal fungi: the biodiversity, the mechanisms of the efficiency and prospects for use.....	247
<b>Yarullina L.G., Tsvetkov V.O., Khabibullina V.O., Cherepanova E.A., Burkhanova G.F.</b> Influence of endophytic bacteria of the genus <i>Bacillus</i> and signaling molecules on changes in the <i>Solanum tuberosum</i> proteome under stress.....	248
<b>Yatsenko E.S., Leites E.A., Petukhov V.A., Petukhov A.A., Khalyavin I.A., Khalyavina A.I., Ermakova A.V.</b> Microbiological preparation with fungicidal and growth-promoting properties based on vegetable raw materials.....	249

**Биологическая активность ризосферы *Sorghum bicolor* при взаимодействии комплекса микроорганизмов с растениями в условиях степи**

Абдурашитова Э.Р., Мельничук Т.Н., Абдурашитов С.Ф.  
ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»  
elvi-jadore@mail.ru

Применение микробных препаратов при выращивании сельскохозяйственных культур позволяет повысить биологическую активность почвы, что предполагает улучшение обеспеченности питанием в системе почва-растение за счет интенсификации биохимических процессов. В связи с этим, цель работы изучить влияние комплекса микроорганизмов (КМ) на структуру микробиоценоза ризосферы *Sorghum bicolor* (L.) Moench в условиях степи Крыма. Стационарный опыт с пятипольным севооборотом заложен в 2015 году в степной зоне на базе ФГБУН «НИИСХ Крыма» (45°31'48.5"N 34°11'47.9"E). Сорго выращивали по традиционной для Крыма технологии со вспашкой, предшественник: ячмень озимый. Опытный вариант включал предпосевную инокуляцию семян сорго зернового КМ. Комплекс микроорганизмов полезного действия включал: штаммы бактерий, являющихся биоагентами микробных препаратов, *Paenibacillus polymyxa* П, *Lelliottia nimipressuralis* 32-3, *Agrobacterium radiobacter* 204, а также ассоциацию грибов арбускулярной микоризы. В фазу выметывания отбирали ризосферу растений и определяли численность основных эколого-трофических групп: азотфиксаторов, аммонификаторов, амилолитиков, микромицетов, целлюлозолитиков, педотрофов и олиготрофов. Данные преобразовали в виде значений logN (где N – количество КОЕ/г почвы микроорганизмов определенной эколого-трофической группы), нормализованных по принципу Z-трансформации. Значения численности микроорганизмов logN=-2 характеризовались низкой численностью, +2 – высокой, приближающиеся к 0 – средней. Условия выращивания сорго зернового значительно отличались по влагообеспеченности и температурным показателям: погодные условия 2018 год характеризовались слабой засухой, 2019 год – ее отсутствием. В засушливый 2018 год в контрольном варианте установлена средняя численность азотфиксаторов, педотрофов и целлюлозолитиков. Применение предпосевной обработки семян сорго зернового КМ способствовало увеличению численности практически всех основных эколого-трофических групп. В 2019 году биоагенты микробных препаратов повлияли отлично от 2018 года. Так, в ризосфере сорго снизилась численность педотрофов и амилолитиков. За годы исследования группа микромицетов имела низкие значения. Вероятно, для функционирования этих микроорганизмов необходимо достаточное обеспечение осадками. Таким образом, микробиологический анализ эколого-трофических групп показал, что применение КМ в 2018-2019 гг. способствовало повышению численности азотфиксаторов, аммонификаторов и целлюлозолитиков в ризосфере сорго зернового как в засушливый, так и влагообеспеченный год.

**Biological activity of the rhizosphere of *Sorghum bicolor* during the interaction of microbial agents with plants in the steppe**

Abdurashytova E. R., Melnichuk T. N., Abdurashytov S. F.  
FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”  
elvi-jadore@mail.ru

The use of microbial preparations in the cultivation of crops makes it possible to increase a soil biological activity. In this case implies an improvement in the supply of nutrition in the soil-plant system due to the biochemical processes intensification. In this regard, the aim of the work was to study the influence of the complex of microorganisms (CM) on the microbial cenosis composition of the *Sorghum bicolor* (L.) Moench rhizosphere in Crimean steppe. The stationary experiment with a five-field crop rotation was established in 2015 in the steppe zone on the basis of the Research Institute of Agriculture of the Crimea (45°31'48.5"N 34°11'47.9"E). Sorghum was grown according to the traditional technology in Crimea with plowing, the predecessor was winter barley. The experimental variant included pre-sowing inoculation of sorghum seeds by CM. The complex of beneficial microorganisms include strains of bacteria *Paenibacillus polymyxa* P, *Lelliottia nimipressuralis* 32-3, *Agrobacterium radiobacter* 204, that are bioagents of microbial preparations, as well as the association of arbuscular mycorrhiza fungi. In the heading phase, the plant rhizosphere was sampled and the abundance of the main ecological and trophic groups was determined: nitrogen fixers, ammonifiers, amylolytics, micromycetes, cellulolytics, pedotrophs, and oligotrophs. The data were converted as logN values (where N is the number of CFU/g soil of microorganisms of a certain ecological-trophic group), normalized according to the Z-transformation principle. The values of the microorganism's number logN=-2 were characterized by low abundance, +2 – high, approaching 0 – medium. The conditions for growing sorghum differed significantly in terms of moisture availability and temperature indicators: the weather conditions in 2018 were characterized by a slight drought, in 2019 - by its absence. In the dry year of 2018, the average number of nitrogen fixers, pedotrophs, and cellulolytics was established in the control variant. The use of pre-sowing treatment of *S. bicolor* by CM contributed to an increase in the number of almost all major ecological and trophic groups. In 2019, bioagents of microbial preparations had a different impact than in 2018. The number of pedotrophs and amylolytics in the sorghum rhizosphere decreased. Over the years of the study, the micromycetes had low values. It is likely that sufficient precipitation is necessary for the functioning of these microorganisms. Thus, the microbiological analysis of ecological and trophic groups showed that the use of CM in 2018-2019 contributed to an increase in the number of nitrogen fixers, ammonifiers and cellulolytics in the rhizosphere of *S. bicolor* both in dry and moisture-provided years.

**Детекция штаммов ассоциативных микроорганизмов в ризоплане *Sorghum bicolor* после бактеризации семян.**

<sup>1</sup>Абдурашитов С.Ф., <sup>1</sup>Грицевич К.С., <sup>1</sup>Каменева И.А.

<sup>1</sup>ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, г. Симферополь.  
asuleyman83@rambler.ru

Ассоциативным микроорганизмам после нанесения на семена свойственно формировать симбиоз с растением. При высокой комплементарности макро- и микросимбионта они способны приживаться на корнях растений образовывать биопленки и другие агломерации. Приживаемость микроорганизмов возможно оценить методом ПЦР в различных условиях при наличии у штаммов специального ДНК-маркера. Целью исследований было подобрать и оценить работу штаммспецифичных ДНК-маркеров ассоциативных штаммов-биоагентов микробных препаратов в ризоплане *Sorghum bicolor* (L) Moench после бактеризации семян. В лабораторном стерильном эксперименте была оценена приживаемость штаммов из коллекции ФГБУН «НИИСХ Крыма»: *Lelliottia* sp. 32-3, *A. radiobacter* 204 и *P. polymyxa* П (<http://www.ckp-rf.ru/usu/507484/>). Семена сорго зернового обрабатывали биопрепаратом с микробиологической нагрузкой 10<sup>6</sup> КОЕ / семя каждого микроорганизма. Опыт заложен в асептических условиях. ДНК коллекционных штаммов бактерий и ризопланы выделяли коммерческим набором Gene JET Genomic DNA Purification Kit (ThermoFisher Scientific, США) по протоколу производителя. Контролем при постановке ПЦР были необработанные семена и исходные штаммы ассоциативных бактерий. На основе данных о полиморфизме нуклеотидных последовательностей межгенных регионов 16S–18S рДНК и *YheC/YheD-gyrB* нами были получены штаммспецифичные ДНК-маркеры к исходным штаммам биопрепарата. ДНК ризопланы использовалась в качестве матрицы для ПЦР для детекции коллекционных штаммов. В ходе эксперимента продукты реакции накапливались быстрее на матрице ДНК ризопланы, полученной с обработанных семян, вследствие большего количества исходной матрицы по всем трем штаммам, о чем свидетельствует снижающийся показатель количественного цикла ПЦР на 2,6-8,7 цикла в сравнении с необработанным контролем. *Lelliottia* sp. 32-3, *A. radiobacter* 204 и *P. polymyxa* П успешно заселяют корни растения и через 5 суток экспозиции образуют колонии, которые возможно детектировать в ПЦР в реальном времени с помощью разработанного ДНК-маркера.

**Detection of strains of associative microorganisms in the *Sorghum bicolor* rhizoplane after seed bacterization.**

<sup>1</sup>Abdurashytov S.F., <sup>1</sup>Gritsevich K.S., <sup>1</sup>Kameneva I.A.

<sup>1</sup>Research Institute for Agriculture of Crimea, Simferopol.  
asuleyman83@rambler.ru

Associative microorganisms, after being applied to seeds, tend to form a symbiosis with the plant. With a high complementarity of the macro- and microsymbiont, they are able to take root on plant roots to form biofilms and other agglomerations. The survival of microorganisms can be assessed by PCR under various conditions if the strains have a special DNA marker. The aim of the research was to select and evaluate the work of strain-specific DNA markers of associative bioagent strains of microbial preparations in the *Sorghum bicolor* (L) Moench rhizoplane after seed bacterization. In a laboratory sterile experiment, the survival rate of strains from the collection of the "RIA of Crimea" was assessed: *Lelliottia* sp. 32-3, *Agrobacterium radiobacter* 204 and *Paenibacillus polymyxa* P (<http://www.ckp-rf.ru/usu/507484/>). Sorghum seeds were treated with a biological product with a microbiological load of 10<sup>6</sup> CFU/seed of each microorganism. The experiment was carried out under aseptic conditions. DNA of collection strains of bacteria and rhizoplane was isolated using a commercial Gene JET Genomic DNA Purification Kit (ThermoFisher Scientific, USA) according to the manufacturer's protocol. Untreated seeds and initial strains of associative bacteria were controls for PCR. Based on the data on the polymorphism of the nucleotide sequences of the 16S–18S *rDNA* and *YheC/YheD-gyrB* intergenic regions, we obtained strain-specific DNA markers for the original strains of the biological product. Rhizoplane DNA was used as a template for PCR for the detection of collection strains. During the experiment, the reaction products accumulated faster on the rhizoplane DNA matrix obtained from the treated seeds, due to the greater amount of the initial matrix for all three strains, as evidenced by the decrease in the quantitative PCR cycle by 2.6-8.7 cycles compared to the untreated control. *Lelliottia* sp. 32-3, *A. radiobacter* 204 and *P. polymyxa* II successfully colonize plant roots and after 5 days of exposure form colonies that can be detected in real-time PCR using the developed DNA marker.

**Hormonal system involvement in growth-promoting and protective effects of nitric oxide on wheat plants under dehydration**

Avalbaev A.M., Lubyanova A.R., Zikrina I.I., Plotnikov A.A., Yuldashev R.A., Allagulova Ch.R.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Ufa  
avalbaev@yahoo.com

Nitric oxide (NO) is a signaling molecule that is involved in the regulation of plant metabolism during ontogeny. Meanwhile, NO participates in the development of plant tolerance to various stresses, including drought. We studied the effect of sodium nitroprusside (SNP), the NO donor, on wheat plants in normal conditions and under drought modeled by 12% PEG. SNP at concentration of 200  $\mu$ M had a stimulating effect on growth of wheat seedlings as evidenced by increments in their linear parameters, fresh and dry weights, and the mitotic index. PEG-induced dehydration caused a rapid inhibition of seedling growth, while SNP-pretreatment prevented the damaging effect of drought. Since hormonal system regulates plant growth then we analyzed the changes in the content of ABA, IAA, and cytokinins in seedlings grown in the presence of SNP and subjected to water stress. The treatment with SNP led to 2-fold increase in the concentration of cytokinins without significant changes in IAA content and a slight increase in ABA level. Drought caused rapid ABA accumulation and decline in concentrations of cytokinins and IAA. SNP-pretreated stressed plants were characterized by a decrease in stress-induced ABA accumulation and the maintenance of cytokinin concentration at a control level. Moreover, in stressed seedlings SNP promoted the normalization of water metabolism which was evaluated on indices of relative water content, osmotic potential, and transpiration. Thus, NO ability to influence seedling growth, state of hormonal system, and water regime contributes significantly to the growth stimulating and protective effects of NO on wheat plants both under normal and drought conditions.

This work was supported by the Russian Science Foundation grant no. 22-24-00196.

#### **Proteomic analysis of response to nitric oxide in wheat plants**

<sup>1</sup>Avalbaev A.M., <sup>1</sup>Yuldashev R.A., <sup>2</sup>Egorova A.M., <sup>1</sup>Allagulova Ch.R., <sup>1</sup>Shakirova F.M.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Ufa

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Research Centre, Russian Academy of Sciences; Kazan  
avalbaev@yahoo.com

Nitric oxide (NO) is a gaseous endogenously synthesized signaling molecule with an essential role in various growth and developmental processes. In our previous research it was found that NO had a growth promoting activity on wheat seedlings, which suggest the active influence of NO on protein metabolism. In the present work, we conducted the proteomic analysis of response to sodium nitroprusside (SNP), the NO donor, in wheat seedlings. Two-dimensional gel electrophoresis was employed for the protein analysis of SNP-treated and untreated wheat plants. Application of SNP caused the promotion of protein metabolism in wheat seedlings, which was evidenced by an intensification of protein signals in a wide range of molecular weights and isoelectric points. Thus, NO-promoted growth of wheat plants was accompanied by accumulation of various proteins. These results point towards the important role of nitric oxide in the activation of protein metabolism which is the basis for promotion of plant growth.

The work was supported by Russian Foundation for Basic Research (No. 20-04-00904a) and partially in accordance with the State assignment of Russia, No. AAAAA16-116020350029-1.

**Изменение состава клубеньковых бактерий лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus*) в зависимости от фазы его вегетации**

Акимова Е.С., Коряков И.С., Владимирова А.А., Баймиев Ан.Х.  
Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа.

[iv.katerina-bio@yandex.ru](mailto:iv.katerina-bio@yandex.ru)

Бобово-ризобияльный симбиоз представляет собой эффективную систему, которая позволяет обеспечивать бобовое растение минеральным азотом, фиксированным клубеньковыми бактериями из атмосферы. Становление такого взаимодействия – сложный и многостадийный процесс, приводящий в конечном итоге к образованию на корнях растений клубеньков – специализированных структур, в которых непосредственно и происходит фиксация молекулярного азота. У многолетних бобовых умеренного климата, особенностью которого является четко выраженная сезонность, формирование клубеньков, как и их отмирание, происходит на всем протяжении их онтогенеза, но с разной интенсивностью. Вероятно, это обуславливается различной потребностью растения в минеральном азоте в разные периоды его роста и развития, оказывающей влияние и на трофические связи с микросимбионтами. С целью понимания как меняются взаимоотношения между бактериями и растениями в ходе их онтогенеза, нами в данной работе было исследовано генетическое разнообразие, а также азотфиксирующая активность ризобий, выделенных из клубеньков многолетнего бобового растения лядвенца рогатого (*Lotus corniculatus* L.), сформированных на разных стадиях его вегетации: во время набухания почек (апрель, май), в период формирования бутонов (июнь) и после закладки растениями почек на зиму с первыми заморозками (октябрь). Было выявлено, что микроорганизмы, формирующие клубеньки на корнях лядвенца, в начале вегетации имели наибольший уровень генетического разнообразия, который в последующем снижался и снова повышался только к осени. Анализ азотфиксирующей активности показал, что наиболее эффективно фиксируют азот микроорганизмы, выделенные из клубеньков, собранных на начальных этапах развития макросимбионта, в то время как у бактерий, полученных из клубеньков в конце вегетации, активность азотфиксации значительно ниже. Вероятно, в начале вегетационного периода, когда возникает высокая потребность в азоте, такая генетическая гетерогенность ризобий нужна для того, чтобы растение «выбрало» наиболее активные с точки зрения азотфиксации штаммы. В дальнейшем макросимбионт начинает избавляться от более «затратных» штаммов и оставляет преимущественно наиболее оптимальные варианты с максимально выгодным соотношением N/C, поскольку уже меньше нуждается в азотном питании. К осени формируются клубеньки, задача которых не столько в фиксации азота, о чем свидетельствуют данные о снижении азотфиксирующей активности этих бактерий, сколько в амплификации микроорганизмов в ризосфере, которые в следующий сезон в начале вегетации могут оказаться их донорами при формировании новых штаммов.

#### **Changes in the composition of root nodule bacteria of *Lotus corniculatus* depending on the phase of its vegetation**

Akimova E.S., Koryakov I.S., Vladimirova A.A., Baymiev An.Kh.

Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa.

[iv.katerina-bio@yandex.ru](mailto:iv.katerina-bio@yandex.ru)

The legume-rhizobium symbiosis is an effective system that allows the legume plant to be supplied with mineral nitrogen fixed by nodule bacteria from the atmosphere. The formation of such an interaction is a complex and multi-stage process, which ultimately leads to the formation of nodules on the roots of plants - specialized structures in which molecular nitrogen is fixed directly. In perennial legumes of a temperate climate, a feature of which is a clearly pronounced seasonality, the formation of nodules, as well as their death, occurs throughout their ontogenesis, but with different intensity. This is probably due to the different need of the plant for mineral nitrogen in different periods of its growth and development, which also affects the trophic relationships with microsymbionts. In order to understand how the relationships between bacteria and plants change during their ontogenesis, in this work we studied the genetic diversity, as well as the nitrogen-fixing activity of rhizobia isolated from the nodules of the perennial leguminous plant *Lotus corniculatus* L., formed at different stages of its vegetation: during the swelling of the buds (April, May), during the formation of buds (June) and after the laying of buds by plants for the winter with the first frosts (October). It was found that the microorganisms that form nodules on the roots of the *Lotus* at the beginning of the growing season had the highest level of genetic diversity, which subsequently decreased and again increased only by autumn. The analysis of nitrogen-fixing activity showed that the most effective nitrogen-fixing microorganisms are those isolated from nodules collected at the initial stages of macrosymbiont development, while the activity of nitrogen fixation in bacteria obtained from nodules at the end of the growing season is much lower. Probably, at the beginning of the growing season, when there is a high need for nitrogen, such genetic heterogeneity of rhizobia is necessary for the plant to “choose” the most active strains in terms of nitrogen fixation. In the future, the macrosymbiont begins to get rid of more “expensive” strains and leaves mainly the most optimal options with the most favorable N/C ratio, since it already needs less nitrogen nutrition. By autumn, nodules are formed, the task of which is not so much in fixing nitrogen, as evidenced by the data on a decrease in the nitrogen-fixing activity of these bacteria, but in the amplification of microorganisms in the rhizosphere, which in the next season at the beginning of the growing season may turn out to be their donors in the formation of new strains.

#### **Analysis of Chernevaya Taiga soils of Western Siberia and identification factors associated with the phenomenon of plant gigantism**

<sup>1</sup>Aksyonova A. I., <sup>2</sup>Rayko M. P., <sup>1,2</sup>Lapidus A. L.

<sup>1</sup>Saint-Petersburg State University, St.-Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Center for Algorithmic Biotechnology St. Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia



The soils of Chernevaya taiga have a high fertility in comparison with oligotrophic analogs formed in boreal taiga and it have not ever been affected by agricultural activities. This type of forest is characterized by some unique ecological traits, the most important of which are the gigantism of the herbaceous plants and bushes, lack of moss cover on soil surface, high rate of decomposition of vegetative remains and low humic acid content. Analysis of all related properties due to metagenomic study and identification of microbial drivers of fertility can become the basis for innovative agricultural technologies aimed to increase the productivity of soils and crops and improving plant and environmental fitness. The aim of this study is to establish and parametrize the factors that are associated with soil microbiota and the mechanisms of plant gigantism in the Chernevaya taiga.

The object of the research were samples of model plant species and soil samples at key sites of the Chernevaya taiga. Fungal DNA from the soil samples was extracted according to the current EMP DNA Extraction Protocol followed by EMP ITS Illumina amplification protocol for fungi. Libraries were sequenced on the Illumina MiSeq instrument in the paired-end mode. ITS-carrying reads were classified taxonomically using the UNITE database for fungal genomes. Metagenomic analysis were prepared based on the bioinformatic platform «QIIME2» using additional R scripts, with the following steps: demultiplexing, QC, adapter trimming, denoising, amplicon sequence variant selection, core diversity metrics (alpha-, beta-diversity etc.), taxonomy assignment. Differential abundance was calculated using phyloseq and Deseq2 packages. Association of the fungal taxa with ecological guilds was performed using the FUNGuild approach. The relative abundances of the OTUs were calculated based on the number of reads assigned to each OTU. The taxonomic classification of the obtained amplicon sequence variants was also performed using Greengenes database v. 13.8 containing data for the SSU rRNA genes.

We analysed the taxonomic composition of fungi in 12 soil samples. At the class level, the most abundant class of the fungi in the Chernevaya taiga samples belonged to *Mortierellomycetes* (5, 7, 7, 9, 12, 14% of identified fungi in each of 6 samples). Fungi of the *Chaetomiaceae* family were present only in the soils of the Chernevaya taiga in an amount from 16.2 to 1.2%. This family plays an important role in the destruction of plant litter on the soil (some of them destroy cellulose and hemicellulose through a complex set of oxidative reactions and the action of endocellulases). Alpha and beta-diversity analysis showed that Chernevaya taiga samples have significantly higher diversity. Soils of Chernevaya taiga showed essentially higher content of total carbon (C) as compared with control forest soil: 9.9 and 2.4 % correspondingly. Similar results were observed for the contents of the soil total nitrogen (N). We have found the bacterial CFU number ranging from  $8.1 \times 10^7$  to  $9.5 \times 10^8$  in 1 g of wet rhizospheric soil. In addition, the bacterial abundances in the rhizosphere were significantly higher for radish plants compared with wheat when growing on the Chernevaya and control soils, respectively.

Thus, the study of the bacterial composition of soils in the black taiga is an important task. Moreover, Chernevaya taiga is an unusual ecosystem for boreal forests. In this study we attempted to establish the specific nature of its fungal component, which shapes this ecosystem and contributes to its unusual level of productivity.

The reported study was funded by RSF according to the research project № 19-16-00049.

#### **Разнообразие эндофитных бактерий у некоторых галофитных растений юго-западного Узбекистана**

<sup>1,2</sup>Аликулов Б.С., <sup>1</sup>Исмаилов З.Ф., <sup>1,2</sup>Давранов К.

<sup>1</sup> Самаркандский государственный университет имени Ш. Рашидовой, Ташкент, Узбекистан

<sup>2</sup> Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

[balikulov87@gmail.com](mailto:balikulov87@gmail.com)

В научных источниках сведения об эндофитных бактериях некоторых галофитных растений, распространенных в пустынных районах Узбекистана, на практике встречаются редко. К таким растениям относятся *Haloxylon aphyllum* Minkw., *Halostachys belangeriana* (Моq.) Botsch. и *Halocnemum strobilaceum* (Pall.) M. Bieb.

В наших опытах изучено более 500 сегментов стеблей и корней обыкновенных галофитов юго-западных районов Узбекистана, в том числе *Haloxylon aphyllum*, *Halostachys belangeriana* и *Halocnemum strobilaceum*. Всего на поверхности культуральной среды выросло 65 изолятов эндофитных бактерий, в том числе 20 изолятов (HAPH1-HAPH20) из *Haloxylon aphyllum*, 25 изолятов (SSU1-SSU25) из *Halostachys belangeriana* и 20 изолятов (HAST1-HAST20) из *Halocnemum strobilaceum*. Изучены растительностимулирующие свойства выделенных изолятов и отобрано из них 30 эффективных штаммов бактерий. Идентификацию отобранных штаммов проводили методом анализа гена 16SrPHK и полученные последовательности вносили в базу данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI). База данных (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) бактериальные штаммы, выделенные из *Haloxylon aphyllum*, имеют номера MZ443974-MZ443993, бактериальные штаммы, выделенные из *Halostachys belangeriana*, имеют номера OK559720-OK55979 и бактериальные штаммы, выделенные из *Halocnemum strobilaceum*, имеют номера OK594050- OK594054.

Исследования показали, что стебли и корни *Haloxylon aphyllum*, *Halostachys belangeriana* и *Halocnemum strobilaceum* содержат 3 класса, 5 родов, 8 семейств и 25 видов эндофитных бактерий, принадлежащих к 13 родам. При анализе изученных видов эндофитных бактерий по таксономическим единицам было установлено, что 60% (15 видов) идентифицированных видов относятся к классу *Bacilli*, что свидетельствует о доминировании представителей этого класса среди эндофитов галофитных растений. Также 24% выявленных видов (6 видов) относились к классу *Proteobacteria*, 16% (4 вида) к классу *Actinobacteria*. Выявлена принадлежность исследованных растений-галофитов к семействам эндофитных бактерий *Bacillales* (14 видов), *Pseudomonales* (4 вида), *Micrococcales* (4 вида), *Oceanospirillales* (2 вида) и *Lactobacillales* (1 вид). Было показано, что среди категорий семья *Bacillales* является абсолютно доминирующей семьей.

Таким образом, эндофитные бактерии галофитных растений, распространенных в пустынных районах Узбекистана, обладают уникальным разнообразием, и в будущем важно провести исследования по использованию их потенциала.

#### Diversity of endophytic bacteria in some halophytic plants of South-western Uzbekistan

<sup>1,2</sup>Alikulov B.S., <sup>1</sup>Ismailov Z.F., <sup>1,2</sup>Davranov K.

<sup>1</sup>Samarkand State University named after Sh. Rashidov, Tashkent, Uzbekistan

<sup>2</sup>Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan  
[balikulov87@gmail.com](mailto:balikulov87@gmail.com)

In scientific sources, information about endophytic bacteria of some halophytic plants common in the desert regions of Uzbekistan is rarely found in practice. Such plants include *Haloxylon aphyllum* Minkw., *Halostachys belangeriana* (Moq.) Botsch. and *Halocnemum strobilaceum* (Pall.) M. Bieb.

In our experiments, we studied more than 500 segments of stems and roots of common halophytes in the southwestern regions of Uzbekistan, including *Haloxylon aphyllum*, *Halostachys belangeriana*, and *Halocnemum strobilaceum*. In total, 65 isolates of endophytic bacteria grew on the surface of the culture medium, including 20 isolates (HAPH1-HAPH20) from *Haloxylon aphyllum*, 25 isolates (SSU1-SSU25) from *Halostachys belangeriana*, and 20 isolates (HAST1-HAST20) from *Halocnemum strobilaceum*. The plant-stimulating properties of the isolated isolates were studied and 30 effective bacterial strains were selected from them. The selected strains were identified by 16SrRNA gene analysis, and the resulting sequences were entered into the database of the National Center for Biotechnology Information (NCBI). Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) bacterial strains isolated from *Haloxylon aphyllum* have numbers MZ443974-MZ443993, bacterial strains isolated from *Halostachys belangeriana* have numbers OK559720-OK55979 and bacterial strains isolated from *Halocnemum strobilaceum* are numbers OK594050-OK594054.

Studies have shown that the stems and roots of *Haloxylon aphyllum*, *Halostachys belangeriana* and *Halocnemum strobilaceum* contain 3 classes, 5 genera, 8 families and 25 species of endophytic bacteria belonging to 13 genera. When analyzing the studied species of endophytic bacteria according to taxonomic units, it was found that 60% (15 species) of the identified species belong to the class *Bacilli*, which indicates the dominance of representatives of this class among the endophytes of halophytic plants. Also, 24% of the identified species (6 species) belonged to the *Proteobacteria class*, 16% (4 species) to the *Actinobacteria class*. The studied halophyte plants belonged to the families of endophytic bacteria *Bacillales* (14 species), *Pseudomonales* (4 species), *Micrococcales* (4 species), *Oceanospirillales* (2 species), and *Lactobacillales* (1 species). Among the categories, the *Bacillales* family has been shown to be the absolutely dominant family.

Thus, endophytic bacteria of halophytic plants common in the desert regions of Uzbekistan have a unique diversity, and in the future it is important to conduct research on the use of their potential.

#### Культура клеток *Nicotiana tabacum* BY-2, как модель поиска элиситоров грибного происхождения

<sup>1</sup>Алистратова Ф.И., <sup>2</sup>Гусенков Е.А., <sup>2</sup>Сокорнова С.В.

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, г. Санкт-Петербург.

<sup>2</sup> ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,

г. Санкт-Петербург.

[svsokornova@vizr.spb.ru](mailto:svsokornova@vizr.spb.ru)

В условиях повышенного абиотического загрязнения сельхозугодий, а также снижения резистентности биологических систем, актуальными являются исследования, направленные на активацию естественных защитных сил организма. Целью данной работы является оценка применимости культуры клеток *N. tabacum* BY-2, как модели для скрининга грибных продуцентов элиситоров.

В работе использовали 17-ть штаммов, из коллекции чистых культур ФГБНУ ВИЗР. Спиртовые мицелиальные экстракты оценивали на культуре клеток *N. tabacum* BY-2 по накоплению фитоалексина капсидиола. Для этого добавляли экстракты в модифицированную питательную среду Мурасиге-Скуга до конечной концентрации 0.005 %. 10-ти дневную культуру клеток экстрагировали хлороформ:метанол (2:1). Качественный состав полученных экстрактов оценивали с помощью высокоэффективной тонкослойной хроматографии «САМАГ» и ПО winCATS. Разделение проводили на пластинах HPTLC Silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merc) в системе хлороформ:метанол (16:1). Окрашивали анисовым альдегидом (0.5 мл анисового альдегида, 50 мл ледяной уксусной кислоты, 1 мл серной кислоты) и анализировали при длине волны 460 нм в присутствии стандарта. Зерна пшеницы обрабатывали экстрактами, затем высаживали и искусственно инокулировали проростки спорами *Cochliobolus sativus* (10<sup>6</sup> спор/мл). На 5 сутки проводили учет заболевания. Выявлено, что в клетках, выросших на питательной среде с экстрактами *F. semitectum* и *C. complanata* 32-121 содержание капсидиола достоверно выше. Оценка влияния предпосевной обработки семян пшеницы восприимчивого сорта Chinese Spring на развитие заболевания темнотурой пятнистости выявила достоверный сдерживающий эффект. Таким образом, культура клеток *N. tabacum* BY-2 может быть использована в качестве модели для поиска элиситоров грибного происхождения.

#### ***Nicotiana tabacum* BY-2 cell culture as a model for screening elicitors of fungal origin**

<sup>1</sup>Alistratova F.I., <sup>2</sup>Gusenkov E.A., <sup>2</sup>Sokornova S.V.

<sup>1</sup>St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, St. Petersburg.

<sup>2</sup>All-Russian Institute of Plant Protection, Laboratory of Phytotoxicology and Biotechnology,  
St. Petersburg.  
svsokornova@vizr.spb.ru

Under conditions of increased abiotic pollution of agricultural land, as well as reduced resistance of biological systems, studies to activate the natural defenses of the organism are relevant. In this work, the objective was to evaluate the applicability of *N. tabacum* BY-2 cell culture as a model for screening of elicitors.

The 17 fungal strains from the pure cultures collection of the All-Russian Institute of Plant Protection were used in work. Alcohol mycelium extracts were evaluated on cultures of *N. tabacum* BY-2 cells by the accumulation of capsidiol in them. The extracts were added to the modified Murashige & Skoog nutrient medium to a final concentration of 0.005%. A 10-day cell culture was extracted with chloroform-methanol (2:1, v/v). The quality composition of the extracts obtained was achieved by the high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) and the winCATS software. The mobile phases were solutions containing chloroform:methanol 16:1 w/w. Once the spots have been visualized by anisic aldehyde (0.5 ml anisic aldehyde, 50 ml glacial acetic acid with the addition, 1 ml sulfuric acid), the plates were scanned at 460 nm. Samples and standards were compared by R<sub>f</sub> values and colors. Wheat seeds were treated with extracts. The plants were inoculated with *Cochliobolus sativus* spores (10<sup>6</sup> spores/ml). The record of the diseases was taken on the 5th day of the study. It was found that capsidiol level was significantly higher in cells grown on a nutrient medium with extracts of *F. semitectum* and *C. complanata* 32-121. An assessment of the effect of the advance treatment of Chinese spring susceptible wheat seed on the development of brown spot disease revealed a significant deterrent effect. Cell culture of *N. tabacum* BY-2 can thus serve as a model for looking for elicitors of fungal origin.

#### **Эффективность экзогенной NO обработки в повышении засухоустойчивости разных сортов пшеницы**

Аллагулова Ч.Р., Юлдашев Р.А., Зикрина И.И., Лубянова А.Р., Авальбаев А.М.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

[allagulova-chulpan@rambler.ru](mailto:allagulova-chulpan@rambler.ru)

Оксид азота (NO) является сигнальной молекулой, вовлекаемой в регуляцию развития растений и их стрессоустойчивости. В связи с глобальными климатическими изменениями резко возросло количество засух, существенно ограничивающих рост и продуктивность культурных растений, среди которых главной хлебной культурой является пшеница. Поэтому изучение механизмов NO-индуцированной засухоустойчивости пшеницы имеет важное значение. Работа посвящена исследованию влияния донора NO нитропруссид натрия (SNP – sodium nitroprusside) на рост и гормональный статус растений пшеницы двух сортов, различающихся по засухоустойчивости: Экада 70 (Э-70 – устойчивый сорт) и Салават Юлаев (СЮ – неустойчивый сорт), при воздействии обезвоживания, моделируемого с помощью ПЭГ 6000 (12 %). Присутствие 200 мкМ SNP в среде прорастания оказало стимулирующее действие на рост пшеницы, которое сильнее проявлялось у сорта СЮ, о чем судили по энергии прорастания семян, линейным размерам 3-сут проростков, их сырой и сухой массе. Обработка проростков ПЭГ (24 ч) тормозила прорастание, особенно у чувствительного к засухе сорта. SNP-обработка снизила негативное действие обезвоживания на рост пшеницы обоих сортов, и защитный эффект NO сильнее проявлялся у сорта СЮ. Рост растений регулируется фитогормональной системой. Поэтому далее был проведен сравнительный анализ изменений в содержании фитогормонов (ФГ) в SNP-обработанных и подвергнутых стрессу проростках. NO оказал существенное влияние на гормональную систему пшеницы индуцируя более чем 2- и 1.5-кратное повышение цитокининов (ЦК) в проростках СЮ и Э-70, соответственно, что может вносить важный вклад в рост стимулирующее действие NO, поскольку ЦК отводится ключевая роль в регуляции ростовых процессов. Стресс вызвал резкий дисбаланс ФГ в растениях обоих сортов, связанный с накоплением АБК, падением содержания ЦК и ауксинов. При этом важно отметить, что в сравнении с сортом СЮ амплитуда стресс-индуцируемых колебаний в балансе ФГ у растений Э-70 была заметно меньше, что отразилось и в меньшей степени повреждающего действия стресса на их рост. Предобработка NO способствовала уменьшению вызываемых стрессом изменений в содержании ФГ, особенно у растений СЮ, что может способствовать поддержанию показателей их роста при стрессе на более высоком уровне. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности экзогенной NO-обработки с целью повышения устойчивости разных сортов пшеницы к условиям дефицита влаги. Работа выполнена за счет средств гранта РФФ № 22-24-00196.

#### **Effectiveness of exogenous NO-treatment in the increasing of the drought tolerance of different wheat varieties**

Allagulova Ch.R., Yuldashev R.A., Zikrina I.I., Lubyanova A.R., Avalbaev A.M.  
 Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa, Russia  
[allagulova-chulpan@rambler.ru](mailto:allagulova-chulpan@rambler.ru)

Nitric oxide (NO) is a signaling molecule involved in the regulation of plant development and their stress tolerance. Due to global climate change, the number of droughts has sharply increased, significantly limiting the growth and productivity of crops, among which the main cereal culture is wheat. Therefore it is important to study the mechanisms of NO-induced drought resistance in wheat. The work is devoted to the study of the effect of the NO donor sodium nitroprusside (SNP) on the growth and hormonal status of wheat plants of two varieties differing in drought resistance: Ekada 70 (E-70 - drought resistant) and Salavat Yulaev (SY - drought sensitive), when exposed to dehydration modeled with PEG 6000 (12%). The presence of 200  $\mu$ M SNP in the germination medium stimulated of wheat growth, which was more pronounced in the cv. SY, as judged by the energy of seed germination, linear parameters of 3-day seedlings, and their fresh and dry weight. Treatment of seedlings with PEG (24 h) inhibited seedling growth, especially in the drought-sensitive cv. SY. SNP-treatment reduced the negative effect of dehydration on the growth of both wheat varieties, and the protective effect of NO was more pronounced in the cv. SY. Plant growth is regulated by the phytohormonal system. Therefore a comparative analysis of changes in the content of phytohormones in SNP-treated and subjected to dehydration seedlings was carried out. NO had a significant effect on the hormonal system of wheat plants, inducing more than 2- and 1.5-fold increase in cytokinins (CK) in the seedlings of cv. SY and cv. E-70, respectively, which can contribute to the growth-promoting effect of NO, since CK play a key role in the regulation plant growth. Stress caused a sharp imbalance of phytohormones in plants of both varieties, which was associated with the accumulation of ABA, a decrease in the content of CK and auxins. At the same time, the amplitude of stress-induced fluctuations in the phytohormones balance in E-70 plants was noticeably smaller than in the cv. SY, which may have a less damaging effect of stress on E-70 plants growth. NO pretreatment contributed to the reduction of stress-induced changes in the content of phytohormones, especially in SY plants, which may help to maintain their growth under stress at a higher level. The obtained results indicate the effectiveness of exogenous NO in order to increase the resistance of different wheat varieties to dehydration conditions. The work was supported by the Russian Science Foundation (RSF) grant No 22-24-00196.

**Перспективы применения технологии праймирования семян с целью повышения стрессоустойчивости и продуктивности культурных растений**

Аллагулова Ч.Р., Плотников А.А., Ласточкина О.В., Юлдашев Р.А., Авальбаев А.М.  
Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа  
[allagulova-chulpan@rambler.ru](mailto:allagulova-chulpan@rambler.ru)

Засуха является самым распространенным в мире неблагоприятным фактором, сильно усложняющим возделывание сельскохозяйственных культур. Ее воздействие на ранних этапах прорастания негативно сказывается на всех последующих стадиях развития растений. У пшеницы воздействие засухи в вегетативную фазу роста приводит к снижению аттрагирующей способности колосьев, уменьшению их размеров, выполненности и количества зерен в колосьях, что напрямую связано с ее продуктивностью. Для предотвращения потерь урожая предусматривается применение агрохимикатов, наносящих серьезный ущерб окружающей среде и здоровью населения. Поэтому одной из главных задач современного растениеводства становится поиск эффективных и безопасных средств защиты хозяйственно ценных культур. В этой связи перспективным направлением становится метод праймирования семян (SP – seed priming). Технология предпосевного прайминга заключается в предварительной обработке семян растворами различных органических или неорганических соединений или микробиологическими препаратами с последующим высушиванием и хранением при строгом соблюдении температурного режима, влажности, вентилируемости и затемнения. В зависимости от природы праймирующего агента различают нанопрайминг, гормональный прайминг, химический прайминг, биопрайминг, осмопрайминг и т.д., в которых могут применяться наночастицы, фитогормоны, регуляторы роста растений, индукторы образования сигнальных молекул (например, NO), культуры рост-стимулирующих бактерий, растворы микро- и макроэлементов, и слабые растворы стрессирующих агентов, например осмотиков или солей. В ходе SP-обработки формируется память праймирования (PM – priming memory), обуславливающая способность нового поколения растений, полученных от SP-обработанных семян, к реактивации защитных программ, которые были предварительно активированы при праймировании и дезактивированы при высушивании семян и их хранении. Технология SP способствует быстрой активации метаболизма у прорастающих семян, появлению дружных всходов даже в условиях дефицита влаги, а в последующем – быстрому развитию защитных реакций у вегетирующих растений и повышению их урожайности. Работа выполнена за счет средств гранта РФФИ № 22-24-00196.

**Perspectives of seed priming technology in the increasing of stress tolerance and productivity of crops**

Allagulova Ch.R., Plotnikov A.A., Lastochkina O.V., Yuldashev R.A., Avalbaev A.M.  
Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa, Russia  
[allagulova-chulpan@rambler.ru](mailto:allagulova-chulpan@rambler.ru)

Drought is the most widespread adverse environmental factor that greatly complicates the cultivation of crop plants. Water deficit at the early stages of germination negatively affects all subsequent stages of plant development. The impact of drought on wheat plants at the vegetative phase of growth decreases attracting ability of the ears, their size, completion and the grains number in the ears, which is directly related to the productivity of wheat. Agrochemicals are traditionally used in practice to reduce crop losses that seriously threaten the environment and human health. Therefore, one of the main tasks of modern phytobiology is the search for effective and safe means of crop protection. The method of seed priming (SP), which consists in pre-soaking seed treatment with solutions of various organic or inorganic compounds or with microbiological cultures, followed by drying and storage under strict temperature conditions, humidity, ventilation and darkening, is of great practical interest. Depending on the nature of the priming agents, it can be distinguished nanopriming, hormonal priming, chemical priming, biopriming, osmopriming, etc., which are carried out using nanoparticles, phytohormones, plant growth regulators and inducers of the signal molecules (such as NO), cultures of growth-stimulating bacteria, solutions of micro- and macro-elements, and weak solutions of stress agents, such as osmotics or salts. The SP technology contributes to the rapid activation of metabolism at the germination stage, the vigorous young growth even in conditions of moisture scarcity, followed by the rapid development of protective reactions in vegetative plants and an increase of their productivity. The work was supported by the Russian Science Foundation (RSF) grant No 22-24-00196.

**Изучение метаболомного профиля новых перспективных штаммов бактерий рода *Bacillus*, перспективных для биологического контроля фитопатогенных грибов**

Аллахвердян В.В., Сидорова Т.М., Томашевич Н.С., Асатурова А.М.  
ФГБНУ Федеральный научный центр биологической защиты растений  
lera\_arm@mail.ru

Штаммы бактерий *Bacillus siamensis* BZR 86, *B. amyloliquefaciens* BZR 277, *B. velezensis* BZR 517, *B. velezensis* BZR 336g из Биоресурсной коллекции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений» «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» культивировали при оптимальных условиях. Методом экстракции, тонкослойной хроматографии, а также ВЭЖХ путем сравнительного анализа с использованием стандартных метаболитов (Sigma-Aldrich) из супернатантов бактерий выделены и проанализированы метаболиты липопептидной природы.

Обнаружено, что соединения сурфактиновой, итуриновой и фенгициновой структур синтезируются всеми изучаемыми штаммами. Это можно увидеть по результатам анализов этилацетатных экстрактов супернатантов бактерий, полученных при исследованиях методом ТСХ и ВЭЖХ-МС.

Метод биоавтографии с тест-культурой гриба *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F6 позволил провести идентификацию метаболитов липопептидных структур по характеру воздействия на тест-культуру гриба, а также оценить антигрибную активность метаболитов бактериальных штаммов. Наиболее выраженная зона сурфактина обнаружена у штаммов *B. velezensis* BZR 336g и *B. amyloliquefaciens* BZR 277. Максимальная зона ингибирования гриба метаболитом итуриновой природы у штамма *B. amyloliquefaciens* BZR 277.

Количественный анализ с применением ВЭЖХ-МС позволил констатировать, что штаммы *B. velezensis* BZR 336g и *B. amyloliquefaciens* BZR 277 продуцируют наибольшее количество сурфактина. Содержание липопептидов итуриновой природы в супернатанте бактерий штаммов *B. velezensis* BZR 517 и *B. velezensis* BZR 336g почти в 20 раз выше, чем в двух других. По способности продуцировать фенгицины штаммы *B. velezensis* BZR 517 и *B. velezensis* BZR 336g также опережают штаммы *B. siamensis* BZR 86 и *B. amyloliquefaciens* BZR 277.

Проведенные исследования с использованием двух методов позволяют обнаружить, что штаммы продуцируют все три антигрибных липопептида: сурфактин, итурин, фенгицин. Способность бактерий продуцировать значительное количество сурфактина и его гомологов является положительным фактом, поскольку данный липопептид может индуцировать устойчивость растений к фитопатогенам, а также усиливать биологическую активность других антигрибных метаболитов. Это позволяет рассматривать все четыре штамма в качестве потенциальных продуцентов эффективных биофунгицидов.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-76-00040, <https://rscf.ru/project/21-76-00040/>

**Study of the metabolomic profile of new promising bacterial strains of the genus *Bacillus*, promising for the biological control of phytopathogenic fungi**

Allahverdyan V.V., Sidorova T.M., Tomashevich N.S., Asaturova A.M.  
Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center for Biological Plant Protection  
lera\_arm@mail.ru

Bacterial strains *Bacillus siamensis* BZR 86, *B. amyloliquefaciens* BZR 277, *B. velezensis* BZR 517, *B. velezensis* BZR 336g from the Bioresource Collection of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Research Centre of Biological Plant Protection". The "State Collection of Entomocariphages and Microorganisms" was cultivated under optimal conditions. Lipopeptide metabolites were isolated and analyzed from bacterial supernatants by extraction, thin layer chromatography, and HPLC by comparative analysis using standard metabolites (Sigma-Aldrich).

It was found that compounds of surfactin, iturin and fengycin structures are synthesized by all studied strains. This can be seen from the results of analyzes of ethyl acetate extracts of bacterial supernatants obtained from TLC and HPLC-MS studies.

The method of bioautography with a test culture of the fungus *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F6 made it possible to identify metabolites of lipopeptide structures by the nature of the effect on the test culture of the fungus, as well as to evaluate the antifungal activity of metabolites of bacterial strains. The most pronounced zone of surfactin was found in strains *B. velezensis* BZR 336g and *B. amyloliquefaciens* BZR 277. The maximum zone of inhibition of the fungus by the iturine metabolite was found in strain *B. amyloliquefaciens* BZR 277.

Quantitative analysis using HPLC-MS made it possible to state that *B. velezensis* BZR 336g and *B. amyloliquefaciens* BZR 277 strains produce the highest amount of surfactin. The content of ituric lipopeptides in the supernatant of *B. velezensis* BZR 517 and *B. velezensis* BZR 336g strains is almost 20 times higher than in the other two. In terms of the ability to produce fengycins, strains *B. velezensis* BZR 517 and *B. velezensis* BZR 336g are also ahead of strains *B. siamensis* BZR 86 and *B. amyloliquefaciens* BZR 277.

The conducted studies using two methods make it possible to detect that the strains produce all three antifungal lipopeptides: surfactin, iturin, fengycin. The ability of bacteria to produce a significant amount of surfactin and its homologues is a positive fact, since this lipopeptide can induce plant resistance to phytopathogens, as well as enhance the biological activity of other antifungal metabolites. This allows us to consider all four strains as potential producers of effective biofungicides.

The studies were carried out in accordance with the grant of the Russian Science Foundation № 21-76-00040, <https://rscf.ru/project/21-76-00040/>

**Идентификация локализованных в растениях озимой пшеницы  
интродуцированных на семена эндофитных бактерий**

Ананьева И.Н., Алещенкова З.М., Сафронова Г.В., Федоренчик А.А.  
Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь  
ananeva\_irina@mail.ru

Эндофитные микроорганизмы, проявляющие комплекс хозяйственно полезных свойств, в меньшей степени зависят от внешних факторов среды, чем ризосферные и филлосферные представители растительно-микробного сообщества. Применение эндофитов в агробιοтехнологиях актуально и перспективно.

Цель. Изучить локализацию в органах растущей озимой пшеницы и идентифицировать методом масс-спектрометрии эндофитный ростстимулирующий фосфатсолюбилизирующий штамм *Pantoea agglomerans* 6SK, использованный для инокуляции семян растения.

Методы. Семена озимой пшеницы сорта «Богатка» инокулировали антибиотико устойчивой формой эндофитного штамма *P. agglomerans* 6SK<sup>rif</sup> с комплексом полезных свойств: фосфатсолюбилизация (диаметр зон растворения фосфата кальция 20 мм) и синтез ИУК (139 мкг /мл культуральной жидкости). Локализацию интродуцированных бактерий в растении устанавливали путем посева разведений гомогената поверхностно стерилизованных органов растений на агаризованную среду с рифампицином (150 мкг/мл). Идентификацию эндофитных бактерий осуществляли методом масс-спектрометрии с использованием настольного MALDI-TOF времяпролетного масс-спектрометра Microflex LRF system (Bruker Daltonik GmbH, Германия).

Результаты. Наиболее эффективным способом обработки эндофитными бактериями растений пшеницы, обеспечивающим высокую интродуцирующую способность, является инокуляция семян по сравнению с опрыскиванием всходов растений. В модельных условиях установлено, что обработка семян культуральной жидкостью *P. agglomerans* 6SK<sup>rif</sup> обеспечивает накопление бактерий в корне, стебле и листьях в количестве  $3,780 \pm 0,207 \cdot 10^7$ ;  $4,723 \pm 0,003 \cdot 10^8$ ;  $1,336 \pm 0,201 \cdot 10^7$  КОЕ/г соответственно. Идентификация бактерий, выделенных из корней, стеблей и листьев растений озимой пшеницы, проведенная методом масс-спектрометрии и сравнение полученных белковых спектров с референтными спектрами из базы данных Bruker Database Version 3.3.1.0 с помощью программного обеспечения MALDI Biotyper, подтвердило присутствие интродуцированных на семена бактерий *P. agglomerans* 6SK<sup>rif</sup>. Идентификация как исходного, так и рифампицин устойчивой формы штамма эндофитов была подтверждена с высокой долей вероятности – 2.300-3.000.

Таким образом, обладающие полезными свойствами эндофитные бактерии *P. agglomerans* 6SK, используемые для обработки семян озимой пшеницы, локализуются внутри корня, стебля и листьев растений, что обеспечивает ростстимулирующий эффект при возделывании культуры.

**Identification of seed-introduced endophytic bacteria localized in winter wheat plants**

Ananyeva I.N., Aleschenkova Z.M., Safronava H.V., Fedorenchik A.A.  
Institute of Microbiology, NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus  
ananeva\_irina@mail.ru

Endophytic microorganisms displaying a complex of valuable properties depend on external environmental factors to a lesser extent than rhizospheric and phyllospheric representatives of plant-microbial association. Application of endophytes in agrobiotechnologies appears extremely relevant and opens new frontiers.

Aim of study – to investigate localization in winter wheat vegetating plants and to identify by mass spectrometry endophytic growth-stimulating phosphate-solubilizing strain *Pantoea agglomerans* 6SK used for seed inoculation.

Methods of study. The seeds of winter wheat, variety Bogatka were inoculated with drug-resistant form of endophytic strain *P. agglomerans* 6SK<sup>rif</sup> showing a set of valuable characteristics: phosphate solubilization (diameter of calcium phosphate dissolution zones 20 mm) and synthesis of IAA (139 mcg /ml of cultural liquid). Plant localization of introduced bacteria was determined by inoculating dilutions of sterilized plant organ homogenate onto agar medium with rifampicin (150 mcg/ml). Identification of endophytic bacteria was carried out by method of mass spectrometry using desk-top MALDI-TOF mass spectrometer of Microflex LRF system (Bruker Daltonik GmbH, Germany).

Results. The most effective procedure for treatment of wheat plants with endophytic bacteria promoting enhanced penetrating capacity proved seed inoculation rather than spraying of seedlings. It was found in model experiments that seed exposure to cultural liquid of *P. agglomerans* 6SK<sup>rif</sup> resulted in accumulation of bacteria in roots, stems and leaves in amounts  $3.780 \pm 0.207 \cdot 10^7$ ;  $4.723 \pm 0.003 \cdot 10^8$ ;  $1.336 \pm 0.201 \cdot 10^7$  CFU/g, respectively. Identification of bacteria isolated from roots, stems and leaves of winter wheat conducted by mass spectrometric technique and comparison of the obtained protein spectra with reference spectra from Bruker Database Version 3.3.1.0 using MALDI Biotyper software confirmed the presence of seed-inoculated bacteria *P. agglomerans* 6SK<sup>rif</sup>. Identification of endophytic strain and its rifampicin-resistant variant was verified at high probability rate - 2.300-3.000.

Summing up, endophytic bacteria *P. agglomerans* 6SK used for treatment of winter wheat seeds are localized within plant roots, stems and leaves, providing for growth-stimulating effect during crop cultivation.

**Геометрические и топологические подходы в моделировании эволюции микроорганизмов**Андронов Е.Е.<sup>1</sup>, Иголкина А.А.<sup>1</sup>, Кимеклис А.К.<sup>1</sup>, Карасев Е.С.<sup>1</sup>, Соловьев Я.В.<sup>2</sup>, Порозов Ю.Б.<sup>3</sup>, Проворов Н.А.<sup>1</sup><sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
Санкт-Петербург, Пушкин<sup>2</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина  
и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва<sup>3</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва  
eandr@gmail.com

В данном сообщении будут приведены результаты исследований в области эволюционной генетики микроорганизмов, основанных на моделировании эволюционных процессов с использованием геометрических и топологических построений. Первая часть исследований касается использования молекулярного моделирования и докинга в поиске кандидатов на роль симбиотического рецептора гороха (*Pisum sativum*), дифференциально взаимодействующего с ацетилированными и неацетилированными Nod-факторами ризобий (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*), а также применения этого подхода для интерпретации нуклеотидного и аминокислотного разнообразия в симбиотических системах в контексте физико-химического взаимодействия сигнальной молекулы бактерий с растительными рецепторами. Во второй части сообщения будут представлены данные, связанные с анализом топологии филогенетических деревьев, начиная от сравнительного анализа топологий филогений, построенных по различным генам с построением «метадеревьев», ветвями которого являются не отдельные нуклеотидные последовательности, а целые филогенетические деревья. Третья часть исследования посвящена эффекту, получившему название «эволюционного прессформинга», благодаря которому филогенетическая структура популяции растения-хозяина в ходе ко-эволюции с микросимбионтами приобретает топологическое сходство со структурой их популяции. Наконец, будут представлены подходы к выявлению скрытого геометрического паттерна в глобальном разнообразии (эволюционном пространстве) микроорганизмов. В этом случае будет показано, что размерности в многомерных филогенетических пространствах могут иметь решающее значение, поскольку базовые эволюционные феномены могут быть детектированы только в геометрических и топологических построениях с достаточно большой размерностью.

Работа поддержана грантом РФФ 18-16-00073

**Geometric and topological approaches in the simulation of microbial evolution**Andronov E.E.<sup>1</sup>, Igolkina A.A.<sup>1</sup>, Kimeklis A.K.<sup>1</sup>, Karasev E.S.<sup>1</sup>, Solovyov Ya.V.<sup>2</sup>, Porozov Yu.B.<sup>3</sup>, Provorov N.A.<sup>1</sup><sup>1</sup>All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology, St.-Petersburg<sup>2</sup>Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow<sup>3</sup>First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia

eandr@gmail.com

This report will present the results of research in the field of evolutionary genetics of microorganisms based on the modeling of evolutionary processes using geometric and topological constructions. The first part of the research concerns the use of molecular modeling and docking in the search for candidates for the role of the symbiotic receptor of pea (*Pisum sativum*), which differentially interacts with the acetylated and non-acetylated Nod factors of rhizobia (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*), as well as the application of this approach to interpret the nucleotide and amino acid diversity in symbiotic systems in the context of the physicochemical interaction of the bacterial signal molecule with plant receptors. The second part of the report will present data related to the analysis of the topology of phylogenetic trees, starting from a comparative analysis of the topologies of phylogenies built according to various genes with the construction of "metatrees", the branches of which are not individual nucleotide sequences, but entire phylogenetic trees. The third part of the study is devoted to the effect, called "evolutionary molding", due to which the phylogenetic structure of the host plant population in the course of co-evolution with microsymbionts acquires a topological similarity with the structure of their population. Finally, approaches revealing the hidden geometric pattern in the global diversity (evolutionary space) of microorganisms will be presented. In this case, it will be shown that dimensions in multidimensional phylogenetic spaces can be of decisive importance, since basic evolutionary phenomena can only be detected in geometric and topological constructions with a sufficiently large dimension.

The work was supported by the RSF grant 18-16-00073



**Геномика *Bacillus thuringiensis*: определение хозяйственно важных свойств**Антонец К.С.<sup>1,2</sup>, Шиков А.Е.<sup>1,2</sup>, Маловичко Ю.В.<sup>1,2</sup>, Нижников А.А.<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Лаборатория протеомики надорганизменных систем, ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Россия, Санкт-Петербург;<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург  
k.antonets@arriam.ru

Бактерии вида *Bacillus thuringiensis* относятся к группе грамм-положительных, спорообразующих бактерий, обладающих важным прикладным значением благодаря их инсектицидным свойствам. Описанные как естественные патогены разных видов насекомых, эти бактерии быстро нашли применение как естественный инсектицид. Позднее было установлено, что представители данного вида крайне разнообразны, и, помимо инсектицидной, могут обладать рядом других активностей, таких как бактерицидная, фунгицидная, а также способны стимулировать рост сельскохозяйственных растений. До недавнего времени геномика *B. thuringiensis* как и набор генетических детерминант, определяющих их хозяйственно-важные свойства, не была в достаточной мере изучена. В рамках нашей работы мы интегрировали различные высокопроизводительные подходы к анализу геномов бактерий для аннотации и предсказания свойств представителей *B. thuringiensis* на основании геномных данных.

Работа выполнена при поддержке РФФ 20-76-10044.

**Genomics of *Bacillus thuringiensis*: determination of economically important properties**Antonets K.S.<sup>1,2</sup>, Shikov A.E.<sup>1,2</sup>, Malovichko Y.V.<sup>1,2</sup>, Nizhnikov A.A.<sup>1,2</sup><sup>1</sup> All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology (ARRIAM), Pushkin, St. Petersburg, Russia;<sup>2</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

k.antonets@arriam.ru

Bacteria *Bacillus thuringiensis* belong to the group of gram-positive, spore-forming bacteria of great practical importance due to their insecticidal properties. Discovered as natural pathogens of various insects, these bacteria have been widely used as a natural insecticide. Later it was found that strains of this species are extremely diverse, and, in addition to insecticidal, may have a number of other activities, such as bactericidal, fungicidal, or plant growth promoting. Until recently, the genomics of *B. thuringiensis*, as well as the genetic features that determine their economically important properties, has not been sufficiently studied. As part of our work, we integrated various high-throughput approaches to the analysis of bacterial genomes to annotate and predict the properties of *B. thuringiensis* representatives based on their genome data.

This study was supported by the Russian Science Foundation (grant No 20-76-10044).

**Усовершенствование технологии возделывания сафлора для повышения урожая и качества продукции в засушливых регионах РФ**

Асташов А.Н., Зайцев С.А.

ФГБНУ Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы  
«Россорго», г. Саратов  
alex-astashov@mail.ru

Повышение температуры воздуха и недостаток влаги в период вегетации растений в результате изменения климата стали актуальными глобальными проблемами. В последние годы отмечена тенденция частого наступления повторяющихся ежегодных засух. Возникает потребность в засухоустойчивых и рентабельных культурах, а также диверсификации подбора возделываемых культур. Одной из таких культур является сафлор красильный.

Несмотря на большую ценность сафлора, многие приемы его возделывания не изучены. Эффективность возделывания сафлора в условиях, где основным лимитирующим фактором является почвенная влага, зависит от способов основной и предпосевной обработки почвы. По результатам исследований на каштановых тяжело суглинистых почвах запасы продуктивной влаги в метровом слое почвы в большей степени определялись погодными условиями и сроками посева. Сроки посева значительно повлияли на продолжительность вегетационного периода. На поздних сроках посева длина вегетационного периода сократилась на 13-14 дней по сравнению с ранним посевом, что отрицательно отразилось на урожайности сафлора. Более высокая урожайность при раннем сроке сева реализовывалась за счет увеличения корзинки, количества маслосемян в ней и, как правило, большей густоты стояния растений.

Урожай сафлора при посеве в ранний срок на 3,0-3,5 ц/га выше, чем при посеве через 10 дней. Запоздание с посевом на каждый день в условиях сухостепной зоны ведет к потере влаги из верхних слоев почвы. Регулируя норму высева семян, можно целенаправленно формировать агроценоз, который максимально эффективно будет использовать солнечную энергию, питательные вещества и влагу почвы на формирование урожая и его качество.

Задачи увеличения производства семян сафлора красильного с целью дальнейшей переработки связаны не только с технологией выращивания и набором сортов, допущенных к использованию. В связи с этим проведенные исследования, позволили оценить ассортимент сортообразцов сафлора красильного для использования в сельскохозяйственном производстве. По результатам изучения сортообразцов сафлора красильного из коллекции ВИР сформирован перспективный исходный материал для селекции. Используя индивидуально отбор, из сортообразцов получили селекционно ценные формы-линии сафлора красильного, которые проходят комплексную оценку по фенологическим показателям, морфологическим признакам и биохимическому составу. Отсутствие шипов у сорта Хамелеон позволяет рекомендовать использовать биомассу на кормовые цели. Сорт Борец рекомендуется для выращивания на масло в зонах с недостаточным увлажнением.

**Improvement of safflower cultivation technology to increase yield and product quality in arid regions of the Russian Federation**

Astashov A.N., Zaitsev S.A.

Russian Research and Design Institute of Sorghum and Maize «Rossorgo», St. Saratov  
alex-astashov@mail.ru

An increase in air temperature and a lack of moisture during the growing season of plants as a result of climate change have become urgent global problems. In recent years, there has been a tendency of frequent occurrence of recurring annual droughts. There is a need for drought-resistant and cost-effective crops, as well as diversification of the selection of cultivated crops. One of these crops is safflower dye.

Despite the great value of safflower, many methods of its cultivation have not been studied. The effectiveness of safflower cultivation in conditions where soil moisture is the main limiting factor depends on the methods of basic and pre-sowing tillage. According to the results of studies on chestnut heavily loamy soils, the reserves of productive moisture in the meter layer of soil were largely determined by weather conditions and sowing dates. The timing of sowing significantly affected the duration of the growing season. At late sowing dates, the length of the growing season decreased by 13-14 days compared to early sowing, which negatively affected the yield of safflower. A higher yield at an early sowing period was realized due to an increase in the basket, the number of oil seeds in it and, as a rule, a greater density of standing plants.

The yield of safflower when sown at an early date is 3.0-3.5 c/ha higher than when sown after 10 days. The delay in sowing for every day in the conditions of the dry steppe zone leads to the loss of moisture from the upper layers of the soil. By adjusting the seeding rate, it is possible to purposefully form an agroecosystem that will use solar energy, nutrients and soil moisture as efficiently as possible for the formation of the crop and its quality. The tasks of increasing the production of safflower seeds for the purpose of further processing are connected not only with the technology of cultivation and a set of varieties approved for use. In this regard, the conducted research allowed us to evaluate the assortment of varieties of safflower dye for use in agricultural production. Based on the results of studying the varieties of safflower dye from the VIR collection, a promising source material for breeding has been formed. Using individual selection, valuable breeding forms were obtained from cultivars-lines of safflower dye, which undergo a comprehensive assessment according to phenological indicators, morphological characteristics and biochemical composition. The absence of thorns in the Chameleon variety makes it possible to recommend the use of biomass for fodder purposes. The Borets variety is recommended for growing on oil in areas with insufficient moisture.

**Микробные сообщества почв с интенсивной аграрной нагрузкой:  
биоразнообразие и источник новых бактерий**

Ахапкина С.С., Селезнев А.О., Ефимова В.А., Ляховченко Н.С., Сенченков В.Ю., Соляникова И.П.  
ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Россия, г. Белгород  
1555066@bsu.edu.ru

Известно, что обработка почвы приводит к созданию селективных условия для культурных растений. Однако, возрастание степени воздействия агротехники на почвенный слой приводит к увеличению распаханности земель, а внесение большого количества органических и минеральных удобрений и пестицидов – к загрязнению сред химическими компонентами (потенциальными поллютантами). В свою очередь, микроорганизмы и их сообщества зависят от содержащихся в субстрате органических и неорганических веществ, и сельскохозяйственная обработка, может создать специфические условия для жизни почвенных бактерий, продуцирующих биологически активные соединения, как стимулирующие рост сельскохозяйственных культур (например, индол-уксусная кислота), так и подавляющие развитие и размножение возбудителей болезней. Таким образом, изучение микробных сообществ почв аграрного значения может привести к получению новых средств защиты растений биологического и комбинированного происхождения, обладающих фитостимулирующим эффектом.

Из вспаханной почвы Белгородской области стандартными методами была выделена грамотрицательная пигментообразующая факультативно анаэробная бактерия идентифицирована как *Pseudomonas chlororaphis* и задепонирована во Всероссийской коллекции микроорганизмов под номером В-3546D. Штамм обладает антагонистической активностью за счет образования соединений феназинового ряда. В ходе оценки противогрибковой активности псевдомонады в отношении *Alternaria brassicicola* ВКМ F-1864 и *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 методом совместного культивирования с использованием лунок в агаре показано, что степень ингибирования скорости роста колоний составила 77% и 83%, соответственно. Также в научной литературе имеются сведения, что биосинтез феназина и его производных тесно связан с чувством кворума. Это явление межклеточной коммуникации микроорганизмов происходящее за счет сигнальных молекул, называемых аутоиндукторами. Данный механизм регулирует численность популяции, образование биопленки, биосинтез различных метаболитов и устойчивость к антибиотическим веществам.

Таким образом, почвы с интенсивной аграрной нагрузкой, могут выступать объектом исследований в области взаимодействия между микро- и макроорганизмами – микробных сообществ, а также, могут служить источником выделения штаммов-продуцентов биотехнологически перспективных продуктов.

**Microbial communities of soils with intensive agricultural load: biodiversity and source of new bacteria**

Akhapkina S.S., Seleznev A.O., Efimova V.A., Lyakhovchenko N.S., Senchenkov V.Y., Solyanikova I.P.  
Federal State Educational Institution of Higher Professional Education "Belgorod State National Research University",  
Belgorod, Russia  
1555066@bsu.edu.ru

It is known that tillage leads to the creation of selective conditions for cultivated plants. However, the increasing degree of impact of agricultural techniques on the soil layer leads to an increase in the plowing of land, and the application of large amounts of organic and mineral fertilizers and pesticides leads to contamination of the media with chemical components (potential pollutants). In turn, microorganisms and their communities depend on organic and inorganic substances contained in the substrate, and agricultural treatment can create specific conditions for the life of soil bacteria producing biologically active compounds, both stimulating crop growth (for example, indole-acetic acid) and inhibiting the development and reproduction of pathogens. Thus, the study of microbial communities of soils of agrarian importance can lead to new plant protection agents of biological and combined origin that have a phytostimulating effect.

A Gram-negative pigment-forming facultatively anaerobic bacterium identified as *Pseudomonas chlororaphis* (VKM B-3546D) was isolated from ploughed soil of Belgorod region by standard methods. The strain has antagonistic activity due to the formation of phenazine-type compounds. During the evaluation of the antifungal activity of pseudomonads against *Alternaria brassicicola* VKM F-1864 and *Aspergillus unguis* VKM F-1754 by co-culture using wells in agar the degree of inhibition of colony growth rate was 77 % and 83 %, respectively. There is also evidence in the scientific literature that the biosynthesis of phenazine and its derivatives is closely related to the sense of quorum, intercellular communication of microorganisms occurring through signaling molecules, autoinducers. This mechanism regulates population size, biofilm formation, biosynthesis of various metabolites and resistance to antibiotic agents.

Thus, soils with intensive agricultural load can act as an object of research on the interaction between micro- and macroorganisms - microbial communities, and can also serve as a source of new strains-producers of biotechnologically promising products.

**Культивируемые эндофитные бактерии надземных частей гороха посевного  
(*Pisum sativum* L.)**

Ахтемова Г.А., Васильева Е.Н., Афонин А.М., Гладков Г.В., Борисов А.Ю., Жуков В.А.  
ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург-Пушкин, Россия  
ahgulya@yandex.ru

За последнее десятилетие наблюдается нарастающий интерес исследователей к эндофитным бактериям, избравшим в качестве экологической ниши ткани и органы растений. Повышение внимания к эндофитам вызвано, в том числе, развитием методов секвенирования и способов компьютерной обработки полученных данных, что позволяет максимально полно описывать таксономический состав микробного сообщества. Исследование было направлено на изучение эндофитного микробиома надземных частей гороха посевного (*Pisum sativum* L.). Основной акцент уделялся составу микробиома стеблей трёх родственных друг другу генотипов гороха – сортов Триумф, Classic и Vendevil (Триумф является результатом скрещивания Classic и Vendevil), выращенных в двух различных почвах (черневая тайга и серая лесная почва). Из стерилизованных стеблей растений была выделена ДНК, на которой с использованием блокирующих праймеров (снижающих частоту амплификации митохондриальных и пластидных последовательностей гороха) были наработаны ПЦР-фрагменты гена 16S-rРНК. Данные ампликоны были секвенированы на приборе Illumina MiSeq в ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» в ФГБНУ ВНИИСХМ (Санкт-Петербург). Анализ последовательностей гена 16S-rРНК позволил выявить «коровый микробиом» стеблей растений гороха – наиболее часто представленные последовательности у всех трёх генотипов гороха, выращенных в двух различных почвах, относятся к родам *Niastella*, *Sphingomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Microbacterium*, *Corynebacterium*, *Brevundimonas*, *Pseudomonas*, *Chryseobacterium*, *Anaerococcus*. При сравнительном анализе последовательностей гена 16S-rРНК в исследованных образцах было установлено, что образцы имеют между собой высокое сходство. Сообщество стеблей растений сорта Триумф является менее разнообразным, при этом в нём встречаются уникальные представители родов *Hymenobacter*, *Noviherbaspirillum*, *Undibacterium* и *Dechloromonas*. Данные бактерии не представлены в метабеномах стеблей других генотипов гороха. Сорт Триумф является результатом селекции по признаку высокой симбиотической эффективности, поэтому факт накопления уникальных бактерий в стеблях может объясняться этим его свойством. Таким образом, в результате анализа бактериального сообщества, населяющего стебли растений гороха посевного, удалось идентифицировать «коровый микробиом», характерный для данной ткани, а также выявить уникальных представителей эндофитных бактерий, населяющих стебли растений высокоэффективного в симбиотическом отношении сорта Триумф  
Работа поддержана грантом РФФИ № 19-016-00194 А

**Cultivated endophytic bacteria of aerial parts of peas (*Pisum sativum* L.)**

Akhtemova G.A., Vasilyeva E.N., Afonin A.M., Gladkov G.V., Borisov A.Yu., Zhukov V.A.  
All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology,  
St. Petersburg-Pushkin, Russia.  
ahgulya@yandex.ru

Over the past decade, there has been a growing interest of researchers in endophytic bacteria, which have chosen plant tissues and organs as an ecological niche. Increased attention to endophytes is caused, among other things, by the development of sequencing methods and methods of computer processing of the obtained data, which makes it possible to describe the taxonomic composition of the microbial community as fully as possible. The study was aimed at studying the endophytic microbiome of the aerial parts of the pea (*Pisum sativum* L.). The main focus was on the microbiome composition of the stems of three related pea genotypes, Triumph, Classic, and Vendevil (Triumph is the result of a series of backcrosses of Vendevil with Classic), grown in two different soils (black taiga and gray forest soil). DNA was isolated from sterilized plant stems, on which PCR fragments of the 16S-rRNA gene were generated using blocking primers (reducing the frequency of amplification of mitochondrial and plastid sequences of peas). These amplicons were sequenced on the Illumina MiSeq instrument at the Core Center "Genomic Technologies, Proteomics and Cell Biology" in All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology (St. Petersburg, Russia). Analysis of the 16S-rRNA gene sequences revealed the "core microbiome" of pea plant stems - the most frequently presented sequences in all three pea genotypes grown in two different soils belong to the genera *Niastella*, *Sphingomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Microbacterium*, *Corynebacterium*, *Brevundimonas*, *Pseudomonas*, *Chryseobacterium*, *Anaerococcus*. Comparative analysis of the 16S-rRNA gene sequences in the studied samples showed that the samples have a high similarity with each other. The Triumph plant stem community is less diverse, with unique members of the genera *Hymenobacter*, *Noviherbaspirillum*, *Undibacterium* and *Dechloromonas*. These bacteria are not represented in stem metagenomes of other pea genotypes. The Triumph cultivar is the result of breeding for high symbiotic effectiveness, so the fact of the accumulation of unique bacteria in the stems can be explained by this property. Thus, as a result of the bacterial community inhabiting the stems of pea plants, it was possible to identify the "core microbiome" characteristic of this tissue, as well as to identify unique representatives of endophytic bacteria inhabiting the stems of plants of the highly symbiotically effective cultivar Triumph.

This work was supported by RFBR grant No. 19-016-00194 А

**Влияние ризосферных бактерий на образование поясков Каспари и гидравлическую проводимость у растений пшеницы в оптимальных для роста условиях**

Ахтямова З.А., Мартыненко Е.В., Архипова Т.Н., Сельдимирова О.В.,

Галин И.Р., Иванов Р.С., Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р.

Уфимский институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа

[akhtyamovazarina@gmail.com](mailto:akhtyamovazarina@gmail.com)

Транспорт воды по апопласту вносит значительный вклад в суммарную гидравлическую проводимость тканей растений. Однако образование барьеров для движения воды и ионов за счет их лигнификации и формирования ламелл суберина в поясков Каспари резко снижает гидравлическую проводимость апопласта (Li et al., 2020). Известно, что инфицирование растений патогенными бактериями усиливает лигнификацию в области проникновения инфекции, что является одной из защитных реакций растений (Lee et al., 2019). В настоящее время нет данных о влиянии PGPR на формирование апопластных барьеров, поэтому нами было изучено влияние *P. mandelii* IB-Ki14 и *B. subtilis* IB-22 на отложение лигнина и формирование поясков Каспари в области эндодермы корней растений пшеницы.

Для визуализации лигнина и суберина использовали гемисульфат берберина (Musielak et al., 2015). Флуоресценцию берберина возбуждали твердотельным лазером с длиной волны 488 нм на конфокальном лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Olympus FluoView FV3000 (Olympus, Япония). На 6 сутки после введения бактерий в почву на поперечных срезах базальной части корней контрольных и бактеризованных растений наблюдался низкий уровень лигнификации их клеточных стенок. На срезах корней растений, обработанных *P. mandelii* IB-Ki14, можно было заметить более интенсивное свечение сосудов ксилемы, что говорит об интенсификации процесса лигнификации. На 11 день после начала бактеризации в центральном цилиндре усилилось свечение клеточных стенок эндодермы, и не только самих ксилемных сосудов, но и паренхимы вокруг них под влиянием бактерий (особенно, в случае *P. mandelii* IB-Ki14). Также было заметно увеличение размера клеток под влиянием *B. subtilis* IB-22, что соответствует сведениям об утолщении корней под влиянием этих бактерий. Таким образом, бактеризация усиливала формирование апопластных барьеров, что наиболее наглядно проявлялось в случае *P. mandelii* IB-Ki14. Большую эффективность *P. mandelii* IB-Ki14 можно объяснить их способностью синтезировать ИУК. Формирование апопластных барьеров способствует снижению гидравлической проводимости. Тем не менее, мы не обнаружили снижения данного показателя под влиянием *P. mandelii* IB-Ki14, а на фоне инокуляции *B. subtilis* IB-22 гидравлическая проводимость даже возрастала. Очевидно, снижение гидравлической проводимости апопластного пути компенсировалось за счет альтернативного проведения воды через мембраны. Эти выводы косвенно подтверждают гипотезу о влиянии бактерий на активность аквапоринов, которая требует подтверждения в дальнейшем.

**Influence of rhizospheric bacteria on the formation of Casparian bands and hydraulic conductivity in wheat plants under optimal growth conditions**

Akhtyamova Z.A., Martynenko E.V., Arkhipova T.N., Seldimirova O.V.,

Galina I.R., Ivanov R.S., Veselov D.S., Kudoyarova G.R.

Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa

[akhtyamovazarina@gmail.com](mailto:akhtyamovazarina@gmail.com)

Water transport through the apoplast makes a significant contribution to the total hydraulic conductivity of plant tissues. However, the formation of barriers to the movement of water and ions due to their lignification and the formation of suberin lamellae in Casparian bands sharply reduces the hydraulic conductivity of the apoplast (Li et al., 2020). It is known that infection with pathogenic bacteria causes lignification in the area of infection, which is one of the reactions of plant reactivity (Lee et al., 2019). At present, there are no data on the effect of PGPR on the formation of apoplast barriers; therefore, we studied the effect of *P. mandelii* IB-Ki14 and *B. subtilis* IB-22 on the deposition of lignin and the formation of Casparian bands in the endodermal region of wheat roots.

Berberine hemisulfate was used to visualize lignin and suberin (Musielak et al., 2015). Berberine fluorescence was excited by a solid-state laser with a wavelength of 488 nm on an Olympus FluoView FV3000 confocal laser scanning confocal microscope (Olympus, Japan). On the 6th day after the introduction of bacteria into the soil, transverse sections of the basal part of the roots of control and bacterized plants showed a low level of lignification of their cell walls. On sections of plant roots treated with *P. mandelii* IB-Ki14, one could notice a more intense glow of xylem vessels, which indicates an intensification of the lignification process. On the 11th day after the start of bacterization in the central cylinder, the luminescence of the cell walls of the endoderm, and not only of the xylem vessels themselves, but also of the parenchyma around them, increased under the influence of bacteria (especially in the case of *P. mandelii* IB-Ki14). An increase in cell size under the influence of *B. subtilis* IB-22 was also noticeable, which is consistent with the data on root thickening under the influence of these bacteria. Thus, bacterization enhanced the formation of apoplastic barriers, which was most clearly manifested in the case of *P. mandelii* IB-Ki14. The high efficiency of *P. mandelii* IB-Ki14 can be explained by their ability to synthesize IAA. The formation of apoplastic barriers contributes to a decrease in hydraulic conductivity. However, we did not find a decrease in this parameter under the influence of *P. mandelii* IB-Ki14, and hydraulic conductivity even increased after inoculation with *B. subtilis* IB-22. Obviously, the decrease in the hydraulic conductivity of the apoplast pathway was compensated by the alternative conduction of water through the membranes. These findings indirectly confirm the hypothesis about the effect of bacteria on the activity of aquaporins, which requires further confirmation.

**Получение культур пыльников сортов ячменя обыкновенного Ратник и Леон, контрастных по чувствительности к  $\gamma$ -облучению**

Бабина Д.Д., Подобед М.Ю., Миценек А.С., Празян А.А., Макаренко Е.С., Бондаренко Е.В., Волкова П.Ю.  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», г. Обнинск  
[babinadd@gmail.com](mailto:babinadd@gmail.com)

В рамках исследования молекулярных основ эффекта радиационного гормезиса в контрастных по чувствительности к  $\gamma$ -облучению сортах ячменя были выявлены гены – мишени для геномного редактирования и получения растений с улучшенными показателями продуктивности и устойчивости к различным стрессорам. Известно, что успех редактирования зависит от стратегии получения растений-трансформантов. В качестве экспланта для индукции первичного каллуса у ячменя используются, в основном, незрелые зародыши и пыльники/пыльца. Развивающаяся пыльца, обладающая эмбрионным потенциалом, является наиболее перспективным эксплантом для трансформации, благодаря своей гаплоидности, тотипотентности и возможности получения впоследствии дигаплоидов. В настоящее время одними из наиболее эффективных представляются протоколы культуры пыльников ячменя, разработанные Broughton и совт. (2014) и Ohnoutkova и совт. (2019). Известно, что каллусогенез и регенерация зависят от спектра факторов, включая генотип, условия выращивания, состав среды для культивирования, условия инкубирования. Цель данной работы заключается в адаптации и оптимизации всех ступеней регенерации отечественных сортов ячменя Леон (чувствительный к  $\gamma$ -излучению), Ратник ( $\gamma$ -стимулированный), используя для сравнения модельный сорт Golden Promise (GP).

Выбранные сорта выращивали в теплице до стадии роста ДК41, когда большинство микроспор находились на средней или поздней одноядерной стадии. Колосья собирали ежедневно и измеряли интервал между флаговым листом и верхним вторым листом. Срезанные колосья хранили 5-14 дней при 4 °С, затем стерилизовали и обрабатывали партиями. Из каждого колоса удаляли от 60 до 80 пыльников для предварительной обработки маннитом в чашках Петри в темноте при 25 °С в течение 5 дней. После обработки пыльники переносили в индукционную среду и инкубировали в темноте при 25 °С в течение 5–6 недель. Эффективность каллусогенеза оценивали по истечении этого срока.

Наилучшая эффективность каллусогенеза отмечена у сорта Леон. У этого же сорта наблюдалась более широкая вариабельность длины межязычкового интервала с подходящими стадиями микроспор, при этом каллус лучше образовывался из пыльников растений с наименьшей длиной межязычкового интервала. GP показал статистически значимое более позднее созревание микроспор до оптимальной стадии по сравнению с отечественными сортами. Результаты получены при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (Соглашение № 075-15-2021-1068 от 28.09.2021).

**Anthers cultures of barley cultivars Ratnik and Leon, contrasting in sensitivity to  $\gamma$ -irradiation**

Babina D.D., Podobed M.Yu., Mitsenyk A.S., Prazyan A.A., Makarenko E.S., Bondarenko E.V., Volkova P.Yu.  
Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk  
[babinadd@gmail.com](mailto:babinadd@gmail.com)

During studies of the molecular basis of radiation hormesis in Russian barley cultivars, contrasting in sensitivity to  $\gamma$ -irradiation, candidate genes were identified that became targets for genome editing and obtaining plants with improved productivity and resistance to various stressors. A well-known fact is that the success of editing depends on the strategy of obtaining transformants. Generally, immature embryos and anthers/pollen are used as explants for primary callus induction in barley. Developing pollen with embryogenic potential is the most promising explant for transformation due to its haploidy, totipotency and the possibility of subsequent production of doubled haploids. Currently, protocols developed by Broughton *et al.* (2014) and Ohnoutkova *et al.* (2019) for the barley anthers cultures are believed to be one of the most effective. It is acknowledged that callusogenesis and regeneration depend on a range of factors, including genotype, growing conditions, composition of the culture medium, and incubation environment. The purpose of this work is to adapt and optimize all stages of regeneration of Russian barley cultivars Leon (sensitive to  $\gamma$ -radiation), Ratnik ( $\gamma$ -stimulated), using the Golden Promise (GP) model cultivar for comparison.

The selected cultivars were grown in the greenhouse until the DK41 growth stage, when most of the microspores were at the middle or late mononuclear stage. Spikes were harvested daily and the interval between the flag leaf and the top second leaf was measured. Cut spikes were stored for 5-14 days at 4°C, then sterilized and processed in batches. From each spike, 60 to 80 anthers were removed for pretreatment with mannitol in Petri dishes in the dark at 25°C for 5 days. After treatment, the anthers were transferred to an induction medium and incubated in the dark at 25°C for 5–6 weeks. The efficiency of callusogenesis was evaluated after this period.

The best efficiency of callusogenesis was noted in the variety Leon. The same cultivar showed a wider variability in the length of the interlingual interval with suitable microspore stages, while the callus was better formed from the anthers of plants with the shortest interlingual interval. GP showed a statistically significant later maturation of microspores to the optimal stage compared to domestic cultivars.

The results were obtained with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-15-2021-1068 dated September 28, 2021).

### Структура азотфиксирующей ткани корневых клубеньков симбиоза вигны

Багдалова А.З., Родина Т.В.

ФГБНУ Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы, ФГБНУ РосНИИСК «Россорго»  
bagdalova2804@mail.ru

Вигна – бобовая культура тропического происхождения, предъявляет высокие требования к теплу. В Саратовской области изучали некоторые вопросы технологии выращивания вигны в поливидовых посевах для производства зеленого корма и силоса. В последнее время проблема рационального использования сельскохозяйственными растениями почвенно-климатических условий региона решается с помощью улучшения технологии выращивания и внедрения новых селекционных достижений.

Взаимоотношения высших растений и почвенных микроорганизмов являются одной из интереснейших и сложнейших проблем биологии. Из всех типов симбиозов микроорганизмов с растениями наиболее изучен симбиоз бобовых растений с клубеньковыми бактериями (ризобиями). Это связано с практической ценностью данного типа симбиоза и относительной легкостью исследования клубеньковых бактерий. Так как ризобии при симбиозе с бобовыми фиксируют  $N_2$ , то большое значение в агроэкоценозах имеет биологическая фиксация азота – наиболее дешевый и экологически чистый источник этого элемента для земледелия. Биологическая азотфиксация представляет собой глобальный процесс, обеспечивающий существование жизни на Земле. Симбиотические азотфиксирующие микроорганизмы выделены М. Бейеринком в 1888 г. из корневых клубеньков (бородавчатых наростов) бобовых растений. Между бактериями и растениями устанавливаются симбиотические взаимоотношения. Клубеньковые бактерии, заражающие корни различных видов бобовых растений, несколько отличаются друг от друга, однако их рассматривают как группы родственных организмов. Определенный вид бактерий обычно образует клубеньки только на одном или нескольких видах бобовых растений, у вигны – *Bradyrhizobium vigna*.

На количество клубеньковых бактерий в почве влияют все свойства и состояние. Проводятся исследования в богарных условиях Саратовской области, предшественником является нут, корневые клубеньки симбиоза вигны заметно отличались в смеси с просовидной культурой чумиза и при достаточной температуре и влаги в почве образование проходило на нитях корневой системы, также в смеси с сорго и кукурузой клубеньковые бактерии образовывались в большом количестве, чем на чистых посевах вигны. Содержание сырого протеина зеленой биомассы вигны в фазу молочно-восковой спелости семян составляет 13,3-16,5%.

Сорта вигны селекции ФГБНУ РосНИИСК «Россорго» – Олесья, Майя и Алия образуют клубеньки с азотфиксирующими бактериями при pH почвы 6,5-7,0.

### Structure of nitrogen-fixing tissue of root nodules of the symbiosis of vigna

Bagdalova A.Z., Rodina T.V.

Russian Research, Design and Technology Institute of Sorghum and Corn Federal State Government-Funded Scientific Institution (Rossorgo RosNIISK FGBNU)  
bagdalova2804@mail.ru

Vigna is a legume crop of tropical origin, makes high demands on heat. In the Saratov region, some issues of the technology of growing vigna in poly-species crops for the production of green feed and silage were studied. Recently, the problem of rational use of soil and climatic conditions of the region by agricultural plants has been solved by improving the cultivation technology and introducing new breeding achievements.

The relationship between higher plants and soil microorganisms is one of the most interesting and complex problems of biology. Of all the types of symbiosis of microorganisms with plants, the symbiosis of legumes with nodule bacteria (rhizobia) is the most studied. This is due to the practical value of this type of symbiosis and the relative ease of studying nodule bacteria. Since rhizobia fix  $N_2$  in symbiosis with legumes, biological nitrogen fixation is of great importance in agroecoceneses – the cheapest and most environmentally friendly source of this element for agriculture. Biological nitrogen fixation is a global process that ensures the existence of life on Earth. Symbiotic nitrogen-fixing microorganisms were isolated by M. Beyerink in 1888 from root nodules (wart-like growths) of leguminous plants. Symbiotic relationships are established between bacteria and plants. Nodule bacteria infecting the roots of various species of legumes are somewhat different from each other, but they are considered as groups of related organisms. A certain type of bacteria usually forms nodules only on one or several types of legumes, in vigna – *Bradyrhizobium vigna*.

The number of nodule bacteria in the soil is affected by all properties and condition. Studies are being conducted in the rain-fed conditions of the Saratov region, the precursor is chickpeas, root nodules of the symbiosis of vigna were markedly different in a mixture with a millet culture of chumiz and at sufficient temperature and moisture in the soil, the formation took place on the threads of the root system, also in a mixture with sorghum and corn nodule bacteria were formed in large quantities than on pure vigna crops. The content of crude protein of green biomass of vigna in the phase of milk-wax ripeness of seeds is 13.3-16.5%.

The vigna varieties selected by RosNIISK «Rossorgo» – Olesya, Maya and Aliya form nodules with nitrogen-fixing bacteria at a soil pH of 6.5-7.0.

**Антибактериальные соединения в регуляции микробных сообществ ризобий**

Баймиев Ал.Х., Владимирова А.А., Матниязов Р.Т., Филяева К.Ю.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа

[baymiev@mail.ru](mailto:baymiev@mail.ru)

Ризобии или клубеньковые бактерии, вступающие в азотфиксирующий симбиоз с бобовыми растениями, довольно хорошо изучены. Тем не менее, с точки зрения экологии симбиотических микроорганизмов - регуляции их численности, взаимодействия с микрофлорой ризосферы в процессах инициации формирования клубенька, происходящих в ризосфере и ризоплане растения-хозяина - остается много не решенных вопросов.

Некоторые ответы на эти вопросы были получены еще в 60-х годах прошлого века с обнаружением у ризобий бактериоцинов – соединений различной природы, специфично подавляющих рост гомологичных ризобий. Эти соединения, условно разделяемые на малые, средние и крупные бактериоцины, относят не к антибиотикам, а скорее к сигналам чувства кворума ризобий.

До сих пор исследования синтеза ризобиями соединений, подавляющих или регулирующих численность посторонней микрофлоры (по большей части родственной, вследствие конкуренции за право формирования клубенька) имели частный характер и проводились на единичных штаммах. Практически нет данных о характере распространенности явления и параметров синтеза бактериоцинов в ризоплане растения и формирующемся клубеньке, что крайне важно для исследования экологии сообществ симбиотических ризобий.

Нами произведен скрининг более 1000 штаммов ризобий из коллекции клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых Южного Урала на синтез соединений, подавляющих рост родственных штаммов ризобий и контрольного штамма *E. coli*. Дана частичная характеристика механизма действия соединений подавляющих рост бактерий: отдельно содержимого цитоплазмы и отдельно веществ, выводимых из клеток. С применением системы двойных репортеров Dualrep2 определены штаммы ризобий, синтезирующие соединения, подавляющие синтез белка (в основном путем блокировки работы рибосом) и вызывающие SOS-ответ бактерий (массовое повреждение ДНК). Сделаны выводы о распространенности феномена синтеза антибактериальных соединений среди клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых Южного Урала.

Кроме решения фундаментальной проблемы, касающейся экологии симбиотических микроорганизмов, работа затрагивает и практическую задачу, касающуюся поиска новых перспективных антибактериальных молекул. Поскольку с момента открытия первых антибиотиков именно натуральные продукты бактериального (и грибкового) происхождения служат основным источником новых соединений с различной функциональной активностью, востребованных в борьбе с постоянно растущей устойчивостью к антибиотикам.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00193, <https://rscf.ru/project/22-24-00193/>

**Antibacterial agents in the regulation of rhizobial communities**

Baymiev Al.Kh., Vladimirova A.A., Matniyazov R.T., Filyaeva K.Yu.

Institute of Biochemistry and Genetics UFSC RAS, Ufa

[baymiev@mail.ru](mailto:baymiev@mail.ru)

Rhizobia - bacteria that form a nitrogen-fixing symbiosis with legumes - are well studied. Nevertheless, from the point of view of the ecology of symbiotic microorganisms - the regulation of their number, interaction with the microflora of the rhizosphere in the processes of initiation of nodule formation that occur in the rhizosphere and rhizoplane of the host plant, many questions remain.

Some answers to these questions were obtained back in the 60s of the last century with the discovery of bacteriocins in some rhizobia - compounds of various natures that specifically inhibit the growth of homologous rhizobia. These compounds, conditionally divided into small, medium, and large bacteriocins, are not classified as antibiotics, but rather as signals of the sense of the quorum of rhizobia.

Until now, studies of the synthesis of compounds by rhizobia that suppress or regulate the number of extraneous microflora (mostly related, due to competition for the right to form a nodule) were carried out on single strains. There are practically no data on the nature of the occurrence of the phenomenon and the parameters of bacteriocin synthesis in the plant rhizoplane and the developing nodule, which is extremely important for studying the ecology of symbiotic rhizobial communities.

We screened more than 1000 strains of rhizobia from the collection of nodule bacteria of wild legumes of the Southern Urals for the synthesis of compounds that inhibit the growth of related strains of rhizobia and the control strain of *E. coli*. A partial description of the mechanism of action of compounds inhibiting the growth of bacteria is given: separately the contents of the cytoplasm and separately the substances excreted from the cells. Using the system of dual reporters Dualrep2, strains of rhizobia synthesizing compounds that suppress protein synthesis (mainly by blocking the work of ribosomes) and cause the SOS response of bacteria (massive DNA damage) were identified. Conclusions are drawn about the prevalence of the phenomenon of synthesis of antibacterial compounds among nodule bacteria of wild-growing legumes of the Southern Urals. In addition to solving the fundamental problem related to the ecology of symbiotic microorganisms, the work also touches upon a practical problem related to the search for new promising antibacterial molecules. Since, since the discovery of the first antibiotics, it is natural products of bacterial (and fungal) origin that have served as the main source of new compounds with various functional activities that are in demand in the fight against the ever-growing resistance to antibiotics.

The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-24-00193, <https://rscf.ru/project/22-24-00193/>



**Стратегия выбора микросимбионтов в разные фазы вегетации аборигенными и интродуцированными видами многолетних бобовых растений в условиях умеренного климата.**

Баймиев Ан.Х., Акимова Е.С, Коряков И.С, Владимирова А.А.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, гУфа

baymiev@anrb.ru

В ризосфере бобового растения, особенно многолетнего, формируется большое количество разнообразных штаммов клубеньковых бактерий, которые потенциально могут образовать клубеньки на корнях данного растения. Эти штаммы отличаются друг от друга по многим характеристикам и растению необходимо постоянно делать выбор в пользу тех или иных вариантов бактерий. В процессе выбора основная роль приходится на растение, хотя и бактерия играет немаловажную роль, поскольку их вирулентность при данном процессе имеет не последнее значение. Растение при формировании клубеньков должен соблюсти баланс между желанием получить минеральный азот и возможностью обеспечить его фиксацию углеродным питанием. Поэтому растение обладает механизмами ограничения количества образования клубеньков и возможностью дифференцированного обеспечения питанием клубеньков в зависимости от эффективности их работы. В последнем случае при образовании клубенька неподходящим вариантом бактерии растение способно замедлить их развитие. Таким образом именно макросимбионт определяет какому клубеньку следует развиваться хорошо, а какому нет, и тем самым именно растение определяет бактерию с каким генотипом следует амплифицировать, а какие необязательно. Мы в своей работе отследили как меняется состав клубеньковых бактерий на разных стадиях вегетации. Обнаружили что его состав отнюдь не статичный, и что все время происходит отмирание и появление новых клубеньков, и что растение находится в состоянии постоянного выбора. Так нами было обнаружено, что для аборигенных видов многолетних бобовых растений характерно образование клубеньков с наиболее эффективными штаммами в период прорастания, когда растение имеет более обильный ресурс питательных веществ за счет запасных питательных компонентов и когда есть наибольшая потребность в азотном питании. В летний период, на стадии образования бутонов клубеньки образованы менее эффективными вариантами штаммов, поскольку, как мы предполагаем, растению приходится соизмерять потребность и «стоимость» фиксированного азота. А при образовании клубеньков осенью, когда потребность в минеральном азоте отсутствует вовсе клубеньки образуются широким спектром штаммов, среди которых больше малоэффективных вариантов. Задача осенних клубеньков амплификация *sym*-плюс вариантов бактерий. Интродуцированные бобовые, за счет узкого спектра штаммов на новой территории осенние клубеньки образуют также эффективными штаммами, как мы полагаем, из-за отсутствия большого разнообразия *sym*-положительных вариантов бактерий.

**Strategy for the selection of microsymbionts in different phases of vegetation by native and introduced species of perennial leguminous plants in temperate climates.**

Baymiev An.Kh., Akimova E.S., Koryakov I.S., Vladimirova A.A.

Institute of Biochemistry and Genetics UFRS RAS.

baymiev@anrb.ru

In the rhizosphere of a leguminous plant, especially a perennial one, a large number of various strains of nodule bacteria are formed, which can potentially form nodules on the roots of this plant. These strains differ from each other in many characteristics and the plant must constantly make a choice in favor of certain variants of bacteria. In the selection process, the main role belongs to the plant, although bacteria also play an important role, since their virulence in this process is not the least important. When forming nodules, the plant must strike a balance between the desire to obtain mineral nitrogen and the ability to ensure its fixation with carbon nutrition. Therefore, the plant has mechanisms for limiting the amount of nodule formation and the possibility of a differentiated supply of nodules with nutrition, depending on the efficiency of their work. In the latter case, when a nodule is formed with an unsuitable bacterial variant, the plant is able to slow down their development. Thus, it is the macrosymbiont that determines which nodule should develop well and which should not, and thus it is the plant that determines the bacterium with which genotype should be amplified and which are optional. In our work, we tracked how the composition of nodule bacteria changes at different stages of vegetation. It was found that its composition is by no means static, and that dying off and the appearance of new nodules are constantly occurring, and that the plant is in a state of constant selection. Thus, we found that native species of perennial leguminous plants are characterized by the formation of nodules with the most effective strains during germination, when the plant has a more abundant resource of nutrients due to reserve nutrients and when there is the greatest need for nitrogen nutrition. During the summer period, at the stage of bud formation, nodules are formed by less effective variants of strains, since, as we assume, the plant has to balance the need and the "cost" of fixed nitrogen. And when nodules are formed in autumn, when there is no need for mineral nitrogen, nodules are formed by a wide range of strains, among which there are more ineffective options. The task of autumn nodules is the amplification of *sym*-plus variants of bacteria. Introduced legumes, due to the narrow spectrum of strains in the new territory, form autumn nodules also with effective strains, as we believe, due to the lack of a wide variety of *sym*-positive bacterial variants.

**Получение волосовидных корней родиолы ирмельской, накапливающих ценные биологически активные вещества**

<sup>1</sup>Баймухаметова Э.А., <sup>1</sup>Мусин Х.Г., <sup>2</sup>Швец Д.Ю., <sup>2</sup>Балахонцев Г.В., <sup>1,2</sup>Кулуев Б.Р.

<sup>1</sup> Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа

<sup>2</sup> Башкирский государственный университет, г. Уфа.

[elvina.baimuhametova@yandex.ru](mailto:elvina.baimuhametova@yandex.ru)

Волосовидные корни (ВК) – результат инфицирования растений почвенными бактериями вида *Agrobacterium rhizogenes*. Причиной формирования ВК является перенос в растительный геном бактериальной Ri-плазмиды, экспрессия *rol*-генов которой вызывает перестройку гормонального метаболизма в растительной клетке. В результате в месте инфицирования происходит активная пролиферация клеток, ведущая к образованию каллуса и ВК. Высокая скорость роста, генетическая стабильность, а также способность к изолированному росту делают ВК перспективным источником для получения ценных корневых метаболитов, в том числе, таких как салидрозид, розавин и розарин. Данные метаболиты, накапливаемые в корнях растений рода *Rhodiola* L., интересны с медицинской точки зрения в связи с их антиканцерогенными, кардиостимулирующими и адаптогенными свойствами. Высокие фармацевтические качества спровоцировали бесконтрольный сбор растительного сырья, ставший причиной сокращения природных популяций родиолы. Поэтому перспективным является получение ВК родиолы методом агробактериальной трансформации, способных накапливать ценные БАВ, что и являлось целью данного исследования. В качестве материала для получения корней использовали растения родиолы ирмельской (*Rh. iremelica* Boriss) – эндемика Южного Урала. Предварительно, проводили стерилизацию семян путем их последовательной обработки 70% этиловым спиртом и 10% белизной в течение 1 и 8 минут соответственно. Семена проращивали на питательной среде МС при 25°C. Далее проводили трансформацию эксплантов родиолы с помощью бактерий *A. rhizogenes* штаммов А4 и К599, несущих бинарный вектор pCambia 1301. Трансформацию проводили по стандартной методике с внесением определенных изменений – варьировали количество агробактериальной суспензии и время инокуляции. Таким образом было проведено 8 серий трансформаций: 1 – А4 100 мкл 30 минут, 2 – К599 100 мкл 30 минут, 3 – А4 100 мкл 15 минут, 4 – К599 100 мкл 15 минут, 5 – А4 50 мкл 30 минут, 6 – К599 50 мкл 30 минут, 7 – А4 50 мкл 15 минут, 8 – К599 50 мкл 15 минут. В результате трансформации схемой №7 на эксплантах родиолы через 21 день культивирования индуцировалось корнеобразование, при остальных схемах происходило зарастание эксплантов, а при использовании штамма К599 образования корней вовсе не наблюдалось. Из полученных корней выделяли ДНК со ЦТАБ и проводили ПЦР-анализ на наличие генов *HPT* (гигромицин-фосфотрансфераза), *GUS* (β-глюкуронидаза) и *rolC*, подтвердивший их трансгенность. Таким образом, в результате исследования были получены 5 быстрорастущих линий ВК родиолы ирмельской.

**Obtaining hairy roots of *Rhodiola iremelica* Boriss, accumulating valuable biologically active compounds**

<sup>1</sup>Baimukhametova E.A., <sup>1</sup>Musin Kh.G., <sup>2</sup>Shvets D.Yu., <sup>2</sup>Balakhontsev G.V., <sup>1</sup>Kuluev B.R.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics UFRS RAS, Ufa

<sup>2</sup>Bashkir State University, Ufa

[elvina.baimuhametova@yandex.ru](mailto:elvina.baimuhametova@yandex.ru)

Hairy roots (HRs) are the result of infection of plants with soil bacteria *Agrobacterium rhizogenes*. The reason for the formation of HRs is the transfer of the bacterial Ri-plasmid into the plant genome, the expression of the *rol*-genes of which causes a rearrangement of hormonal metabolism in plant cells. As a result, active cell proliferation occurs at the site of infection, leading to the formation of callus and HRs. High growth rate, genetic stability, and the ability to isolated growth make HRs a promising source for obtaining valuable root metabolites, including salidroside, rosavin, and rosarin. These metabolites accumulated in the roots of plants of the genus *Rhodiola* L. are of medical interest due to their anticarcinogenic, cardiostimulating and adaptogenic properties. High pharmaceutical qualities provoked the uncontrolled collection of plant materials, which caused a decrease in the natural populations of *Rhodiola*. Therefore, it is promising to obtain *Rhodiola* HRs capable of accumulating valuable biologically active compounds by *Agrobacterium*-mediated transformation, which was the purpose of this study. Plants of *Rh. iremelica* Boriss, endemic to the Southern Urals, were used as material for obtaining roots. Previously, seeds were sterilized by successive treatment with 70% ethanol and 10% Bleach for 1 and 8 minutes, respectively. Seeds were germinated on MS nutrient medium in climatic chambers at 25°C. Next, *Rh. iremelica* explants were transformed using *A. rhizogenes* strains A4 and K599 carrying an empty binary vector pCambia 1301. Transformation was carried out according to the standard method with certain changes: the amount of the agrobacterial suspension and the inoculation time were varied. Thus, 8 series of transformations were carried out: 1 - A4, 100 µl, 30 minutes, 2 - K599, 100 µl, 30 minutes, 3 - A4, 100 µl, 15 minutes, 4 - K599, 100 µl, 15 minutes, 5 - A4, 50 µl, 30 minutes, 6 - K599, 50 µl, 30 minutes, 7 - A4, 50 µl, 15 minutes, 8 - K599, 50 µl, 15 minutes. As a result of transformation by scheme No. 7, root formation was induced on *Rh. iremelica* explants after 21 days of cultivation, with other schemes contamination of explants occurred, and when using strain K599, no root formation was observed at all. DNA with CTAB was isolated from the obtained roots and PCR analysis was performed for the presence of *HPT* (hygromycin B phosphotransferase), *GUS* (β-glucuronidase), and *rolC* genes, which confirmed their transgenicity. Thus, as a result of the study, 5 fast-growing lines of hairy roots of *Rh. iremelica* were obtained.

### Скрининг стрептомицетов-антагонистов фитопатогенного гриба *Parastagonospora nodorum*

<sup>1</sup>Бакулина А.В., <sup>1</sup>Попыванов Д.В., <sup>1</sup>Новоселова Н.В., <sup>1</sup>Савинцева Л.С., <sup>2</sup>Товстик Е.В., <sup>2</sup>Лундовских И.А.

<sup>1</sup>ФГБНУ ФАНЦ Северо-Востока, г. Киров

<sup>2</sup>Вятский государственный университет, г. Киров

[mol-biol@fanc-sv.ru](mailto:mol-biol@fanc-sv.ru)

Стрептомицеты способны продуцировать различные физиологически активные соединения. Благодаря синтезу веществ с антифунгальной активностью штаммы *Streptomyces* sp. используются для разработки биопрепаратов для биологической защиты растений от патогенов. С целью выбора агrobiотехнологически ценных штаммов оценивали антагонистический потенциал 13 культур рода *Streptomyces* в отношении возбудителя септориоза колоса пшеницы (*Parastagonospora nodorum*). Изучали штаммы стрептомицетов из рабочей коллекции Центра компетенций «Экологические технологии и системы» ВятГУ, выделенные из почвы (*Streptomyces* sp. 3N2, 3N3, 1N8, 3K9, 2K10, 1K6, 2K9, 2K1), ризосферы (*Streptomyces* sp. RSF№5, RSF2K) и ризопланы (*Streptomyces* sp. RPL№23, RPL5N, RPL№12). Антифунгальную активность стрептомицетов оценивали методом диффузии в агар, используя в качестве тест-культур местные изоляты *P. nodorum* (TR-1, TR-2, P-12, H-7, H-9, KR, SB, TC), а также культуры, полученные из Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов ФГБНУ ВНИИФ (*P. nodorum* NB1-1, NB1-6, NB2-5, NB2-6). Среди исследуемых стрептомицетов наибольшую антагонистическую активность проявили штаммы RPL№23, 1N8, которые ингибировали рост всех использованных в работе штаммов патогена (зоны ингибирования роста гриба 23-33 мм), а также штаммы 3K9, 3N2, 3N3, которые были активны в отношении 8-11 культур патогена (зоны ингибирования 19-32 мм). Не проявили антагонизма к *P. nodorum* штаммы RPL5N, RSF№5, 2K1, остальные – ингибировали рост 1-2 культур патогена. Для изучения влияния антагонистически активных штаммов на рост и развитие самих растений оценивали их фитотоксичность в рулонной культуре пшеницы. Установлено, что культуральные жидкости штаммов RPL№23, 1N8, 3K9, 3N2, 3N3 не оказывают негативного влияния на всхожесть и морфометрические показатели растений пшеницы сортов-стандартов (Баженка и Каменка). Таким образом, отобранные штаммы-антагонисты гриба *P. nodorum*, далее могут быть изучены в полевых условиях. Помимо фенотипической оценки стрептомицетов для изучения их биосинтетического потенциала проводили молекулярно-генетический анализ на наличие генов поликетидсинтаз (PKS). Поликетиды проявляют антибактериальную, противогрибковую, противоопухолевую, противовирусную активность. Для выявления генов PKS типа II разработаны праймеры с использованием в качестве мишени участков генов альфа-кетоацилсинтаз. В результате ПЦР целевой ампликон (414 п.н.) был обнаружен у штаммов: *Streptomyces* sp. RPL5N, RSF№5, 2K1. Эти культуры также представляют интерес для дальнейшего изучения.

### Screening of streptomyces antagonists of the phytopathogenic fungus *Parastagonospora nodorum*

<sup>1</sup>Bakulina A.V., <sup>1</sup>Popyvanov D.V., <sup>1</sup>Novoselova N.V., <sup>1</sup>Savintseva L.S., <sup>2</sup>Tovstik E.V., <sup>2</sup>Lundovskikh I.A.

<sup>1</sup> Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Kirov

<sup>2</sup>Vyatka State University, Kirov

[mol-biol@fanc-sv.ru](mailto:mol-biol@fanc-sv.ru)

*Streptomyces* are capable of producing various physiologically active compounds. Due to the synthesis of substances with antifungal activity, *Streptomyces* sp. strains are used to develop products for biological protection of plants from pathogens. In order to select agrobiotechnologically valuable strains, the antagonistic potential of 13 streptomyces cultures against *Parastagonospora nodorum* was evaluated. *Streptomyces* strains from the working collection of Vyatka State University isolated from soil (*Streptomyces* sp. 3N2, 3N3, 1N8, 3K9, 2K10, 1K6, 2K9, 2K1), rhizospheres (*Streptomyces* sp. RSFNo.5, RSF2K) and rhizoplanes (*Streptomyces* sp. RPL No.23, RPL5N, RPLNo. 12). The antifungal activity of streptomyces was evaluated by diffusion into agar, using local *P. nodorum* isolates (TR-1, TR-2, P-12, H-7, H-9, KR, SB, TC) as test cultures, as well as cultures obtained from the State Collection of Phytopathogenic Microorganisms (*P. nodorum* NB1-1, NB1-6, NB2-5, NB2-6). Among the studied streptomycetes, the most antagonistic activity was shown by strains RPLNo.23, 1N8, which inhibited the growth of all pathogen strains used in the study (fungus growth inhibition zones 23-33 mm), as well as strains 3K9, 3N2, 3N3, which were active against 8-11 pathogen cultures (inhibition zones 19-32 mm). The strains RPL5N, RSFNo.5, 2K1 did not show antagonism to *P. nodorum*, the rest inhibited the growth of 1-2 cultures of the pathogen. To study the effect of antagonistically active strains on the growth and development of the plants themselves, their phytotoxicity in a rolled wheat culture was evaluated. It was found that the culture fluids of strains RPLNo.23, 1N8, 3K9, 3N2, 3N3 do not negatively affect the germination and morphometric parameters of wheat plants of standard varieties (Bazhenka and Kamenka). Thus, the selected strains-antagonists of the fungus *P. nodorum*, can then be studied in the field. In addition to phenotypic evaluation of streptomyces, molecular genetic analysis for the presence of polyketide synthase (PKS) genes was performed to study their biosynthetic potential. Polyketides exhibit antibacterial, antifungal, antitumor, antiviral activity. Primers have been developed to identify PKS type II genes using alpha-ketoacyl synthase gene sites as targets. As a result of PCR, the target amplicon (414 bp) was detected in strains: *Streptomyces* sp. RPL5N, RSFNo.5, 2K1. These cultures are also of interest for further study.

**Повышение урожайности, ростовых и формообразовательных процессов бахчевых культур Астраханской области биологическим методом**

Баубекова Д.Г.

Волжско–Каспийский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («КаспНИРХ»), г. Астрахань  
suslig.zenia@mail.ru

Бахчеводство с давних времен было гордостью российского сельского хозяйства, особенно Астраханского края. Природные условия Нижнего Поволжья весьма благоприятны для выращивания бахчевых культур. Однако в условиях капельного орошения происходит развитие фитопатогенов, которые в значительной степени снижают урожайность возделываемых культур. Поэтому особое значение приобретает разработка и внедрение биологических методов защиты растений за счет их перспективности и безопасности. Целью исследования являлось изучение воздействия биологического средства на основе *Bacillus atrophaeus* на ростовые и формообразовательные процессы, урожайность бахчевых культур Астраханской области на примере арбуза.

Биологическое средство получали путем культивирования штамма на средах различного состава (на бобовой основе; кукурузно–мелассной основе) с титром клеток и спор  $10^8$  КОЕ/мл. Постановку полевого опыта проводили по общепринятой методике полевых и вегетационных опытов. Полученными данным способом образцами опрыскивали дно борозды и проливали дважды под корень растения (арбуз сорт «Кримсон Свит»). За контроль приняты почвы и культуры, обработанные водой. Вегетационный опыт длился 5 месяцев.

Данные биометрических измерений показали, что образец средства на кукурузно–мелассной основе не осуществлял значительного влияния на биометрические показатели культуры. При этом образец на бобовой основе повлиял на длину центральной плети (на 12,9 %), количество листьев (на 1,8 %), побегов (на 3,3 %) и плодов (на 5,1 %) по сравнению с контрольными значениями.

В результате действия образцов средства происходило снижение развития заболевания арбуза – антракноза (*Colletotrichum laenarium*) на протяжении всего вегетационного периода. Высокие значения биологической эффективности снижения развития антракноза зарегистрированы в период цветения растения. Во время плодообразования и созревания плодов показатели уменьшаются. При этом средство на бобовой основе оказало более эффективное влияние на снижение развития заболевания на всех этапах вегетации арбуза.

По сравнению с контрольными величинами средство на бобовой основе уменьшает заболеваемость растений антракнозом на 38,6% и количество больных плодов на 63,1 %; при этом повышает урожайность на 12,9 % и массу плодов на 4,7 %. Средство на кукурузно–мелассной основе снижает заболеваемость антракнозом на 34,3 % и количество больных плодов на 47,3 %, увеличивает урожайность на 6,1 %, и массу плодов на 1,4 %. В целом средство на бобовой основе оказывает более эффективное воздействие на качественные и количественные характеристики арбуза по сравнению с контролем и образцом на кукурузно–мелассной основе.

**Increasing the yield, growth and shaping processes of gourds of the Astrakhan region by a biological method**

Baubekova D.G.

Volga-Caspian Branch, All-Russian Scientific Research Institute of Fisheries and Oceanography (Caspian Fisheries Research Institute), Astrakhan,  
suslig.zenia@mail.ru

Melon growing has long been the pride of Russian agriculture, especially the Astrakhan region. The natural conditions of the Lower Volga region are very favorable for growing gourds. However, under conditions of drip irrigation, phytopathogens develop, which significantly reduce the yield of cultivated crops. Therefore, the development and implementation of biological methods of plant protection due to their prospects and safety is of particular importance.

The aim of the study was to study the effect of a biological agent based on *Bacillus atrophaeus* on growth and shaping processes, the yield of gourds in the Astrakhan region using the example of watermelon.

The biological agent was obtained by cultivating the strain on media of various compositions (bean-based; corn–molasses–based) with a titer of cells and spores of  $10^8$  CFU/ml. The field experiment was set up according to the generally accepted method of field and vegetation experiments. The samples obtained by this method were sprayed on the bottom of the furrow and spilled twice under the root of the plant (watermelon variety «Crimson Sweet»). Soils and crops treated with water were taken as control. The growing experience lasted 5 months.

The biometric data showed that the corn molasses sample did not significantly affect the biometrics of the crop. At the same time, the bean-based sample affected the length of the central lash (by 12,9 %), the number of leaves (by 1,8 %), shoots (by 3,3 %) and fruits (by 5,1 %) compared with the control values.

As a result of the action of the samples of the agent, there was a decrease in the development of the disease of watermelon – anthracnose (*Colletotrichum laenarium*) throughout the growing season. High values of the biological efficiency of reducing the development of anthracnose were registered during the flowering period of the plant. During fruit formation and fruit ripening, the indicators decrease. At the same time, the bean-based agent had a more effective effect on reducing the development of the disease at all stages of the watermelon vegetation.

Compared with the control values, the bean-based agent reduces the incidence of anthracnose by 38,6 % and the number of diseased fruits by 63,1 %; while increasing the yield by 12,9 % and fruit weight by 4,7 %. A corn–molasses–based product reduces the incidence of anthracnose by 34,3 % and the number of diseased fruits by 47,3 %, increases yield by 6,1 %, and fruit weight by 1,4 %. In general, the bean-based product has a more effective effect on the qualitative and quantitative characteristics of watermelon compared to the control and the corn–molasses–based sample.

**Влияние биопрепарата на основе *Bacillus atrophaeus* на заболеваемость бахчевых культур Астраханской области ложной мучнистой росой**

Баубекова Д.Г.

Волжско–Каспийский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («КаспНИРХ»), г. Астрахань  
suslig.zenia@mail.ru

Основным фитопатогенным заболеванием для дыни в последние годы является ложная мучнистая роса – пероноспороз. Возбудителем болезни является микромицет *Peronoplasmopara cubensis*. Болезнью поражаются листья: на их верхней и нижней сторонах появляются пятна, которые быстро некротизируются. Пораженные листья закручиваются вдоль центральной жилки вниз и постепенно засыхают. Потеря листьев задерживает процесс завязывания плодов и их нормальное развитие. Болезнь на дынях в благоприятных условиях развивается очень динамично и за 10–12 дней может наступить полная гибель урожая.

Цель исследования – изучение влияния средства защиты растений на основе *Bacillus atrophaeus* на заболеваемость дыни ложной мучнистой росой в условиях аридного климата.

Полевой опыт осуществлялся по общепринятой методике полевых и вегетационных опытов, который длился 5 месяцев. Для получения средства штамм культивировали на подобранных средах различного состава: на бобовой и кукурузно–мелассной основах (титр клеток и спор  $10^8$  КОЕ/мл). Исследуемым образцом обрабатывали опытную почву и возделываемую в ней дыню сорта «Лада». В проведенном полевом опыте за контроль приняты почвы и культуры, обработанные водой.

Образцы средства оказывали положительное действие на снижение развития ложной мучнистой росы дыни на протяжении всего исследуемого вегетационного периода. При этом средство на бобовой основе показывало более эффективное влияние на уменьшение развития заболевания. Наиболее высокие показатели биологической эффективности снижения развития пероноспороза отмечены в период цветения растения (33,9 %), во время плодообразования (на 11,9 %) и при созревании плодов (на 5,3 %).

Значительное сдерживание развития пероноспороза под влиянием средства как на бобовой, так и на кукурузно–мелассной основах повысило урожайность, массу плодов, а также значительно сократило количество больных плодов в урожае. Данные полученные в ходе проведенных испытаний показали более эффективное влияние средства на бобовой основе на качественные и количественные характеристики возделываемой культуры, снижение заболеваемости и увеличения урожайности по сравнению с контролем и образцом на кукурузно–мелассной основе. В ходе полевого опыта с дыней по сравнению с контрольными значениями уменьшилась заболеваемость растений пероноспорозом на 33,9 % и количество больных плодов на 33,3 %; увеличилась урожайность на 28,1 % и масса плодов на 5,1 %.

**Effect of a biological product based on *Bacillus atrophaeus* on the incidence of downy mildew in gourds of the Astrakhan region**

Baubekova D.G.

Volga-Caspian Branch, All-Russian Scientific Research Institute of Fisheries and Oceanography (Caspian Fisheries Research Institute), Astrakhan,  
suslig.zenia@mail.ru

The main phytopathogenic disease for melon in recent years is downy mildew – downy mildew. The causative agent of the disease is the micromycete *Peronoplasmopara cubensis*. Leaves are affected by the disease: spots appear on their upper and lower sides, which quickly necrotic. Affected leaves curl down along the central vein and gradually dry out. Loss of foliage delays fruit set and normal fruit development. The disease on melons in favorable conditions develops very dynamically and in 10–12 days a complete loss of the crop can occur.

The purpose of the study was to study the effect of plant protection products based on *Bacillus atrophaeus* on the incidence of downy mildew in melon in arid climate.

The field experiment was carried out according to the generally accepted method of field and vegetation experiments, which lasted 5 months. To obtain the agent, the strain was cultivated on selected media of various compositions: on legume and corn–molasses bases (titer of cells and spores  $10^8$  CFU/ml). The studied sample was used to treat the experimental soil and the melon of the «Lada» variety cultivated in it. In the conducted field experiment, soils and crops treated with water were taken as control.

Samples of the agent had a positive effect on reducing the development of downy mildew of melon throughout the entire growing season studied. At the same time, the bean–based agent showed a more effective effect on reducing the development of the disease. The highest indicators of the biological effectiveness of reducing the development of peronosporosis were noted during the flowering period of the plant (33,9 %), during fruit formation (11,9 %) and during fruit ripening (5,3 %).

Significant containment of the development of peronosporosis under the influence of the agent both on legumes and on corn–molasses bases increased the yield, fruit weight, and also significantly reduced the number of diseased fruits in the crop. The data obtained in the course of the tests showed a more effective effect of the bean–based agent on the qualitative and quantitative characteristics of the cultivated crop, reducing the incidence and increasing yields compared to the control and the corn–molasses–based sample. In the course of the field experiment with melon, compared with the control values, the incidence of plants with downy mildew decreased by 33,9 % and the number of diseased fruits by 33,3 %; the yield increased by 28,1 % and fruit weight by 5,1 %.

### Исследование влияния бактерий-компонентов микробиома микроводорослей на физиологические характеристики каротиногенных микроводорослей

Бахарева Д.А., Зайцев П.А., Зайцева А.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва.

bakharevada@gmail.com

Зеленые микроводоросли широко применяются в биотехнологии как продуценты ценных веществ, например, каротиноидов. Данные вещества обладают антиоксидантной активностью и используются в косметической, пищевой промышленности и сельском хозяйстве.

Большинство микроводорослей в природных и лабораторных условиях существуют в виде сообществ с прокариотическими организмами, которые образуют их микробиом. Бактерии и микроводоросли образуют между собой различные метаболические связи, которые зачастую приводят к улучшению ростовых характеристик фототрофа и снижению контаминации, что может быть применено в биотехнологии культур микроводорослей. Целью данной работы было исследование влияния бактерий-компонентов микробиома микроводорослей на физиологические характеристики каротиногенных микроводорослей *Coelastrella rubescens* NAMSU R1 и *Halochlorella rubescens* NAMSU SBB-20.

Проведено сокультивирование культур *C. rubescens* NAMSU R1 и *H. rubescens* NAMSU SBB-20 с бактериями, выделенными из микробиома каротиногенных микроводорослей: *Arsenicitalea* sp., *Pedobacter* sp. и *Rhodococcus* sp. Культуры микроводорослей были предварительно очищены от сопутствующих бактерий с использованием совокупности методик очистки.

Оценку взаимного влияния бактерий и микроводоросли проводили с помощью анализа скорости роста микроорганизмов на основе показателей оптической плотности сокультур в течение 13 суток. Также проводили регистрацию флуоресценции хлорофилла по максимальному квантовому выходу фотосистемы II для оценки состояния микроводорослевого компонента.

По сравнению с контролем, которым являлась очищенная культура микроводоросли, не отмечено значительных изменений в характеристиках флуоресценции хлорофилла, что указывает на потенциальную совместимость выбранных культур микроорганизмов. При этом значения максимального квантового выхода были выше для культуры *H. rubescens* как в контроле, так и для сокультур. Оптическая плотность, отражающая параметры скорости роста компонентов сокультур, снижалась, потом возрастала и выходила на плато для *C. rubescens*; возрастала и выходила на плато – для *H. rubescens*.

Полученные результаты указывают на отсутствие ингибирующего эффекта бактерий на физиологические характеристики культур микроводорослей. Подтверждение положительного влияния бактерий на скорость роста и накопления биомассы микроводорослями требует дальнейших исследований.

Данная работа была поддержана грантом президента № МК-1952.2021.1.4

### Investigation of the effect of bacteria-components of the microalgae microbiome on the physiological characteristics of carotenogenic microalgae

Bakhareva D.A., Zaytsev P.A., Zaytseva A.A.

Moscow State University

bakharevada@gmail.com

Green microalgae are widely used in biotechnology as producers of valuable substances, for example, carotenoids. These substances have antioxidant activity and are used in the cosmetic, food industry and agriculture.

Microalgae in natural and laboratory conditions mostly exist in the form of communities with prokaryotic organisms that form their microbiome. Bacteria and microalgae form various metabolic connections between each other, that often lead to the improvement in the growth characteristics of the phototrophe and the decrease in contamination, which can be applied in the biotechnology of microalgae cultures. The aim of this work was to study the effect of bacteria-components of the microalgae microbiome on the physiological characteristics of carotenogenic microalgae *Coelastrella rubescens* NAMSU R1 and *Halochlorella rubescens* NAMSU SBB-20.

The cultures of *C. rubescens* NAMSU R1 and *H. rubescens* NAMSU SBB-20 were co-cultured with bacteria isolated from the microbiome of carotenogenic microalgae: *Arsenicitalea* sp., *Pedobacter* sp. and *Rhodococcus* sp. Microalgae cultures were previously purified from concomitant bacteria using a set of purification techniques.

The mutual influence of bacteria and microalgae was assessed by analyzing the growth rate of microorganisms based on the optical density of the co-cultures for 13 days. Chlorophyll fluorescence was also recorded by the maximum quantum yield of photosystem II to assess the state of the microalgae component.

Compared with the control, which was a purified culture of microalgae, there were no significant changes in the characteristics of chlorophyll fluorescence, which indicates the potential compatibility of the selected cultures of microorganisms. At the same time, the values of the maximum quantum yield were higher for the *H. rubescens* culture both in the control and for co-cultures. The optical density reflecting the parameters of the growth rate of the components of the co-cultures decreased, then increased and reached a plateau for *C. rubescens*; increased and reached a plateau for *H. rubescens*.

The results indicate the absence of an inhibitory effect of bacteria on the physiological characteristics of microalgae cultures. Confirmation of the positive effect of bacteria on the growth rate and accumulation of biomass by microalgae requires for further research.

This work was supported by Presidential grant No. MK-1952.2021.1.4

**Агробиологические аспекты длительного использования целлюлозолитического микромицета *Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016 в зернопаропропашном севообороте**

Безлер Н.В., Черепухина И.В., Колесникова М.В.

ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова"  
bezler@list.ru

Во Всероссийском научно-исследовательском институте сахарной свёклы и сахара им А.Л. Мазлумова в 2001 г. выделен в чистую культуру аборигенный штамм целлюлозолитического микромицета (*Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016 патент № 2675311). Многолетними исследованиями доказано, что его использование приводит к ускорению разложения соломы озимой пшеницы на 50 %, ячменя – на 56%. С 2011 г. был заложен многолетний полевой опыт, который в 2018 г. внесен в реестр Географической сети опытов с удобрениями и другими агрохимическими средствами (№ 168). В опыте проводят ежегодную запашку соломы озимой пшеницы и ячменя в зернопаропропашном севообороте соответственно чередованию культур: пар–озимая пшеница–сахарная свекла–ячмень. Почва опытного участка – чернозем выщелоченный тяжелосуглинистый малогумусный на покровных лессовидных суглинках. Схема опыта: 1 – контроль (без внесения соломы), 2 – солома озимой пшеницы и ячменя, 3 – солома + (N 40 кг д.в./га), 4 – солома + 40 кг д.в./га + *Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016 + ПД). Технология возделывания сахарной свеклы – общепринятая в Центрально-черноземном регионе (ЦЧР). Фоновое внесение удобрений не предусмотрено. Внесённая солома совместно с азотом, *Humicola fuscoatra* и ПК способствовала повышению численности целлюлозолитических микроорганизмов в почве до 3,40 млн. КОЕ в 1 г а.с.п. (контроль – 1,91, эталон солома – 0,58, второй эталон с использованием азота – 1,49); зимогенной микрофлоры – на 23-35 %, diazotрофов – в 5,9-8,9 раза, *Azotobacter chroococcum* – на 23-43 % соответственно. Благодаря росту численности diazotрофов, возросло накопление щелочногидролизуемого азота в слое 0-30 см до 29,4 мг в 100 г почвы (в контроле 12,5). Увеличение численности фосфобактерий в почве в 2,4-2,8 раза оптимизировало фосфорное питание растений. Запашка соломы совместно с азотом (40 кг д.в./га), ПК и *H. fuscoatra* ВНИИСС 016 активизировала микробное сообщество почвы, способствуя повышению потенциального плодородия. За 2012-2021 содержание гумуса в почве повысилось на 0,7 % (в контроле 5,2), снизилась кислотность почвенного раствора и стабилизировались физико-химические свойства почвы. В результате в среднем за 2012-2021 гг. урожайность сахарной свеклы увеличилась до 33,9 т/га (контроль – 25,6, эталон солома – 26,1, второй эталон использование азота – 29,2). Урожайность озимой пшеницы после использования с соломой *H. fuscoatra* ВНИИСС 016, азота (40 кг д.в./га) и ПК повышалась на 10,1 ц/га (контроль – 25,1, эталон – 26,5, второй эталон – 30,2), а ячменя – на 6,1 ц/га (контроль – 17,0, эталон – 18,1, второй эталон – 17,8).

**Agro-biological aspects of long-term use of *Humicola fuscoatra* VNISS 016 cellulolytic micromycete in a grain-arable crop rotation**

Bezler N.V., Cherepukhina I.V., Kolesnikova M.V.

Federal State Budgetary Scientific Institution "The A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar", Voronezh  
bezler@list.ru

In 2001, a cellulolytic micromycete indigenous strain (*Humicola fuscoatra* VNISS 016 patent No. 2675311) has been isolated as pure culture in the A.L. Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar. It has been proved by investigations of many years that its use leads to acceleration of decomposing by 50 % for winter wheat straw, and by 56 % for barley. Started since 2011, a long-term field experiment has been registered in the list of Geographical network of experiments with fertilizers and other agrochemical methods (No. 168) in 2018. In the experiment, every year plowing in of winter wheat and barley straw is carried out in a grain-arable crop rotation according to the crop alternation: fallow – winter wheat – sugar beet – barley. Soil of the experimental plot is heavy-loamy low-humic leached chernozem over loess-like loam. The experiment scheme is: 1 – control (without application of straw), 2 – straw of winter wheat and barley, 3 – straw + N (40 kg of active substance/ha), 4 – straw + N (40 kg of active substance/ha) + *Humicola fuscoatra* VNISS + nutrient additive (NA). Sugar beet cultivation technology is common for the Central Black-Earth Region (CBER). Background application of fertilizers is not provided. The straw applied together with nitrogen, *Humicola fuscoatra* and NA favoured increase of cellulolytic microorganisms' numbers in soil up to 3.40 million of colony-forming units in 1 g of absolutely dry soil (1.91 for the control, 0.58 for the first standard – straw, and 1.49 for the second standard – straw + nitrogen). Number of zymogen microflora became more by 23-35 %, the one of diazotrophs showed 5.9-8.9-fold increase, and *Azotobacter chroococcum* number increased by 23-43 %. Due to increase of diazotroph numbers, accumulation of alkali-hydrolyzable nitrogen in the layer of 0-30 cm improved up to 29.4 mg in 100 g of soil (12.5 in the control). 2.4-2.8-fold increase of phosphobacteria numbers in soil optimized phosphorus nutrition of plants. The straw plowing in together with nitrogen (40 kg of active substance/ha), NA and *H. fuscoatra* VNISS 016 activated the soil microbial community promoting improvement of potential fertility. From 2012 to 2021, humus content in soil increased by 0.7 % (by 5.2 in the control), acidity of soil solution reduced, and physical and chemical properties of soil were stabilized.

As a result, sugar beet productivity increased up to 33.9 t/ha on average during 2012-2021 (25.6 t/ha for the control, 26.1 t/ha for the first standard – straw, 29.2 t/ha for the second standard – nitrogen application). Winter wheat yield after using *H. fuscoatra* VNISS 016, nitrogen (40 kg of active substance/ha) and NA with straw increased by 10.1 centner/ha (25.1 centner/ha for the control, 26.5 centner/ha for the first standard, and 30.2 centner/ha for the second standard); the barley yield improved by 6.1 centner/ha (17.0 centner/ha for the control, 18.1 centner/ha for the first standard, and 17.8 centner/ha for the second standard).

### Роль ризобактерий в устойчивости растений к алюминию

<sup>1</sup>Белимов А.А., <sup>1</sup>Шапошников А.И., <sup>1</sup>Азарова Т.С., <sup>1</sup>Сырова Д.С., <sup>1</sup>Ульянич П.С., <sup>1</sup>Юзихин О.С., <sup>1</sup>Сексте Э.А.,  
<sup>1</sup>Сафронова В.И., <sup>1</sup>Китаева А.Б., <sup>2</sup>Соколова Д.В., <sup>2</sup>Вишнякова М.А., <sup>1,3</sup>Тихонович И.А.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.

<sup>2</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург.

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург.

[belimov@rambler.ru](mailto:belimov@rambler.ru)

Высокая кислотность почв является одним из основных неблагоприятных почвенных факторов, ингибирующих рост и минеральное питание растений. Это во многом обусловлено токсичностью ионов алюминия (Al<sup>3+</sup>), подвижность которых существенно возрастает в кислых почвах. Корни растений находятся в тесном контакте с почвенными микроорганизмами и образуются различного типа симбиозы. Симбиотические микроорганизмы обладают широким спектром полезных для растений свойств, включая фиксацию атмосферного азота, стимуляцию ростовых процессов биологически активными веществами и мобилизацию питательных элементов в ризосфере. Защитный эффект ризобактерий от таких абиотических стрессовых факторов как засуха, засоление и токсичные металлы многократно описан в литературе. В этом докладе обсуждаются механизмы положительного действия ризобактерий на растения при действии низких значений pH среды и токсичных концентраций ионов Al<sup>3+</sup>. К таким механизмам относятся подщелачивание ризосферы, иммобилизация и биосорбция токсиканта, регуляция корневой экссудации и гормонального статуса растений и улучшение потребления питательных элементов корнями. Работа поддержана проектами РФФИ (19-16-00097) и Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2020-920 от 16.11.2020, НЦМУ «Агротехнологии будущего»).

### The role of rhizobacteria in plant resistance to aluminum

<sup>1</sup>Belimov A.A., <sup>1</sup>Shaposhnikov A.I., <sup>1</sup>Azarova T.S., <sup>1</sup>Syrova D.S., <sup>1</sup>Ulyanich P.S., <sup>1</sup>Yuzikhin O.S., <sup>1</sup>Sekste E.A., <sup>1</sup>Safronova V.I., <sup>1</sup>Kitaeva A.B., <sup>2</sup>Sokolova D.V., <sup>2</sup>Vishnyakova M.A., <sup>1,3</sup>Tikhonovich I.A.

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint Petersburg.

<sup>2</sup>FRC All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N.I. Vavilov, Saint Petersburg.

<sup>3</sup>Saint Petersburg State University, Saint Petersburg.

[belimov@rambler.ru](mailto:belimov@rambler.ru)

High soil acidity is one of the main unfavorable soil factors that inhibit the growth and mineral nutrition of plants. This is largely due to the toxicity of aluminum ions (Al<sup>3+</sup>), the mobility of which increases significantly in acidic soils. Plant roots are in close contact with soil microorganisms and various types of symbiosis are formed. Symbiotic microorganisms have a wide range of beneficial properties for plants, including the fixation of atmospheric nitrogen, stimulation of growth processes by biologically active substances, and the mobilization of nutrients in the rhizosphere. The protective effect of rhizobacteria against such abiotic stress factors as drought, salinity, and toxic metals has been repeatedly described in the literature. This report discusses the mechanisms of positive effects of rhizobacteria on plants under the influence of low pH values and toxic Al<sup>3+</sup> concentrations. These mechanisms include alkalization of the rhizosphere, immobilization and biosorption of the toxicant, regulation of root exudation and hormonal status of plants, and improvement of nutrient uptake by roots. The work was supported by the Russian Science Foundation (19-16-00097) and the Ministry of Education and Science of Russia (agreement No. 075-15-2020-920, 16.11.2020, National Center for "Agricultural Technologies of the Future").



**Новые перспективные антисептики, обладающие фунгицидной активностью**

Беловежец Л.А., Ганенко Т.В., Кузнецова В.Е., Матвеева Е.А., Самульцев Д.О.

ФБГУН Иркутский институт химии СО РАН, Иркутск

lyu-sya@yandex.ru

Древесина в настоящее время остается одним из наиболее популярных и доступных материалов многопрофильного назначения. Но с течением времени изделия из древесины неминуемо подвергаются деградации и разрушению, в которых большую роль играет явление биокоррозии. Биоповреждения наносят огромный экономический ущерб, который исчисляется десятками миллиардов рублей в год.

Ключевым моментом в сфере решения вопроса биоразрушения древесины микроорганизмами является поиск и разработка новых высокоэффективных и безопасных для человека и окружающей среды антисептиков. Мы исследовали фунгициды, относящиеся к двум классам химических соединений – Cu-содержащий полимер (ликуприл), синтезированный в ИрИХ СО РАН, и четвертичные аммониевые соли (ЧАС). В качестве метода скрининга использовали метод тест-полосок.

Показано, что лучшие результаты отмечены для ЧАС. Исключения (слабое подавление роста *F. pinicola* и Т. 1) лишь подтверждают общую тенденцию. Ликуприл, показавший хорошие результаты по защите от обрастания плешек из древесины, в данном эксперименте был активен лишь против *T. versicolor*. Такое расхождение данных мы связываем с тем, что ликуприл хорошо адсорбируется на древесине, тем самым оказывая защитное действие за счет физико-химических взаимодействий. Вероятно, эти его свойства препятствуют диффузии в агар, что не дает возможности проявления фунгицидных свойств.

Способность фунгицидов защищать древесину от растрескивания важна для снижения заражения материала спорами микроскопических грибов через трещины. Это достигается созданием на поверхности спилов пленки действующего вещества, препятствующей потере влаги. Для определения активности соединений против растрескивания спилов древесины сосны диаметром 15 см и толщиной 1.5 см обрабатывались соответствующим раствором и оставлялись на воздухе при комнатной температуре на 3 недели. Затем определяли потерю массы и визуально оценивали количество крупных и мелких трещин на поверхности спила. Полученные данные свидетельствуют, что большинство соединений не оказывает эффекта по сравнению с контролем. Исключение составляет ликуприл, который снижает потери влаги из спилов древесины. Такие результаты могут говорить о способности вещества надежно закрепляться, создавать защитную пленку на поверхности материала, препятствуя излишнему испарению влаги и усыханию древесины, а также о более долгосрочном эффекте своего действия, что выгодно отличает этот антисептик от других исследованных.

Таким образом, нами получены данные, позволяющие предполагать, что ликуприл может быть использован в качестве антисептика для древесины, особенно при длительном хранении неокоренных стволов.

**New promising antiseptics with fungicidal activity**

Belovezhets L.A., Ganenko T.V., Kuznetsova V.E., Matveeva E.A., Samultsev D.O.

Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, Irkutsk

lyu-sya@yandex.ru

Wood currently remains one of the most popular and affordable materials for multidisciplinary purposes. But over time, wood products inevitably undergo degradation and destruction, in which the phenomenon of biocorrosion plays an important role. Bio-damages cause huge economic damage, which amounts to tens of billions of rubles a year.

The key point in solving the issue of biodegradation of wood by microorganisms is the search and development of new highly effective and safe antiseptics for humans and the environment. We studied fungicides belonging to two classes of chemical compounds – a Cu-containing polymer (lycupril) synthesized in the Institute of Chemistry SB RAS, and quaternary ammonium salts (QAC). The test strips method was used as a screening method.

It is shown that the best results are marked for the QAC. Exceptions (weak suppression of *F. pinicola* growth, T. 1) only confirm the general trend. Lycupril, which showed good results in protecting against fouling of wood dies, was active only against *T. versicolor* in this experiment. We attribute this discrepancy to the fact that lycupril is well adsorbed on wood, thereby exerting a protective effect due to physico-chemical interactions. Probably, these properties prevent its diffusion into the agar, which does not allow the manifestation of fungicidal properties.

The ability of fungicides to protect wood from cracking is important to reduce contamination of the material with microscopic fungal spores through cracks. This is achieved by creating a film of the active substance on the surface of the cuts that prevents moisture loss. To determine the activity of compounds against cracking, pine wood cuts with a diameter of 15 cm and a thickness of 1.5 cm were treated with an appropriate solution and left in the air at room temperature for 3 weeks. Then the mass loss was determined and the number of large and small cracks on the sawn surface was visually assessed. The data obtained indicate that most compounds have no effect compared to the control. The exception is likupril, which reduces moisture loss from wood cuts. Such results may indicate the ability of the substance to be securely fixed, to create a protective film on the surface of the material, preventing excessive evaporation of moisture and drying of wood, as well as a longer-term effect of its action, which distinguishes this antiseptic from other studied.

Thus, we have obtained data suggesting that likupil can be used as an antiseptic for wood, especially during long-term storage of unrooted trunks.

### The influence of rhizobacteria on the formation of productivity of wheat in the conditions of the Left Bank of the Saratov region

<sup>1</sup>Belyaeva A.A., <sup>1</sup>Ter-Sarkisova L.A., <sup>1</sup>Tkachenko O.V., <sup>1,2</sup>Burygin G.L., <sup>2</sup>Evseeva N.V.

<sup>1</sup>Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, FRC Saratov Scientific Centre of RAS, Saratov  
[belyaevaanna29@yandex.ru](mailto:belyaevaanna29@yandex.ru)

The search and evaluation of the activity of rhizosphere bacteria in relation to agricultural crops is the most important criterion for the selection of promising strains for the creation of commercial biological products based on them. In the arid conditions of the Lower Volga region, the value of bacterial preparations may increase due to the low availability of mineral fertilizers in conditions of lack of moisture.

The effectiveness of rhizospheric bacterial strains of various taxonomic groups was studied under rain conditions at the experimental field of the Saratov State Agrarian University, located in the Engels district of the Saratov region. The predominant type of soil is dark chestnut. The object of research was a cultivars of winter soft wheat (*Triticum aestivum* L.) Novoershovskaya. Seeds before sowing were inoculated with suspensions of bacterial strains *Azospirillum baldaniorum* Sp245, *Azospirillum brasilense* Sp7, *Azospirillum brasilense* SR80, *Azospirillum brasilense* SR88, *Azospirillum brasilense* Cd, *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, *Pseudomonas chlororaphis* K3, *Enterobacter cloacae* K7. The concentration of cells in the suspension was  $10^8$  cells/ml.

Bacterial strains were obtained from the collection of rhizospheric microorganisms of the IBPPM RAS (WDCM No. 1021; <http://collection.ibppm.ru>).

The area of the experimental plots was 25 m<sup>2</sup>, the repetition was fourfold. Records and observations were carried out according to generally accepted methods. According to the main phases of plant development, the following calculations were carried out in each variant: the dates of the onset of the phases of plant development, the density of plant standing, plant height, leaf area, total and productive bushiness were established by taking plant samples from sites of 0.25 m<sup>2</sup>.

Inoculation of seeds with various strains of rhizospheric bacteria led to an increase in plant height by 2-16% compared to the control. In the variants with treatment with strains of bacteria *A. baldaniorum* Sp245, *A. brasilense* SR88, plant growth significantly increased in comparison with the control and other treatment options.

According to the data of the dispersion analysis, an excess of the leaf area control by 20-33% was observed in variants with treatment with *A. baldaniorum* Sp245, *A. brasilense* Sp7, *A. brasilense* SR80, *A. brasilense* SR88, *O. cytisi* IPA7.2, *E. cloacae* K7. The maximum value of the net productivity of photosynthesis was reached in the variant with the strain *A. brasilense* SR80. In the variants with inoculation with strains *A. brasilense* SR88 and *E. cloacae* K7, the area of the assimilation apparatus was significantly higher compared to other variants, but the net productivity of photosynthesis was lower.

The analysis of the productivity of winter wheat plants showed that in variants using strains *A. baldaniorum* Sp245, *A. brasilense* Sp7, *A. brasilense* SR80, *A. brasilense* SR88, *O. cytisi* IPA7.2, *E. cloacae* K7, the grain weight per plant was significantly higher compared to the control. In the variants with treatment with *P. chlororaphis* K3 and *A. brasilense* Cd strains, no significant differences were observed in comparison with the control.

A close correlation has been established between the productivity of the plant, the leaf area from the plant and the net productivity of photosynthesis (NPP). The multiple correlation coefficient is equal to  $R=0.971$ . The linear multiple regression equation is determined by the following dependence  $y=-1.542+0.0348x+0.0038z + 0.7041s$  ( $F_f=27.67$ ;  $F_{0.05}=5.41$ ), where  $y$  is the grain mass from the plant, g;  $x$  is the leaf area from the plant, cm<sup>2</sup>;  $z$  is the area of the flag sheet, cm<sup>2</sup>;  $s$  – NPP, g/cm<sup>2</sup>day.

Thus, the formation of high productivity of winter wheat was significantly influenced by inoculation of seeds with strains of rhizobacteria *A. baldaniorum* Sp245, *A. brasilense* Sp7, *A. brasilense* SR80, *A. brasilense* SR88, *O. cytisi* IPA7.2, *E. cloacae* K7. The productivity of winter wheat in these experimental variants depended by 94.3% on the leaf area of the entire plant, the area of the flag leaf and the net productivity of photosynthesis. The studied strains can be used to create effective biological products to increase the productivity of winter wheat in the conditions of the Lower Volga region.

### Рост корней трансгенных растений табака, экспрессирующих ген *PtrXTH1* в условиях абиотических стрессов

Бережнева З.А., Кулуев Б.Р.  
Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа  
berezhneva-z@yandex.ru

Ксилоглюканэндотрансгликозилазы (XTHs) — гидролитические ферменты, локализующиеся в апопласте, они необходимы растениям для осуществления реакции трансгликозилирования и расщепления связующих гликанов в процессах деления и роста клеток. Гены XTHs играют важную роль в ответе на действие абиотических стресс-факторов, таких как засоление, гипотермия и тяжелые металлы, на растительный организм. Нами ранее были получены трансгенные растения табака со сверхэкспрессией гена ксилоглюканэндотрансгликозилазы *PtrXTH1*, а данная работа посвящена морфологическому анализу их корней.

Морфометрический анализ корней проводился на трансгенных растениях табака второго поколения после проращивания в климатостатах Binder при температуре 25°C, освещенности 140 мкмоль/(м<sup>2</sup>с) и фотопериоде 16/8 часов (свет/темнота) на питательной среде МС. После 10 дней проращивания на селективной среде с антибиотиком гигромицином проростки табака с одинаковыми размерами корней переносили на вертикально-ориентированные чашки Петри со средой МС, в которых имитировали стрессовые условия: засоление 50 и 100 мМ, влияние CdAc в концентрациях 200 и 400 мкМ. Нормальные условия и гипотермия +12°C варьировались изменением температуры в климатостате. Измерение длины корней трансгенных растений проводили перед началом эксперимента и после 10 дней опыта. При оценке результатов эксперимента учитывался только прирост корней за время эксперимента. В качестве контрольных образцов были взяты растения *N. tabacum* сорта Petit Havana линии SR1 дикого типа.

Прирост корней был проанализирован у 4 линий трансгенных растений табака. При нормальных условиях достоверное увеличение длины корней по сравнению с диким типом было выявлено у трех линий. Оценка прироста корней при гипотермии +12°C и влиянии 200 мкМ CdAc показала, что длина по сравнению с диким типом была больше у всех исследуемых трансгенных линий. При выращивании растений на среде МС с добавлением 50 мМ NaCl увеличение длины корней по сравнению с диким типом было обнаружено у двух линий, а при концентрации 100 мМ – у трех линий. При действии 400 мкМ ацетата кадмия более быстрыми темпами роста корней по сравнению с диким типом характеризовались две линии трансгенных растений.

Таким образом, ген *PtrXTH1* повышал устойчивость растений табака со сверхэкспрессией данного трансгена в условиях засоления при концентрации 100 мМ, гипотермии +12°C и влияния кадмия в концентрации 200 мкМ. Таким образом, XTHs оказывают стимулирующее действие на рост корней как в нормальных, так и стрессовых условиях.

### Root growth of transgenic tobacco plants expressing the *PtrXTH1* gene under abiotic stress conditions

Berezhneva Z.A., Kuluev B.R.  
Institute of biochemistry and genetic UFRS RAS, Ufa  
berezhneva-z@yandex.ru

Xyloglucan endotransglycosylases (XTHs) are hydrolytic enzymes localized in the apoplast, they are necessary for plants to carry out the transglycosylation reaction and cleavage of binding glycans in the regulation of cell division and expansion. XTH genes play an important role in the influence of abiotic factors such as salinity, hypothermia and heavy metals on the plant organism. We have previously obtained transgenic tobacco plants with overexpression of the gene of xyloglucan endotransglycosylase *PtrXTH1* and this work is devoted to the morphophysiological analysis of their roots

Morphometric analysis of the roots was carried out on transgenic tobacco plants of the second generation after germination in Binder growth chambers at a temperature of 25°C, illumination of 140 mmol/(m<sup>2</sup>c) and a photoperiod of 16/8 hours (light/dark) on MS nutrient medium. After 10 days of germination on a selective medium with the hygromycin, tobacco seedlings with the same root sizes were transferred to vertically oriented Petri dishes with MS medium, in which stress conditions were simulated: salinity of 50 and 100 mM, CdAc effect at concentrations of 200 and 400 μM. Normal conditions and hypothermia +12°C varied only by temperature changes in the growth chamber. The measurement of the root length of transgenic plants was carried out before the start of the experiment and after 10 days of experience. When evaluating the results of the experiment, only the growth of roots during the experiment was taken into account. As control samples, *N. tabacum* plants of the Petit Havana variety of the SR1 wild type line were taken.

Root growth was analyzed in 4 lines of transgenic tobacco plants. Under normal conditions, a significant increase in root length compared to the wild type was found in three lines. Evaluation of root growth with hypothermia +12°C and the influence of 200 μM CdAc showed that the length increases in comparison with the wild type in all the studied lines. When growing plants on MS medium with the addition of 50 mM NaCl, an increase in root length compared to the wild type was found in two lines, and at a concentration of 100 mM – in the three lines. Under the action of 400 μM of cadmium acetate, two lines of transgenic plants were characterized by faster root growth rates compared to the wild type.

Thus, the *PtrXTH1* gene increased the resistance of tobacco plants with overexpression of this transgene under salinity conditions at a concentration of 100 mM, hypothermia +12°C and the influence of 200 μM CdAc. Xyloglucan endotransglycosylases have a stimulating effect on root growth under conditions of abiotic stress factors by enhancing cell expansion.

### Скрининг микроорганизмов ризосферной почвы, обладающих способностью к образованию биосурфактантов

Бикташева Л.Р., Гордеев А.С., Галиева Г.Ш., Галицкая П.Ю.  
Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань  
[biktasheval@mail.ru](mailto:biktasheval@mail.ru)

Биосурфактанты, являющиеся природными поверхностно-активными веществами, представляют интерес с точки зрения их использования в различных областях, таких как борьба с фитопатогенами растений, усиление добычи сырой нефти, изготовление бытовой химии и лекарственных препаратов. Биосурфактанты в сельском хозяйстве могут применяться в качестве адъювантов совместно с пестицидами (заменяя токсичные синтетические ПАВ), в качестве агентов биоконтроля для подавления роста грибковых патогенов растений, а также в качестве удобрений улучшающих свойства почв. Достоинствами применения биосурфактантов в сельском хозяйстве является их безопасность для окружающей среды, а также родственность микробному сообществу почвы. Использование биосурфактантов в области повышения нефтедобычи, обусловлено их способностью сокращать межфазное натяжение между нефтью и породой, а, следовательно, и уменьшать капиллярные силы. В связи с большим интересом к применению биосурфактантов разработка и поиск эффективных биосурфактантов и их продуцентов продолжается. Многие живые организмы способны к получению биосурфактантов, это и грибы, водоросли и высшие растения. Наибольшим разнообразием типов биосурфактантов, однако характеризуются бактерии. Целью данной работы стал скрининг микроорганизмов, обладающих способностью к образованию биосурфактантов. Микроорганизмы были выделены из ризосферной зоны салата *Lactuca sativa* в незагрязненной и загрязненной нефтью почвы. Эмульгирующая активность биосурфактантов выбранных штаммов оценивалась с помощью метода E24, по высоте эмульгирующего слоя. В образцах незагрязненных почв было отобрано 12 штаммов, обладающих способностью к образованию биосурфактантов. А в образцах нефтезагрязненных почв – 27 штаммов. Наиболее эффективными были 5 штаммов из незагрязненной почвы и 13 штаммов из загрязненной почвы, эмульгирующая активность которых достигала 80%. Полученные биосурфактанты были охарактеризованы методом разделения с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ). Результаты окрашивания разных функциональных групп показали, что большинство полученных биосурфактантов штаммов незагрязненной почвы относились к типу липопептидов, в загрязненной почве были обнаружены преимущественно биосурфактанты группы гликолипидов. Выбранные штаммы будут далее исследоваться в целях их возможного использования в сельском хозяйстве и интенсификации добычи нефти.

### Screening of rhizosphere soil microorganisms with the ability to synthesize biosurfactants

Biktasheva L.R., Gordeev A.S., Galieva G.Sh., Galitskaya P.Yu.  
Kazan Federal University, Kazan  
[biktasheval@mail.ru](mailto:biktasheval@mail.ru)

Biosurfactants, which are natural surfactants, are of interest from the point of view of their use in various fields, such as the control of plant pathogens, the enhancement of crude oil production, the manufacture of household chemicals and medicines. Biosurfactants in agriculture can be used as adjuvants with pesticides (replacing toxic synthetic surfactants), as biocontrol agents to suppress the growth of fungal plant pathogens, and as fertilizers to improve soil properties. The advantages of using biosurfactants in agriculture are their safety for the environment, as well as their affinity to the microbial community of the soil. The use of biosurfactants in the field of increasing oil production is due to their ability to reduce interfacial tension between oil and rock, and, consequently, to reduce capillary forces. Due to the great interest in the use of biosurfactants, the development and search for effective biosurfactants and their producers continues. Many living organisms are capable of producing biosurfactants, including fungi, algae, and higher plants. The greatest variety of types of biosurfactants, however, is characterized by bacteria.

The purpose of this work was the screening of microorganisms with the ability to form biosurfactants. Microorganisms were isolated from the rhizosphere zone of *Lactuca sativa* lettuce in uncontaminated and oil-contaminated soil. The emulsifying activity of the biosurfactants of the selected strains was evaluated using the E24 method, according to the height of the emulsifying layer. In samples of uncontaminated soils, 12 strains with the ability to form biosurfactants were selected. And in samples of oil-contaminated soils - 27 strains. The most effective were 5 strains from uncontaminated soil and 13 strains from contaminated soil, the emulsifying activity of which reached 80%. The resulting biosurfactants were characterized by thin layer chromatography (TLC). The results of staining of different functional groups showed that most of the obtained biosurfactants of the uncontaminated soil strains belonged to the type of lipopeptides; in the contaminated soil, biosurfactants of the glycolipid group were found predominantly. The selected strains will be further investigated for their possible use in agriculture and enhancement of oil production.

**Изучение таксономического состава бактериального компонента микробиома сортов земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.) в условиях Московской области**

<sup>1</sup>Бобкова В.В., <sup>1</sup>Коновалов С.Н., <sup>2</sup>Чеботарь В.К.

<sup>1</sup> Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства, г. Москва

<sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.  
vstisp.agrochem@yandex.ru

Изучены культивируемые на твёрдых питательных средах формы эндофитных бактерий, выделенные из органов растений земляники садовой (*Fragaria x ananassa* Duch.) сортов различного эколого-географического происхождения (Юния Смайдс, Троицкая, Витязь, Дукат, Алба, Царица, Зенга-Зенгана, Русич, Хоней, Наше Подмоскovie и др.) в коллекционных плодоносящих насаждениях ФГБНУ ФНЦ Садоводства, расположенных в Московской области, и исследован таксономический состав бактериального компонента микробиома растительных тканей методом высокопроизводительного метагеномного секвенирования на платформе Illumina (работа проводилась с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ). Результаты исследований показали, что преобладающим родом эндофитных бактерий в составе микробиомов органов растений земляники садовой является *Paucibacter*, также встречаются *Bacillus*, *Methylobacterium-Methylorubrum*, *Sphingomonas*, *Acinetobacter*, *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Lawsonella*, *Actinomyces* и др. Общее количество родов эндофитных бактерий в надземных органах растений в плодоносящих насаждениях по сортам составляет 13-49. Наибольшим разнообразием таксономического состава бактериального компонента микробиома растительных тканей земляники садовой отличаются сорта Юния Смайдс, Русич, Наше Подмоскovie, меньшим – сорта Троицкая, Дукат, Царица. В культуре *in vitro* изученных сортов земляники садовой преобладает *Paucibacter*, встречаются *Sphingomonas*, *Bradyrhizobium*, *Phenylobacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Cutibacterium*, *Corynebacterium*. Общее количество таксонов бактериального компонента микробиома растительных тканей в культуре *in vitro* составляет 8-26. Культивируемые на твёрдых питательных средах формы эндофитных микроорганизмов, выделенные из органов растений земляники садовой, представлены родами *Bacillus* – до 60000 КОЕ/г, *Agrobacterium* – до 21000 КОЕ/г, *Bacillus* – до 1200 КОЕ/г, *Xanthomonas* – до 150 КОЕ/г.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ, проект № 20-016-00201/21

**Study of the Taxonomic Composition of the Bacterial Component of the Microbiome of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) Varieties in the Moscow Region**

<sup>1</sup>Bobkova V.V., <sup>1</sup>Kononov S.N., <sup>2</sup>Chebotar V.K.

<sup>1</sup> Federal Horticultural Research Center for Breeding, Agrotechnology and Nursery, Moscow.

<sup>2</sup>All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg.

vstisp.agrochem@yandex.ru

Forms of endophytic bacteria cultivated on solid nutrient media isolated from plant organs of garden strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) varieties of various ecological and geographical origins (Yunia Smides, Troitskaya, Vityaz, Dukat, Alba, Tsaritsa, Zenga-Zengana, Rusich, Khonei) were studied. , Our suburbs, etc.) in the collection of fruit-bearing plantations of the Federal State Budget Scientific Institution of the Federal Scientific Center for Horticulture, located in the Moscow region, and studied the taxonomic composition of the bacterial component of the microbiome of plant tissues by high-throughput metagenomic sequencing on the Illumina platform (The research was done using equipment of the Core Centrum 'GenomicTechnologies, Proteomics and Cell Biology' in ARRIAM). The results of the research showed that the predominant genus of endophytic bacteria in the microbiomes of garden strawberry plants is *Paucibacter*; organs of plants in fruit-bearing plantations by varieties is 13-49. The highest diversity of the taxonomic composition of the bacterial component of the microbiome of plant tissues of garden strawberry is distinguished by the varieties Yunia Smoids, Rusich, Nashe Podmoskovye, and the varieties Troitskaya, Dukat, and Tsaritsa are less diverse. *Paucibacter* prevails in the *in vitro* culture of the studied garden strawberry varieties, *Sphingomonas*, *Bradyrhizobium*, *Phenylobacterium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Cutibacterium*, *Corynebacterium* are found. The total number of taxa of the bacterial component of the microbiome of plant tissues in *in vitro* culture is 8-26. Forms of endophytic microorganisms cultivated on solid nutrient media isolated from garden strawberry plant organs are represented by the genera *Bacillus* - up to 60000 CFU/g, *Agrobacterium* - up to 21000 CFU/g, *Bacillus* - up to 1200 CFU/g, *Xanthomonas* - up to 150 CFU/g. The work was supported by RFBR grant 20-016-00201/21.

### Характеристика бактериальных эндофитных сообществ сортов яблони домашней (*Malus domestica*) при выращивании на дерново-подзолистой почве

<sup>1</sup>Бобкова В.В., <sup>1</sup>Коновалов С.Н., <sup>2</sup>Чеботарь В.К.

<sup>1</sup> Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства, г. Москва

<sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.  
vstisp.agrochem@yandex.ru

Эндофитные бактерии имеют важное значение для роста, развития, плодоношения, адаптивности многолетних садовых растений, так как обладают ростстимулирующими, фунгицидными, другими полезными свойствами. Таксономический состав эндофитных сообществ яблони домашней различается по районам выращивания, зависит от типа, уровня плодородия почвы, от применяемой технологии возделывания, подвоя, сорта. Нами проведено изучение культивируемых на твердых питательных средах форм эндофитных бактерий, выделенных из органов (листья, корни, цветки) растений и плодов сортов яблони домашней (*Malus domestica*) различного эколого-географического происхождения (Мелба, Лобо, Антоновка, Маяк Загорья, Спартан, Болотовское, Орлик, Триумф, Останкино, Президент и др.) в коллекционных плодоносящих насаждениях ФГБНУ ФНЦ Садоводства, расположенных в Ленинском районе Московской области на дерново-подзолистых почвах, и исследование таксономического состава бактериального компонента микробиома растительных тканей методом высокопроизводительного метагеномного секвенирования на платформе Illumina (работа проводилась с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ). Результаты свидетельствуют о том, что преобладающими родами эндофитных бактерий в составе микробиомов органов растений яблони домашней являются *Paucibacter*, *Methylobacterium-Methylorubrum*, *Pseudomonas*. Общее количество родов в надземных органах растений по сортам составляет 1-10. В плодах разнообразие таксонов эндофитных бактерий сортов Мелба, Антоновка, Маяк Загорья, Спартан, Болотовское, в 1,5-20 раз выше и представлено родами *Paucibacter*, *Cutibacterium*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *uncl. Micrococcaceae Gordonia* и др. У сортов Орлик, Лобо количество таксонов эндофитных бактерий в плодах ниже, чем в листьях и может ограничиться *Paucibacter*. В корнях яблони домашней таксономический состав бактериального компонента микробиома качественно и количественно отличается от плодов и надземных органов. Помимо рода *Paucibacter* в корнях яблони домашней присутствуют *Bradyrhizobium*, *Amicolatopsis*, *Frankia*, *Mycobacterium*, *Nocardioides*, *Dongia*, и др. Количество таксонов в составе бактериального компонента микробиома в корнях яблони домашней по сортам и подвоям достигает 54-70.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ, проект № 20-016-00201/21

### Characterization of bacterial endophytic communities of apple varieties when grown on soddy-podzolic soil

<sup>1</sup>Bobkova V.V., <sup>1</sup>Konvalov S.N., <sup>2</sup>Chebotar V.K.

<sup>1</sup> Federal Horticultural Research Center for Breeding, Agrotechnology and Nursery, Moscow.

<sup>2</sup>All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg.

vstisp.agrochem@yandex.ru

Endophytic bacteria are important for the growth, development, fruiting, adaptability of perennial garden plants, as they have growth-stimulating, fungicidal, and other useful properties. The taxonomic composition of endophytic communities of the domestic apple tree differs by growing areas, depends on the type, level of soil fertility, on the applied cultivation technology, rootstock, variety. We have studied forms of endophytic bacteria cultivated on solid nutrient media isolated from organs (leaves, roots, flowers) of plants and fruits of domestic apple (*Malus domestica*) varieties of various ecological and geographical origins (Melba, Lobo, Antonovka, Mayak Zagorya, Spartan, Bolotovskoe, Orlik, Triumph, Oostankino, President, etc.) in the collection fruit-bearing plantations of the Federal State Budgetary Scientific Institution of the Federal Scientific Center for Horticulture, located in the Leninsky district of the Moscow region on soddy-podzolic soils, and the study of the taxonomic composition of the bacterial component of the microbiome of plant tissues using high-throughput metagenomic sequencing on the Illumina platform (The research was done using equipment of the Core Centrum 'GenomicTechnologies, Proteomics and Cell Biology' in ARRIAM). The results indicate that *Paucibacter*, *Methylobacterium-Methylorubrum*, *Pseudomonas* are the predominant genera of endophytic bacteria in the microbiomes of domestic apple plants. The total number of genera in the aboveground plant organs by variety is 1-10. In fruits, the diversity of taxa of endophytic bacteria of the varieties Melba, Antonovka, Mayak Zagorya, Spartan, Bolotovskoe is 1.5-20 times higher and is represented by the genera *Paucibacter*, *Cutibacterium*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *uncl. Micrococcaceae Gordonia*, etc. In varieties Orlik, Lobo, the number of taxa of endophytic bacteria in fruits is lower than in leaves and may be limited by *Paucibacter*. In the roots of the domestic apple tree, the taxonomic composition of the bacterial component of the microbiome differs qualitatively and quantitatively from the fruits and aboveground organs. In addition to the genus *Paucibacter*, the roots of the domestic apple tree contain *Bradyrhizobium*, *Amicolatopsis*, *Frankia*, *Mycobacterium*, *Nocardioides*, *Dongia*, and others. The number of taxa in the composition of the bacterial component of the microbiome in the roots of the domestic apple tree by varieties and rootstocks reaches 54-70.

The work was supported by RFBR grant 20-016-00201/21.

**Роль гетеротримерных G-белков в регуляции развития бобово-ризобияльного симбиоза у люцерны слабоусеченной *M. truncatula* Gaertn. и гороха посевного *P. sativum* L.**

Бовин А.Д., Павлова О.А., Долгих А.В., Леппянен И.В., Долгих Е.А.  
ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.  
[andy-piter2007@mail.ru](mailto:andy-piter2007@mail.ru) [dol2helen@yahoo.com](mailto:dol2helen@yahoo.com)

Исследование сигнальных путей, активируемых у растений при узнавании сигналов от почвенных микроорганизмов, играет основную роль в таких фундаментальных процессах, как регуляция устойчивости растений к патогенной микрофлоре и формирование симбиозов с мутуалистическими микроорганизмами. Гетеротримерные G-белки, состоящие из альфа-, бета- и гамма-субъединиц, участвуют в сигнальной регуляции ответа растений на широкий спектр внешних и внутренних факторов и взаимодействуют с целым набором сигнальных посредников, передавая сигнал от рецепторов, поэтому они могут играть существенную роль в регуляции взаимодействия растений с микроорганизмами. Возможное участие G-белков в регуляции развития симбиоза было предсказано ранее с помощью специфичных ингибиторов и активаторов. Однако ни конкретные белки, ни механизмы их влияния на симбиоз выявлены не были. В нашей работе у двух бобовых растений со сходным типом клубенькообразования – люцерны слабоусеченной *Medicago truncatula* и гороха *Pisum sativum* – были впервые выявлены гены *MtGbeta1* и *PsGbeta1*, кодирующие бета-субъединицу G-белка, играющую ключевую роль в передаче сигнала. На основании анализа локализации активности промотора гена *Gbeta1*, экспериментов по подавлению экспрессии этого гена с помощью метода РНК-интерференции была показана необходимость гетеротримерного G-белка, в состав которого входит Gbeta1-субъединица, для регуляции процесса клубенькообразования. У животных гетеротримерные G-белки могут взаимодействовать с фосфолипазами при передаче сигнала, что влияет на внутриклеточное содержание кальция – вторичного мессенджера. Нам удалось показать взаимодействие между Gbeta1 и одной из форм фосфолипаз C, активируемой на ранних этапах развития симбиоза, с помощью метода ко-иммунопреципитации. Более того, в процессе симбиоза увеличивалось содержание фосфатидов, образуемых под влиянием фосфолипаз. Наконец, было выявлено взаимодействие субъединиц гетеротримерного G-белка и рецептора к Nod-факторам K1, что позволило предложить схему сигнальной трансдукции на ранних этапах развития симбиоза с клубеньковыми бактериями. Проект поддержан грантом РФФ № 21-16-00106.

**The role of heterotrimeric G-proteins in regulation of rhizobium-legume symbiosis of *Medicago truncatula* Gaertn and *Pisum sativum* L.**

Bovin A.D, Pavlova O.A., Dolgikh A.V., Leppyanen I.V., Dolgikh E.A.  
All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg.  
[andy-piter2007@mail.ru](mailto:andy-piter2007@mail.ru) [dol2helen@yahoo.com](mailto:dol2helen@yahoo.com)

The study of signaling pathways activated in plants upon recognition of signals from soil microorganisms plays a major role in such fundamental processes as the regulation of plant resistance to pathogenic microflora and the formation of symbioses with mutualistic microorganisms. Heterotrimeric G proteins, consisting of alpha, beta, and gamma subunits, are involved in the signal regulation of plant responses to a wide range of external and internal factors and interact with a whole set of signaling mediators, transmitting a signal from receptors; therefore, they can play a significant role in regulation of the plant interaction with microorganisms. The possible involvement of G-proteins in the regulation of the symbiosis development was previously predicted using specific inhibitors and activators. However, neither specific proteins nor the mechanisms of their influence on symbiosis have been identified. In our work, in two leguminous plants with a similar type of nodulation, *Medicago truncatula* and *Pisum sativum*, we first identified the *MtGbeta1* and *PsGbeta1* genes encoding the beta subunit of the G protein, which plays a key role in signal transduction. Based on the analysis of the localization of the activity of the *Gbeta1* gene promoter, experiments to suppress the expression of this gene using the RNA interference method, the need for a heterotrimeric G protein, which includes the Gbeta1 subunit, was shown to regulate the nodulation process. In animals, heterotrimeric G proteins can interact with phospholipases during signal transduction which affects the intracellular content of calcium, a second messenger. We have shown the interaction between Gbeta1 and one of the forms of phospholipases C activated at the early stages of symbiosis development using the co-immunoprecipitation method. Moreover, during the process of symbiosis development, the content of phosphatides produced by phospholipases increased. Finally, the interaction of the heterotrimeric G protein subunits and the K1 receptor for Nod factors was revealed, which made it possible to propose a signal transduction scheme at the early stages of the symbiosis development with nodule bacteria.

The project was supported by the RSF grant No. 21-16-00106.

**Получение каллусной культуры гардении жасминовидной (*Gardenia jasminoides* Ellis)**

Бугаев А.С., Пивоварова Н.С.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, г. Санкт-Петербург.

[artem.bugaev@spcpu.ru](mailto:artem.bugaev@spcpu.ru)

Гардения жасминовидная применяется в народной медицине при головных болях и заболеваниях дыхательных путей, воспалении желчных путей и желудочно-кишечного тракта, в качестве мочегонного средства при заболеваниях почек, как симптоматическое – при бессоннице и переутомлении. Фармакологическое действие гардении жасминовидной обусловлено содержанием иридоидных гликозидов. Из-за ограниченного ареала произрастания целесообразно получить сырье с применением фитобиотехнологического метода. В качестве посевного материала использованы предварительно простерилизованные листовые экспланты гардении жасминовидной. Культивирование проводилось на агаризованной питательной среде Мурасиге и Скуга. Первичный каллус субкультивирован на наработку биомассы, срок культивирования составил 30 суток. Исследованы основные ростовые характеристики культуры и графическим методом определены границы ростовых фаз. В основном, для большинства культур цикл роста составляет 30 суток, при этом фаза стационара наступает в среднем на 20 сутки. Культура гардении жасминовидной относится к долгорастущим из-за позднего наступления стационарной фазы. Срок культивирования увеличен до 40 суток. Дальнейшее исследования будут направлены на изучение качественного и количественного состава БАВ культуры клеток гардении жасминовидной.

**Obtaining a callus culture of *Gardenia jasminoides***

Bugaev A.S., Pivovarova N.S.

St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg.

[artem.bugaev@spcpu.ru](mailto:artem.bugaev@spcpu.ru)

*Gardenia jasminoides* is used in traditional medicine for headaches and respiratory diseases, inflammation of the biliary tract and gastrointestinal tract, as a diuretic for kidney diseases, as a symptomatic treatment for insomnia and overwork. The pharmacological action of jasmine gardenia is due to the content of iridoid glycosides. Due to the limited area of growth, it is advisable to obtain raw materials using the phytobiotechnological method. Pre-sterilized leaf explants of gardenia jasminoides were used as inoculum. Cultivation was carried out on Murashige and Skoog agar nutrient medium. The primary callus was subcultivated for biomass production, the cultivation period was 30 days. The main growth characteristics of the culture were studied and the boundaries of the growth phases were determined by a graphical method. Basically, for most crops, the growth cycle is 30 days, while the stationary phase occurs on average on the 20th day. The culture of gardenia jasmine belongs to the long-growing ones due to the late onset of the stationary phase. The cultivation period was increased to 40 days. Further research will be aimed at studying the qualitative and quantitative composition of biologically active substances in the cell culture of *Gardenia jasminoides*.



**Оптимизация условий культивирования микроводоросли *Vischeria punctata***

Бабич О., Буденкова Е., Каширских Е., Долганюк В., Анохова В., Андреева А.  
Балтийский федеральный университет им. И. Канта (БФУ им. И. Канта), г. Калининград  
[KBudenkova@gmail.com](mailto:KBudenkova@gmail.com)

Микроводоросли – одни из самых распространенных возобновляемых биоресурсов из всех, что когда-либо были найдены в воде или на суше планеты. Одним из примеров успешного использования морских биотехнологий, является применение микроводорослей для получения белков, липидов и углеводов. Культивирование биомассы микроводоросли *Vischeria punctata* состоит из двух этапов: накопление биомассы микроводоросли до уровня 55-60 млн кл/мл и выше, и создание стрессовых условий для клеток, которые тормозят размножение микроводорослей и приводят к накоплению в клетках органических веществ. Использование математического моделирования многофакторного эксперимента для оптимизации макро солевого состава питательной среды позволили снизить затраты в процессе культивирования и увеличить экономический эффект при переработке микроводорослей. В результате эксперимента установлены условия (дефицит источника азота в питательной среде), при которых в клетках *Vischeria punctata* статистически значимо растет накопление углеводов.

Научно-исследовательская работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках реализации соглашения №075-15-2022-245 (вн. № 13.2251.21.0134) по теме: Технологии производства биоактивных полисахаридов из биомассы микроводорослей).

**Optimization of cultivation conditions for microalgae *Vischeria punctata***

Babich O., Budenkova E., Kashirskikh E., Dolganyuk V., Anokhova V., Andreeva A.  
Immanuel Kant Baltic Federal University (IKBFU), Kaliningrad  
[KBudenkova@gmail.com](mailto:KBudenkova@gmail.com)

Microalgae are one of the most widespread renewable bioresources ever were found in the water or on the planet's land. One example of the successful use of marine biotechnologies is the use of micro- to obtain proteins, lipids and carbohydrates. Cultivation of *Vischeria punctata* consists of two stages: the accumulation of microalgae biomass to an absorption level of 55-60 million cells/ml and above, and the creation of stressful conditions for cells that inhibit reproduction of microalgae and lead to the accumulation of organic substances in the cells. The use of mathematical modeling of a multifactorial experiment to optimize the macrosalt composition of the nutrient medium made it possible to reduce costs in the cultivation process and increase the economic effect in the processing of microalgae. Our results of the experiment demonstrate such conditions (deficiency of a source of nitrogen in the nutrient medium) under which the accumulation of carbohydrates increases statistically significantly in the cells of *Vischeria punctata*.

The research work was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as part of the implementation of agreement No. 075-15-2022-245 (ex. No. 13.2251.21.0134) on the topic: Technologies for the production of bioactive polysaccharides from microalgae biomass).

### Механизмы мобилизации почвенных фосфатов штаммами *Pantoea brenneri*

Бульмакова Д.С., Невзорова Ю.В., Сулейманова А.Д.

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

[dashunka@mail.ru](mailto:dashunka@mail.ru)

Фосфор является одним из основных минеральных элементов, необходимых для роста и развития сельскохозяйственных культур. Однако по сравнению с его общим содержанием в почве, количество биодоступного фосфора мало за счет процессов фиксации, адсорбции и осаждения. Это существенно снижает агрономическую эффективность фосфорных удобрений. Для удовлетворения увеличивающегося спроса на продукты питания одной из ключевых задач современного сельского хозяйства является разработка подходов к увеличению доступности фосфора в почве. Одним из экологически безопасных и перспективных методов является целевое использование почвенных ризосферных микроорганизмов. Целью данной работы являлось изучение механизмов мобилизации почвенных фосфатов штаммами *Pantoea brenneri*.

Штаммы *P. brenneri* (3.1, 3.2, 3.5.2 и 3.6.1), ранее выделенные из почв Республики Татарстан, культивировали в течение семи суток на жидких средах NBRIP, в которых единственным источником фосфора являлись трикальцийфосфат, фосфорит и гидроксиапатит. Оценивали активность секретируемых фосфатаз у штаммов. Показано, все штаммы *P. brenneri* способны к продукции кислых и щелочных фосфатаз. Максимальным уровнем активности кислой фосфатазы (2.15 Ед/100мл) обладал штамм *P. brenneri* 3.5.2 на среде с гидроксиапатитом на пятые сутки культивирования. Максимальная активность щелочной фосфатазы (4.851 Ед/100мл) показана у штамма *P. brenneri* 3.2 на седьмой день инкубации на среде с гидроксиапатитом. Проводили идентификацию органических кислот, продуцируемых штаммами *P. brenneri* 3.2 и 3.5.2, с помощью HPLC-хроматографии. В концентрациях более 1 мМ идентифицировали уксусную, яблочную, муравьиную и молочную кислоты, в следовых количествах – малеиновую и щавелевую кислоты. Максимальная продукция яблочной кислоты (13.76 мМ) достигается штаммом *P. brenneri* 3.5.2 на среде с гидроксиапатитом. Проводили скрининг генов, ассоциированных с мобилизацией фосфора, в геномной ДНК штаммов *P. brenneri*. Были амплифицированы гены *gcd* и *pqqE*, кодирующие глюкозодегидрогеназу и пирролохинолинхинон (кофактор глюкозодегидрогеназы) соответственно. Таким образом, нами показано, что при мобилизации ряда почвенных соединений фосфора штаммы *P. brenneri* используют такие механизмы, как продукция фосфатаз, органических кислот и, вероятно, глюкозодегидрогеназ, гены которых были идентифицированы в геномной ДНК исследуемых штаммов. Работа поддержана грантом РФФ № 21-76-00017.

### Mechanisms of soil phosphate mobilization by *Pantoea brenneri* strains

Bulmakova D.S., Nevzorova U.V., Suleimanova A.D.

Kazan (Volga region) Federal University, Kazan.

[dashunka@mail.ru](mailto:dashunka@mail.ru)

Phosphorus is one of the main mineral elements necessary for the growth and development of crops. However, compared to its total content in the soil, the amount of bioavailable phosphorus is small due to the processes of fixation, adsorption and sedimentation. This significantly reduces the agronomic efficiency of phosphate fertilizers. To meet the increasing demand for food, one of the key tasks of modern agriculture is to develop approaches to increase the availability of phosphorus in the soil. One of the environmentally safe and promising methods is the targeted use of soil rhizosphere microorganisms. The aim of this work was to study the mechanisms of soil phosphate mobilization by strains of *Pantoea brenneri*.

*P. brenneri* strains (3.1, 3.2, 3.5.2, and 3.6.1), previously isolated from the soils of the Republic of Tatarstan, were cultivated for seven days on liquid NBRIP media, in which the only source of phosphorus was tricalcium phosphate, phosphorite, and hydroxyapatite. The activity of secreted phosphatases in the strains was assessed. It has been shown that all *P. brenneri* strains are capable of producing acid and alkaline phosphatases. The maximum level of acid phosphatase activity (2.15 U/100 ml) was exhibited by strain *P. brenneri* 3.5.2 on a medium with hydroxyapatite on the fifth day of cultivation. The maximum activity of alkaline phosphatase (4.851 U/100 ml) was shown in the *P. brenneri* 3.2 on the seventh day of incubation on a medium with hydroxyapatite. Organic acids produced by strains *P. brenneri* 3.2 and 3.5.2 were identified by HPLC chromatography. Acetic, malic, formic, and lactic acids were identified at concentrations greater than 1 mM, and maleic and oxalic acids were identified in trace amounts. The maximum production of malic acid (13.76 mM) is achieved by the *P. brenneri* 3.5.2 strain on a medium with hydroxyapatite. Phosphorus mobilization-associated genes were screened in the genomic DNA of *P. brenneri* strains. The *gcd* and *pqqE* genes encoding glucose dehydrogenase and pyrroloquinoline quinone (glucose dehydrogenase cofactor), respectively, were amplified. Thus, we have shown that, when mobilizing a number of soil phosphorus compounds, *P. brenneri* strains use such mechanisms as the production of phosphatases, organic acids, and, probably, glucose dehydrogenases, the genes of which were identified in the genomic DNA of the studied strains.

This work has been supported Russian Science Foundation [project no. 21-76-00017].

**Involvement of prophage genes in the success of bacterial colonization of plants**

Burygin G.L.

N.I. Vavilov Saratov State Agrarian University, Saratov;  
Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms FRC SSC RAS, Saratov  
[buryingl@gmail.com](mailto:buryingl@gmail.com)

Associative growth-promoting rhizobacteria in nature exist in at least two ecological niches: i) in the soil as free-living microorganisms and ii) in symbiosis with plants. The causes and mechanisms of the transition of rhizobacteria to active colonization of plant roots are actively discussed in the scientific literature. In this work, aspects of plant-microbe interactions related to the functioning of bacterial genome fragments of phage origin will be considered, of which special attention will be paid to genes involved in the non-stoichiometric modification of bacterial cell surface polysaccharides.

The study of the lipopolysaccharide chemical structures from the cell walls of Gram-negative bacteria revealed many examples of modifications of O-polysaccharides that randomly occur during the life of bacterial cells after completion of the biopolymer biosynthesis. On the other hand, when studying the activity of various metabolic pathways in bacterial cells, a difference in the metabolome in "young" and "old" cultures was revealed. The initial and middle periods of the exponential phase of culture growth are characterized by the predominance of biosynthetic processes that require large expenditures of ATP. In bacterial cells at the stationary phase of culture growth, an excess of more reduced secondary metabolites and functional groups, including methyl and acetyl groups, is observed. In addition, it has been repeatedly shown that the transition of associative or phytopathogenic bacteria to plant colonization is activated by stress factors for bacteria. Combining these phenomena of bacterial life, well described in the literature, it can be concluded that when considering the factors of successful colonization, they can all be different sides of the same process, which involves prophage sequences in the genomes of rhizobacteria, the activity of which increases when bacterial cells leave optimal conditions.

In the experimental part of the work, on the example of 4 strains of rhizobacteria of the genera *Azospirillum* and *Ochrobactrum*, an increase in non-stoichiometric methylation (*Azospirillum brasilense* Jm6B2) and acetylation (*Azospirillum brasilense* Sp7, *Azospirillum zeae* N7, and *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2) with increasing culture age was shown, due to the activity of genes of methyltransferases and acetyltransferases of phage origin. At the same time, bacteria at the late logarithmic and early stationary phases significantly differed from bacteria of the middle logarithmic growth phase of the culture by increased indices of cell surface hydrophobicity and adhesive activity to the roots of potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Nevsky) and common wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Svetoch), which was led in a significantly larger number of bacterial cells on plant roots during inoculation.

Thus, the physicochemical characteristics of bacterial cells, determined by the physiological state of microorganisms and the activity of their prophage genes, significantly affect the success of plant-microbe interaction and should be taken into account when studying the features of associative symbiosis.

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant № 22-26-00293).

**Пути проникновения бактерий *H. lusitanum* P6-12 в корни пшеницы и фасоли обыкновенной и колонизация ими эндосферы хозяина**

Величко Н.С., Багавова А.Р., Федоненко Ю.П.  
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, г. Саратов  
[velichko\\_n@ibppm.ru](mailto:velichko_n@ibppm.ru)

Традиционно внимание исследователей уделяется разработке конкурентноспособных микробных препаратов для агробиотехнологии. Особого внимания заслуживают эндофитные представители родов *Gluconacetobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Rhizobium* и *Herbaspirillum*, обладающих ценными функциональными свойствами и являющихся перспективными биотехнологическими ресурсами, способными стать адекватной и экологически безопасной альтернативой агрохимикатам. Несмотря на наличие работ по оценке поведения ростостимулирующих микроорганизмов рода *Herbaspirillum* в сельскохозяйственных системах малоизученными остаются способ их проникновения в специфическую экологическую нишу и физиологические механизмы потенциально полезных ассоциаций. Проведено маркирование типового штамма *H. lusitanum* P6-12 геном зеленого флуоресцентного белка (green fluorescent protein, GFP). Сравнение свойств не выявило различий между исходным и трансформированным штаммами, что позволило нам использовать *H. lusitanum* P6-12-*gfp* в качестве адекватной модели для изучения различных аспектов растительно-микробных взаимодействий. Доказана способность *H. lusitanum* P6-12 эндофитно колонизировать внутренние ткани зернобобовых культур, дана характеристика проникновения и распределения клеток гербаспирилл *in planta* на примере специфичного и неспецифичного растения-хозяина. Отмечены положительные ответные реакции растений на бактеризацию исследуемым штаммом. Показана способность *H. lusitanum* P6-12 ингибировать рост возбудителей корневых гнилей и возможность использования данных бактерий для защиты растений от фитопатогенов.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 22-24-00421).

**In situ localization of *Herbaspirillum lusitanum* strain P6-12 and its promotion of growth of *Triticum aestivum* L. and *Phaseolus vulgaris* L.**

Velichko N.S., Bagavova A.R., Fedonenko Y.P.  
Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov  
[velichko\\_n@ibppm.ru](mailto:velichko_n@ibppm.ru)

We examined the structural interaction of the green fluorescent protein labeled bacterium *Herbaspirillum lusitanum*, strain P6-12, with *Triticum aestivum* L. and *Phaseolus vulgaris* L. The interaction was examined by fluorescence and confocal microscopy for 21 days after inoculation. As early as 0.5 h after inoculation, *H. lusitanum* P6-12 was observed between the loose peripheral cells of the root cap. This suggests that the bacterium entered the plants through the loose parenchyma of the root cap. One h after inoculation, *H. lusitanum* P6-12 was detected in the root division zone, and after one and a half h, it reached the elongation and maturation zones. By day 2 after inoculation, variously sized intracellular aggregates of bacteria were detected all over the roots, and by day 4 after inoculation, the bacteria were seen colonizing the shoots. In both plants, the number of viable bacteria in the roots and aerial parts peaked on day 7 after inoculation. A plant growth promoting effect was clearly visible in all inoculated plants and did not depend on the specific host. The association of *H. lusitanum* P6-12 with *Triticum aestivum* L. and *Phaseolus vulgaris* L. significantly increased biomass yield in an environment without nitrogen supply. The biomass of inoculated *P. vulgaris* also increased during plant growth with nitrogen. *H. lusitanum* P6-12 inhibited the growth of root rot pathogens and had no effect on Vero cells; therefore, it can be a subject for further study of this bacterium as biocontrol agents. We conclude that *H. lusitanum* P6-12 has potential as a beneficial plant endophyte. Further research is required on the mechanisms by which *H. lusitanum* P6-12 promotes plant growth.

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 22-24-00421).

## Перспективы использования квантово-химических расчетов для предсказания эффективности связывания тяжелых металлов искусственными фитохелатинами

<sup>1,2</sup>Вершинина З.Р. <sup>3</sup>Мозговой О.С.

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Уфимский государственный нефтяной технический университет, г. Уфа

<sup>3</sup>Институт нефтехимии и катализа УФИЦ РАН, г. Уфа

zilyaver@mail.ru

Фиторемедиация является перспективным способом для рекультивации земель, загрязненных тяжелыми металлами. Фактором, который в наибольшей степени ограничивает эффективность фиторемедиации, является низкое накопление тяжелых металлов в растениях. Способом решения данной проблемы является создание трансгенных растений, экспрессирующих искусственно синтезированные гены — аналоги генов природных фитохелатинов или металлотионеинов, продукты которых могут связывать различные тяжелые металлы.

Объектами исследования в данной работе стали 2 искусственных фитохелатина с формулами  $\text{MetHis}_6[\alpha\text{-Glu(Cys)}]_6\text{Gly}$  (PPH6HIS) и  $\text{Met}[\alpha\text{-Glu(Cys)}]_6\text{Gly}$  (PPH6). Изначально метка  $\text{His}_6$  была добавлена в последовательность для обнаружения меченого пептида в трансформированных тканях. Это могло непреднамеренно изменить функциональность и биотехнологические характеристики искусственного фитохелатина. Визуализация в программе ChemCraft пептидов PPH6 и PPH6HIS выявила различия в их структуре.

Целью квантово-химического исследования являлась энергетическая оценка металлсвязывающих свойств искусственных фитохелатинов. Расчеты проводились с использованием программного обеспечения Gaussian 09 полумпирическим методом PM6. В процессе оптимизации геометрических параметров PPH6 в присутствии атомарного кадмия наблюдалось образование устойчивого комплекса, в котором атом тяжелого металла демонстрировал формирование двух координационных связей с двумя тиоловыми группами белка ( $r \approx 3.31 \text{ \AA}$ ). При последовательном модифицировании структуры исходного пептида остатками гистидина в структуре соответствующих комплексов наблюдался разрыв дистанции металла с атомами серы ( $3.31 \text{ \AA} \rightarrow 3.90 \text{ \AA}$ ), которое сопровождалось снижением полученных значений свободных энергий Гиббса на  $\Delta G_{298}^0 \approx 31,38 \text{ ккал/моль}$ . Таким образом, было показано, что пептид PPH6HIS менее эффективно связывается с кадмием чем PPH6.

В дальнейшем были получены трансгенные растения табака, трансформированные генами *pph6* и *pph6his*. Анализы их устойчивости к воздействию кадмия и способности накапливать этот тяжелый металл подтвердили, что PPH6HIS является не таким эффективным как PPH6. Несмотря на то, что добавление  $\text{His}_6$  на N-конце несколько снизило способность пептида PPH6HIS связывать кадмий, очень интересным является предполагаемая аффинность молекулы к таким металлам, как Cu, Ni, Zn и Co, что открывает новые перспективы для использования этого пептида для фиторемедиации.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по теме «Программа создания и функционирования карбонового полигона на территории Республики Башкортостан «Евразийский карбоновый полигон» на 2022-2023 годы (FEUR-2022-0001).

## Prospects for the use of quantum chemical calculations to predict the efficiency of heavy metal binding by artificial phytochelatin

Vershinina Z.R., Mozgovi O.S.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa.

<sup>2</sup>Ufa State Petroleum Technical University, Ufa.

<sup>3</sup>Institute of Petrochemistry and Catalysis, Ufa

zilyaver@mail.ru

Phytoremediation is a promising method for reclamation of lands contaminated with heavy metals. The factor that limits the effectiveness of phytoremediation to the greatest extent is the low accumulation of heavy metals in plants. The way to solve this problem is the creation of transgenic plants expressing artificially synthesized genes - analogues of the genes of natural phytochelatin or metallothioneins, the products of which can bind various heavy metals.

The objects of study in this work were 2 artificial phytochelatin with the formulas  $\text{MetHis}_6[\alpha\text{-Glu(Cys)}]_6\text{Gly}$  (PPH6HIS) and  $\text{Met}[\alpha\text{-Glu(Cys)}]_6\text{Gly}$  (PPH6). Initially, the  $\text{His}_6$ -tag was added to the sequence to detect the labeled peptide in transformed tissues. This could inadvertently change the functionality and biotechnological characteristics of artificial phytochelatin. Visualization of the PPH6 and PPH6HIS peptides in the ChemCraft program revealed differences in their structure. The purpose of the quantum-chemical study was the energy assessment of the metal-binding properties of artificial phytochelatin. The calculations were carried out using the Gaussian 09 software by the PM6 semi-empirical method. In the process of optimizing the geometrical parameters of PPH6 in the presence of atomic cadmium, the formation of a stable complex was observed, in which the heavy metal atom showed the formation of two coordination bonds with two thiol groups of the protein ( $r \approx 3.31 \text{ \AA}$ ). Upon successive modification of the structure of the initial peptide with histidine residues, a break in the distance between the metal and sulfur atoms ( $3.31 \text{ \AA} \rightarrow 3.90 \text{ \AA}$ ) was observed in the structure of the corresponding complexes, which was accompanied by a decrease in the obtained values of free Gibbs energies by  $\Delta G_{298}^0 \approx 31.38 \text{ kcal/mol}$ . Thus, it was shown that the PPH6HIS peptide binds to cadmium less efficiently than PPH6. Subsequently, transgenic tobacco plants transformed with the *pph6* and *pph6his* genes were obtained. Analysis of their resistance to cadmium and their ability to accumulate this heavy metal confirmed that PPH6HIS is not as effective as PPH6. Although the addition of  $\text{His}_6$ -tag at the N-terminus somewhat reduced the ability of the PPH6HIS peptide to bind cadmium, the putative affinity of the molecule for such metals as Cu, Ni, Zn, and Co is very interesting, which opens up new prospects for using this peptide for phytoremediation.

The publication was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation on the topic "Program for the creation and functioning of a carbon polygon in the Republic of Bashkortostan" Eurasian carbon polygon "for 2022-2023 (FEUR-2022-0001).

**Эффекторная биология – перспективное направление в изучении растительно-микробных взаимодействий**

Веселова С.В., Нужная Т.В., Румянцев С.Д., Миннигалиева А.Ф., Максимов И.В.

Институт биохимии и генетики ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия  
veselova75@rambler.ru

Во время своего роста и развития растения часто подвергаются заражению широким спектром патогенов и вредителей, включая вирусы, бактерии, грибы, оомицеты, нематоды и насекомых-вредителей. Для борьбы с патогенами и вредителями растения развили сложную многоступенчатую иммунную систему. Согласно современной модели иммунной системы растений первая линия защиты заключается в восприятии ассоциированных с патогенами (PAMP, от pathogen-associated molecular patterns), повреждением (DAMP), насекомыми (HAMP) или вирусами (VAMP) молекулярных структур рецепторами распознавания (PRR, от pattern recognition receptors), что приводит к развитию базального иммунитета, известного как PAMP-триггерный иммунитет (PTI, от pattern triggered immunity). Однако патоген или вредитель может подавлять PTI с помощью эффекторов, что приводит к развитию чувствительности, запускаемой эффектором (ETS, от effector-triggered susceptibility). Вторая линия защиты растений называется иммунитетом, запускаемым эффектором (ETI, от effector-triggered immunity), и развивается, когда эффектор распознается продуктами эффекторно-специфических генов устойчивости. Развитие PTI и ETI вызывает у растений сходные реакции: обе линии защиты могут быть разделены во времени и пространстве, но обе тесно связаны с продукцией активных форм кислорода (АФК). PTI развивается в первые минуты и часы заражения и является неспецифической реакцией. ETI развивается позже и представляет собой специфический ответ гена-на-ген. Эффекторы стремятся подавить иммунную систему растений, влияя на продукцию АФК и манипулируя гормональными сигнальными путями растений. Эффекторы обнаружены практически у всех вредных организмов, включая бактерии, грибы, вирусы и насекомых. Изучением эффекторов и регуляцией их работы занимается новая область – эффекторная биология, проблема которой состоит в нехватке знаний о регуляции работы эффекторов. Главная задача ученых раскрыть механизм регуляции вирулентности того или иного патогена или вредителя. Изучения в этой области являются передовыми, так как приведут к развитию стратегий другого уровня и измерения в защите растений от вредных организмов. Защита растений станет точечной, целенаправленной и безопасной для нецелевых организмов. Работа выполнена в рамках гранта РФФ № 22-64-00034.

**Effector biology: promising direction in the study of plant-microbial interactions**

Veselova S.V., Nuzhnaya T.V., Minnigalieva A.F., Rummyantsev S.D., Maksimov I.V.

Institute of biochemistry and genetics of Ufa Federal Research Centre RAS, Ufa, Russian Federation,  
veselova75@rambler.ru

During their growth and development, plants are often exposed to a wide range of pathogens and pests, including viruses, bacteria, fungi, oomycetes, nematodes, and insect pests. To fight pathogens and pests, plants have evolved a complex, multi-stage immune system. According to the modern model of the plant immune system, the first line of defense is the perception of pathogen-associated molecular patterns (PAMP), damage (DAMP), insects (HAMP) or viruses (VAMP) molecular structures by recognition receptors (PRR, from pattern recognition), which leads to the development of basal immunity, known as PAMP-triggered immunity (PTI). However, a pathogen or pest can suppress PTI with effectors, leading to the development of effector-triggered susceptibility (ETS). The second line of plant defense is called effector-triggered immunity (ETI), and develops when an effector is recognized by products of effector-triggered resistance genes. The development of PTI and ETI causes similar responses in plants: both lines of defense can be separated in time and space, but both are closely related to the production of reactive oxygen species (ROS). PTI develops in the first minutes and hours of infection and is a non-specific reaction. ETI develops later and is a gene-for-gene specific response. Effectors achieve to suppress the plant immune system by influencing ROS production and manipulating plant hormonal signaling pathways. Effectors have been found in practically all harmful organisms, including bacteria, fungi, viruses, and insects. The study of effectors and the regulation of their work are carried out by a new area - effector biology, the problem of which is the lack of knowledge about the regulation of the work of effectors. The main task of scientists is to reveal the mechanism of regulation of the virulence of a particular pathogen or pest. Research in this area is cutting edge as it will lead to the development of another level of strategy and dimension in plant protection against pests. Plant protection will become targeted and safe for non-target organisms. The work was carried out within the framework of the Russian Science Foundation grant no. 22-64-00034.

**The enzymes of the lignolytic complex of the snow mold-causing phytopathogens of *Microdochium nivale* species**<sup>1</sup>Vetchinkina E.P., <sup>2</sup>Meshcherov A.R., <sup>2</sup>Gorshkov V.Yu.<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, Saratov.<sup>2</sup>Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Russian Academy of Sciences, Kazan.  
elenavetrus@yandex.ru

The biodegradation of persistent natural polymers such as lignin, cellulose, and hemicellulose plays a key role in the global carbon cycle. The main participants in this process, capable of decomposing all components of wood due to the presence of a powerful enzyme system with broad substrate specificity, are the “white rot” fungi, xylotrophic *Basidiomycota*. This ability has been less studied in fungi from the *Ascomycota* division, which cause “soft rot” of wood. The composition of the ligninolytic enzyme complex of fungi, as the main ones, includes oxidoreductases catalyzing the degradation of lignin: lignin peroxidases (EC 1.11.1.14), Mn-peroxidases (EC 1.11.1.13) and polyphenol oxidases (laccases, EC 1.10.3.2 and tyrosinase, EC1.14.18.1). We have studied the ability to secrete oxidoreductases and decompose lignocellulose by “soft rot” ascomycetes *Microdochium nivale*. To elucidate the ligninolytic potential, we studied the dynamics of the activity of extracellular enzymes in 21 strains of *M. nivale* during submerged cultivation. The activity of lignin peroxidase was determined by the ability of ascomycetes to degrade veratryl alcohol; the activity of Mn-peroxidase was determined by the ability to oxidize 2,6-DMOP in the presence of hydrogen peroxide and manganese ions. Laccase activity was determined by the ability to oxidize syringaldazine and ABTS, and tyrosinase activity was determined by the ability to oxidize L-DOPA, substrates typical for these enzymes. All the studied strains had the activity of lignin peroxidase, Mn-peroxidase, laccase, and tyrosinase; the levels and peaks of the activities of these enzymes varied significantly depending on the age of the culture and the strain. The activity of lignin peroxidase was 190–1300 U/mg of total protein on day 10, 200–1600 U/mg on day 20, and 100–1400 U/mg on day 30 of cultivation on a mineral medium. The maximum activity of Mn-peroxidase in most strains was noted on the 10th day and ranged from 30 to 1800 U/mg. On days 20–30, in all strains, in contrast to lignin peroxidase, the activity of Mn-peroxidase noticeably decreases and amounts to 20–550 U/mg and 10–400 U/mg on days 20 and 30, respectively. A similar trend towards a decrease in activity from 10 to 30 days is also observed in relation to laccase. For most strains, the highest activity of laccase falls on the 10th day, from 50 to 3000 U/mg, the minimum activity of the enzyme was observed in 30 day old cultures, from 20 to 800 U/mg. The specific activity of tyrosinase in most strains was the highest on the 20th day - from 80 to 500 U/mg, the lowest on the 10th day - from 50 to 350 U/mg, although in two strains the peak of tyrosinase activity (650 and 680 U/mg) was noted in 10 daily cultures. It was found that the introduction of a plant extract (rye extract) into the cultivation medium significantly induced the activity of lignin peroxidase and Mn-peroxidase, especially after 12 hours (5 times) and 24 hours (4 times) after the start of the experiment, in contrast to laccases and tyrosinase, where the activation was insignificant. Using native electrophoresis and specific staining, we found that all strains of *M. nivale* produce enzymes of the ligninolytic complex that give specific staining when interacting with phenolic substrates (o-dianisidine, 2,6-DMOP, and L-DOPA). Most strains produce one molecule of the enzyme that oxidizes the corresponding phenolic substrate. But in some strains, differences are observed in the composition of the enzymes of the ligninolytic complex, and several forms of phenol oxidases are found. In addition, the ability of *M. nivale* strains to biodegrade the phenolic compound of plant origin tannin under the conditions of solid-phase fermentation using the “Bavendamm reaction”, as well as the ability of extracellular oxidoreductases of ascomycetes to biodegrade lignin, was established. Thus, our studies have demonstrated the presence of highly active enzymes of the ligninolytic complex and the ability of *M. nivale* strains to biodegrade phenolic substrates, which cause “soft rot” of wood, which suggests that fungi from the *Ascomycota* division have a significant potential in this regard.

**Antitumor activity of proteins and polysaccharides from medicinal basidiomycete *Lentinus edodes***<sup>1</sup>Vetchinkina E.P., <sup>1</sup>Fomin A.S., <sup>2</sup>Navolokin N.A., <sup>1</sup>Shirokov A.A.<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, Saratov.<sup>2</sup>Department of Pathological Anatomy, Razumovsky State Medical University,  
Russian Ministry of Health, Saratov.[elenavetrus@yandex.ru](mailto:elenavetrus@yandex.ru)

Detection and study of biologically active compounds seems a promising area of research in cancer diagnostics and therapies. It is an advisable strategy to search for such drugs among known, non-toxic, natural medicinal products possessing a wide spectrum of biological activity. Cultivated basidial macromycetes possess potential in that respect, as their vegetative mycelium and fruiting bodies contain components with a wide spectrum of biological activity. *Lentinus edodes* (Berk.) [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] (shiitake), high-quality edible mushroom, is one of the species of these fungi. It is also well-known as a valuable source of biologically active and medicinal components that are widely applied in the food and pharmaceutical industry. From the vegetative mycelium and the fruiting body of the basidiomycete *L. edodes*, glycoprotein and polysaccharide fractions were isolated and further characterized, exhibiting high cytotoxicity against several human and animal cancer cell lines. We it was found that water-soluble glycoproteins of the vegetative mycelium of the basidial macromycete *L. edodes* inhibit the metabolic activity of a number of human and animal cancer cell lines: A549 (human lung adenocarcinoma), HeLa (human cervical carcinoma), Hep-2 (laryngeal cancer cell line), SPEV-2 (porcine fetal kidney cell line producing porcine leukovirus) and C6 (rat glioma) in a statistically significant manner. Differences in the degree of cytotoxicity between protein fractions and polysaccharide fractions of vegetative mycelium were not found. Fungal fractions have been found to act differently on different tumors. Compared to the original mushroom extracts, the glycoprotein fractions obtained by separation and purification showed greater cytotoxicity against cancer cells. Protein fractions that showed high cytotoxicity were identified and isolated. The effective concentrations of protein fractions that reduce the viability of cancer cells have been determined. Glycoprotein fractions of *L. edodes* exhibited the strongest cytotoxicity, by 70–100%, against the C6 glioma cell line, the A549 human lung adenocarcinoma cell line, and the SPEV-2 cell line. In fractions of glycoproteins, highly active lectins were found that can significantly inhibit the metabolic activity of cell lines. Lectins showed specificity for D-melibiose, D-lactose, and D-galactose. Comparative analysis of extracts of vegetative mycelium, fruiting bodies and rudiments of *L. edodes* revealed a high activity of hemagglutination, which indicates the presence of lectins specific for each stage of fungal morphogenesis. Given the fact that lectins are considered as new tools in the diagnosis and therapy of cancer, this issue is of practical interest and deserves further study. It was also noted that the mycelial soluble fraction of basidiomycete that has pronounced antitumor activity. Following the conducted experiments measuring the implanted tumor kidney cancer size and weight, it was established that, under the influence of the *L. edodes* mycelial extracts, tumor growth was suppressed 2- to 3-fold in the treated animals (white male mongrel rats) compared with the animals in the control group (the Index of Tumor Growth Inhibition up to 59%), which may have been caused by the cytotoxic effect on the cells or by the activation of apoptosis in the tumor cells. Histological studies of tumor tissue revealed tumor cell dystrophy under the influence of the fungal mycelial extracts. Necrosis was evident in 30–90% of the cut area (which testifies to the cytotoxic effect of the applied extracts). Histological examination revealed a positive effect on the lymphatic system, activation of the immune system and the absence of toxic effects on the mucous membrane of the gastrointestinal tract when the mushroom extract was administered orally. Thus, oral administration can be recommended for further study of the biological activity of *L. edodes* fungal preparations. Taking into account the combination of useful biological activity of protein fractions of fungi obtained from the vegetative mycelium of the basidiomycete *L. edodes*, it seems promising to further study these drugs and develop antitumor drugs based on them.



**Site specific integration of phage-related sequences in *Sinorhizobium meliloti* chromosome**

Vladimirova M.E., Roumiantseva M.L.

All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg.

mariavladimirova@mail.ru, mroumiantseva@yandex.ru

*Sinorhizobium meliloti* is a root nodule bacteria species that forms mutualistic nonobligatory nitrogen-fixing symbioses with alfalfa plants. The genome of *S. meliloti* consists in general of the three replicons: a chromosome and two megaplasmids. The core and most vitally essential genes are located on chromosome. An extended Phage-Related Sequences (PRS) are frequently detected in chromosome according to published data. Such PRS are mainly represented by genomic islands (GI) or/and prophages (PH).

PRS are horizontally acquired DNA elements and their typical structural properties are: low GC% content, flanking direct repeats, ORFs encoding proteins. PRS exhibit a site-specific form of integration. The integration sites are often located within conservative genes like those encoding transfer RNA (tRNA). From 1 to 6 isoacceptors tRNA (iso-tRNA) are defined as variants of tRNA that bind to alternate codons for the same amino acid residue. Many tRNA genes are represented in several copies, as it was shown for all tested organisms. These make tRNA genes a unique conservative sites for foreign DNA integration. The goal of this research was to identify and analyze the PRS integrated into different tRNA genes in *S. meliloti* strains. The 27 chromosomes of *S. meliloti* were examined for the occurrence of PRS and the 87 sequences were identified in total. A 42% of these sequences were characterized as PHs and the other 58% were defined as GIs according to PHASTER and/or the Islander algorithm. These PRSs were integrated into the iso-tRNA genes for 12 out of 20 proteinogenic amino acids. Iso-tRNA of threonine and lysine were predominant sites for integration of the 17 and the 15 PRS, correspondingly. PRS sequences identified in chromosomes of *S. meliloti* strains were different, but each of them had gene encoding integrase. The 56% of tested integrases showed homology with integrases of phages from *Siphoviridae* family, and 25% and 19% of sequences were similar with those from *Podovirida* and *Autographiviridae* families. The 32 integrases of PRSs integrated into iso-tRNA of threonine and lysine and these particular sequences were under our focus of interest. We did not find any correlation between PRS integrases related to different phages with a type of tRNA in which PRS was integrated, but it was detected a correlation with iso-tRNAs of the same amino acid. While, an exception was when integrases related to two different phage families, *Siphoviridae* and *Autographiviridae*, were detected in the same iso-tRNA<sub>GGT</sub><sup>Trc</sup>. Summarizing, the site of PRS integration is determined by an integrase that is itself is a part of the PRS. This work was supported by RSF 20-16-00105.

***Pseudomonas*, способные к синтезу пероксидаз DyP-типа, как потенциальные биодеструкторы для ликвидации нефтезагрязнений**

<sup>1</sup>Волкова А.Л., <sup>1,2</sup>Вершинина З.Р., <sup>1,2</sup>Чубукова О.В., <sup>2</sup>Матниязов Р.Т.  
<sup>1</sup>Уфимский государственный нефтяной технический университет, г. Уфа.  
<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа  
 volkova.stasy22@gmail.com

В последние годы остро встает проблема восстановления экосистем, загрязненных нефтью и нефтепродуктами. Деструкция нефти в окружающей среде - сложный многофакторный процесс, на который оказывают влияние состав, концентрация и срок действия загрязнителя, многообразие и изменчивость внешних факторов, под воздействием которых находится экосистема. Биоремедиация считается неразрушающей, экономически эффективной технологией очистки, которая направлена на ускорение естественной биодеструкции загрязняющих веществ. Поиск новых нефтедеструкторов среди почвенных штаммов микроорганизмов является перспективным направлением исследований в области биоремедиации.

В последние годы в центре внимания научного мира оказались ферменты, участвующие в модификации фенольных соединений, в частности пероксидазы DyP-типа, известные своей способностью обесцвечивать красители. Целью данной работы являлся поиск штаммов бактерий рода *Pseudomonas* из коллекции УФИЦ РАН «Симбионт», несущих гены синтеза пероксидаз DyP-типа. Изначально были найдены и изучены гены пероксидаз DyP-типа нескольких видов бактерий в NCBI: *Pseudomonas asiatica* strain RYU5 RYU5\_unitig\_0, whole genome shotgun sequence; *Pseudomonas fluorescens* strain ATCC 13525 chromosome I; *Pseudomonas plecoglossicida* strain XSDHY-P chromosome, complete genome; *Pseudomonas chlororaphis* strain q1u-1 chromosome, complete genome. К найденным последовательностям были подобраны праймеры с помощью программы Primer-BLAST NCBI: для *P. asiatica* F: AGAACCCAGCACCCAAC; R: GGCGGGCACCAGTAGTATC, для *P. fluorescens* F: GCATAACCCGTCCACTCAG; R: TGCGATACAAACCATCCACA, для *P. plecoglossicida* F: GTGGCTACGGGGTGAGGA; R: GCGGCTGAAGCGGTAGAG, для *P. chlororaphis* F: TGTGTCTGCGGTTTTGCTT; R: ATGTCGGACAGCTTCTTGC. С помощью этих праймеров были проанализированы 31 штамм бактерий рода *Pseudomonas* из коллекции ИБГ УФИЦ РАН «Симбионт». Среди них было найдено 10 штаммов с целевым геном DyP-пероксидазы. В дальнейшем было проведено секвенирование 3-х найденных генов и по его результатам построено филогенетическое дерево. Один из штаммов оказался филогенетически близок к *Pseudomonas fluorescens* strain ATCC 13525, а два других близки к *Pseudomonas asiatica* strain RYU5 RYU5\_unitig\_0 и *Pseudomonas chlororaphis* strain q1u-1. В дальнейшем предполагается исследование штаммов, у которых обнаружены гены DyP-пероксидаз, как потенциальных биодеструкторов для ликвидации нефтезагрязнений.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по теме «Программа создания и функционирования карбонового полигона на территории Республики Башкортостан «Евразийский карбоновый полигон» на 2022-2023 годы (FEUR-2022-0001).

***Pseudomonas* producing the DyP-type peroxidase like potential biodestructor to eliminate contaminations**

<sup>1</sup>Volkova A.L., <sup>1,2</sup>Vershinina Z.R., <sup>1,2</sup>Chubukova O.Y., <sup>2</sup>Matniyazov R.T.  
<sup>1</sup>Ufa State Petroleum Technological University, Ufa.  
<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa.  
 volkova.stasy22@gmail.com

In recent years, the problem of restoring ecosystems contaminated with oil and petroleum products has become acute. The destruction of oil in the environment is a complex multifactorial process, which is influenced by the composition, concentration and duration of the pollutant, the diversity and variability of external factors that affect the ecosystem. Bioremediation is considered a non-destructive, cost-effective purification technology that aims to accelerate the natural biodegradation of pollutants. The search for new oil destructors among soil strains of microorganisms is a promising area of research in the field of bioremediation.

In recent years, the focus of the scientific world has been on enzymes involved in the modification of phenolic compounds, in particular DyP-type peroxidases, known for their ability to discolor dyes. The aim of this work was to search for strains of bacteria of the genus *Pseudomonas* from the collection of the UFIC RAS "Symbiont", carrying genes for the synthesis of DyP-type peroxidases. Initially, DyP-type peroxidase genes of several bacterial species were found and studied in NCBI: *Pseudomonas asiatica* strain RYU5 RYU5\_unitig\_0, whole genome shotgun sequence; *Pseudomonas fluorescens* strain ATCC 13525 chromosome I; *Pseudomonas plecoglossicida* strain XSDHY-P chromosome, complete genome; *Pseudomonas chlororaphis* strain q1u-1 chromosome, complete genome. Primers were selected for the found sequences using the Primer-BLAST NCBI program: for *P. asiatica* F: AGAACCCAGCACCCAAC; R: GGCGGGCACCAGTAGTATC, for *P. fluorescens* F: GCATAACCCGTCCACTCAG; R: TGCGATACAAACCATCCACA, for *P. plecoglossicida* F: GTGGCTACGGGGTGAGGA; R: GCGGCTGAAGCGGTAGAG, for *P. chlororaphis* F: TGTGTCTGCGGTTTTGCTT; R: ATGTCGGACAGCTTCTTGC. Using these primers, 31 strains of *Pseudomonas* bacteria from the collection of the IBG UFIC RAS "Symbiont" were analyzed. Among them, 10 strains with the target DyP peroxidase gene were found. Subsequently, 3 genes were sequenced and a phylogenetic tree was constructed based on its results. One of the strains turned out to be phylogenetically close to *Pseudomonas fluorescens* strain ATCC 13525, and the other two are close to *Pseudomonas asiatica* strain RYU5 RYU5\_unitig\_0 and *Pseudomonas chlororaphis* strain q1u-1.

In the future, it is planned to study strains that have DyP peroxidase genes as potential biodestructors for the elimination of oil pollution. The publication was carried out within the framework of the state task of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation on the topic "Program for the creation and functioning of a carbon polygon in the Republic of Bashkortostan" Eurasian carbon polygon "for 2022-2023 (FEUR-2022-0001).

### Растительно-микробные топливные элементы как биотехнологические устройства

<sup>1,2</sup>Волченко Н.Н., <sup>1</sup>Гасюк О.А., <sup>1</sup>Гронина А.Д., <sup>2</sup>Лазукин А.А., <sup>1</sup>Самков А.А., <sup>1</sup>Худокормов А.А.

<sup>1</sup>Кубанский государственный университет, г. Краснодар

<sup>2</sup> Национальный исследовательский университет ИТМО, г. Санкт-Петербург.

volchenko.n@mail.ru

Среди растительно-микробных систем одним из новых экспериментальных объектов являются растительно-микробные топливные элементы. Эти биоинженерные устройства сочетают в себе биологические агенты, в виде растений, микроорганизмов и инженерные составляющие – электроды, преобразователи и накопители электрической энергии. Растительно-микробные топливные элементы (РМТЭ) являются разновидностью микробных топливных элементов (МТЭ) – биотехнологических устройств, преобразующих энергию окислительно-восстановительных метаболических процессов бактерий в маломощное электричество. Биофизической основой их функционирования является замещение вещества-конечного акцептора электронов в анаэробных дыхательных цепях бактерий на искусственный акцептор-биоанод. Классические биотопливные элементы представляют собой устройства с двумя камерами, разделенными протонселективной мембраной. Растительно-микробный топливный элемент представляет собой систему, в которой корневая система бактерий погружена в почвенную или гидропонную среду с микроорганизмами. Там же располагаются электроды – катод в более аэробной зоне, анод в более анаэробной. Растения в ходе фотосинтеза выделяют часть его продуктов в виде корневых экссудатов. Последние служат топливными субстратами как для ризосферной микрофлоры, так и для анодофильных электрогенных микроорганизмов в составе МТЭ. Таким образом РМТЭ является сравнительно автономной системой, где продукты фотосинтеза растений-продуцентов посредством почвенной микрофлоры преобразуются в электрическую энергию.

Подобные устройства служат объектом активных исследований не только как перспективные источники маломощной возобновляемой энергии, но и как элемент технологий биоремедиации. Растения в них могут служить не только источниками корневых экссудатов для бактерий, но и аккумуляторами веществ-токсикантов. Процесс микробного биоэлектрогенеза в свою очередь активизируют окислительно-восстановительные реакции в почвенной или гидропонной среде. Что приводит к более активной биодеградации соединений-поллютантов.

В Кубанском государственном университете проводятся исследования РМТЭ на основе микроорганизмов *Shewanella oneidensis* и *Rhodococcus erythropolis*. Таких растений как *Oryza sativa*, *Trapa natans*, травосмесей из *Lolium multiflorum*, *Phleum pratense*, *Lolium perenne* и др. Показан возможность биоэлектрогенеза до 700 мВ, снижение концентрации в пропускаемых через РМТЭ растворов тяжелых металлов, СПАВ, соединений азота.

### Plant-microbial fuel cells as biotechnological devices

<sup>1,2</sup>Volchenko N.N., <sup>1</sup>Gasyuk O.A., <sup>1</sup>Gronina A.D., <sup>2</sup>Lazukin A.A., <sup>1</sup>Samkov A.A., <sup>1</sup>Khudokormov A.A.

<sup>1</sup>Kuban State University, Krasnodar

<sup>2</sup>ITMO National Research University, St. Petersburg.

volchenko.n@mail.ru

Among plant-microbial systems, plant-microbial fuel cells are one of the new experimental objects. These bioengineering devices combine biological agents in the form of plants, microorganisms and engineering components - electrodes, converters and electrical energy storage devices. Plant microbial fuel cells (PMFCs) are a type of microbial fuel cells (MFCs) – biotechnological devices that convert the energy of redox metabolic processes of bacteria into low-power electricity. The biophysical basis of their functioning is the replacement of the substance-final electron acceptor in the anaerobic respiratory chains of bacteria with an artificial acceptor-bianode. Classical biofuel cells are devices with two chambers separated by a proton-selective membrane. A plant-microbial fuel cell is a system in which the root system of bacteria is immersed in a soil or hydroponic environment with microorganisms. Electrodes are also located there - the cathode in a more aerobic zone, the anode in a more anaerobic one. Plants during photosynthesis release part of its products in the form of root exudates. The latter serve as fuel substrates both for the rhizosphere microflora and for anodophilic electrogenic microorganisms in the composition of MFCs. Thus, PMFC is a relatively autonomous system, where the products of photosynthesis of producing plants are converted into electrical energy by means of soil microflora.

Such devices are the object of active research not only as promising sources of low-power renewable energy, but also as an element of bioremediation technologies. Plants in them can serve not only as sources of root exudates for bacteria, but also as accumulators of toxic substances. The process of microbial bioelectrogenesis, in turn, activates redox reactions in the soil or hydroponic environment. This leads to more active biodegradation of pollutant compounds.

At the Kuban State University, research is being carried out on PMFC based on the microorganisms *Shewanella oneidensis* and *Rhodococcus erythropolis*. Plants such as *Oryza sativa*, *Trapa natans*, grass mixtures from *Lolium multiflorum*, *Phleum pratense*, *Lolium perenne*, etc. The possibility of bioelectrogenesis up to 700 mV, a decrease in the concentration in solutions of heavy metals, surfactants, nitrogen compounds passed through PMFC, were shown.

**Металлотолерантность и PGP-активность изолятов *Buttiauxella spp.* и *Pseudomonas spp.* из ризосферы редкой орхидеи, колонизирующей серпентинитовые субстраты**

Воропаева О.В., Борисова Г.Г., Малева М.Г., Тугбаева А.С., Ермошин А.А.  
Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия.  
[olga.voropaeva@urfu.ru](mailto:olga.voropaeva@urfu.ru)

Почвенные бактерии являются одними из важнейших симбионтов представителей сем. Orchidaceae. К настоящему времени бактериальная микрофлора орхидей недостаточно изучена. Данные об их симбиотических взаимодействиях с бактериями, принадлежащими к родам *Pseudomonas* и *Buttiauxella*, фрагментарны. Была проведена сравнительная оценка металлотолерантности и ростостимулирующей (PGP) активности *Buttiauxella spp.* и *Pseudomonas spp.*, выделенных из ризосферы редкой орхидеи *Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser., колонизирующей серпентинитовые отвалы после добычи асбеста (Анато́льско-Шиловское месторождение, Свердловская область). Было выделено 19 штаммов *Buttiauxella spp.* и 6 – *Pseudomonas spp.* Изоляты проверяли на PGP-активность по способности к фиксации атмосферного азота, синтезу индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) и солубилизации фосфатов стандартными методами. Кроме этого, определяли их устойчивость к тяжелым металлам в диапазоне концентраций от 200 до 1000 мг/л. Показано, что все изоляты были способны к синтезу ИУК и фиксации азота. Солубилизирующая способность *Pseudomonas spp.* была в среднем на 7% выше по сравнению с *Buttiauxella spp.* Изоляты рода *Pseudomonas* оказались более устойчивыми к ионам Cu (до 600 мг/л), Ni (до 800 мг/л) и Zn (до 1000 мг/л), по сравнению с *Buttiauxella*. Сделано предположение, что исследуемые ризобактерии, благодаря металлотолерантности и ростостимулирующей активности, помогают орхидее *E. atrorubens* колонизировать техногенные субстраты.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Программы развития ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина» в соответствии с программой стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

**Metal tolerance and PGP activity of *Buttiauxella spp.* and *Pseudomonas spp.* isolates from the rhizosphere of a rare orchid colonizing serpentine substrates**

Voropaeva O.V., Borisova G.G., Maleva M.G. Tugbaeva A.S., Ermoshin A.A.  
Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia.  
[olga.voropaeva@urfu.ru](mailto:olga.voropaeva@urfu.ru)

Soil bacteria are one of the most important symbionts of Orchidaceae family species. To date, the bacterial microflora of orchids has not been sufficiently studied. Data on their symbiotic interactions with bacteria belonging to the genera *Pseudomonas* and *Buttiauxella* are fragmentary. A comparative evaluation of metal tolerance and plant growth promoting (PGP) activity of *Buttiauxella spp.* and *Pseudomonas spp.*, isolated from the rhizosphere of the rare orchid *Epipactis atrorubens* (Hoffm.) Besser. colonizing serpentine dumps after asbestos mining (Anatol'sko-Shilovsky deposit, Sverdlovsk region). 19 strains of *Buttiauxella spp.* and 6 *Pseudomonas spp.* have been isolated. The isolates were tested for PGP activity by the ability to fix atmospheric nitrogen, synthesize indol-3-acetic acid (IAA), and solubilize phosphates by standard methods. In addition, their resistance to heavy metals was determined in the concentration range from 200 to 1000 mg/L. It was shown that all isolated were capable to synthesizing IAA and fixing nitrogen. The solubilizing ability of *Pseudomonas spp.* was on average 7% higher compared to *Buttiauxella spp.* Isolates of the genus *Pseudomonas* turned out to be more resistant to Cu (up to 600 mg/L), Ni (up to 800 mg/L) and Zn (up to 1000 mg/L), compared with *Buttiauxella*. We concluded, that the studied rhizobacteria, due to metal tolerance and PGP activity, help the orchid *E. atrorubens* to colonize technogenic substrates.

The work was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the Ural Federal University Development Program in accordance with the program of strategic academic leadership "Priority-2030".

**BacRegDB: a database of bacterial regulatory elements coupled with web tools for transcription regulation analysis**<sup>1</sup>Vychyk P.\*, <sup>2</sup>Duvalov E., <sup>2</sup>Digris A., <sup>2</sup>Skakun V., <sup>1</sup>Nikolaichik Y.<sup>1</sup>Department of Molecular Biology, Belarusian State University, Minsk, Belarus<sup>2</sup>Department of Systems Analysis and Computer Modelling, Belarusian State University, Minsk, Belarus  
p.vychik@gmail.com

The number of transcription factors (TFs) encoded in the genomes of plant-associated bacteria ranges from about 300 for *Enterobacteriales* to over 800 for *Streptomycetales*. Available transcriptomic data shows about half of the TFs can be either induced or repressed *in planta*. The importance of studying TFs for understanding plant-pathogen interaction is obvious, but wet-lab approaches are technically challenging, rather expensive and laborious.

We present the capabilities of our newly developed database – BacRegDB (<http://bacregdb.bsu.by/>) for studying bacterial pathogen transcriptional regulation using *in silico* approach. BacRegDB and related web tools – TFs classifier and transcription factor binding site (TFBS) annotator – could reveal new virulence-related targets and help to reconstruct regulatory networks. The only input data required for using these tools is the microbial genome of researcher's interest in GenBank format.

BacRegDB is a new TFBS database permitting reliable automated transfer of regulatory information between bacterial genome sequences. Using 3D-crystal structure data available for various TF-DNA complexes, we have determined amino-acid residues involved in specific recognition of DNA nitrogenous bases in regulatory elements. Positions of these residues are conserved within a particular TF family. Such conservation allowed us to propose a strict criterion for applying regulatory information to any bacterial genome – the CR-tag: the amino acid residues of a transcriptional regulator that specifically contact the nitrogenous bases of the regulatory element in genomic DNA. The identity of CR-tags of two TFs from the same family generally means they have the same DNA recognition specificity and share the same binding site motif.

DNA-binding motif information in the BacRegDB is organized as a collection of hidden Markov model (HMM) TFBS profiles linked to CR-tags and DNA-binding domain families. The regulatory motif information was collected either from the literature or from the regulatory motif databases RegulonDB, CollecTF, Prodoric2, CoryneRegNet and RegPrecise. For TFs present in these sources, we used our Sigmoid tool to collect TF gene-linked binding sites from all genomes encoding TFs with the same CR-tag. If the resulting *de novo* inferred motif matched the one present in the databases or described in the literature, automatically collected and experimentally characterized binding sites were combined in the final HMM profile. HMM profile for each motif was built with threshold cutoff scores manually set to find known operators with minimum or no false positive hits.

BacRegDB currently includes HMM profiles derived from regulatory motifs for 237 TFs from 20 families and is steadily growing. These profiles have undergone full manual curation including verification of experimental evidence and determination of threshold scores for search parameters. Moreover, experimental evidence codes were manually assigned and linked to the corresponding sources.

BacRegDB provides two web tools to simplify information retrieval and processing for the users:

- TFs classifier: the only currently available web tool for identifying and classifying bacterial TFs according to DNA-binding domain type. It currently supports fast sensitive classification for 77 TF families and works with user-specified bacterial genomes.

- TFBS annotator infers and annotates TFBSs in a user-specified bacterial genome for TFs with CR-tags matching those in BacRegDB.

The main advantage of BacRegDB is the CR-tag concept – a fingerprint uniquely matching transcription factors with their binding sites. All regulatory motif records in the database are associated with a CR-tag and can therefore be correctly used to annotate similar elements in any genomes encoding a TF with an identical CR-tag. The vast part of the HMM profiles was built for TFs of plant-associated bacteria making BacRegDB a useful resource for PLAMIC community.

### Изменение синтеза стилибенов в каллусной культуре винограда под воздействием света и компонентов питательной среды

Вялков В.В., Луцкий Е.О.

ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», г. Краснодар  
taurim2012@yandex.ru

Виноград и продукты его переработки являются важным источником полезных для человека полифенолов, среди которых наибольший интерес представляют стилибены и, главным образом, ресвератрол. Это природный фитоалексин, содержащийся в кожце ягод, семенах, листьях, побегах, корневых волосках винограда. Для человека он представляет интерес ввиду выраженного положительного терапевтического эффекта на сердечно-сосудистую, пищеварительную и нервную системы.

Исследование посвящено особенностям биосинтеза стилибенов в каллусных культурах винограда в зависимости от условий культивирования. Биологические особенности сортов винограда, в частности устойчивость к биотическому стрессу, связана с биосинтезом стилибенов в присутствии дополнительного стрессового воздействия. Оценка влияния компонентов питательной среды на ростовые процессы в каллусных культурах и процессы биосинтеза стилибенов изучались нами на сорте Красностоп. Добавки в питательную среду: метилжасмонат 5 мкМ (MeJa), салициловая кислота 100 мкМ (SA), аскорбиновая кислота 0,5мМ (AsA), пролин 100 мкМ (Pro), кумаровая кислота 0,1 мМ (Coum) и сочетания перечисленных компонентов. Состав питательной среды является ключевым действующим фактором на метаболические процессы и жизнеспособность каллусных культур *in vitro*. Ростовая активность отражает жизнеспособность тканей растений. Через 1 месяц культивирования произошло увеличение размеров каллусов всех вариантов опыта от 30 до 200 раз. Минимальный прирост наблюдался в варианте с сочетанием SA и Coum. Кроме того, в этом варианте отмечали наибольшее потемнение тканей. Максимальный прирост каллусов обеспечивало добавление в среду AsA. Важно отметить, что применение комплексных обработок обеспечивало меньший прирост каллусов в сравнении с «чистыми» обработками. В наибольшей степени рост был ограничен сочетанием гормонов с Coum. Воздействие различных спектров света привело к существенным изменениям темпов роста каллусной ткани. Воздействие красного света увеличило прирост каллусной ткани в 13,7 раз. Минимальное содержание стилибенов было в контроле и при обработке AsA. Максимальное накопление стилибенов было выражено при сочетании MeJa и Pro. В целом же накопление ресвератрола в наибольшей степени инициировалось MeJa и его сочетаниями с другими компонентами сред, что подтверждается исследованиями о ведущей роли жасмонатов в стимуляции стилибенсинтаз. На образование стилибенов световое воздействие влияния не оказало.

Работа выполнена при поддержке РФФИ и Министерства образования и науки Краснодарского края, грант № 19-44-233006 p\_mol\_a

### Changes in stilbene synthesis in the grape callus culture under the influence of light and components of culture media

Vyalkov V.V., Lutsky E.O.

Federal State Budget Scientific Institution «North Caucasian Federal Research Center for Horticulture, Viticulture, Winemaking», Krasnodar  
taurim2012@yandex.ru

Grapes and their products are an important source of polyphenols beneficial to human health, among which stilbenes and, mainly, resveratrol are of the greatest interest. Resveratrol is a natural phytoalexin found in berry skins, seeds, leaves, shoots, and root hairs of grapes. Resveratrol has a pronounced therapeutic effect on the cardiovascular, digestive and nervous systems. The study is devoted to the features of the biosynthesis of stilbenes in grape callus cultures, depending on the cultivation conditions. The biological characteristics of grape varieties, in particular resistance to biotic stress, is associated with the biosynthesis of stilbenes in the presence of an additional stimulating effect. The influence of the culture medium composition on growth and stilbene biosynthesis in callus cultures was studied on the Krasnostop grape variety. Culture media supplements was methyl jasmonate 5  $\mu$ M (MeJa), salicylic acid 100  $\mu$ M (SA), ascorbic acid 0.5 mM (AsA), proline 100  $\mu$ M (Pro), coumaric acid 0.1 mM (Coum) and combinations of this components.

The composition of the nutrient medium is a key factor influencing the metabolic processes and viability of callus cultures. There was an increase in the size of calli of all variants of the experiment from 30 to 200 times after 1 month of cultivation. The minimal increase in callus size was observed in the variant with a combination of SA and Coum. In addition, in this variant, the greatest browning of tissues was noted. The maximum growth of calli size was ensured by the addition of AsA to the medium. It is important to note that the use of complex treatments provided a smaller increase in calluses in comparison with "pure" treatments. Growth was most limited by the combination of SA and MeJa with Coum. Exposure to different light spectra led to significant changes in the growth rate of callus tissue. Exposure to red light increased the growth of callus tissue by 13.7 times. The minimum content of stilbenes was in the control and after treatment with AsA. The maximum accumulation of stilbenes was in the MeJa + Pro variant. The accumulation of resveratrol was initiated to the greatest extent by MeJa and its combinations with other media components, which is confirmed by studies on the leading role of jasmonates in the stimulation of stilbene synthases. The formation of stilbenes was not influenced by light.

The reported study was funded by RFBR and Krasnodar Region according to the research project № 19-44-233006 r-mol-a.

**The use of induced mutagenesis in the creation of the initial material for pea breeding**<sup>1,2</sup>Gainullina K.P., <sup>1</sup>Kuluev B.R., <sup>2</sup>Davletov F.A.<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa<sup>2</sup>Bashkir Research Institute of Agriculture UFRC RAS, Ufa  
karina28021985@yandex.ru

Leguminous crops, including pea (*Pisum sativum* L.), are the main source of vegetable protein in the world. Breeding of new highly productive, adaptive, technological pea cultivars plays an important role in increasing the fund of food protein. In this case, the key role belongs to the initial material for breeding. The main problem of modern breeding has become a decrease in the genetic diversity of cultivated plants, including pea. One of the ways to increase genetic polymorphism is the application of chemically induced mutagenesis. Sodium azide ( $\text{NaN}_3$ ) is a highly effective chemical mutagen that is successfully used in breeding to increase the productivity of cultivated plants and acquire new traits by them. For genetic analysis in mutation breeding highly polymorphic SSR markers are widely used. These markers make it possible to track the pedigrees of mutants, and evaluate their genetic diversity. The aim of our study was to create pea breeding material by chemically induced mutagenesis using sodium azide and to evaluate the polymorphism of mutant populations by SSR analysis. The study was carried out in 2019-2021. Seeds of a highly productive pea cultivar Pamyati Khangildina in the amount of 100 pcs for each variant of the experiment were treated with sodium azide at concentrations of 1, 5, and 10 mM for 3 and 9 h and sown on experimental plots. Seed germination was determined. Phenological observations of the obtained mutants were carried out during the growing season. After harvesting and drying the plants, a structural analysis according to morphological and economically valuable traits was carried out. Molecular genetic polymorphism of the mutant populations and the original cultivar was assessed using 10 SSR markers from the microsatellite genomic library (Agrogene®, France). As a result of the study, we have determined the optimal concentrations of sodium azide and the duration of its treatment of pea seeds of the cultivar Pamyati Khangildina. It was found that the duration of seed treatment with sodium azide had a greater effect on their germination than the concentration of mutagen. Phenological observations and analysis of the elements of the crop structure revealed differences between sixteen obtained mutant pea populations and the initial cultivar both in morphological (leaf and stem mutations) and in economically valuable traits. Analysis of the yield structure elements has revealed a superiority of the most productive mutant populations over the initial cultivar Pamyati Khangildina in terms of the number of seeds per pod by 9.1-25.0 %, the number of seeds per plant by 5.2-30.3 %, the weight of 1000 seeds by 0.6-26.1 %, the weight of seeds per plant by 15.6-56.3 %. Microsatellite analysis carried out using 10 SSR markers revealed differences between the mutant populations at the genetic level and allowed to identify them. A dendrogram has been constructed on the basis of microsatellite analysis data made it possible to visualize the features of clustering of pea mutant populations and the initial cultivar. It was found that the most productive mutant populations, which significantly ( $p < 0.05$ ) exceeded the cultivar Pamyati Khangildina in a number of economically valuable traits, were grouped apart from the rest of the samples.

### Влияние окситетрациклина на почвенный микробиом и трансфер генов устойчивости в эндофитном микробиоме растений

Галиева Г.Ш., Данилова Н.В., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю.  
Казанский Приволжский федеральный университет.  
[goolnaz@rambler.ru](mailto:goolnaz@rambler.ru)

Происхождение микробных сообществ, связанных с растением, может быть внешним (филлосфера и ризосфера) и внутренним (эндосфера). В случае влияния внешнего микробиома, не только его члены, но и их свойства могут передаваться микроорганизмам растений. Устойчивость к антибиотикам стала глобальной проблемой и рассматривается как новый загрязнитель окружающей среды, который представляет серьезную угрозу для здоровья человека. В связи с этим исследования эндофитных микробных сообществ растений являются актуальными, поскольку данные микроорганизмы не удаляются из сельскохозяйственных культур. В данной работе мы исследовали влияние окситетрациклина (ОТС) на почвенный резистом и внутренний микробиом салата латук (*Lactuca sativa*). Растения салата выращивали на почве в течение 28 дней, при двух различных концентрациях ОТС 15 мг/кг и 300 мг/кг. Оценивали структуру микробного сообщества почвы и внутренних частей растения (эндосферы корня и листа) и количества генов устойчивости *tetX* и *tetA* в них. Показали, что в чистой от антибиотика почве, а также выращенных на ней растениях отсутствуют гены устойчивости к антибиотикам. Количество бактерий составляет  $4.99 \cdot 10^6$  копий генов 16S РНК/г почвы,  $2.10 \cdot 10^7$  копий генов 16S РНК/г свежего корня,  $7.88 \cdot 10^7$  копий генов 16S РНК/г свежего листа в почве, корне и листе, соответственно. В почве доминировали представители порядка *Streptophyta* и *Actinomycetales*, в корне и листе *Streptophyta* и *Rickettsiales*. Внесение ОТС привело к сокращению числа ОТЕ на 1.0 % и 0.8 % при концентрации 15 мг/кг и на 3.3 % и 12.7 % при концентрации 300 мг/кг в почве и листе соответственно. Интересно, что в корне определено увеличение ОТЕ на 4.9% и 25.9% при концентрациях 15 мг/кг и 300 мг/кг соответственно. Количество копий гена *tetA* (в расчете на 1 бакт клетку) составило 0.0025, 0.0046, 0.014 и 0.0024, 0.014, 0.0015, а гена *tetX* – 1.22, 1.85, 0.3 и 1.17, 3.03, 0.39 в почве, корне, листе при концентрациях ОТС 15 мг/кг и 300 мг/кг соответственно. Состав доминантов был аналогичен таковому в контрольных образцах. Можно заключить, что микробиомы растений и окружающей среды взаимосвязаны, загрязнение почвы антибиотиками увеличивает потенциальные риски миграции генов устойчивости к антибиотикам в пищевую цепь человека.

### Influence of oxytetracycline on microbiome soil and transfer of resistance genes in the endophytic microbiome of plants

Galieva G.Sh., Danilova N.V., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu.  
The Kazan Volga Federal University.  
[goolnaz@rambler.ru](mailto:goolnaz@rambler.ru)

Microbial communities of plants can be external (phyllosphere and rhizosphere) and internal (endosphere). Microbiome properties can be transferred to the endophytic microbiome of plants. Antibiotic resistance genes have become a global problem and pose a threat to human health. In this work, we investigated the effect of oxytetracycline (OTC) on the soil resist and internal microbiome of lettuce (*Lactuca sativa*). Lettuce plants were grown on soil for 28 days, at two different OTC concentrations of 15 mg/kg and 300 mg/kg. The structure of the microbial community of the soil and the inner parts of the plant (root and leaf endosphere) and the number of resistance genes *tetX* and *tetA* in them were evaluated. They showed that in the soil pure from the antibiotic, as well as plants grown on it, there are no antibiotic resistance genes. The number of bacteria is  $4.99 \cdot 10^6$  16S RNA copies genes/g soil,  $2.10 \cdot 10^7$  16S RNA copies /g fresh root,  $7.88 \cdot 10^7$  16S RNA copies /g fresh leaf in soil, root and leaf, respectively. The soil was dominated by representatives of the order *Streptophyta* and *Actinomycetales*, in the root and leaf *Streptophyta* and *Rickettsiales*. The introduction of OTC led to a reduction in the number of OTE by 1.0% and 0.8% at a concentration of 15 mg/kg and by 3.3% and 12.7% at a concentration of 300 mg/kg in soil and leaf, respectively. Interestingly, an increase in OTE of 4.9% and 25.9% at 15 mg/kg and 300 mg/kg, respectively, was fundamentally determined. The number of copies of the *tetA* gene (based on 1 bacte cell) was 0.0025, 0.0046, 0.014 and 0.0024, 0.014, 0.0015, and the *tetX* gene was 1.22, 1.85, 0.3 and 1.17, 3.03, 0.39 in soil, root, leaf at 15 mg/kg and 300 mg/kg OTC concentrations, respectively. The composition of the dominants was similar to that of the control samples. It can be concluded that plant and environmental microbiomes are interrelated, soil contamination by antibiotics increases the potential risks of migration of antibiotic resistance genes into the human food chain.



**Genetic analysis of *waxy*, *glu-1* genes in common wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) of Cis-Ural forest-steppe zone**

<sup>1</sup>Galimova A.A., <sup>2</sup>Ibragimova Z.A., <sup>1</sup>Kuluev B.R.  
Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa  
<sup>2</sup>Bashkir State University, Ufa  
aiz.galimova@yandex.ru

High-quality flour for bakery production is characterized by the content of a sufficient amount of good quality gluten, starch and an optimal balance of proteins, carbohydrates and enzymes. In determining the quality of gluten, the composition of high molecular weight glutenin subunits (HMWG) is a significant factor, since the disulfide bonds formed between different HMWG molecules determine the structure of the bread crumb. Glutenin genes *glu-A1*, *glu-B1*, *glu-D1* are located on the chromosomes of the 1homeologous group and have two closely related loci encoding x- and y-type proteins. Therefore, the alleles of the *glu-1* genes are determined by the combination of these proteins. For example, a combination of x- and y-type subunits of subgenome B—Bx7+By9—determine an allele *c* from subgenome B. Different alleles of glutenin genes are associated with high or low baking qualities.

The quality of starch is determined by the ratio of amylose and amylopectin, its two main macromolecules. A decrease in the percentage of amylose leads to a deterioration in the baking qualities of grain. The waxy protein is a key enzyme in the synthesis of amylose in grain and determines the applicability of flour for the manufacture of bakery products. Homeologous genes *wx-A1*, *wx-B1*, *wx-D1* have functionally significant alleles encoding active Wx proteins and null alleles blocking Wx protein synthesis. The composition of the starch of waxy-mutant wheats, which have null alleles for all three *waxy* genes, does not contain amylose (it consists entirely of amylopectin), which causes low baking qualities. It is accepted that the allele encoding the synthesis of a full-length functional Waxy protein is designated as allele *a*; the null allele, in which the synthesis of the functional Waxy protein is absent, is designated as the *b* allele.

Thus, the identification of alleles of the *glu-1* and *waxy* genes is an important and urgent task for marker-assisted and genomic selection of common wheat varieties in order to improve their baking qualities.

The aim of work was to genotype the *glu-1* and *waxy* loci in winter and spring varieties of common wheat of the Cis-Ural forest-steppe zone. The material of the study was the varieties and lines of common wheat, which are in breeding work in the Cis-Ural forest-steppe zone conditions. Genomic DNA was isolated by the CTAB method. Genotyping of samples for the *glu-1* gene was carried out using 6 pairs of genome-specific primers: UMN19F/19R (subgenome A), BxF/R, P5, P6 (subgenome B), UMN25F/25R, UMN26F/26R (subgenomeD) and Wx-7A-F1/R1a, Wx-4A-F2/R2, Wx-7D-F3/R3a to the *waxy* gene.

Genetic analysis was revealed that the *a/c* allele (subunitAx1/Ax-null) is predominant for the A subgenome in winter varieties, while the *b* allele (Ax2\*) is predominant in spring varieties. It is known that the Ax1 and Ax2\* subunits encoded by the *a* and *b* alleles have a positive effect on dough quality, while the null subunit encoded by the *c* allele has a negative effect. Genetic analysis showed a relatively large allele polymorphism of the *Glu-B1* locus. It was found that the *c* (Bx7+By9) and *b/al/c* (Bx7+By8/8\*/9) alleles are the most common in the studied group of wheat. Identification of the allelic composition of the *Glu-D1* gene was carried out using primers for duplex PCR for simultaneous detection of alleles of genes encoding subunits Dx and Dy. It was found that the composition of the subunits Dx5+Dy10 (allele *d*) is the most common (the frequency of occurrence in the total sample of winter and spring variety samples is 83.3%). At the same time, the frequency of occurrence of this allele in winter varieties is higher than in spring varieties. It is known that the *d* allele (Dx5+Dy10) of the *Glu-D1* locus has a pronounced positive effect on flour quality.

According to our preliminary data, the studied varieties of common wheat for subgenomes B and D carry alleles *a*, which determine the production of the functional Waxy protein. For subgenome A, it was found that 40.6% of the studied varieties and lines carry the *a* allele, and the remaining varieties carry the *b* null allele.

Thus, the genetic analysis of the *glu-1* and *waxy* genes in winter and spring varieties of common wheat of Cis-Ural forest-steppe zone showed that the studied varieties carry alleles associated with excellent and good baking qualities.

### Рост *Chlorellavulgaris* в присутствии микроорганизма *Shewanella oneidensis* mr-1 и некоторых тяжёлых металлов

Гасюк О.А., Волченко Н.Н., Самков А.А., Худокормов А.А.  
Кубанский государственный университет, г. Краснодар  
olgagasyuk2000@yandex.ru

На сегодняшний день высокая антропогенная нагрузка привела к высокому содержанию различных поллютантов в окружающей среде. Среди них особую опасность представляют тяжёлые металлы (ТМ), так как обладают высокой токсичностью и имеют продолжительный период полураспада во внешней среде. Поэтому определение и удаление ТМ из природной среды является актуальной задачей в настоящее время.

В качестве объектов исследования были выбраны одноклеточные водоросли *C. vulgaris*, так как они активно используются в процессах биоиндикации и биоремедиации окружающей среды от различных поллютантов. Так же был выбран штамм *S. oneidensis* MR-1, так как данная культура способна в анаэробных условиях использовать ТМ в качестве акцепторов электронов, тем самым восстанавливая их.

В процессе исследования проверялось влияние ТМ как на одноклеточные водоросли, так и на водоросли совместно с шеванеллой. В качестве поллютантов использовались ионы свинца, железа и меди в концентрациях 0,1 и 1 мг/л. Начальная концентрация клеток хлореллы составляла  $2 \cdot 10^4$  и  $10^3$  клеток/мл клеток *S. oneidensis* MR-1.

Спустя 7 дней эксперимента концентрация хлореллы в контроле, где отсутствовали ТМ и *S. oneidensis* MR-1, составила  $6,7 \cdot 10^6$  кл/мл. Тогда как в контроле хлореллы совместно с шеванеллой концентрация клеток водоросли составила  $9 \cdot 10^6$  кл/мл, что говорит о стимулирующем воздействии бактерии на *C. vulgaris*. В присутствии  $\text{Fe}^{2+}$  в концентрации 0,1 мг/л количество клеток хлореллы без *S. oneidensis* MR-1 на 7 день составило  $7 \cdot 10^6$  кл/мл, в присутствии шеванеллы –  $11,7 \cdot 10^6$  кл/мл. При концентрации  $\text{Fe}^{2+}$  1 мг/л концентрация *C. vulgaris* составила  $7 \cdot 10^6$  кл/мл, в присутствии же шеванеллы –  $10,8 \cdot 10^6$  кл/мл. В присутствии  $\text{Pb}^{2+}$  с концентрацией 0,1 мг/л количество клеток хлореллы на 7 сутки составило  $3 \cdot 10^6$  кл/мл, в присутствии *S. oneidensis* MR-1 –  $7,8 \cdot 10^6$  кл/мл. При концентрации ионов  $\text{Pb}^{2+}$  1 мг/л количество *C. vulgaris* в конце эксперимента составило  $1,7 \cdot 10^6$  кл/мл, в присутствии шеванеллы концентрация хлореллы составила  $6 \cdot 10^6$  кл/мл. С ионами  $\text{Cu}^{2+}$  (0,1 мг/л) в качестве поллютантов концентрация хлореллы на 7 день опыта составила  $4,5 \cdot 10^5$  кл/мл, в присутствии шеванеллы –  $2 \cdot 10^6$  кл/мл. При концентрации  $\text{Cu}^{2+}$  равной 1 мг/л количество хлореллы составило  $7 \cdot 10^5$  кл/мл, в присутствии *S. oneidensis* MR-1 –  $1,9 \cdot 10^6$  кл/мл.

Таким образом, наиболее губительное действие на водоросль было оказано катионами меди, наименее токсичный эффект на *C. vulgaris* оказали ионы железа. Так же присутствие в среде *S. oneidensis* MR-1 оказывало стимулирующее действие на хлореллу. К тому же шеванелла устраняла губительный эффект ТМ, что способствовало более активному росту клеток водорослей в среде, по сравнению со средой, где *S. oneidensis* MR-1 отсутствовала.

### Growth of *Chlorella vulgaris* in the presence of the microorganism *Shewanella oneidensis* mr-1 and some heavy metals

Gasyuk O.A., Volchenko N.N., Samkov A.A., Khudokormov A.A.  
Kuban State University, Krasnodar  
olgagasyuk2000@yandex.ru

To date, a high anthropogenic load has led to a high content of various pollutants in the environment. Among them, heavy metals (HMs) are of particular danger, as they are highly toxic and have a long half-life in the environment. Therefore, the determination and removal of HMs from the natural environment is an urgent task at present.

Unicellular algae *C. vulgaris* were chosen as objects of study, since they are actively used in the processes of bioindication and bioremediation of the environment from various pollutants. The *S. oneidensis* MR-1 strain was also chosen, since this culture is capable of using HMs as electron acceptors under anaerobic conditions, thereby reducing them.

In the course of the study, the effect of HM on both unicellular algae and algae together with shewanella was tested. Lead, iron, and copper ions were used as pollutants at concentrations of 0.1 and 1 mg/l. The initial concentration of chlorella cells was  $2 \cdot 10^4$  and  $10^3$  cells/ml of *S. oneidensis* MR-1 cells.

After 7 days of the experiment, the concentration of chlorella in the control, where there were no HMs and *S. oneidensis* MR-1, amounted to  $6.7 \cdot 10^6$  cells/ml. Whereas in the control of chlorella together with shewanella, the concentration of algae cells was  $9 \cdot 10^6$  cells/ml, which indicates the stimulating effect of the bacterium on *C. vulgaris*. In the presence of  $\text{Fe}^{2+}$  at a concentration of 0.1 mg/l, the number of chlorella cells without *S. oneidensis* MR-1 on day 7 was  $7 \cdot 10^6$  cells/ml, in the presence of shewanella,  $11.7 \cdot 10^6$  cells/ml. At a  $\text{Fe}^{2+}$  concentration of 1 mg/l, the concentration *C. vulgaris* was  $7 \cdot 10^6$  cells/ml, while in the presence of shewanella it was  $10.8 \cdot 10^6$  cells/ml. In the presence of  $\text{Pb}^{2+}$  at a concentration of 0.1 mg/l, the number of chlorella cells on the 7th day was  $3 \cdot 10^6$  cells/ml, in the presence of *S. oneidensis* MR-1 it was  $7.8 \cdot 10^6$  cells/ml. At a concentration of  $\text{Pb}^{2+}$  ions of 1 mg/l, the amount of *C. vulgaris* at the end of the experiment was  $1.7 \cdot 10^6$  cells/ml; in the presence of shewanella, the concentration of chlorella was  $6 \cdot 10^6$  cells/ml. With  $\text{Cu}^{2+}$  ions (0.1 mg/l) as pollutants, the concentration of chlorella on the 7th day of the experiment was  $4.5 \cdot 10^5$  cells/ml, in the presence of shewanella it was  $2 \cdot 10^6$  cells/ml. At a concentration of  $\text{Cu}^{2+}$  equal to 1 mg/l, the amount of chlorella was  $7 \cdot 10^5$  cells/ml, in the presence of *S. oneidensis* MR-1 it was  $1.9 \cdot 10^6$  cells/ml.

Thus, copper cations had the most detrimental effect on the alga, and iron ions had the least toxic effect on *C. vulgaris*. Also, the presence of *S. oneidensis* MR-1 in the medium had a stimulating effect on chlorella. In addition, shewanella eliminated the harmful effect of HM, which promoted more active growth of algae cells in the medium compared to the medium where *S. oneidensis* MR-1 was absent.

### Утилизация жиросодержащих субстратов и биотехнологический потенциал представителей рода *Microvirgula*

<sup>1</sup>Герасимчук А.Л., <sup>1</sup>Касымова А.А., <sup>1,2</sup>Анциферов Д.В., <sup>1,2</sup>Франк Ю.А.

<sup>1</sup>Томский государственный университет, г. Томск

<sup>2</sup>ООО «Дарвин», г. Томск

gerasimchuk\_ann@mail.ru

Род *Microvirgula* и вид *M. aerodenitrificans* впервые описан в работе Patureau et al. в 1998 году и охарактеризован как новая денитрифицирующая бетапротеобактерия, выделенная из активного ила. В настоящее время род *Microvirgula* включает два вида. Вторым представителем, *Microvirgula curvata* был выделен из загрязненных углеводородами почв (Subhash et al., 2016). Представители *Microvirgula* способны к росту в аэробных и анаэробных условиях и имеют нетипичный дыхательный тип метаболизма, используют кислород и оксиды азота в качестве конечных акцепторов электрона (Patureau et al., 1998). Нами представители *Microvirgula* были выделены из жируловителя мясоперерабатывающего комбината (штамм В37) и донных осадков р. Обь (штаммы LM1, LM8, LK02). Сравнение секвенированных фрагментов генов 16S рРНК штаммов показало, что их последовательности идентичны и имеют гомологию 100 % со штаммом *Microvirgula aerodenitrificans* (MT367755) из кишечника диких животных и 99.86 % с типовым штаммом *M. aerodenitrificans* NBRC 15328 (AB680837) из пресной воды.

Несмотря на одинаковое филогенетическое положение, выделенные из разных местообитаний штаммы характеризовались отличающимися физиологическими характеристиками. Штаммы из донных осадков росли и образовывали зоны гидролиза на трибутириновом агаре в отличие от штамма из жируловителя, который рос без образования зон гидролиза. Штаммы В37 (из жируловителя) и LM1 (остальные штаммы из донных осадков далее не исследовали) росли на жидкой селективной среде с добавлением дизельного топлива (1 %), а также на плотных минеральных средах с добавлением оливкового (1 %) и сливочного (1 %) масел. На плотных средах со свиным жиром (1 %) рос только штамм LM1. Наличие липолитических свойств у исследованных штаммов подтверждается не только культивированием на селективных средах, но и ПЦР-амплификацией фрагментов генов липаз из геномной ДНК всех выделенных штаммов с использованием вырожденных праймеров OXF1 и ACR1/ACR3.

Ранее для представителей *M. aerodenitrificans* сообщалось лишь о наличии липолитической активности на диагностических средах (Patureau et al., 1998). Нами впервые показана способность данных микроорганизмов к росту на таких органических субстратах, как животные и растительные жиры и нефтепродукты. Наличие липофильных свойств и способность утилизировать разные типы жиросодержащих веществ свидетельствует о биотехнологическом потенциале представителей *Microvirgula*.

Исследование выполнено при поддержке Программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030).

### Utilization of fat-containing substances and biotechnological potential of *Microvirgula* representatives

<sup>1</sup>Gerasimchuk A.L., <sup>1</sup>Kasymova A.A., <sup>1,2</sup>Antsiferov D.V., <sup>1,2</sup>Frank Y.A.

<sup>1</sup>Tomsk State University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Darwin Ltd., Tomsk, Russia

gerasimchuk\_ann@mail.ru

The genus *Microvirgula* with the type species *M. aerodenitrificans* was initially described by Patureau et al. in 1998. It was characterized as a novel denitrifying Betaproteobacteria isolated from activated sludge. Currently the genus *Microvirgula* includes two species. *Microvirgula curvata* type strain was isolated from hydrocarbon contaminated soil (Subhash et al., 2016). *Microvirgula* representatives are able to grow in anaerobic and aerobic conditions and to use non-typical respiration way utilizing oxygen and nitrogen oxides as terminal electron acceptors (Patureau et al., 1998). We isolated *Microvirgula* strains from the fat trap of a meat processing enterprise (strain B37) and natural bottom sediments of the Ob River (strains LM1, LM8, LK02). Comparative analysis of the partial 16S rRNA gene sequences of the strains revealed 100 % homology with *Microvirgula aerodenitrificans* (MT367755) from the wild animal gut and 99.86 % homology with the type strain *M. aerodenitrificans* NBRC 15328 (AB680837) from surface fresh water (Cleenwerck et al., 2003).

Despite their similar phylogenetic position, strains isolated from different habitats were characterized by diverse physiological traits. The strains of *M. aerodenitrificans* obtained from river bottom sediments grew on tributyrin agar plates forming zones of lysis unlike the strain B37 from fat wastes. B37 and LM1 strains were able to grow in a liquid medium supplemented with diesel fuel (1 %), and on mineral medium plates supplemented with olive oil (1 %) and butter (1 %). Only LM1 strain grew on the solid medium with pork fat (1 %). Lipolytic activity of the studied strains was confirmed not only by growth on selective media, but also by PCR-amplification of the partial sequences of the genes encoding lipases using OXF1 and ACR1/ACR3 primers. Positive PCR reaction was observed for all studied strains.

Previously, the presence of lipolytic activity for representatives of *M. aerodenitrificans* was reported using diagnostic media only (Patureau et al., 1998). In this study we revealed ability of *M. aerodenitrificans* strains to utilize animal fat, vegetable oil and diesel fuel for the first time. Manifestation of lipolytic activity and the ability to grow using different types of lipids and hydrocarbons make *Microvirgula* representatives promising biotechnological agents.

This research was supported by the Tomsk State University Development Programme (Priority2030).

### Постгеномная транскриптомика микроорганизмов

Гоголев Ю.В.<sup>1,2</sup>, Гоголева Н.Е.<sup>1,2</sup>, Осипова Е.В.<sup>1</sup>, Коннова Т.А.<sup>1</sup>, Хамо Х.<sup>2</sup>, Балкин А.С.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup> Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ КазНЦ РАН, Казань.

<sup>2</sup> Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань.

<sup>3</sup> Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург.

[gogolev.yuri@gmail.com](mailto:gogolev.yuri@gmail.com)

Не смотря на бурное развитие высокопроизводительного секвенирования, изучение бактериальных транскриптомов остается серьезным вызовом для исследователей. Одной из причин этого является то, что бактериальная РНК оказалась неожиданно сложной по составу, происхождению и набору выполняемых функций. Значительную долю в транскриптомах составляет некодирующая РНК (нкРНК), которая представлена множеством вариантов, различающихся по размеру молекул и количеству копий в клетке. Было показано, что некоторые нкРНК бактерий действуют в качестве негативных регуляторов активности генов, а также могут служить факторами иммунитета против бактериофагов. Однако, функциональная роль большей части нкРНК бактерий остается не выясненной. Кроме того, до настоящего времени отсутствуют подробные карты расположения сайтов транскрипционных стартов (TSS). Даже у хорошо изученного модельного организма *E. coli* точные позиции и количество TSS для большинства выявляемых транскриптов не известно. Данные элементы важны в масштабах структуры прокариотического генома, так как знание расположения сайтов старта транскрипции поможет в определении промоторов, структуры оперонов, 5' нетранслируемых области и идентификации антисмысловой и некодирующей РНК. Другой причиной сложности для изучения бактериальных транскриптомов является то, что в арсенале исследователей практически отсутствуют специализированные инструменты. Также нужно иметь в виду, что большинство работ было выполнено на чистых культурах, в то время как при изучении патогенов в патосистемах в смешанных транскриптомах бактерий и организмов-хозяев бактериальная РНК, как правило, составляет несколько процентов. Разработка метода Cappable-Seq, основанного на селекции транскриптов, содержащих 5'-концевые трифосфаты, предоставляет дополнительные возможности для исследования сложных транскриптомов. Применение этого метода позволило нам провести картирование TSS с точностью до одного нуклеотида и транскриптомный анализ некоторых патогенных бактерий непосредственно в тканях и клетках эукариотических организмов, в том числе, инфицированных растений. Показано, что для этих бактерий количество сайтов инициации транскрипции многократно превышает количество картированных генов. При этом, дополнительные транскрипты имеют неслучайное расположение и характер экспрессии.

Эксперименты по секвенированию РНК выполнены при поддержке РФФИ грант № 22-14-00317. Биоинформатические работы проведены в рамках госзадания ФИЦ КазНЦ РАН. Микробиологическая часть работы выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

### Postgenomic transcriptomics of microorganisms

Gogolev Y.V.<sup>1,2</sup>, Gogoleva N.E.<sup>1,2</sup>, Osipova E.V.<sup>1</sup>, Konnova T.A.<sup>1</sup>, Khamo H.<sup>2</sup>, Balkin A.S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics FRC KazSC RAS, Kazan.

<sup>2</sup> Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan.

<sup>3</sup> Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Orenburg.

[gogolev.yuri@gmail.com](mailto:gogolev.yuri@gmail.com)

Despite the rapid development of high-throughput sequencing, the study of bacterial transcriptomes remains a serious challenge for researchers. One of the reasons for this is that bacterial RNA turned out to be unexpectedly complex in composition, origin, and set of functions performed. A significant proportion of transcriptomes is non-coding RNA (ncRNA), which is represented by many variants that differ in the size of molecules and the number of copies in the cell. Some bacterial ncRNAs have been shown to act as negative regulators of gene activity and may also serve as immunity factors against bacteriophages. However, the functional role of the majority of bacterial ncRNAs remains unclear. In addition, detailed maps of the location of transcription start sites (TSS) are still lacking. Even in the well-studied model organism *E. coli*, the exact positions and amounts of TSS for most of the detected transcripts are not known. These elements are important in terms of the structure of the prokaryotic genome, since knowledge of the location of transcription start sites will help in determining the promoters, the structure of operons, the 5' untranslated regions, and the identification of antisense and noncoding RNA. Another reason for the difficulty in studying bacterial transcriptomes is that there are practically no specialized tools in the arsenal of researchers. It should also be borne in mind that most of the work was done on pure cultures, while in the study of pathogens in pathosystems in mixed transcriptomes of bacteria and host organisms, bacterial RNA, as a rule, makes up a few percent. The development of the Cappable-Seq method based on the selection of transcripts containing 5'-terminal triphosphates provides additional opportunities for the study of complex transcriptomes. The application of this method allowed us to map TSS with an accuracy of one nucleotide and perform transcriptomic analysis of some pathogenic bacteria directly in the tissues and cells of eukaryotic organisms, including infected plants. It has been shown that for these bacteria the number of transcription initiation sites is many times greater than the number of mapped genes. At the same time, additional transcripts have a non-random location and a correlated pattern of expression. RNA sequencing experiments were supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-14-00317. Bioinformatics work was carried out within the framework of the state assignment of the FRC KazSC RAS. The microbiological part of the work was carried out within the framework of the Strategic Academic Leadership Program of the Kazan (Volga Region) Federal University.

### Зависимость роста культуры *Astragalus alopecurus* от ее метаболического потенциала

Головацкая И.Ф., Рухляда К.А., Медведева Ю.В., Кадырбаев М.К., Бойко Е.В.,  
Матвейкина Д.А.

Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск.  
[golovatskaya.irina@mail.ru](mailto:golovatskaya.irina@mail.ru)

Растения играют огромную роль в фармацевтической промышленности, поскольку препараты растительного происхождения составляют более 25% от общего объёма лекарственных средств. Растения рода *Astragalus* содержат богатейший комплекс биологически активных соединений: флавоноиды (Фл), алкалоиды, сапонины, кумарины, полисахариды, глицирризиновая кислота, дубильные вещества и др., обуславливающий седативное, гипотензивное, противовирусное, слабительное и отхаркивающее действие. Введение новых видов растений в культуру *in vitro* требует изучения их роста и биохимического состава. В связи с этим целью данного исследования явилось получение стабильной каллусной культуры астрагала лисохвостного (*Astragalus alopecurus* Pall.) *in vitro*, изучение её ростового потенциала и механизмов его регуляции.

В эксперименте использовали активнорастущую культуру (25 пассаж) на агаризованной питательной среде Мурасиге-Скуга с добавлением НУК и 6-БАП в соотношении 4/1. Изучали динамику роста (ростового индекса по сырой и сухой массе – РИ) и биохимических параметров культуры через каждые 5 суток в течение 25-суточного культивирования в условиях темноты при 20-22 °С.

Изучение темпов роста культуры астрагала позволило определить оптимальное время для её субкультивирования. Кривая роста культуры имела лаг-период до 10 суток, в течение которого РИ увеличивался в 2 раза. В дальнейшем показатель вырос в 7,5 и 25,4 раза, соответственно на 15 и 20 сутки. К 25 суткам кривая роста выходила на плато.

Установлено, что рост культуры астрагала зависел от многих эндогенных факторов: водный обмен, окислительный статус, содержание свободного пролина и суммы Фл. Увеличение РИ сопровождалось увеличением обводнённости клеток и накоплением сухого вещества. Содержание свободного пролина в культуре поддерживалось на высоком уровне, что свидетельствовало об его осмопротекторной функции. Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) было максимально на 10 сутки, а затем снижалось в процессе культивирования. Суммарное содержание Фл увеличивалось к 15 суткам с последующим выходом на плато.

Таким образом показано, что увеличение уровня Фл обуславливало антиоксидантное действие, приводящее к снижению интенсивности ПОЛ и активации роста. Однако при снижении уровня АФК на фоне 60%-ного повышения уровня Фл относительно 10 суток отмечалось замедление роста клеток культуры. Следует ожидать изменение состава Фл.

Исследование выполнено при поддержке Программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030).

### Dependence of *Astragalus alopecurus* culture growth on its metabolic potential

Golovatskaya I.F., Rukhlyada K.A., Medvedeva Y.V., Kadyrbaev M.K., Boyko E.V.,  
Matveikina D.A.

National Research Tomsk State University, Tomsk.  
[golovatskaya.irina@mail.ru](mailto:golovatskaya.irina@mail.ru)

Plants play a huge role in the pharmaceutical industry, as preparations of plant origin account for more than 25% of the total amount of drugs. Plants of the genus *Astragalus* contain the richest complex of biologically active compounds: flavonoids (Fl), alkaloids, saponins, coumarins, polysaccharides, glycyrrhizic acid, tannins, etc., causing sedative, hypotensive, antiviral, laxative and expectorant action. Introduction of new plant species into culture *in vitro* requires the study of their growth and biochemical composition. Therefore, the aim of this study was to obtain a stable callus culture of *Astragalus alopecurus* Pall. *in vitro*, to study its growth potential and mechanisms of its regulation.

In the experiment, we used an actively growing culture (25 passages) on Murashige-Skuga agarized nutrient medium with the addition of NAA and 6-BAP in the ratio 4/1. We studied growth dynamics (growth index according to crude and dry mass, GI) and biochemical parameters of the culture every 5 days during 25-day cultivation in the dark at 20-22 °C.

The study of the growth rate of astragalus culture allowed us to determine the optimal time for its subculture. The growth curve of the culture had a lag-period of up to 10 days, during which the GI increased 2-fold. Thereafter, the index increased 7.5 and 25.4-fold, respectively, on days 15 and 20. By day 25, the growth curve reached a plateau.

It was found that the growth of astragalus culture depended on many endogenous factors: water metabolism, oxidative status, free proline and Fl sum content. An increase in GI was accompanied by an increase in cell water content and accumulation of dry matter. Free proline content in the culture was maintained at a high level, indicating its osmoprotective function. The intensity of lipid peroxidation (LPO) was maximal on day 10 and then decreased during cultivation. The total Fl content increased by day 15 with subsequent plateauing.

Thus, it was shown that an increase in the Fl level was responsible for the antioxidant effect leading to a decrease in LPO intensity and growth activation. However, when the ROS level decreased against the background of 60% increase in the Fl level relative to 10 days, a slowdown in the growth of the culture cells was observed. A change in the composition of Fl is to be expected.

The study was supported by the Tomsk State University Development Program (Priority-2030).

**Антифунгальные свойства биосурфактантов, продуцируемых ризобактериями по отношению к *Fusarium oxysporum***

Гордеев А.С., Бикташева Л.Р., Шарифуллина А.Д.  
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, г. Казань  
[drgor@mail.ru](mailto:drgor@mail.ru)

На фоне растущего спроса на продукцию сельского хозяйства активно проявляется проблема поражения вегетативных и генеративных частей растений паразитическими микроскопическими грибами. Для подавления их активности в качестве средств защиты растений применяют различные антифунгальные средства, как правило, фунгициды, получаемые синтетически. Однако, в настоящее время проявляется повышенный интерес к биопрепаратам. Микроорганизмы, обитающие в ризосфере растений, способны продуцировать группу соединений, относящихся к биосурфактантам с широкой областью применения. Штаммы микроорганизмов, выделенных из прикорневой зоны *Latuca sativa* были культивированы в лабораторных условиях для получения препарата биосурфактанта, физико-химические свойства которого определяются родовой принадлежностью продуцирующего микроорганизма и условиями культивирования. Было показано, что биосурфактант, продуцируемый *Pseudomonas aeruginosa* имеет наибольший выход и эффективность в отношении поверхностно-активных свойств, и при этом, способен подавлять активность паразитического гриба *Fusarium oxysporum* в тесте на подавление радиального роста грибов в дозах внесения 500 и 1000 ppm. Таким образом, скрининг штаммов микроорганизмов выявил наличие штамма, подходящего для технологичного культивирования с выделением продукта, для которого может быть испытана дальнейшая тактика применения в качестве средства защиты растений.

**Antifungal properties of biosurfactants produced by rhizobacteria against *Fusarium oxysporum***

Gordeev A.S., Biktasheva L.R., Sharifullina A.D.  
Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan  
[drgor@mail.ru](mailto:drgor@mail.ru)

With the growth of consumption of agricultural products, the problem of damage to the vegetative and generative parts of plants by parasitic microscopic fungi is noticeable. To suppress their activity as plant protection agents, various antifungal agents are used, as a rule, fungicides obtained synthetically. However, there is currently an increased interest in biopreparations. Microorganisms living in the rhizosphere of plants are capable of producing a group of compounds related to biosurfactants with a wide range of applications. Strains of microorganisms isolated from the root zone of *Latuca sativa* were cultivated under laboratory conditions to obtain a biosurfactant preparation, the physicochemical properties of which are determined by the genera of the producing microorganism and cultivation conditions. It has been shown that the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* has the highest yield and effectiveness in terms of surfactant properties, and at the same time, is able to inhibit the activity of the parasitic fungus *Fusarium oxysporum* in the test for the suppression of the radial growth of fungi at application doses of 500 and 1000 ppm. Thus, the screening of strains of microorganisms revealed the presence of a strain suitable for technological cultivation with the release of a product for which further tactics of use as a plant protection agent can be tested.

**Влияние фунгицидов Винтаж МЭ и Титул Дуо на развитие симбиотических клубеньков гороха (*Pisum sativum* L.)**

Горшков А.П.<sup>1</sup>, Куракин П.Г.<sup>1</sup>, Цыганова А.В.<sup>1</sup>, Цыганов В.Е.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский научный центр РАН, г. Санкт-Петербург.

artemius1993@yandex.ru

Была проведена серия экспериментов на сортах гороха Frisson и Finale для изучения влияния фунгицидов на бобово-ризобийный симбиоз. Данные сорта были обработаны фунгицидами класса триазолов (Винтаж МЭ и Титул Дуо), используемых при агротехнике бобовых растений. Опрыскивание фунгицидами производилось на 10-й и 20-й дни после инокуляции. Винтаж МЭ был использован в концентрациях 1:200 (рекомендованная производителем), 1:100 и 1:20; Титул Дуо в концентрациях 1:500 (рекомендованная производителем), 1:250 и 1:50. Растения были собраны на 10-е сутки после обработки. У растений гороха при обработке фунгицидами, особенно при высоких концентрациях, замедлялся рост и снижалось количество симбиотических клубеньков. Для транскриптомного анализа были взяты клубеньки с растений сорта Frisson, обработанные фунгицидом Титул Дуо на 10-е сутки после инокуляции. Анализ дифференциально экспрессирующихся генов показал, что при обработке значимо свою экспрессию увеличили 30 генов, а понизили 13 генов. В ходе анализа функций этих генов (с использованием аннотации, предоставляемой с референсным геномом гороха, а также программы Blastx) были обнаружены две группы генов с повышенной экспрессией, продукты которых участвуют в модификации клеточных стенок, а также в развитии защитных реакций. Ультраструктурный анализ показал изменения клеточных стенок и стенок инфекционных нитей в виде просветления и набухания уже при обработке рекомендованными производителем концентрациями, при больших концентрациях аномалии клеточных стенок усугублялись. В инфицированных клетках наблюдалось нарастание патологических изменений бактериоидов и симбиосом с увеличением концентрации фунгицидов: от накопления полигидроксибутирата (ПОБ) до появления аномальных и дегенерирующих бактериоидов. Таким образом, фунгициды Винтаж МЭ и Титул Дуо оказывают непосредственно негативный эффект на ультраструктуру клубеньков, что проявляется в изменении растительной клеточной стенки, стенки инфекционной нити и дегенеративных изменений симбиосом, что подтверждается транскриптомным анализом.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-320 от 20.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

**Effect of fungicides Vintage ME and Title Duo on the development of symbiotic pea nodules (*Pisum sativum* L.)**

Gorshkov A.P.<sup>1</sup>, Kusakin P.G.<sup>1</sup>, Tsyganova A.V.<sup>1</sup>, Tsyganov V.E.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg.

<sup>2</sup>Saint-Petersburg Scientific Center RAS, St. Petersburg.

E-mail: artemius1993@yandex.ru

A series of experiments was carried out on pea varieties Frisson and Finale to study the effect of fungicides on legume-rhizobium symbiosis. These varieties were treated with fungicides of the triazole class (Vintage ME and Title Duo) used in the agrotechnics of legumes. Treatment with fungicides was carried out on the 10th and 20th days after inoculation. Vintage ME was used at concentrations of 1:200 (recommended by the manufacturer), 1:100 and 1:20; Title Duo in concentrations of 1:500 (recommended by the manufacturer), 1:250 and 1:50. Plants were harvested 10 days after treatment. In pea plants, when treated with fungicides, especially at high concentrations, growth slowed down and the number of symbiotic nodules decreased. For transcriptomic analysis, nodules were taken from Frisson plants treated with the fungicide Title Duo on the 10th day after inoculation. The analysis of differentially expressed genes showed that during treatment, 30 genes significantly increased their expression, and 13 genes decreased their expression. During the analysis of the function of these genes (using the annotation provided with the reference pea genome, as well as the Blastx program), two groups of genes with increased expression were found, the products of which are involved in the modification of cell walls, as well as in the development of defense reactions. Ultrastructural analysis showed changes in the cell walls and the walls of infection threads in the form of clearing and swelling even when treated with the concentrations recommended by the manufacturer; at higher concentrations, the anomalies of the cell walls were aggravated. In infected cells, an increase in pathological changes in bacteroids and symbiosomes was observed with an increase in the concentration of fungicides: from the accumulation of polyhydroxybutyrate (PHB) to the appearance of abnormal and degenerating bacteroids. Thus, the fungicides Vintage ME and Title Duo have a direct negative effect on the nodule ultrastructure, which manifests itself in changes in the plant cell wall, infection thread wall, and degenerative changes in symbiosomes, which is confirmed by transcriptomic analysis.

This work was made with support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with agreement No 075-15-2022-320 of April 16, 2022 on providing a grant in the form of subsidies from the Federal budget of Russian Federation. The grant was provided for state support for the creation and development of a World-class Scientific Center "Agrotechnologies for the Future".

### Влияние различных штаммов ризобактерий на рост микрорастений картофеля *in vitro*

<sup>1</sup>Григорян М.А., <sup>1</sup>Ткаченко О.В., <sup>1,2</sup>Бурьгин Г.Л., <sup>2</sup>Евсеева Н.В.

<sup>1</sup>Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, г. Саратов

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ СНЦ РАН, г. Саратов  
grigorian.mika@yandex.ru

Ранее в наших исследованиях было показано, что ризосферные рост-стимулирующие бактерии могут оказывать положительное влияние на рост и адаптационную способность микрорастений в культуре *in vitro*. Целью данного исследования было изучение влияния четырех штаммов ризосферных бактерий на способность стимулировать рост микроклонов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в культуре *in vitro*. Использовали штаммы *Azospirillum baldaniorum* Sp245, *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, *Enterobacter ludwigii* K7 и *Kocuria rosea* T1Ks19. Растения модельного сорта Невский культивировали в стерильных условиях (контроль), инокулировали штаммами в монокультуре и в парных вариантах ко-инокуляции. Штаммы *A. baldaniorum* Sp245 и *K. rosea* T1Ks19 добавляли к микрорастениям при черенковании, а штаммы *E. ludwigii* K7 и *O. cytisi* IPA7.2 на 14 сутки после черенкования. На 30 сутки культивирования оценивали морфометрические параметры (длину побега и корней, их массу сырую и сухую, количество узлов на побеге и корнях). Пара штаммов с максимальным положительным эффектом проверялась еще на двух сортах картофеля Розара и Ред Скарлетт.

С микрорастениями сорта Невский в условиях *in vitro* все бактерии формировали устойчивые растительно-микробные ассоциации с активной бактериализацией всех частей растений. Анализ содержания бактерий на различных органах микрорастений и в гомогенатах корней показал, что бактерии всех штаммов сохранялись на растениях в процессе культивирования в течение 30 суток, но количественное соотношение штаммов при ко-инокуляции изменялось. *O. cytisi* IPA7.2 и *E. ludwigii* K7 доминировали по сравнению с двумя другими штаммами. Установлено существенное положительное влияние бактерий в первую очередь на корнеобразование при неоднозначном влиянии на рост побега микрорастений картофеля сорта Невский. Максимальный положительный эффект ко-инокуляции наблюдался при использовании комбинации штаммов *A. baldaniorum* Sp245 + *K. rosea* T1Ks19. Обнаружен синергетический эффект ко-инокуляции этими штаммами по сравнению с действием каждого штамма по-отдельности.

Отобранная пара штаммов ризобактерий также оказывала рост-стимулирующее влияние на микрорастения картофеля сорта Розара, тогда как для сорта Ред Скарлетт максимальный положительный эффект отмечен при инокуляции чистой культурой штамма *A. baldaniorum* Sp245.

Полученные данные расширяют представления о возможности использования ризобактерий для повышения эффективности клонального микроразмножения картофеля в культуре *in vitro*.

### The effect of different strains of rhizobacteria on the growth of potato micro-plants in *in vitro* culture

<sup>1</sup>Grigoryan M.A., <sup>1</sup>Tkachenko O.V., <sup>1,2</sup>Burygin G.L., <sup>2</sup>Evseeva N.V.

<sup>1</sup>Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, FRC Saratov Scientific Centre of RAS, Saratov  
grigorian.mika@yandex.ru

Our early studies have shown that rhizospheric growth-promotion bacteria can have a positive effect on the growth and adaptive ability of micro-plants in *in vitro* culture. The aim of this study was to study the effect of four strains of rhizobacteria on the ability to stimulate the growth of potato microclones (*Solanum tuberosum* L.) in *in vitro* culture. The strains of *Azospirillum baldaniorum* Sp245, *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, *Enterobacter ludwigii* K7 and *Kocuria rosea* T1Ks19 were used. The plants of the model cultivar Nevsky were cultivated under sterile conditions (control), inoculated with strains in monoculture and in paired variants of co-inoculation. Strains of *A. baldaniorum* Sp245 and *K. rosea* T1Ks19 were added to micro-plants during cuttings, and strains of *E. ludwigii* K7 and *O. cytisi* IPA7.2 on the 14th day after cuttings. On the 30th day of cultivation, morphometric parameters were evaluated (the length of the shoot and roots, their mass raw and dry, the number of nodes on the shoot and roots). A couple of strains with the maximum positive effect were tested on two more cultivars of potato Rosara and Red Scarlett.

*In vitro*, all bacteria formed stable plant-microbial associations with active bacterization of all parts of plants with the micro-plants Nevsky cultivar. Analysis of the bacterial content on different organs of micro-plants and in root homogenates showed that bacteria of all strains were preserved on plants during cultivation for 30 days, but the quantitative ratio of strains during co-inoculation changed. *O. cytisi* IPA7.2 and *E. ludwigii* K7 dominated compared to the other two strains. A significant positive effect of bacteria has been established, primarily on root formation, with an ambiguous effect on the growth of shoots of potato micro-plants of the Nevsky cultivar. The maximum positive effect of co-inoculation was observed when using a combination of strains *A. baldaniorum* Sp245 + *K. rosea* T1Ks19. A synergistic effect of co-inoculation with these strains was found in comparison with the action of each strain separately.

The selected pair of rhizobacteria strains also had a growth-stimulating effect on the micro-plants of Rosara cultivar, whereas for the Red Scarlett cultivar, the maximum positive effect was noted when inoculated with a pure culture of the strain *A. baldaniorum* Sp245.

The data obtained expand the understanding of the possibility of using rhizobacteria to increase the efficiency of clonal micro-propagation of potatoes in *in vitro* culture.



**Перспективы использования наночастиц серебра в технологии *in vitro* размножения древесных растений**

Гродецкая Т. А., Федорова О. А., Евлаков П. М.

ФГБОУ ВО Воронежский государственный лесотехнический университет им. Г.Ф. Морозова, Воронеж  
tatyana.pokusina@yandex.ru

Исследована возможность использования наночастиц серебра (10-30 нм) в составе питательных сред, а также питательного субстрата в технологии клонального микроразмножения березы пушистой *B. pubescense*, селекционной формы 15-1, взятой из Объекта единого генетико-селекционного комплекса Воронежской области. Результаты по влиянию внесения наночастиц в состав питательной среды WPM (Woody Plant Medium) в концентрации 5 мг/л в процессе введения в культуру тканей показало снижение количества инфицированных эксплантов березы на 25% по сравнению с контролем. Низкий показатель инфицированности введенных эксплантов на питательных средах с наночастицами может быть связан с антибактериальным и антифунгальным действием растворов наночастиц серебра. Не установлено положительного действия наночастиц на стадиях мультпликации и укоренения микропобегов березы. Так, на среде, содержащей наночастицы, количество укоренившихся растений березы составило 45%, соответственно, тогда как в контрольном варианте – 60%. Добавление в среду для выращивания стимулятора корнеобразования – индолмасляной кислоты, увеличило количество укоренившихся растений до 60%, однако этот показатель в контрольном варианте был выше – 75%. Различные эффекты воздействия наночастиц на развитие корневой системы можно связать с ингибированием наносеребром накопления ауксина в корнях, а также со снижением экспрессии генов, связанных с рецепторами ауксина. На этапе адаптации к почвенным условиям добавление наночастиц в состав почвенного субстрата повышало приживаемость микрорастений березы на 25%. Кроме того, отмечено улучшение основных показателей роста и развития у опытных растений: высота стебля увеличивалась на 6-12%, количество листьев на 34-45%. Выявленное положительное влияние свидетельствует о повышении адаптационных свойств микрорастений березы под воздействием растворов наночастиц, что согласуется с текущими исследованиями. Полученные результаты могут быть полезны в биотехнологической практике при использовании наночастиц серебра в технологии клонального микроразмножения древесных растений.

**Prospects for the use of silver nanoparticles in the technology of *in vitro* reproduction of woody plants**

Grodetskaya T. A., Fedorova O. A., Evlakov P. M.

Voronezh State University of Forestry and Technologies named after G. F. Morozov, Voronezh  
tatyana.pokusina@yandex.ru

The possibility of using silver nanoparticles (10-30 nm) as part of nutrient media, as well as a nutrient substrate in the technology of clonal micropropagation of downy birch *B. pubescense*, breeding form 15-1, taken from the Object of the Unified Genetic Breeding Complex of the Voronezh Region, was studied. The results on the effect of nanoparticles into the nutrient medium WPM (Woody Plant Medium) at a concentration of 5 mg/L during the introduction into tissue culture showed a decrease in the number of infected birch explants by 25% compared with the control. The low infection rate of introduced birch explants on nutrient media with nanoparticles may be associated with the antibacterial and antifungal effects of silver nanoparticle solutions. The positive effect of nanoparticles at the stages of multiplication and rooting has not been established. Thus, on the medium containing nanoparticles, the number of rooted birch plants was 45%, respectively, while in the control variant it was 60%. The addition of a root formation stimulator, indolylbutyric acid, to the growing medium increased the number of rooted plants up to 60%, but in the control variant this figure reached 75%. Various effects of nanoparticles on the development of the root system can be associated with the inhibition of auxin accumulation in roots by nanosilver, as well as with a decrease in the expression of genes associated with auxin receptors. At the stage of adaptation to soil conditions, the addition of nanoparticles to the soil substrate increased the survival rate of birch microplants by 25%. In addition, an improvement in the main indicators of growth and development in experimental plants was noted. Thus, the height of the stem increased by 6-12%, the number of leaves by 34-45%. The revealed positive effect indicates an increase in the adaptive properties of birch microplants under the influence of nanoparticle solutions, which is consistent with the current research data. The results obtained can be important for biotechnological practice when using silver nanoparticles in the technology of clonal micropropagation of woody plants.

**Перспективы биосенсорных методов анализа для определения антибактериальных препаратов**<sup>1</sup>Гулий О.И., <sup>2</sup>Зайцев Б.Д., <sup>1</sup>Караваяева О.А., <sup>2</sup>Бородина И.А.<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов,  
ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Саратов, 410049, Россия<sup>2</sup>Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН,  
Саратовский филиал, Саратов, 410019, Россия  
guliy\_olga@mail.ru

Неконтролируемое применение антибактериальных препаратов приводит не только к повышению антибиотикорезистентных бактерий, но и вызывают накопление остатков противомикробных препаратов в воде, что, в конечном итоге, угрожает здоровью человека. Поэтому весьма важно проводить анализ промышленной и питьевой воды на наличие антибиотиков. Несмотря на значительное количество разработанных методов и подходов для определения антибиотиков, одной из наиболее перспективных технологий для экспресс-анализа антибактериальных препаратов являются биосенсорные системы. Биосенсорные методы анализа активно развиваются и широко применяются для экологического мониторинга окружающей среды. Биосенсоры позволяют проводить качественный и количественный анализ антибиотиков, что делает их очень востребованными при необходимости крупномасштабного анализа антибактериальных препаратов. Однако биосенсоры имеют ряд ограничений, связанных как со стабильностью работы, так и с их стерилизацией после удаления отработанных образцов. Разработан компактный акустический анализатор на основе резонатора с поперечным электрическим полем для экспресс-анализа антибиотиков, который продемонстрировал свои возможности на примере хлорамфеникола в водных растворах. Показана возможность определения хлорамфеникола с нижним пределом детекции 0.5 мкг/мл. В качестве сенсорного элемента использовали бактериальные клетки, являющиеся чувствительными к антибиотику. Аналитическим сигналом служило изменение модуля электрического импеданса резонатора при добавлении антибиотика к суспензии клеток. Время анализа не превышало 4 мин. Установлена корреляция экспериментальных данных, полученных с помощью акустического датчика с результатами, полученными с помощью световой фазово-контрастной микроскопии и стандартного микробиологического анализа. Представленный способ демонстрирует стабильность, воспроизводимость и повторяемость результатов. Компактный биоанализатор можно использовать «в полевых условиях» и в передвижных лабораториях. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 22-29-00587.

**Prospects of biosensor methods for antibacterial drugs detection**<sup>1</sup>Guliy O.I., <sup>2</sup>Zaitsev B.D., <sup>1</sup>Karavaeva O.A., <sup>2</sup>Borodina I.A.<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,  
Russian Academy of Sciences, Saratov, 410049, Russia<sup>2</sup>Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics,  
Russian Academy of Sciences, Saratov branch, Saratov, 410019, Russia  
guliy\_olga@mail.ru

The uncontrolled use of antibacterial drugs leads not only to an increase in antibiotic-resistant bacteria, but also causes the accumulation of antimicrobial residues in water, which ultimately threatens human health. Therefore, it is very important to analyze industrial and drinking water for the presence of antibiotics. Despite a significant number of developed methods and approaches for the determination of antibiotics, biosensor systems present the most promising technologies for the rapid analysis of antibacterial drugs. Biosensor methods of analysis are actively developed and are used in ecological monitoring of the environment. Biosensors allow for qualitative and quantitative analysis of antibiotics, which makes them very popular when large-scale analysis of antibacterial drugs is required. However, biosensors have a number of limitations associated with both the stability of their operation and their sterilization after removal of used samples. A compact acoustic analyzer based on a resonator with a lateral electric field has been developed for express analysis of antibiotics, which has demonstrated its possibility on the example of chloramphenicol in aqueous solutions. The possibility of determining chloramphenicol with a lower limit detection of 0.5 µg/mL was shown. Antibiotic-sensitive bacterial cells were used as a sensor element. The change in the electrical impedance modulus of the resonator upon addition of the antibiotic to the cell suspension served as an analytical signal. The analysis time did not exceed 4 min. A correlation between the experimental data obtained by the acoustic sensor and light phase-contrast microscopy and standard microbiological analysis was established. The presented method demonstrates the stability, reproducibility and repeatability of the results. The compact bioanalyzer can be used "in the field conditions" and in mobile laboratories. This work was supported by the Russian Science Foundation, project no. 22-29-00587.

**Изучение полифункционального действия энтомопатогенных штаммов бактерий  
из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР**

Гырнец Е.Ю., Асатурова А.М.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Федеральный научный центр биологической защиты растений», г. Краснодар

[alena\\_fox95@mail.ru](mailto:alena_fox95@mail.ru)

Особый интерес среди новых подходов к защите растений представляют препараты на основе биоагентов, обладающих полифункциональным действием. Работу проводили на базе лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием материально-технической базы УНУ «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения» (<http://ckp-rf.ru/usu/671367>). Для выявления возможного полифункционального действия инсектицидных бактерий была изучена их антифунгальная активность методом встречных культур. По результатам первичного и вторичного скрининга по критерию энтомопатогенности было отобрано 17 перспективных штаммов бактерий с высоким инсектицидным действием в отношении двух тест-объектов: *Galleria mellonella* L. (65-95 %) и *Tenebrio molitor* L. (72-98 %).

В качестве тест-культур грибов были выбраны изоляты *Fusarium graminearum* BZR F-4, *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6, *F. culmorum* BZR F-3, *Microdochium nivale* BZR F-5 и *Rhizoctonia solani* BZR F-11.

В результате исследований установлено возможное полифункциональное действие перспективных штаммов бактерий и были выявлены штаммы с высокой антифунгальной активностью в отношении всех исследуемых тест-культур грибов: BZR 277 (43,6-67,0 %), BZR 920 (53,8-61,9 %), BZR 936 (42,1-60,4 %). Среднее антагонистическое действие против всех изучаемых фитопатогенов продемонстрировал штамм BZR 736 (38,1-41,1 %), тогда как штаммы BZR 1159, BZR 201, BZR 206, BZR 40, BZR 585, BZR 588, BZR 635 и BZR 762 не оказали ингибирующего эффекта на тест-культуры фитопатогенных грибов.

Штамм BZR G1 показал среднюю антифунгальную активность в отношении *F. culmorum* BZR F-3 – 43,6 % на десятые сутки, но при этом его эффективность против других фитопатогенов была менее 20 %. У штамма BZR G1 отмечена средняя эффективность в отношении грибов *F. culmorum* BZR F-3 и *F. graminearum* BZR F-4 – 46,5 и 53,9% на десятые сутки соответственно, против остальных – менее 30 %.

Интересно отметить различную степень антагонистического действия штамма BZR 162 в отношении изучаемых фитопатогенов. Так эффективность штамма против *F. graminearum* BZR F-4 достигала 56,9 % к десятым суткам, а ингибирование мицелия *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6 составило 42,4 %. При этом антифунгальная активность этого штамма против грибов *F. culmorum* BZR F-3, *M. nivale* BZR F-5 была на уровне 30,2 и 37,4 соответственно, а в отношении *R. solani* BZR F-11 – 13,7 %.

Исследования выполнены согласно Государственному заданию министерства науки и высшего образования РФ в рамках НИР по теме № FGRN-2022-0005

**The study of the multifunctional effect of entomopathogenic bacterial strains  
from the bioresource collection of the FSBSI FRCBPP**

Gyrnets E.Yu., Asaturova A.M.

Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Research Center of Biological Plant Protection", Krasnodar

[alena\\_fox95@mail.ru](mailto:alena_fox95@mail.ru)

Of particular interest among the new approaches to plant protection are preparations based on bioagents with a polyfunctional effect. The work was carried out on the basis of the laboratory of microbiological plant protection of the FSBSI FRCBPP using the material and technical base of the unique scientific installation: "Technological line for obtaining microbiological plant protection products of a new generation" (<http://ckp-rf.ru/usu/671367>). To identify the possible multifunctional action of insecticidal bacteria, their antifungal activity was studied by the method of counter cultures. According to the results of primary and secondary screening, 17 promising bacterial strains with a high insecticidal effect were selected according to the criterion of entomopathogenicity against two test objects: *Galleria mellonella* L. (65-95%) and *Tenebrio molitor* L. (72-98%). *Fusarium graminearum* BZR F-4, *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6, *F. culmorum* BZR F-3, *Microdochium nivale* BZR F-5 and *Rhizoctonia solani* BZR F-11 isolates were selected as test cultures of fungi, as one of the most harmful and common phytopathogens causing diseases of many agricultural cultures.

As a result of the studies, a possible multifunctional effect of promising bacterial strains was established and strains with high antifungal activity were identified against all test cultures of fungi studied: BZR 277 (43.6-67.0%), BZR 920 (53.8-61.9%), BZR 936 (42.1-60.4%). The average antagonistic effect against all studied phytopathogens was demonstrated by strain BZR 736 (38.1-41.1%), whereas strains BZR 1159, BZR 201, BZR 206, BZR 40, BZR 585, BZR 588, BZR 635 and BZR 762 did not have an inhibitory effect on test cultures of phytopathogenic fungi. Strain BZR G1 showed average antifungal activity against *F. culmorum* BZR F-3 – 43.6% on the tenth day, but its effectiveness against other phytopathogens was less than 20%. The BZR G1 strain has an average efficacy against fungi *F. culmorum* BZR F-3 and *F. graminearum* BZR F-4 – 46.5 and 53.9% on the tenth day, respectively, against the rest – less than 30%. It is interesting to note the different degree of antagonistic action of the BZR 162 strain against the studied phytopathogens. Thus, the effectiveness of the strain against *F. graminearum* BZR F-4 reached 56.9% by the tenth day, and the inhibition of the mycelium of *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6 was 42.4%. At the same time, the antifungal activity of this strain against fungi *F. culmorum* BZR F-3, *M. nivale* BZR F-5 was at the level of 30.2 and 37.4, respectively, and against *R. solani* BZR F-11 – 13.7%.

The research was carried out in accordance with the State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of research on the topic No FGRN-2022-0005.

### Взаимосвязь структуры и фитотоксической активности природных 10-членных лактонов и их полусинтетических производных

<sup>1</sup>Далинова А.А., <sup>1</sup>Федоров А.Н., <sup>1</sup>Дубовик В.Р., <sup>2</sup>Смирнов С.Н., <sup>1</sup>Берестецкий А.О.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский институт защиты растений, г. Санкт-Петербург,

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург.

adalinova@vizr.spb.ru

10-членные лактоны являются распространенным классом биологически активных вторичных метаболитов грибов, причем многие представители проявляют перспективную фитотоксическую активность (Sun et al., 2012). Скудность литературных данных о биологической активности 10-членных лактонов затрудняет их использование для выявления структурных особенностей, обуславливающих активность. Целью работы было получение обширной библиотеки 10-членных лактонов и их биотестирование при помощи унифицированных методик для выявления взаимосвязи структуры и биологической активности.

Фитопатогенный гриб *Stagonospora cirsi* является продуцентом ряда 10-членных лактонов (Yuzikhin et al., 2007; Evidente et al., 2008; Dalinova et al., 2019). Из культур этого гриба на стандартных жидких и твердых питательных средах нами были получены природные представители класса (стагонолиды А, Е, J, К, гербарумин I, курвулид А, пиренолид С и др.), а затем для мажорных соединений были получены полусинтетические производные путем ацетилирования ОН-групп, эпоксицирования и гидрирования кратных углерод-углеродных связей, окисления аллильных ОН-групп. Таким образом мы получили библиотеку из 11-ти природных и 20-ти полусинтетических представителей класса, для которых оценивали фитотоксичность и побочную токсичность (антимикробную, цитотоксическую, инсектицидную антигрибную и др.). Фитотоксичные 10-членные лактоны распределились по двум группам – в одну попали соединения, имеющие в структуре кето-группу, сопряженную с кратной С-С связью (стагонолид А и его производные/аналоги, пиренолид С), а в другую – остальные фитотоксины (гербарумин I и др.). Первые проявляют широкий спектр биологической активности практически во всех биотестах, вторые – исключительно фитотоксическую активность. Для фитотоксической активности веществ второй группы оказалась важна конфигурация атома С-7 – природные и полусинтетические 10-членные лактоны с R-конфигурацией С-7 были менее фитотоксичны, чем их 7S аналоги. С-5-С-6 двойная связь в молекулах гербарумина I и стагонолида К не является необходимой для проявления фитотоксической активности.

Таким образом, в ходе исследования были выявлены структурные особенности, обуславливающие высокую фитотоксическую активность 10-членных лактонов. Эти данные полезны для оптимизации их структур для использования в качестве потенциального базового скелета при разработке новых гербицидов.

Работа поддержана грантами РФФИ 20-74-00093 и 22-16-00038.

### Structure-activity relationship of natural 10-membered lactones and their semi-synthetic derivatives

<sup>1</sup>Dalinova A.A., <sup>1</sup>Fedorov A.N., <sup>1</sup>Dubovik V.R., <sup>2</sup>Smirnov S.N., <sup>1</sup>Berestetsky A.O.

<sup>1</sup>All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg,

<sup>2</sup>St. Petersburg State University, St. Petersburg.

adalinova@vizr.spb.ru

10-membered lactones are a common class of biologically active secondary fungal metabolites, with many compounds showing promising phytotoxic activity (Sun et al., 2012). The fragmentary literature data on the biological activity of members makes it difficult to use them to identify structural features that determine activity. The aim of the work was to obtain an extensive library of 10-membered lactones and bioassay using standard methods to identify the structure-activity relationships within the class.

The phytopathogenic fungus *Stagonospora cirsi* is a producer of a number of 10-membered lactones (Yuzikhin et al., 2007; Evidente et al., 2008; Dalinova et al., 2019). From the cultures of this fungus on standard liquid and solid nutrient media, we obtained natural representatives of the class (stagonolides A, E, J, K, herbarumin I, curvulide A, pyrenolide C, etc.), and then semi-synthetic derivatives were obtained for major compounds by acetylation of OH groups, epoxidation and hydrogenation of double carbon-carbon bonds, oxidation of allyl OH groups. Thus, we obtained a library of 11 natural and 20 semi-synthetic representatives of the class, for which phytotoxicity and side toxicity (antimicrobial, cytotoxic, insecticidal antifungal, etc.) were evaluated.

Phytotoxic 10-membered lactones were divided into two groups - one included compounds that have a keto group in the structure conjugated with a multiple C-C bond (stagonolide A and its derivatives / analogs, pyrenolide C), and the other - the rest of the phytotoxins (herbarumin I and others). The former show a wide range of biological activity in almost all bioassays, the latter - exclusively phytotoxic activity. For the phytotoxic activity of substances of the second group, the configuration of the C-7 atom turned out to be important - natural and semi-synthetic 10-membered lactones with the R-configuration C-7 were less phytotoxic than their 7S counterparts. C-5-C-6 double bond in the molecules of herbarumin I and stagonolide K is not necessary for the manifestation of phytotoxic activity.

Thus, in the course of the study, structural features were revealed that determine the high phytotoxic activity of 10-membered lactones. These data are useful for optimizing their structures for use as a potential scaffold in the development of new herbicides.

This work was supported by RSF grants 20-74-00093 and 22-16-00038.

**Inactivation of *Bacillus pumilus* 3-19 genes using CRISPR-CAS9 technology**

Danilova Iu.V., Vasilyeva Y.A., Gilmutdinova A.I., Diadkina I.V.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan.

[Danilova146@mail.ru](mailto:Danilova146@mail.ru)

Bacillary proteinases have a multifarious plant growth promoting activities, play an important role in bacterial-nematode-plant-environment interactions, and also have the potential for biocontrol of fungal plant pathogens. These enzymes also have high potential for practical use in various industries for the hydrolysis of avian feathers, gluten degradation, biofilm destruction, as feed additives.

*Bacillus pumilus* are gram-positive bacteria, known for their ability to produce industrially significant hydrolytic enzymes and metabolites. The search for methods of genetic editing of the genome of these bacteria to increase the yield of useful products is urgent.

Strains with truncated genomes are used both in basic research and are used as cell factories for the production of enzymes. For example, *B. licheniformis* strain was designed for heterologous protein expression by removing six extracellular protease genes (*epi*, *wprA*, *mpr*, *aprE*, *vpr*, and *bprA*) by CRISPR-Cas9. As a result of cloning the *aprN* gene encoding *B. subtilis* nattokinase, the enzyme activity was increased by 25.7%. An obstacle to purification of the target product is the release of a large number of extracellular enzymes by *B. subtilis* bacteria during the post-exponential growth phase, including  $\alpha$ -amylase. Removal of the alpha-amylase (*amyE*) gene increases the purification efficiency of the target enzyme.

Our assumption was that removing the *sigF* gene from the *B. pumilus* 3-19 genome will disrupt the early stage of prespore development, and it can be assumed that the secretion of proteinases will be increased. The *Bacillus* group includes species known for their ability to produce a wide range of antimicrobial peptides, including bacilysin (*bac*) and bacteriocin (*bact*). We assumed that, after inactivation of the *bact* and *bac* genes, the resources of *B. pumilus* 3-19 cells will be maximally spent on the expression of proteinase genes.

Thereby, the aim of this work was to develop biotechnology to increase the expression of extracellular proteinases genes from *B. pumilus* 3-19 by inactivation the *sigF*, *bact* and *bac* genes using the CRISPR / Cas9 method.

For this, the plasmid pJOE9282.1 was cut at the BsaI restriction site and the integration of spacer fragments obtained by hybridization of primers corresponding to each gene was performed. Further, PCR fragments obtained from *B. pumilus* genomic DNA (*sigF*-L (500 bp) and *sigF*-R (716 bp); *bact*-L (501 bp) and *bact*-R (503 bp); *bac*-L (404 bp) and *bac*-R (402 bp)) were cloned at the SfiI site. Thus, on the basis of the pJOE9282.1 plasmid (Toymentseva, Altenbuchner, 2018), vectors pGAs11.21, pVYb11.21, and pDIb11.21 were created, respectively. The spacer nucleotide sequence and the sequences of -L and -R fragments of the studied genes were confirmed by PCR. Next, we carried out procedures for transformation of *B. pumilus* 3-19 strain with the obtained vectors and subsequent inactivation of target genes using the CRISPR / Cas9 method.

Contrary to our expectations, the activity of extracellular enzymes in the  $\Delta$ bac,  $\Delta$ bact and  $\Delta$ sigF mutant strains decreased compared to the original strain. Our further work will be devoted to the study of the mechanisms of proteinases activity decreasing.

This work was supported by grant from the Russian Science Foundation [project no. 22-16-00138].

**Whole-genome sequencing and the identification of genes responsible for the synthesis of growth-stimulating properties in the genome of the rhizosphere strain *Bacillus intestinalis* GM2**

Danilova Iu.V., Lutfullina G.F., Lutfullin M.T., Pudova D.S.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan.

Danilova146@mail.ru

The *Bacillus intestinalis* GM2 strain was isolated from the rhizosphere of Zhukovskij rannij potato cultivar. Genomic DNA of *B. intestinalis* GM2 was extracted by the phenol-chloroform method. DNA quantity and quality control were assessed using NanoPhotometer P 300 (Implen, Germany) and electrophoresis on a 1% agarose gel. Fragmentation of *B. intestinalis* GM2 DNA was performed using Covaris S220. The library was constructed using the NEBNext Ultra II DNA library preparation kit (New England Biolabs). A 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, United States) and a High Sensitivity DNA kit (Agilent Technologies, United States) were used to validate the quality of DNA fragmentation and DNA library preparation. Sequencing of the *B. intestinalis* GM2 genome was performed at the Regulatory Genomics Research Center on an Illumina HiSeq2500 platform (Illumina, USA) with a 251-bp paired-end library. Annotation of the *B. intestinalis* GM2 genome was performed using the RAST server and antiSMASH software.

The *B. intestinalis* GM2 genome is 4,216,713 bp long. Following assembly, 24 contigs (>200 bp) combined into 24 scaffolds were obtained. The values of N<sub>50</sub>, L<sub>50</sub>, and GC composition were 447,231 bp, 3 bp, and 43.6%, respectively. A total of 4294 genes were annotated, including 4095 protein-coding genes, 82 tRNA genes, 28 operons encoding rRNA genes, and 89 pseudogenes. The *B. intestinalis* GM2 genome assembly was deposited in the NCBI database under the accession number NZ\_NKAK00000000.1.

RAST identified coding sequences, of which 2078 coding sequences (48%) were annotated as part of Level 1 subsystems, while 2262 coding sequences (52%) fell outside the range of Level-1 subsystems. In *B. intestinalis* GM2 the RAST server identified the genes of the tryptophan synthase alpha-chain, phosphoribosyl-anthranilate isomerase, and anthranilate phosphoribosyl transferase responsible for the biosynthesis of the phytohormone auxin. Auxins produced by rhizobacteria increase the number of root hairs, which leads to the formation of plant binding centers.

In addition, a cluster of genes responsible for the synthesis of bacillibactin, a siderophore of several catechols, was identified in the genome of the GM2 strain. The GM2 strain shows gene loci encoding trilactone hydrolase [bacillibactin] siderophore, Fe-bacillibactin capture system FeuB, Fe-bacillibactin capture system FeuC, Fe-bacillibactin capture system FeuA and Fe-bacillibactin binding. Bacillibactin is a siderophore of triscatecholate that is hydrolyzed to monomeric units with the release of iron after transfer into the cell. The synthesis of siderophores helps rhizobacteria absorb iron from the environment.

Using the antiSMASH software, 26 potential gene clusters were identified in the *B. intestinalis* GM2 genome, 12 of which are responsible for the synthesis of secondary metabolites, including saccharides, terpenes, and fatty acids. Comparative analysis of the gene cluster of *B. intestinalis* GM2 strain responsible for the synthesis of bacillibactin (BGC0000309), a trivalent iron chelator, showed 100% homology with the gene cluster responsible for the synthesis of penibactin (BGC0000401), found in the genome of *Paenibacillus elgii* B69 strain, as well as the bacillibactin (BGC0001185) of *Bacillus velezensis* FZB42. Thus, based on bioinformatic analysis, clusters of genes responsible for regulation of iron assimilation, auxin synthesis, and bacillibactin siderophore were identified in the genome of *B. intestinalis* GM2.

This study was supported by a grant from the Russian Science Foundation [project no. 22-16-00138].

**Роль ризобактерий в формировании устойчивости микроклонов картофеля к осмотическому стрессу в условиях *in vitro***

<sup>1</sup>Денисова А.Ю., <sup>2</sup>Евсеева Н.В., <sup>1</sup>Ткаченко О.В., <sup>1,2</sup>Бурыгин Г.Л.

<sup>1</sup>Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, г. Саратов

<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ СХТ РАН, г. Саратов  
[alena.denisova1408@yandex.ru](mailto:alena.denisova1408@yandex.ru)

Одной из наиболее актуальных задач для сельского хозяйства Нижнего Поволжья является снижение последствий засухи, оказывающей разрушительное действие на культурные растения. Известно, что рост-стимулирующие ризобактерии способны оказывать протекторное действие на растения против осмотического стресса. Моделирование осмотического стресса в культуре *in vitro* позволяет оценить проекторную способность бактерий вне действия других стрессоров.

Целью работы было исследование влияния консорциума бактерий *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 на физиолого-морфологические и биохимические параметры микроклонов картофеля в условиях осмотического стресса *in vitro*.

Микрорастения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Невский инокулировали суспензией бактерий в концентрации 10<sup>6</sup> кл/мл. Осмотический стресс создавали путем добавления в среду полиэтиленгликоля (М.м. 6000). Оценку физиолого-морфологических и биохимических параметров растений проводили на 7-ые сутки действия стресса и на 7-ые сутки репарации.

Результаты проведенных исследований показали, что использование бактерий в оптимальных условиях способствовало увеличению длины побега и количества корней, а также сырой массы побегов.

Ко-инокуляция двумя штаммами в условиях осмотического давления в среде выращивания -0,3 МПа способствовала нивелированию окислительного стресса в растениях, что проявлялось в снижении уровня малонового диальдегида (МДА) в листьях, повышении активности каталазы и пероксидазы. Стимулирующего действия бактерий на морфометрические признаки растений в условиях осмотического стресса не установлено.

При снижении осмотического стресса до -0,2 МПа ко-инокуляция приводила к уменьшению содержания МДА до уровня контроля и значительному снижению активности пероксидазы. Уровень каталазы при этом не изменялся. Под действием бактериализации ростовые характеристики растений выравнивались до уровня контрольных растений.

Таким образом, бактериализация растений картофеля штаммами *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 способствовала снижению уровня окислительных процессов при стрессе в растениях. Результаты проведенных исследований расширяют представление о различных аспектах функционирования макро- и микроассоциантов в условиях осмотического стресса.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ № 19-016-00116.

**The role of rhizobacteria in the formation of potato microclones resistance to osmotic stress *in vitro***

<sup>1</sup>Denisova A. Yu., <sup>2</sup>Evseeva N. V., <sup>1</sup>Tkachenko O. V., <sup>1,2</sup>Burygin G. L.

<sup>1</sup>Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov, Saratov

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, FRC Saratov Scientific Centre of RAS, Saratov  
[alena.denisova1408@yandex.ru](mailto:alena.denisova1408@yandex.ru)

One of the most urgent tasks for agriculture in the Lower Volga region is to reduce the effects of drought, which has a devastating effect on cultivated plants. It is known that growth-promotion rhizobacteria can have a protective effect on plants against osmotic stress. Modeling osmotic stress in *in vitro* culture allows us to evaluate the projection ability of bacteria outside the action of other stressors.

The aim of the work was to study the influence of a consortium of bacteria *Azospirillum baldaniorum* Sp245 and *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 on the physiological, morphological and biochemical parameters of potato microclones under osmotic stress *in vitro*.

Potato micro-plants (*Solanum tuberosum* L.) of the Nevsky cultivar were inoculated with a suspension of bacteria at a concentration of 10<sup>6</sup> cell/ml. Osmotic stress was created by adding polyethylene glycol (Mm 6000) to the medium. The physiological, morphological and biochemical parameters of plants were evaluated on the 7th day of stress and on the 7th day of repair. The results of the conducted studies showed that the use of bacteria in optimal conditions contributed to an increase in the length of the shoot and the number of roots, as well as the raw mass of shoots.

Co-inoculation with two strains under osmotic pressure in a growing medium of -0.3 MPa contributed to the leveling of oxidative stress in plants, which manifested itself in a decrease in the level of malondialdehyde (MDA) in leaves, an increase in the activity of catalase and peroxidase. The stimulating effect of bacteria on the morphometric characteristics of plants under osmotic stress has not been established.

With a decrease in osmotic stress to -0.2 MPa, co-inoculation led to a decrease in the MDA content to the control level and a significant decrease in peroxidase activity. The level of catalase did not change. Under the action of bacterization, the growth characteristics of plants were leveled to the level of control plants.

Thus, the bacterization of potato plants by *A. baldaniorum* Sp245 and *O. cytisi* IPA7.2 strains contributed to a decrease in the level of oxidative processes under stress in plants. The results of the conducted studies expand the understanding of differences aspects of the functioning of macro- and microassociants under osmotic stress.

The work was partially supported by RFBR grant No. 19-016-00116.

***Thermobaculum tajikiense* sp. nov., новый вид термофильных бактерий  
из высокогорного геотермального источника в Таджикистане**

<sup>1,2</sup>Джураева М.М., <sup>2</sup>Биркеланд Н.-К., <sup>1</sup>Бободжанова Х.И.

<sup>1</sup>Центр биотехнологии Таджикского национального университета, 734025, Душанбе, Таджикистан

<sup>2</sup>Факультет биологических наук, Бергенский университет, Почтовый ящик 7803, NO-5020 Берген, Норвегия  
dmunavvara@bk.ru

На территории Таджикистана находится много высокогорных геотермальных источников, микробное разнообразие которых до сих пор не изучено. В ходе исследования по извлечению термофильных микроорганизмов и ферментов для промышленного применения новая термофильная бактерия, принадлежащая к типу Chloroflexi, была выделена из горячей почвы (88°C; pH 7,4) в геотермальном районе Тамдыкуль в Таджикистане, на высоте 2198 м. Изолят представлял собой облигатно аэробную, не спорообразующую палочку, которая образовывала розовые колонии на агаровых пластинках R2. Изолят, обозначенный как штамм T2pink, выращивался в диапазоне температур от 55 до 80°C и при значениях pH в диапазоне от 5 до 10. Основываясь на последовательности гена 16S рРНК, он был идентифицирован как член рода *Thermobaculum*, разделяя 94,2% идентичности последовательности с единственным описанным видом в этом роде, *Thermobaculum terrenum*. Проект секвенирования генома дал 3 045 080 п.н. уникальных данных о последовательностях, распределенных по 47 последовательностям со средним и общим содержанием 51,6% и с полнотой генома 97,6%. Средние значения нуклеотидной идентичности (ANI) и цифровой ДНК: гибридизация ДНК (dDDH) составили 89,5% и 36,5% соответственно, демонстрируя, что штамм T2pink представляет собой отдельный и отличный от генома вид, соответственно, и представляет собой первые зарегистрированные термофилы из Таджикистана. Штамм T2pink активно расщеплял целлюлозу, казеин, крахмал и амилазу и дал положительные результаты в отношении большого количества гидролитических ферментов, например, Эстеразную липазу (C8), липазу (C), аминокислотные ариламидазы, галактозидазу, глюкуронидазу, α-глюкозидазу, α-фукозидазу и при 65°C и, таким образом, представляет собой хороший источник потенциально ценных промышленных ферментов.

***Thermobaculum tajikiense* sp. nov., a new species of thermophilic bacteria  
from a high-altitude geothermal source in Tajikistan**

<sup>1,2</sup>Dzhuraeva M.M., <sup>2</sup>Birkeland N.-K., <sup>1</sup>Bobodzhanova Kh.I.

<sup>1</sup>Center of Biotechnology of the Tajik National University, 734025, Dushanbe, Tajikistan

<sup>2</sup>Department of Biological Sciences, University of Bergen, P.O. Box 7803, NO-5020 Bergen, Norway  
dmunavvara@bk.ru

There are many high-altitude geothermal springs on the territory of Tajikistan, the microbial diversity of which has not yet been studied. During a study on the extraction of thermophilic microorganisms and enzymes for industrial use, a new thermophilic bacterium belonging to the Chloroflexi type was isolated from hot soil (88°C; pH 7.4) in the Tamdykul geothermal region in Tajikistan, at an altitude of 2198 m. The isolate was an obligately aerobic, non-spore-forming rod that formed pink colonies on agar plates R2. The isolate, designated as the T2pink strain, was grown in the temperature range from 55 to 80°C and at pH values in the range from 5 to 10. Based on the sequence of the 16S rRNA gene, it was identified as a member of the genus *Thermobaculum*, sharing 94.2% sequence identity with the only described species in this genus, *Thermobaculum terrenum*. The genome sequencing project yielded 3,045,080 bp of unique sequence data distributed over 47 sequences with an average and total content of 51.6% and with a genome completeness of 97.6%. The average values of nucleotide identity (ANI) and digital DNA: DNA hybridization (dDDH) were 89.5% and 36.5%, respectively, demonstrating that the T2pink strain is a separate and distinct species from the genome., respectively, and represents the first recorded thermophiles from Tajikistan. The T2pink strain actively cleaved cellulose, casein, starch, and amylase and gave positive results with respect to many hydrolytic enzymes, for example, esterase lipase (C8), lipase (C), amino acid arylamidases, galactosidase, glucuronidase, α-glucosidase, α-fucosidase and at 65°C and, thus, is a good a source of potentially valuable industrial enzymes.

The work was supported by the “Network for research-based higher education in microbial biotechnology” (CPEA-LT-2017/10061) as granted by Diku.



### Перспективы создания биогербицидов для контроля численности амброзии

Дидович С.В., Пась А.Н., Алексеенко О.П.

ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, г. Симферополь  
sv-alex.68@mail.ru

*Ambrosia artemisiifolia* L. является опасным карантинным сорным растением на территории России и занимает площадь карантинной фитосанитарной зоны 12,7 млн. га в 56 субъектах РФ. При этом, само растение может представлять интерес как фитоингибитор, синтезируя в соцветиях, листьях хлорогеновую, изохлорогеновую кислоты и эфирные масла, подавляющие рост многих культурных растений. Однако возможности применения фитотоксичных растительных компонентов из амброзии ограничены пока немногочисленными научными работами. Цель исследований – разработка биорациональных гербицидных препаративных форм (БГПФ) на основе биотически активных компонентов *Ambrosia artemisiifolia* L. и микроорганизмов-ингибиторов растений для угнетения роста и развития *Ambrosia artemisiifolia* L. Исследование проводили в 2020–2022 гг. в лабораторных и вегетационных опытах на базе ФГБУН НИИСХ Крыма. Растения амброзии полыннолистной выращивали из семян в сосудах на черноземе южном, обрабатывали в фазе четырех–шести листьев биорациональными препаративными формами в дозе 200 мкл/растение. Для приготовления биогербицидных композитов использовали штаммы-ингибиторы из Крымской коллекции микроорганизмов НИИСХ Крыма и растительные экстракты, эфирное масло из амброзии полыннолистной. Эффективность ингибирования оценивали через три недели после обработки по показателям высоты, фитомассы, антиоксидантной активности растений, фотосинтетической активности и степени поражения амброзии. Впервые нами использованы амброзиевые БАВ для разработки БГПФ. Установлено, что бактеризация БГПФ на основе биотически активных компонентов растительного происхождения и микроорганизмов-ингибиторов влияет на гомеостаз амброзии полыннолистной, индуцирует стресс растения путем блокирования системы антиоксидантной защиты и фотосинтетической активности. В зависимости от компонентов БГПФ активность растительных каталаз и полифеноксидаз снижалась соответственно в 2,9–85,6 и 1,2–658,0 раза с достоверной корреляцией между собой ( $r=0,66$ ), корреляцией активности каталаз с фитомассой растений ( $r=0,72$ ); содержание в растениях глутатиона уменьшалось в 2,5–2,7 в сравнении с контролем без обработки и достоверно коррелировало с активностью каталаз ( $r=0,63$ ) и фитомассой амброзии полыннолистной ( $r=0,80$ ) ( $p < 0,05$ ). Разработанные БГПФ снижали фитомассу растений в 1,3–2,7 раза ( $p=0,05$ ) со степенью поражения 28–63 % в сравнении с контролем.

### Perspective for the creation of biogerbicides to control the number of ragweed

Didovich S.V., Pas' A.N., Alekseenko O.P.

FSBSI Research Institute of Agriculture of Crimea, Simferopol  
sv-alex.68@mail.ru

*Ambrosia artemisiifolia* L. is a dangerous quarantine weed on the territory of Russia and occupies the area of the quarantine phyto-sanitary zone of 12.7 million hectares in 56 subjects of the Russian Federation. Ambrosia may be of interest as a phyto-inhibitor, it synthesizes chlorogenic, isochlorogenic acids and essential oils in inflorescences, leaves and it inhibits the growth of many cultivated plants. However, the possibilities of using phytotoxic plant components from ragweed are described in a few scientific papers. The purpose of the research is the development of biorational herbicidal preparative forms (BGPF) based on biotically active components of *Ambrosia artemisiifolia* L. and microorganisms-plant inhibitors to inhibit the growth and development of *Ambrosia artemisiifolia* L. The study was carried out in 2020-2022 in laboratory and pot experiments on the basis of the FSBSI Research Institute of Agriculture of Crimea. Ragweed plants were grown from seeds in vessels on southern chernozem, they were treated in the phase of four to six leaves with biorational preparative forms at a dose of 200  $\mu$ l/plant. For the preparation of biogerbicide composites, inhibitor strains from the Crimean collection of microorganisms of the FSBSI RIAC and plant extracts, essential oil from ragweed wormwood were used. The effectiveness of inhibition was evaluated three weeks after treatment according to the indicators of height, phytomass, antioxidant activity of plants, photosynthetic activity and the degree of damage to ragweed. For the first time, we used ambrosia BAS to develop for the development of BGPF. It has been established that the bacterization of BGPF based on biotically active components of plant origin and microorganisms-inhibitors affects the homeostasis of ragweed, induces plant stress by blocking the antioxidant defense system and photosynthetic activity. Depending on the components of BGPF, the activity of plant catalases and polyphenol oxidases decreased by 2.9–85.6 and 1.2–658.0 times with a significant correlation between each other ( $r = 0.66$ ), the correlation of catalase activity with plant phytomass ( $r = 0.72$ ). The content of glutathione in plants decreased by 2.5–2.7 in comparison with the control without treatment and significantly correlated with catalase activity ( $r = 0.63$ ) and ragweed phytomass ( $r = 0.80$ ) ( $p < 0.05$ ). The developed BGPF reduced plant phytomass by 1.3–2.7 times ( $p=0.05$ ) with a degree of damage of 28–63 % in comparison with the control.

### Изучение роли транскрипционного фактора BELL1-2 в процессе развития бобово-ризобияльного симбиоза

<sup>1,2</sup>Долгих А.В., <sup>2</sup>Дымо А.М., <sup>2</sup>Долгих Е.А.

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.  
sqshadol@gmail.com

Гомеодомен-содержащие белки, относящиеся к суперсемейству TALE, играют важную роль в процессах развития у живых организмов. У растений данная группа включает два семейства транскрипционных факторов – BELL (BELL-like) и KNOX (Knotted1-like homeobox), которые в большинстве случаев функционируют в форме гетеродимеров. Известно несколько представителей транскрипционных факторов KNOX, играющих важную роль в процессе формирования корневого азотфиксирующего клубенька бобовых. Тем не менее роль транскрипционных факторов BELL в этом процессе изучена не была. В нашей работе мы впервые показали, что экспрессия сразу нескольких генов BELL активируется в процессе развития симбиоза у модельного бобового растения люцерны слабоусеченной *Medicago truncatula*, а также у гороха посевного *Pisum sativum*. Изучив функциональную роль гена BELL1-2, мы выяснили, что его действие может быть связано с влиянием на гены биосинтеза гиббереллинов, а сам белок BELL1-2 может взаимодействовать с важнейшим регулятором гиббереллинового метаболизма — белком DELLA1. Нами было выяснено, что другой возможной функцией BELL1-2 может быть регуляция пектинметилэстераз, играющих важную роль в метаболизме клеточной стенки и ее пластичности при развитии инфекционных нитей при симбиозе. Вместе с тем, нами было показано, что возможным ко-регулятором для BELL1-2 в процессе развития симбиоза может являться транскрипционный фактор KNOX9, что соответствует представлению о том, что два транскрипционных регулятора из семейств BELL и KNOX работают в паре у растений. Подавление экспрессии *BELL1-2* и *KNOX9* в гомеозисном мутанте гороха *cochleata* показывает, что эти регуляторы семейства TALE могут играть роль в контроле образования нового органа - клубенька и, возможно, контролировать идентичность меристемы клубенька.

Работа была поддержана грантом РФФ 22-26-00279

### Study of the role of the BELL1-2 transcription factor in the development of legume-rhizobium symbiosis

<sup>1,2</sup>Dolgikh A.V., <sup>2</sup>Dymo A.M., <sup>2</sup>Dolgikh E.A.

<sup>1</sup>St. Petersburg State University, St. Petersburg

<sup>2</sup>All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg.  
sqshadol@gmail.com

Homeodomain-containing proteins belonging to the TALE superfamily play an important role in developmental processes in living organisms. In plants, this group includes two families of transcription factors, BELL (BELL-like) and KNOX (Knotted1-like homeobox), which in most cases function as heterodimers. Several members of the KNOX transcription factors are known to play an important role in the formation of the root nitrogen-fixing nodule of legumes. However, the role of BELL transcription factors in this process has not been studied yet. In our work, for the first time we have shown that the expression of several BELL genes is simultaneously activated during the development of symbiosis in the model leguminous alfalfa *Medicago truncatula*, as well as in the pea *Pisum sativum*. Having studied the functional role of the BELL1-2 gene, we found that its action may be associated with the effect on gibberellin biosynthesis genes, and the BELL1-2 protein itself can interact with the most important regulator of gibberellin metabolism, the DELLA1 protein. We have found that another possible function of BELL1-2 may be the regulation of pectin methylesterases, which play an important role in the metabolism of the cell wall and its plasticity during the development of infection threads during symbiosis. At the same time, we have shown that the transcription factor KNOX9 can be a possible co-regulator for BELL1-2 during the development of symbiosis, which corresponds to the idea that two transcription regulators from the BELL and KNOX families work in pairs in plants. Suppression of expression of *BELL1-2* and *KNOX9* in the homeotic mutant of pea *cochleata* shows that these regulators of the TALE family can play a role in controlling the formation of a new organ, the nodule, and possibly control the identity of the nodule meristem.

The work was supported by the RSF grant 22-26-00279

**Многообразие природных 10-членных лактонов  
и их биологическая активность**

Дубовик В.Р., Далинова А.А., Берестецкий А.О.  
ФГБНУ Всероссийский институт защиты растений, г. Санкт-Петербург.  
vdubovik@vizr.spb.ru

Микроорганизмы являются неиссякаемым источником разнообразных биологически активных вторичных метаболитов, которые могут служить потенциальными базовыми структурами для действующих веществ средств защиты растений и лекарственных средств. 10-членные лактоны – уникальная группа природных соединений, образуемых преимущественно микромицетами. Эти молекулы привлекают внимание исследователей со всего мира, так как при наличии достаточно простой химической структуры эти соединения проявляют широкий спектр биологической активности - фитотоксической, фунгицидной, цитотоксической и др. Но, несмотря на широкое распространение и множество описанных соединений, 10-членные лактоны остаются малоизученным классом природных соединений. Случайное открытие этих соединений научными группами с различными интересами во всем мире привело к разрозненной информации об их биологической активности. Многие представители класса проявляют гербицидную активность – гербарумин I, стагонолиды А, К (Dubovik, et.al 2020). Однако исследований, посвященных взаимосвязи структуры и активности 10-членных лактонов крайне мало. Для выявления возможных фитотоксичных представителей класса необходимо обобщить информацию об известных соединениях и их биологической активности.

В истории изучения природных 10-членных лактонов известно две обзорные работы авторов Dräger et al. (1996) и Sun et al. (2012). Благодаря совершенствованию методов очистки и идентификации веществ темпы опубликования структур новых природных соединений сильно возросли. За десятилетие (2012-2021 гг.), прошедшее с момента опубликования последнего обзора, в литературе нами было обнаружено еще 68 новых природных 10-членных лактона. Проведенный нами литературный анализ более двухсот представителей класса показал, что основными продуцентами 10-членных лактонов являются грибы, среди которых одну из лидирующих позиций занимают фомоидные грибы. Биологическая активность более 12% всех описанных 10-членных лактонов осталась неизученной, 44% соединений оценивали только на один тип активности, и только для 15% всех описанных в литературе веществ проводилось масштабное исследование биологической активности с привлечением более трех различных биотестов.

Таким образом, мы оценили масштаб пробелов в изучении биологической активности 10-членных лактонов. Исходя из сходства структур с известными фитотоксинами этого класса, целесообразна оценка фитотоксической активности ранее малоизученных 10-членных лактонов – диапортеолидов А, В, беллидисина D, гербарумина II. Работа поддержана грантами РНФ 20-74-00093 и 22-16-00038.

**Variety of natural 10-membered lactones and their biological activity**

Dubovik V.R., Dalinova A.A., Berestetsky A.O.  
All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg.  
vdubovik@vizr.spb.ru

Microorganisms are an inexhaustible source of various biologically active secondary metabolites that can be used as base structures for active ingredients of plant protection products and medicines.

10-membered lactones are a unique group of natural compounds produced mainly by micromycetes. These molecules attract the attention of researchers from all over the world, since, in the presence of a fairly simple chemical structure, these compounds exhibit a wide range of biological activity - phytotoxic, fungicidal, cytotoxic, etc. But, despite the wide distribution and many described compounds, 10-membered lactones remain a poorly studied class of natural compounds. The accidental discovery of these compounds by scientific groups with different interests around the world has led to scattered information about their biological activity. Many representatives of the class exhibit herbicidal activity - herbarumin I, stagonolides A, K (Dubovik, et.al 2020). However, there are very few studies devoted to the relationship between the structure and activity of 10-membered lactones. To identify possible phytotoxic representatives of the class, it is necessary to generalize information about known compounds and their biological activity.

In the history of the study of natural 10-membered lactones, there are two review papers by Dräger et al. (1996) and Sun et al. (2012). Due to the improvement of methods of purification and identification of compounds, the rate of publication of the structures of new natural compounds has greatly increased. In the decade (2012-2021) that has passed since the publication of the last review, we have discovered 68 new natural 10-membered lactones in the literature sources. Our literature analysis of more than two hundred representatives of this class of compounds showed that the main producers of 10-membered lactones are fungi, among which one of the leading positions is occupied by Phoma-like fungi. The biological activity of more than 12% of all described 10-membered lactones remained unstudied, 44% of the compounds were evaluated for only one type of activity, and only 15% of all substances described in the literature were subjected to a large-scale study of biological activity involving more than three different bioassays.

Thus, we assessed the scale of the gaps in the study of the biological activity of 10-membered lactones. Based on the similarity of structures with known phytotoxins of this class, it is reasonable to evaluate the phytotoxic activity of previously poorly studied 10-membered lactones - diaporthelides A, B, bellidisin D, herbarumin II.

This work was supported by RSF grants 20-74-00093 and 22-16-00038.

**Видовое разнообразие ассоциативных микроорганизмов злаковых культур, возделываемых на территории Саратовской области**

Дымнич А.С., Белова М.Г., Яшина А.В., Вахнина А.С., Глинская Е.В.  
Саратовский национальный исследовательский государственный университет  
имени Н. Г. Чернышевского, г. Саратов  
[Dymnich\\_as@mail.ru](mailto:Dymnich_as@mail.ru)

Злаковые растения – одни из самых распространенных обитателей нашей планеты среди многообразных представителей флоры, в культурном возделывании которых, для человека, находится множество применений в различных сферах деятельности, особенно в пищевой промышленности. Наиболее значимыми являются сельскохозяйственные зерновые культуры, изучение, селекция и защита которых имеет главенствующие позиции. Определение ассоциативных микроорганизмов районированных озимых сортов Саратовской области, на примере мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paoletti, 1753) «Калач 60» и ржи (*Secale cereale* L., 1753) «Марусенька», носит как фундаментальный, так и прикладной характер, поскольку своевременное обнаружение фитопатогенных представителей поможет скорректировать уход за посевными площадями и пополнить базу данных видов бактерий и грибов микробиома растений. Используя стандартные микробиологические методы, из побегов и ризосферы озимой ржи сорта «Марусенька» изолировано 23 вида микроорганизмов, отнесенных к 9 родам (*Alternaria*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Fusarium*, *Staphylococcus*, *Kurthia*, *Microbacterium*, *Psychrobacillus*, *Rhizopus*), из мягкой пшеницы сорта «Калач 60» выделено 15 видов, отнесенных к 6 родам (*Aphanocladium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Bacillus*, *Listeria*, *Staphylococcus*). Бактерии *Bacillus drentensis*, *B. horikoshii*, *B. oleronius*, *Erwinia carotovora*, *E. uredovora*, *Staphylococcus xylosus* были изолированы как с растений пшеницы, так и с растений ржи на разных стадиях фенологического развития (кущение, стебление, наливание зерна, спелость) зерновых, поэтому их можно отнести к доминантным микроорганизмам-ассоциантам. Обнаружены фитопатогенные грибы: *Alternaria alternata*, *Aphanocladium album*, *Fusarium caeruleum*, *F. oxysporum*, *Rhizopus stolonifera*; и бактерии: *Erwinia carotovora*, *E. tracheiphila*, *E. uredovora*, *Pseudomonas syringae* и *Listeria grayi*; а также факультативные организмы вида *Micrococcus varians*.

**Species diversity of the associative microorganisms of the cereal crops cultivated on the territory of Saratov region**

Dymnich A.S., Belova M.G., Yashina A.V., Vahnina A.S., Glinskaya E.V.  
<sup>1</sup>Saratov National Research State University named after N. G. Chernyshevsky, Saratov  
[Dymnich\\_as@mail.ru](mailto:Dymnich_as@mail.ru)

Cereal plants are one of the most common inhabitants of our planet among the diverse representatives of the flora, in the cultural cultivation of which, for humans, there are many applications in various fields of activity, especially in the food industry. The most significant are agricultural crops, the study, selection and protection of which has a dominant position. Determination of associative microorganisms of released winter varieties of the Saratov region, using the example of common wheat (*Triticum aestivum* L. emend. Fiori et Paoletti, 1753) "Kalach 60" and rye (*Secale cereale* L., 1753) "Marusenka", is both fundamental and applied nature, since the timely detection of phytopathogenic representatives will help to correct the care of crop areas and replenish the database of bacterial and fungal species of the plant microbiome. Using standard microbiological methods, 23 species of microorganisms belonging to 9 genera (*Alternaria*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Fusarium*, *Staphylococcus*, *Kurthia*, *Microbacterium*, *Psychrobacillus*, *Rhizopus*) were isolated from the shoots and rhizosphere of winter rye cv. "Marusenka", from soft wheat cv. "Kalach 60" identified 15 species assigned to 6 genera (*Aphanocladium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Bacillus*, *Listeria*, *Staphylococcus*). The bacteria *Bacillus drentensis*, *B. horikoshii*, *B. oleronius*, *Erwinia carotovora*, *E. uredovora*, *Staphylococcus xylosus* were isolated from both wheat and rye plants at different stages of phenological development (tillering, stemming, grain filling, ripeness) of cereals, therefore, they can be attributed to the dominant microorganisms-associates. Phytopathogenic fungi were found: *Alternaria alternata*, *Aphanocladium album*, *Fusarium caeruleum*, *F. oxysporum*, *Rhizopus stolonifera*; and bacteria: *Erwinia carotovora*, *E. tracheiphila*, *E. uredovora*, *Pseudomonas syringae* and *Listeria grayi*; as well as facultative organisms of the species *Micrococcus varians*.

**Регуляция иммунного ответа у бобовых растений бактериальными сигнальными молекулами Nod-факторами**

Дымо А.М., Широбокова С.А., Козюлина П.Ю., Павлова О.А., Рудая Е.С., Долгих Е.А.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
Санкт-Петербург  
linusa@bk.ru

Сигнальные молекулы ризобий Nod-факторы являются ключевыми регуляторами развития внутриклеточного симбиоза у бобовых растений с ризобиями. Однако недавние исследования показали, что эти молекулы могут восприниматься широким кругом растений и способны подавлять иммунный ответ, активируемый при взаимодействии с микроорганизмами. У бобовых растений роль Nod-факторов, может быть двойственной – регуляция симбиотических реакций и подавление иммунного ответа. Однако способность Nod-факторов подавлять иммунный ответ со стороны растений остается практически неизученной, не выявлены рецепторы и регуляторы этого процесса. Нами предложена гипотеза, что основным механизмом подавления иммунного ответа Nod-факторами может быть влияние этих молекул на содержание паттерн-распознающих рецепторов и/или дефосфорилирование митоген-активируемых протеинкиназ (MAP-киназ). В качестве возможного кандидата на роль рецептора к Nod-факторам при подавлении иммунного ответа у гороха нами был исследован LysM-содержащий рецептор PsLYK11, который является наиболее близким гомологом рецептора *AtLYK3*, выполняющего эту функцию у арабидопсиса. Нами были получены композитные растения гороха со сверхэкспрессией гена *PsLYK11* под промотором p35S. В корнях и клубеньках гороха, собранных на 7 и 21 день после инокуляции *Rhizobium leguminosarum* RIAM1026, наблюдали существенное снижение экспрессии генов *PR10*, *WRKY33*, *WRKY35* и *NOD19*, которые являются маркерами активации иммунного ответа со стороны растений. Это указывает на участие рецептора PsLYK11 в контроле иммунного ответа у гороха. На основании анализа мутанта P56 по гену *Sym10* нам удалось показать, что ко-рецептором PsLYK11 может являться рецептор PsSYM10. На более поздних стадиях развития симбиоза у растений работает близкий паралог PsLYK11 - рецептор PsLYK10, который специфично узнает поверхностные полисахариды ризобий, а также участвует в контроле развития инфекционной нити. Нами получены данные о возможном вовлечении PsLYK10 в регуляцию иммунного ответа у растений при развитии инфекционного процесса. С целью поиска регуляторов иммунного ответа со стороны растений был проведен транскриптомный анализ растений, обработанных элиситорами защитных реакций и Nod-факторами. Кластерный анализ позволил выбрать несколько кандидатов на роль регуляторов – E2-убиквитин-конъюгирующий фермент и две фосфатазы. В настоящее время проводится анализ возможного участия этих выявленных регуляторов в контроле иммунного ответа у растений гороха при симбиозе.

Работа поддержана грантом РФФИ 21-16-00106.

**Regulation of the immune response in legumes by bacterial signal molecules Nod factors**

Dymo A.M., Shirobokova S.A., Kozyulina P.Yu., Pavlova O.A., Rudaya E.S., Dolgikh E.A.

All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg  
linusa@bk.ru

Signal molecules of rhizobia Nod factors are the key regulators of the development of intracellular symbiosis in legumes plants with rhizobia. However, recent studies have shown that these molecules can be perceived by a wide range of plants and are able to suppress the immune response activated by interaction with microorganisms. In legumes, the role of Nod factors can be dual – regulation of symbiotic reactions and suppression of the immune response. However, the ability of Nod factors to suppress the immune response from plants remains practically unexplored, at the same time receptors and regulators of this process have not been identified. We proposed a hypothesis that the main mechanism of suppression of the immune response by Nod factors may be the effect of these molecules on the content of pattern recognition receptors and/or dephosphorylation of mitogen-activated protein kinases (MAP kinases). We studied the LysM-containing PsLYK11 receptor, which is the closest homologue of the *AtLYK3* receptor that performs this function in *Arabidopsis*, as a possible candidate for the role of a receptor for Nod-factors in suppressing the immune response in peas. We obtained composite pea plants with overexpression of the *PsLYK11* gene under the p35S promoter. In pea roots and nodules collected on days 7 and 21 after inoculation with *Rhizobium leguminosarum* RIAM1026, we observed a significant decrease in the expression of *PR10*, *WRKY33*, *WRKY35*, and *NOD19* genes, which are markers of immune response activation by plants. This indicates the involvement of the PsLYK11 receptor in the control of the immune response in pea. Based on the analysis of the P56 mutant in the *Sym10* gene, we were able to show that the PsSYM10 receptor can be the PsLYK11 co-receptor. At the later stages of the development of symbiosis, plants have a close paralog of PsLYK11, the PsLYK10 receptor, which specifically recognizes the surface polysaccharides of rhizobia and is also involved in the control of infection thread development. We have obtained data on the possible involvement of PsLYK10 in the regulation of the immune response in plants during the development of an infectious process. In order to search for regulators of the immune response from plants, a transcriptomic analysis of plants treated with elicitors of defense reactions and Nod factors was carried out. Cluster analysis made it possible to select several candidates for the role of regulators: an E2-ubiquitin-conjugating enzyme and two phosphatases. At present, an analysis of the possible involvement of these identified regulators in the control of the immune response in pea plants during symbiosis is being carried out.

The work was supported by the RSF grant 21-16-00106.

**Криофильная водоросль *Chloromonas reticulata* как потенциальный источник хлорофиллов и каротиноидов**

Дымова О.В., Новаковская И.В., Паршуков В.С., Патова Е.Н.  
Институт биологии Коми научного центра УрО РАН, г.Сыктывкар  
dymovao@ib.komisc.ru

*Chloromonas reticulata* – зеленая криофильная микроводоросль, биомасса которой является источником многих ценных соединений, включая пигменты (хлорофиллы, Хл и каротиноиды, Кар) с высокой антиоксидантной активностью. Для штамма *Chloromonas reticulata* SYKOA Ch-054-11 (Коллекция живых культур водорослей Института биологии Коми НЦ УрО РАН), выделенной из проб красного снега на Приполярном Урале, подобраны оптимальные режимы культивирования (среда BG 11, pH=7.1; 45 мкмоль квантов/(м<sup>2</sup>с) ФАР; +22 °С). Изучено комплексное воздействие света (250 мкмоль/(м<sup>2</sup>с) ФАР) и низкой положительной температуры (6<sup>0</sup>С) на накопление Хл и Кар в клетках штамма *Ch. reticulata* при культивировании в лабораторных условиях. Выявлено, что в расчёте на сухую массу в зеленых (вегетативных) клетках концентрация Хл достигала 10 мг/г, Кар – 2 мг/г. В клетках водоросли синтезируются β-каротин (предшественник астаксантина, Аст), ксантофиллы – неоксантин и лютеин, и пигменты виолаксантинового цикла (виолаксантин, антераксантин, зеаксантин). В условиях культивирования при 6<sup>0</sup>С и 250 мкмоль квантов/(м<sup>2</sup>с) ФАР наблюдали тенденцию к индукции синтеза вторичного каротиноида – Аст (до 4% от суммы Кар). Способность накапливать Хл и Кар (в том числе Аст) указывает на биотехнологический потенциал исследуемого штамма. Дальнейшие исследования направлены на подбор условий, обеспечивающих высокую динамику роста культуры и индуцирующих накопление в клетках каротиноидов и других биологически активных соединений. Финансирование исследований осуществлено из средств федерального бюджета (№122040600021-4; №122040600026-9).

**Snow microalga *Chloromonas reticulata* as a potential source of chlorophylls and carotenoids**

Dymova O.V., Novakovskaya I.V., Parshukov V.S., Patova E.N.  
Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the RAS, Syktvkar  
dymovao@ib.komisc.ru

*Chloromonas reticulata* – green cryophilic microalgae. Its biomass is a source of many valuable compounds, including pigments (chlorophylls, Chl and carotenoids, Car) with high antioxidant activity. For the strain of green microalgae *Chloromonas reticulata* SYKOA Ch-054-11 (Collection of living algae cultures of the Institute of Biology of Komi of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences), isolated from red snow samples in the Subpolar Urals, optimal cultivation modes (BG 11, pH=7.1; 45 μmol quantum/(m<sup>2</sup>s) PAR; +22 °C) were selected. The complex effect of light (250 μmol quantum/(m<sup>2</sup>s) PAR) and low positive temperature (+6<sup>0</sup> C) on the accumulation of Chl and Car in the cells of the strain *Ch. reticulata* during cultivation in laboratory conditions was studied. It was revealed that, based on the dry mass in green (vegetative) cells, the concentration of Chl reached 10 mg/g, Car – 2 mg/g. In algae cells, β-carotene (precursor to astaxanthin, Ast), xanthophylls – neoxanthin and lutein, and pigments of the violaxanthin cycle (violaxanthin, antheraxanthin, zeaxanthin) are synthesized. A tendency to induce the synthesis of the secondary carotenoid –astaxanthin (up to 4% of Car) was observed at 250 μmol/(m<sup>2</sup>s) PAR and +6<sup>0</sup> C. The ability to accumulate Chl and Car (including Ast) indicates the biotechnological potential of this strain. Further research is aimed at selecting conditions that ensure high dynamics of culture growth and induce the accumulation of carotenoids and other biologically active compounds in microalgae cells.

This work was funded from the federal budget (№122040600021-4; №122040600026-9).

**Обработка технологии фагового дисплея для получения антител,  
специфичных к антибактериальным препаратам**

<sup>1</sup>Евстигнеева С.С., <sup>1</sup>Каравая О.А., <sup>2</sup>Алсовэйд А.К.М., <sup>1</sup>Староверов С.А.,  
<sup>1</sup>Фомин А.С., <sup>1</sup>Гулий О.И.

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов,  
ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), г. Саратов  
<sup>2</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет  
им. Н.Г.Чернышевского, г. Саратов  
stels20295@yandex.ru

Одной из важных составляющих при разработке диагностических аналитических систем для антибактериальных препаратов является подбор биорецептора. В качестве биоселективного рецептора (элемента распознавания) преимущественно используют антитела, специфичные к определяемому антигену. Современная иммунохимия предлагает широкий набор качественных и количественных методов анализа антигена, отличающихся по чувствительности и степени сложности. Альтернативой для стандартного получения антител к известным антигенам является технология фагового дисплея. Данная технология основана на экспонировании чужеродных пептидов или белков на поверхности фаговых частиц в составе одного из химерных белков оболочки. Технология фагового дисплея является выгодной заменой гибридомной технологии, поскольку фаговая система заменяет все этапы работы после иммунизации животных простыми процедурами манипулирования с ДНК и бактериями, сокращая время получения стабильных клонов, продуцирующих антитела, с нескольких месяцев до нескольких недель, заметно удешевляя процесс. В данной работе с применением овечьей дисплейной библиотеки фрагментов scFv получены антитела, специфичные к ампициллину. Методом дот-иммуноанализа при биоспецифичном взаимодействии отобранных рекомбинантных антител в фаговом формате (фаговых антител) проведено определение ампициллина в водных растворах. Полученные фаговые антитела обладают достаточно высокой специфичностью по отношению к ампициллину и не взаимодействуют с антибиотиками: тетрациклином и канамицином, а также аминокислотами: L-фенилаланином, L-триптофаном и L-цистеином. Рекомендовано проводить не менее 4-х раундов биоэппинга для получения фаговых антител, специфичных к ампициллину. Показано, что фаговые антитела перспективны для использования в качестве чувствительного (распознающего) элемента сенсорных систем при определении ампициллина.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 22-24-00417.

**Development of phage display technology for obtaining antibodies specific to antibacterial drugs**

<sup>1</sup>Evstigneeva S.S., <sup>1</sup>Karavaeva O.A., <sup>2</sup>Alsowaidi A.K.M., <sup>1</sup>Staroverov S.A., <sup>1</sup>Fomin A.S.,  
<sup>1</sup>Guliy O.I.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,  
Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov  
<sup>2</sup>Saratov State University, Saratov  
stels20295@yandex.ru

One of the important components in the development of diagnostic analytical systems for antibacterial drugs is the selection of a bioreceptor. As a bioselective receptor (recognition element), antibodies specific to the antigen being determined are mainly used. Modern immunochemistry offers a wide range of qualitative and quantitative methods for antigen analysis, differing in sensitivity and degree of complexity. An alternative to the standard production of antibodies to known antigens is phage display technology. This technology is based on the exposure of foreign peptides or proteins on the surface of phage particles as part of one of the chimeric envelope proteins. Phage display technology is an advantageous replacement for hybridoma technology, since the phage system replaces all work steps after animal immunization with simple procedures for manipulating DNA and bacteria, reducing the time to obtain stable antibody-producing clones from several months to several weeks, significantly reducing the cost of the process. Ampicillin-specific antibodies were obtained using a sheep display library of scFv fragments. Ampicillin in aqueous solutions was determined by dot-immunoassay with biospecific interaction of selected recombinant antibodies in phage format (phage antibodies). The resulting phage antibodies have a sufficiently high specificity with respect to ampicillin and do not interact with antibiotics: tetracycline and kanamycin, as well as amino acids: L-phenylalanine, L-tryptophan, and L-cysteine. It is recommended to conduct at least 4 rounds of biopanning to obtain phage antibodies specific to ampicillin. It has been shown that phage antibodies are promising for use as a sensitive (recognizing) element of sensory systems in the determination of ampicillin.

This work was supported by the Russian Science Foundation, project no. 22-24-00417.

### Оценка степени ассоциативности штаммов микроорганизмов.

Еговтсева А.Ю., Абдурашитова Э.Р., Мельничук Т.Н.

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Симферополь  
eau82@mail.ru

Изучение ассоциативного взаимодействия в системе микроорганизм - растение - почва позволяет обнаруживать новые свойства, которые не выявлялись в отдельных компонентах и расширить представление о механизме формирования ассоциативных связей. Целью исследования являлось определить степень ассоциативности штаммов микроорганизмов в ризосфере пшеницы озимой трех сортов.

Исследования проводили на сортах пшеницы озимой Багира, Лидия и Ермак. Штаммы были отобраны из ризосферной почвы методом для выделения ассоциативных бактерий с помощью модифицированных сосудов Леонардо из различных регионов и идентифицированы: *Agrobacterium tumefaciens* R1 из чернозема обыкновенного, *Bacillus wiedmannii* B5 – чернозема южного (степной Крым) и штамм *Bacillus* sp. 2 выделен с эпифитной микрофлоры семян капусты белокочанной. Степень ассоциативности конкретного штамма определяли по соотношению количества микроорганизма, заселившего апикальную часть корня и численности на базальной части.

В результате проведенных исследований по изучению способности штаммов микроорганизмов колонизировать ризосферу растений пшеницы выявлено, что при инокуляции стерилизованных 0,1 % раствором сулемы семян штаммы показывают различную степень ассоциативности к сортам пшеницы. Анализ полученных данных показал, что количество клеток штамма *Bacillus wiedmannii* B5 на апикальной части корня растений сорта Лидия была большей чем на его базальной части почти в 3 раза и составила  $7,3 \pm 8,3 \times 10^6$  КОЕ/растение. Аналогичные тенденции в соотношении наблюдались при инокуляции штаммом *Bacillus* sp. 2, количество микроорганизма на апикальной части корня сорта Лидия составила  $5,4 \pm 0,6 \times 10^6$  КОЕ/растение. В варианте применения сорта Багира наибольшую способность колонизировать корневую систему пшеницы озимой показал штамм *Bacillus wiedmannii* B5, выделенный из ризосферы данного сорта. На сорте Ермак колонизирующая способность всех штаммов наблюдалась низкая, о чем свидетельствовало превышение численности микроорганизмов на базальной части корня.

Таким образом, проведенный анализ свидетельствует о способности штаммов микроорганизмов колонизировать корневую систему растений. Разное количество биоагентов на апикальной и базальной части корня показывает разную степень ассоциативности к сортам пшеницы озимой. Так штаммы *Bacillus wiedmannii* B5 и *Bacillus* sp. 2 имеют высокую и среднюю степень ассоциативности к растениям сорта Лидия и Багира, соответственно, *Agrobacterium tumefaciens* R1 – низкую по отношению ко всем трем сортам *Triticum aestivum* L.

### Assessment of degree of the associativity of strains of microorganisms.

Egovtseva A.Yu., Abdurashytova E.R., Melnichuk T.N.

Federal State Budget Scientific Institution “Research Institute of Agriculture of Crimea”, Simferopol'.  
eau82@mail.ru

The study of associative interaction in the microorganism-plant-soil system makes it possible to discover new properties that were not revealed in individual components and to expand the understanding of the mechanism of formation of associative links. The aim of the study was to determine the degree of associativity of microorganism strains in the rhizosphere of winter wheat of three varieties.

The studies were carried out on winter wheat varieties Bagira, Lydia and Ermak. The strains were selected from the rhizosphere soil by the method for isolating associative bacteria using modified Leonardo vessels. Further strains were identified: *Agrobacterium tumefaciens* R1 from ordinary chernozem, *Bacillus wiedmannii* B5 from southern chernozem (steppe Crimea), and strain *Bacillus* sp. 2 was isolated from the epiphytic microflora of white cabbage seeds. The degree of associativity of a particular strain was determined by the ratio of the amount of the microorganism inhabiting the apical part of the root and the number on the basal part.

As a result of the studies, it was revealed that when inoculating seeds sterilized with a 0.1% sublimate solution, the strains show a different degree of associativity to wheat varieties. The analysis of the obtained data showed that the number of cells of the *Bacillus wiedmannii* B5 strain on the apical part of the root of variety Lidiya was almost 3 times greater than on its basal part and amounted to  $7,3 \pm 8,3 \times 10^6$  CFU/plant. Similar trends in the ratio were observed upon inoculation with *Bacillus* sp. 2. The amount of the microorganism on the apical part of the root of the Lydia variety was  $5,4 \pm 0,6 \times 10^6$  CFU/plant. The greatest ability to colonize the root system of the Bagira variety was shown by the *Bacillus wiedmannii* B5 strain isolated from the rhizosphere of this variety. The colonizing ability of all strains was observed to be low on the Ermak variety, as evidenced by the excess of the number of microorganisms on the basal part of the root.

Thus, the analysis performed indicates the ability of microorganism strains to colonize the root system of plants. A different amount of bioagents on the apical and basal parts of the root shows a different degree of associativity to winter wheat varieties. Thus, strains of *Bacillus wiedmannii* B5 and *Bacillus* sp. 2 have a high and medium degree of associativity to plants of the Lidia and Bagira varieties, respectively, *Agrobacterium tumefaciens* R1 is low in relation to all three varieties of *Triticum aestivum* L.



**Association study between the pea symbiotic genes polymorphisms and the increases of plant trait values caused by arbuscular mycorrhiza**<sup>1,2</sup>Zhernakov A.I., <sup>1</sup>Sulima A.S., <sup>1,2</sup>Kulaeva O.A., <sup>1,2</sup>Shtark O.Yu., <sup>1,2</sup> Zhukov V.A.<sup>1</sup>All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg.<sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, St. Petersburg.

azhernakov@arriam.ru

The Legumes (family Fabaceae) form a peculiar group among plants because they are able to actively interact with a wide range of beneficial soil microorganisms, developing three mutually beneficial symbioses: (i) arbuscular mycorrhiza (AM) with fungi of phylum Glomeromycota, (ii) nitrogen-fixing root nodules with rhizobia, so-called legume-rhizobial (LR) symbiosis, and (iii) symbiosis with plant growth-promoting bacteria (PGPB). These symbioses are beneficial for both the host plant and its environment; thereby legumes are well-suited for cultivation according to the modern concept of sustainable agriculture. For successful implementation of this idea, new varieties of the crops that are adapted for effective interaction with microorganisms need to be bred. One approach for achieving this goal is the mobilization of plant genetic resources, i.e. searching for valuable alleles of genes that can improve the symbiotic properties and plant growth parameters when introduced in the genotype. Here, we studied whether the allelic state of the symbiotic genes is associated with the growth parameters of the pea plants under single inoculation with nodule bacteria (NB) and under double inoculation with NB+AMF.

We sequenced the set of eight symbiotic genes in six pea cultivars (k-925, k-1693, k-3064, k-3358, k-7128 and k-8274) and identified the missense single nucleotide variants (SNVs). The 93 pea cultivars were screened for these allelic variant using created CAPS/dCAPS markers. We analyzed the dataset obtained from the pot experiment that contains the mean values of eight traits (shoot weight, root weight, shoot length, seed number per plant, total seed weight, thousand seed weight (TSW), seed nitrogen content and seed phosphorus content) measured for these pea cultivars. Regression analysis was applied in order to test whether the allelic state of symbiotic genes affected the properties of pea plants grown in symbiotic conditions. The series of two-way ANOVA tests with inoculation (NB or NB +AM) as first factor and allelic state of an SNV as the second factor confirmed the effect of AM-inoculation on all parameters; potential association of some allelic variants with some traits was also found. All traits except TSW showed a relationship with Le:A229T SNV, which defines the mutant short internode phenotypes.

The analysis of possible impact of SNVs on AM-caused increments was conducted using generalized linear regression models. The covariates (*Le*-allele and NB-value of trait) included in the models were defined based on Likelihood-Ratio Tests.

No strong associations were found for any of the SNVs with the studied traits; however, weak associations of SNVs in genes *AMT2;3*, *K1* and *LykX* with AM-caused increments of TSW were identified. We found that SNVs of the genes of Nod factor receptors *LykX* and *K1* possibly influence symbiotic responsivity to combined inoculation with the rhizobial strain CIAM1026 and the AM isolate BEG144. The cultivars carrying specific alleles of these genes demonstrate statistically significant increase of the TSW trait under NB+AM inoculation as compared to single NB-inoculation. Further, we discovered that the allele *AMT2;3.215N* encoding a nitrogen transporter presumably leads to a more effective acquisition of nutrients when the plants were inoculated with AM.

The employment of state-of-the-art strategies of molecular breeding aimed at creation of highly symbiotically responsive cultivars will be possible after the molecular genetic bases of this trait have been elucidated. Identification of other genes that positively influence the symbiotic responsivity, and introduction of their 'effective' alleles into genomes of new cultivars will be the task of future studies.

**Генетическая и метаболическая интеграция в симбиозах гороха посевного с клубеньковыми бактериями и грибами арбускулярной микоризы**

<sup>1,2</sup>Жуков В.А., <sup>1</sup>Авдеева Г.С., <sup>1</sup>Ахтемова Г.А., <sup>1</sup>Гордон М.Л., <sup>1,2</sup>Жернаков А.И., <sup>1</sup>Зорин Е.А., <sup>1</sup>Кичигина Н.Е.,  
<sup>1</sup>Клюкова М.С., <sup>1,2</sup>Кулаева О.А., <sup>1</sup>Сулима А.С., <sup>1</sup>Романюк Д.А., <sup>1,2</sup>Штарк О.Ю., <sup>1,2</sup>Тихонович И.А.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский Государственный Университет, г. Санкт-Петербург.

[vladimir.zhukoff@gmail.com](mailto:vladimir.zhukoff@gmail.com); [vzhukov@arriam.ru](mailto:vzhukov@arriam.ru)

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) образует взаимовыгодные симбиозы с клубеньковыми бактериями (ризобиями) и грибами арбускулярной микоризы. Ризобии, превращаясь в клубеньках в симбиотическую форму – бактероиды – фиксируют атмосферный азот, а грибы арбускулярной микоризы, проникая в корни растения, снабжают его водой и труднорастворимыми фосфатами. Растение, в свою очередь, обеспечивает симбионтам питание, направляя значительные количества метаболитов к симбиотическим структурам. Симбиотические системы характеризуются высоким уровнем метаболической и генетической интеграции, однако молекулярные механизмы, лежащие в основе такой интеграции, изучены недостаточно полно. Исследование механизмов интеграции позволит повысить эффективность симбиотической азотфиксации и усвоения фосфатов в полевых условиях и создавать новые сорта гороха, имеющие максимальную урожайность при обработке биопрепаратами клубеньковых бактерий и грибов арбускулярной микоризы. В докладе будут освещены последние достижения в области изучения развития симбиозов у гороха при помощи «омиксных» подходов – геномики, транскриптомики, протеомики и метаболомики. Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2020-920 от «16» ноября 2020 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего». Также работа поддержана грантами РФФИ 20-16-00107 и 22-16-00109.

**Genetic and metabolic integration in symbioses of garden pea with nodule bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi**

<sup>1,2</sup>Zhukov V.A., <sup>1</sup>Avdeeva G.S., <sup>1</sup>Akhtemova G.A., <sup>1</sup>Gordon M.L., <sup>1,2</sup>Zhernakov A.I., <sup>1</sup>Zorin E.A., <sup>1</sup>Kichigina N.E.,  
<sup>1</sup>Kliukova M.S., <sup>1,2</sup>Kulaeva O.A., <sup>1</sup>Sulima A.S., <sup>1</sup>Romanyuk D.A., <sup>1,2</sup>Shtark O.Y., <sup>1,2</sup>Tikhonovich I.A.

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St.Petersburg

<sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, St.Petersburg.

[vladimir.zhukoff@gmail.com](mailto:vladimir.zhukoff@gmail.com); [vzhukov@arriam.ru](mailto:vzhukov@arriam.ru)

Garden pea (*Pisum sativum* L.) forms mutually beneficial symbioses with nodule bacteria (rhizobia) and arbuscular mycorrhiza fungi. Rhizobia that differentiate in nodules into a symbiotic form - bacteroids - fix atmospheric nitrogen, and arbuscular mycorrhizal fungi, penetrating into the roots of the plant, supply it with water and sparingly soluble phosphates. The plant, in turn, provides nutrition to the symbionts by directing significant amounts of metabolites to the symbiotic structures. Symbiotic systems are characterized by a high level of metabolic and genetic integration; however, the molecular mechanisms underlying such integration are not fully understood. The study of integration mechanisms will increase the efficiency of symbiotic nitrogen fixation and phosphate assimilation in the field, and enable breeding of new pea varieties that have the maximum yield when treated with biological preparations containing nodule bacteria and arbuscular mycorrhiza fungi. The lecture will highlight the latest advances in the study of the development of symbioses in pea using "omics" approaches - genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics.

The work was made with support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with agreement № 075-15-2020-920 date November 16, 2020 on providing a grant in the form of subsidies from the Federal budget of Russian Federation. The grant was provided for state support for the creation and development of a World-class Scientific Center "Agrotechnologies for the Future". The work was also supported by RSF grants ## 20-16-00107 and 22-16-00109.

### Гены транскрипционных факторов как ДНК-маркеры для селекции мягкой пшеницы

Заикина Е.А., Кулуев Б.Р.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН г. Уфа.

[evisheva@yandex.ru](mailto:evisheva@yandex.ru)

Для ускорения селекционного процесса у растений может быть использована маркер-опосредованная селекция. ДНК-маркеры позволяют более эффективно проводить отбор на продуктивность и другие хозяйственно-ценные признаки. Одними из таких маркеров могут служить транскрипционные факторы (ТФ), так как гены ТФ контролируют множество нижестоящих генов. Целью работы было изучение генов ТФ мягкой пшеницы *TaNAC69*, *TaDREB1* и *TaWRKY19* как маркеров засухо- и холодоустойчивости. Для этого определяли уровни экспрессии данных генов при воздействии засухи и гипотермии у сортообразцов мягкой пшеницы, используемых в селекции мягкой пшеницы в условиях Предуральской степной зоны. Растения подверглись засухе – 5 и 10 суток и гипотермии при +5°C 20 часов, а также 0°C - 4 часа. Тотальная РНК из молодых листьев пшеницы была выделена при помощи тризола, для определения уровня экспрессии проводили полуколичественную ОТ-ПЦР. В работе были использованы следующие сорта мягкой пшеницы: Зауральская жемчужина, Архат, Тулайковская 108, Башкирская 28, Омская 36, Экада 113, а также две перспективные линии местной селекции Л43706 и Л43466. Растения выращивали в теплице при +18°C при естественном освещении. Через 30 суток выращивания опытные образцы подверглись стресс-обработке. В результате проведенных исследований было показано что, транскрипционная активность гена *TaNAC69* под воздействием засухи возрастала во всех образцах, но особенно у Л 43466, Архат, Экада 113 и Башкирская 28. В ответ на гипотермию транскрипционная активность этого гена повышалась у сортообразцов Л43466, Зауральская жемчужина, Тулайковская 108, Башкирская 28, Омская 35. Высокая транскрипционная активность гена *TaDREB1* сохранялась в течение всего эксперимента. При засухе наибольший рост транскрипционной активности гена *TaDREB1* наблюдался у сортообразцов Л43706, Л43466 и Башкирская 28. В образцах Л43706, Архат, Экада 113, Омская 35 уровень экспрессии *TaDREB1* достоверно возрастал в опыте с низкой температурой от +5°C к 0°C. Длительная засуха оказывала стимулирующее действие на транскрипционную активность гена *TaWRKY19*, так в образцах Л43706, Зауральская жемчужина, Тулайковская 108, Омская 36, Экада 113 исследуемый ген экспрессировался интенсивнее по сравнению с нормальными условиями. При снижении температуры в образцах Л43466, Зауральская жемчужина, Тулайковская 108, Омская 36, Экада 113, Омская 35 происходило увеличение уровня экспрессии гена *TaWRKY19*. Из всех предложенных генов транскрипционных факторов – ген *TaNAC69* может быть использован в маркер-ориентированной селекции в качестве гена засухоустойчивости, а ген *TaDREB1* как маркер холодоустойчивости.

### Transcription factor genes as DNA markers for bread wheat breeding

Zaikina E.A., Kuluev B.R.

Institute of Biochemistry and Genetics UFIC RAS Ufa.

[evisheva@yandex.ru](mailto:evisheva@yandex.ru)

Marker-assisted selection (MAS) contributes to the acceleration of the plant breeding. DNA markers increase the productivity and accuracy of classical plant breeding. One of these markers can be transcription factors (TF), since TF genes control many downstream genes. The aim of the work was to study the *TaNAC69*, *TaDREB1*, and *TaWRKY19* TF genes in bread wheat as markers of drought and cold resistance. For this, the levels of expression of these genes were determined under the influence of drought and hypothermia in bread wheat varieties used in the breeding in the Cis-Ural steppe zone. The plants were subjected to drought - 5 and 10 days and hypothermia at +5°C for 20 hours, and 0°C - for 4 hours. Total RNA from young wheat leaves were isolated using Trizol, and semi-quantitative RT-PCR was performed to determine the level of expression. The following bread wheat varieties were used in the work: Zaural'skaya zhemchuzhina, Arhat, Tulaykovskaya 108, Bashkirskaaya 28, Omskaya 36, Ekada 113, as well as two promising lines of local breeding L43706 and L43466. Plants were grown in a greenhouse at +18°C under natural light. After 30 days of cultivation, the test samples were subjected to stress treatment - 5 and 10 days of drought, another group of plants - +5°C for 20 hours and 0°C for 4 hours. As a result of the studies, it was shown that the expression level of the *TaNAC69* gene in response to drought increased in all accessions, and especially in L43466, Arhat, Ekada 113 and Bashkirskaaya 28. In response to hypothermia, the expression level of this gene increased in accessions L43466, Zaural'skaya zhemchuzhina, Tulaykovskaya 108, Bashkirskaaya 28, Omskaya 35. The high expression level of the *TaDREB1* gene was maintained throughout the experiment. During drought, the highest increase in the expression level of the *TaDREB1* gene was observed in accessions L43706, L43466, and Bashkirskaaya 28. In samples L43706, Arkhat, Ekada 113, Omskaya 35, the expression level of *TaDREB1* significantly increased in the experiment with low temperature from +5°C to 0°C. Prolonged drought had a stimulating effect on the expression level of the *TaWRKY19* gene, so in samples L43706, Zaural'skaya zhemchuzhina, Tulaykovskaya 108, Omskaya 36, Ekada 113, the studied gene was expressed more intensely compared to the control. With a decrease in temperature in samples L43466, Zaural'skaya zhemchuzhina, Tulaykovskaya 108, Omskaya 36, Ekada 113, Omskaya 35, the *TaWRKY19* gene expression increased. Of all the proposed transcription factor genes, the *TaNAC69* gene can be used in marker-assisted selection as a drought tolerance gene, and the *TaDREB1* gene as a cold tolerance marker.

**Наночастицы металлов синтезированные микроорганизмами как стимуляторы роста растений**  
 Зайнитдинова Л.И., Ташпулатов Ж.Ж., Жураева Р.Н., Лазутин Н.А., Мавжудова А.М., Хегай Т.Б., Эргашев Р.Б.  
 Институт микробиологии АН РУз, г.Ташкент  
[zajn-lyudmila@yandex.ru](mailto:zajn-lyudmila@yandex.ru)

В последние годы большой интерес вызывает разработка новых экономически выгодных и экологически безопасных методов получения наночастиц металлов с целью их последующего применения в различных областях нанобиотехнологии, включая сельское хозяйство. В данном контексте нанотехнологии могут быть направлены на повышение урожайности, создание индукторов стрессоустойчивости с/х растений к неблагоприятным факторам окружающей среды и т.д.

Нами проведены исследования по получению наночастиц  $\text{Ag}^+$  с использованием микроорганизмов и применению их для повышения всхожести и прорастания семян пшеницы для дальнейшего повышения урожайности. Наночастицы серебра получали путем внесения раствора  $\text{AgNO}_3$  (конечная концентрация испытуемого раствора составляла  $100 \text{ мг/л Ag}^+$ ) в культуральную жидкость бактерий *Pseudomonas stutzeri* и *Bacillus sp.* Смеси клеток и ионов серебра инкубировали на качалке при  $150 \text{ об/мин}$  и  $28^\circ\text{C}$  в течение 3 суток. С использованием данных микроорганизмов получены наночастицы серебра, которые охарактеризованы с использованием УФ-спектроскопических методов и АСМ-исследований. Установлено, что штаммы *Pseudomonas stutzeri* и *Bacillus sp.* обладали способностью синтезировать НЧ серебра овальной и сферической формы и размером от 5 до 100 нм. Полученными растворами была произведена предпосевная обработка семян пшеницы в течение 1 часа. После обработки семена проращивались в чашках Петри с увлажненной фильтровальной бумагой в течение 7 суток. После экспозиции опытные и контрольные семена раскладывали в пробирки размером  $20 \times 200 \text{ мм}$  с 20 мл стерильной агаризованной питательной средой Красильникова-Кореньяко. Через 7 суток растения извлекали из агара, промывали в дистиллированной воде, измеряли длину стебля и корня. По приросту растений в сравнении с контролем судили об активности исследуемых культур с НЧ серебра. Исследования показали, что обработка семян пшеницы культуральной жидкостью с НЧ серебра стимулирует прорастание семян, а также оказывает стимулирующее действие на рост корней и стеблей растения по таким показателям, как длина стебля и корня, масса сухого вещества корней и надземной части проростков.

**Metal nanoparticles synthesized by microorganisms as plant growth stimulators**  
 Zaynitdinova L.I., Tashpulatov J.J., Juraeva R.N., Lazutin N.A., Mavjudova A.M., Khegay T.B.  
 Institute of Microbiology, Tashkent  
[zajn-lyudmila@yandex.ru](mailto:zajn-lyudmila@yandex.ru)

Recently, the development of the new cost-effective and environmentally friendly methods for obtaining metal nanoparticles, aiming their subsequent application in various fields of nanobiotechnology, causes a significant interest. In this context, nanotechnologies may be aimed at the increasing productivity, creating inductors of stress resistance of agricultural plants to adverse environmental factors, and so on.

A study on the preparation of  $\text{Ag}^+$  nanoparticles using microorganisms and their application to increase the germination of wheat seeds to further increase yield has been conducted. Silver nanoparticles were obtained by adding  $\text{AgNO}_3$  solution (final concentration was  $100 \text{ mg/L Ag}^+$ ) into the culture liquid of the bacteria *Pseudomonas stutzeri* and *Bacillus sp.* Mixtures of cells and silver ions were incubated on a rotary shaker ( $150 \text{ rpm}$  and  $28^\circ\text{C}$ ) for 3 days. The obtained silver nanoparticles were characterized using UV spectroscopic methods and AFM studies.

It was found that *Pseudomonas stutzeri* and *Bacillus sp.* strains possessed the ability to synthesize oval and spherical silver nanoparticles ranging in size from 5 to 100 nm. The solutions were used for pre-sowing treatment of wheat seeds for 1 hour. Treated seeds were incubated in Petri dishes with moistened filter paper for 7 days. After exposure, the experimental and control (water treated) seeds were placed in test tubes  $20 \times 200 \text{ mm}$  in size with 20 ml of sterile Krasilnikov-Korenyako nutrient agar. After another 7 days, the seedlings were removed from the agar, washed in distilled water, and the stem and root lengths and weights were measured. The activity of the microbial culture liquids containing silver nanoparticles was estimated based on difference between test and control seedlings. It was established that the treatment of wheat seeds with the microbial culture liquid containing silver nanoparticles stimulates wheat seed germination. The stimulating effect on the growth of roots and stems of the plant in terms of length of the stem and root, the dry matter weight of the roots and the aerial part of the seedlings was also revealed. It was concluded that silver nanoparticles of microbial origin may serve as plant growth stimulators.

**Активные формы кислорода в регуляции прорастания  
и роста пыльцевых трубок петунии (*Petunia hybrida* L.) *in vitro***

Захарова Е.В., Халилуев М.Р.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, г. Москва  
zakharova\_ekter@mail.ru

В последние годы активные формы кислорода (АФК) интенсивно изучают в процессах, происходящих на различных стадиях опыления, включая взаимодействие между пыльцой и рыльцем, пыльцевой трубкой (ПТ) и проводниковыми тканями пестика, ПТ и женским гаметофитом. Тем не менее существует много неясного в понимании действия АФК как сигнальных молекул. Для большинства видов растений до сих пор не подобраны оптимальные условия, обеспечивающие возможность получения ПТ *in vitro*, равных по длине растущим ПТ в тканях столбика. Состав среды для культивирования ПТ являются видоспецифичным. Пыльцу некоторых видов проращивают на воде, тогда как у других видов – на среде с добавлением сахарозы и борной кислоты, у третьих видов – на сложных по составу питательных средах с хорошо сбалансированным составом минеральных солей и сахарозы. АФК играют регуляторную роль на стадиях адгезии, гидратации, прорастания пыльцевых зерен (ПЗ) и роста ПТ в пестике. Известно, что опыление вызывает выброс АФК внутри зародышевого мешка. В исследовании было изучено влияние АФК ( $H_2O_2$ ) на прорастание ПЗ и длину культивируемых *in vitro* ПТ петунии (*Petunia hybrida* L.). Исследование проводили на зрелой свежесобранной пыльце (2 мг), которую смешивали с 2 мл питательной среды, содержащей 0,4 М сахарозы, 1,6 мкМ  $H_3BO_3$  и различные концентрации  $H_2O_2$ , во флаконах, закрытых резиновыми пробками. Культивирование осуществляли в течение 6 часов в термостатируемых условиях 25-26°C. Прорастание ПЗ и длину ПТ оценивали с помощью микроскопа, снабженного окуляр-микрометром при 100-кратном увеличении. В каждом варианте опыта оценивали длину не менее 200 проросших ПТ в двух биологических и шести аналитических повторностях. В целом, применение экзогенной обработки  $H_2O_2$  стимулировало прорастание ПЗ и рост ПТ *in vitro*. Предполагаем, что АФК регулируют цитомеханику стенки ПЗ, участвуют в разрыхлении пыльцевой ткани в области пор прорастания, что может способствовать увеличению объема ПЗ во время гидратации. Есть данные, что АФК усиливают биосинтез пектина, которым так богата стенка ПТ, а активность пектинметилэстеразы играет ключевую роль в ее целостности при росте в проводниковых тканях пестика.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 22-24-01148.

**Reactive oxygen species in the regulation of *in vitro* pollen germination  
and pollen tube growth in petunia (*Petunia hybrida* L.)**

Zakharova E.V., Khaliluev M.R.

All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow.  
zakharova\_ekter@mail.ru

Reactive oxygen species (ROS) have been intensively studied in recent years during various stages of pollination, including the interaction between pollen and stigma, the pollen tube (PT) and stilar transmitting tissue, PT and the female gametophyte. However, the role of ROS as a signaling molecule is still unclear. Optimal conditions that provide the possibility of obtaining *in vitro* PTs, equal in length to growing PTs in stilar transmitting tissue, have not yet been optimized for most plant species. The composition of the culture medium for PTs growth is species-specific. Pollen of some species is germinated on water, while pollen of other species is germinated on a culture medium supplemented with sucrose and boric acid or on complex culture media with a well-balanced composition of mineral salts and sucrose. ROS play a regulatory role at the stages of adhesion, hydration, germination of pollen grains (PGs), and PT growth in the pistil. PTs growth triggers of ROS generation inside the embryo sac. The effect of ROS ( $H_2O_2$ ) on the *in vitro* PGs germination and length of PTs in *Petunia hybrida* L. was studied. The study was carried out on mature freshly collected pollen (2 mg), which was mixed with 2 ml of a culture medium containing 0.4 M sucrose, 1.6  $\mu$ M  $H_3BO_3$ , and various concentrations of  $H_2O_2$ , in flasks closed with rubber stoppers. Cultivation was carried out for 6 h under thermostatically controlled conditions (25-26°C). PG germination and PT length were assessed using a microscope equipped with an eyepiece micrometer at 100x magnification. The length of at least 200 germinated PTs was evaluated in two biological and six analytical replicates for each treatment. In general, exogenous  $H_2O_2$  treatment stimulated PG germination and PT growth *in vitro*. We assume that ROS treatment regulate the pollen wall cytomechanics and are involved in the loosening of pollen tissue in the pore region, which can contribute to an increase in the PG volume during hydration. There is evidence that ROS generation enhance the biosynthesis of pectin, which is so rich in the PT wall, and the pectin methylesterase activity plays a key role in its integrity during PT growth in the stilar transmitting tissue.

This estimation was funded by the Russian Scientific Foundation, grant № 22-24-01148.

**Влияние бактерий *Bacillus cereus* F на рост и устойчивость растений к фитопатогенам**<sup>1</sup>Захарченко Н.С., <sup>1</sup>Рукавцова Е.Б., <sup>1</sup>Медведева О.О., <sup>2</sup>Храмов Р.Н.<sup>1</sup>Филиал ФГБУН Института биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Пушкино

<sup>2</sup>ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пушкино[zachar@bibch.ru](mailto:zachar@bibch.ru)

Известно, что многие бактерии рода *Bacillus* являются антагонистами фитопатогенных грибов и бактерий. Эти бактерии синтезируют внутри клеток и могут секретировать в окружающую среду различные вещества, в том числе пептидной природы, обладающие антибиотической активностью. В современной биотехнологии растений актуален поиск и исследование новых штаммов бацилл, таких как использованные в данной работе бактерии *Bacillus cereus* F, выделенные из вечномёрзлых песков Мамонтовой горы (Центральная Якутия). Нами проведена колонизация растений табака и горчицы сарептской, растущих *in vitro*, бактериями *B. cereus* F. Показана стимуляция роста колонизированных растений. Содержание бактерий в корнях сохранялось практически на одном уровне в течение длительного времени, что указывало на их прочную ассоциацию с растениями. С помощью микроскопического анализа колонизированных растений показано наличие бацилл на поверхности корней. Обнаружена значительная устойчивость колонизированных растений к фитопатогенному грибу *Fusarium oxysporum*. Показан антагонизм бактерий *B. cereus* F к ряду грибов, патогенных для растений, а также по отношению к некоторым бактериям, вызывающих заболевания верхних дыхательных путей у животных и человека. Вероятно, клетки бактерий *B. cereus* F. синтезируют вещества с антибиотической активностью. Полученные нами результаты указывают на возможность использования этих бактерий в дальнейшем для защиты растений от фитопатогенов, а также в ветеринарии и медицине в качестве метаболитов.

**Influence of bacteria *Bacillus cereus* F on plant growth and resistance to phytopathogens**<sup>1</sup>Zakharchenko N.S., <sup>1</sup>Rukavtsova E.B., <sup>1</sup>Medvedeva O.O., <sup>2</sup>Khramov R.N.<sup>1</sup>Branch of Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Pushchino<sup>2</sup>Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino[zachar@bibch.ru](mailto:zachar@bibch.ru)

It is known that many bacteria of the *Bacillus* genus are antagonists of phytopathogenic fungi and bacteria. These bacteria synthesize inside the cells and can secrete into the environment various substances, including those of a peptide nature, which have antibiotic activity. In modern plant biotechnology, the search and study of new strains of bacilli, such as the bacteria *Bacillus cereus* F used in this work, isolated from the permafrost sands of Mammoth Mountain (Central Yakutia), is relevant. We have carried out colonization of tobacco and Sarepta mustard plants growing *in vitro* with *B. cereus* F bacteria. Growth stimulation of the of colonized plants has been shown. The content of bacteria in the roots remained practically at the same level for a long time, which indicated their strong association with plants. Microscopic analysis of colonized plants showed the presence of bacilli on the root surface. Significant resistance of colonized plants to the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* was found. The antagonism of *B. cereus* F bacteria to various phytopathogenic fungi, as well as to some bacteria that cause diseases of the upper respiratory tract in animals and humans, is shown. It is likely that *B. cereus* F. cells can synthesize substances with antibiotic activity. Our results indicate the possibility of using these bacteria in the future to protect plants from phytopathogens, as well as in veterinary science and medicine as a metabiotic.

**Семейство генов, кодирующих NCR-пептиды у *Pisum sativum*: разнообразие последовательностей, особенности экспрессии и эволюция**

<sup>1</sup>Зорин Е.А., <sup>1</sup>Клюкова М.С., <sup>1</sup>Афонин А.М., <sup>1</sup>Грибченко Э.С., <sup>1</sup>Гордон М.Л., <sup>1</sup>Сулима А.С., <sup>1</sup>Жернаков А.И., <sup>1</sup>Кулаева О.А., <sup>1</sup>Романюк Д.А., <sup>1</sup>Кусакин П.Г., <sup>1</sup>Цыганова А.В., <sup>1</sup>Цыганов В.Е., <sup>1,2</sup>Тихонович И.А., <sup>1</sup>Жуков В.А.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский Государственный Университет, г. Санкт-Петербург

ezorin@arriam.ru

Бобовые растения способны формировать клубеньки, в которых симбиотические бактерии, после дифференцировки в бактериоиды, фиксируют атмосферный азот. У некоторых видов бобовых дифференцировка бактериоидов опосредована дефинзин-подобными клубенёк-специфичными цистеин-богатыми (NCR) пептидами. NCR пептиды подробно изучены у модельного бобового *Medicago truncatula* Gaerth., в то время как для других бобовых информация о представителях данного семейства фрагментарна или отсутствует. В настоящей работе мы охарактеризовали генное семейство NCR пептидов у гороха посевного (*Pisum sativum* L.) используя геномные и транскриптомные данные. Мы выявили 360 генов, кодирующих NCR пептиды и экспрессирующиеся в клубеньках гороха. Последовательности выявленных генов и предполагаемые пептиды демонстрируют высокую степень варибельности и значительно отличаются от таковых у *M. truncatula*: была выявлена только одна пара ортологов (PsNCR47/MtNCR312). NCR гены в геноме гороха, подобно *M. truncatula*, организованы в кластеры, и имеют схожий уровень экспрессии в рамках кластеров. В целом, эти данные говорят в пользу идеи о независимой эволюции NCR генов путём дупликаций с дальнейшей экспансией у близкородственных видов бобовых. Мы также описали пространственно-временные профили экспрессии NCR генов и идентифицировали специфичные сайты связывания транскрипционных факторов в промоторах «ранних» и «поздних» NCR генов. Кроме того, мы изучили экспрессию NCR генов в клубеньках Fix- мутантов и предсказали потенциальные регуляторы экспрессии представителей данного семейства, одним из которых является ТФ ERN1, вовлечённый в ранние этапы клубенькообразования. В целом, наша работа расширяет знания о функциях NCR пептидов в азотфиксирующих клубеньках бобовых, а также проливает свет на разнообразие и потенциальные антибиотические свойства клубенёк-специфичных антимикробных молекул.

**Gene family encoding NCR peptides in *Pisum sativum*: sequence diversity, expression features and evolution**

<sup>1</sup>Zorin E.A., <sup>1</sup>Kliukova M.S., <sup>1</sup>Afonin A.M., <sup>1</sup>Gribchenko E.S., <sup>1</sup>Gordon M.L., <sup>1</sup>Sulima A.S., <sup>1</sup>Zhernakov A.I., <sup>1</sup>Kulaeva O.A.,

<sup>1</sup>Romanyuk D.A., <sup>1</sup>Kusakin P.G., <sup>1</sup>Tsyganova A.V., <sup>1</sup>Tsyganov V.E., <sup>1,2</sup>Tikhonovich I.A., <sup>1</sup>Zhukov V.A.

<sup>1</sup>All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg.

<sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, St. Petersburg.

ezorin@arriam.ru

Various legume plants form root nodules in which symbiotic bacteria (rhizobia) fix atmospheric nitrogen after differentiation into a symbiotic form named bacteroids. In some legume species, bacteroid differentiation is promoted by defensin-like nodule-specific cysteine-rich (NCR) peptides. NCR peptides have best been studied in the model legume *Medicago truncatula* Gaertn., while in many other legumes relevant information is still fragmentary. Here, we characterize the NCR gene family in pea (*Pisum sativum* L.) using genomic and transcriptomic data. We found 360 genes encoding NCR peptides that are expressed in nodules. The sequences of pea NCR genes and putative peptides are highly variable and differ significantly from NCR sequences of *M. truncatula*. Indeed, only one pair of orthologs (PsNCR47/MtNCR312) has been identified. The NCR genes in the pea genome are located in clusters and the expression patterns of NCR genes from one cluster tend to be similar. These data support the idea of independent evolution of NCR genes by duplication and diversification in related legume species. We also described spatio-temporal expression profiles of NCRs and identified specific transcription factors binding sites in promoters of 'early' and 'late' NCR genes. Further, we studied the expression of NCR genes in nodules of Fix- mutants and predicted potential regulators of NCR gene expression, one among them being the transcription factor ERN1 involved in early steps of nodule organogenesis. In general, this study contributes to understanding the functions of NCRs in legume nodules and contributes to understanding of the diversity and potential antibiotic properties of pea nodule-specific anti-microbial molecules.

### Перспективность включения *Eisenia fetida* в искусственные экосистемы для увеличения продуктивности растений

<sup>1</sup>Зюбанова Т.И., <sup>1,2</sup>Минаева О.М., <sup>1,2</sup>Акимова Е.Е., <sup>1</sup>Терещенко Н.Н., <sup>2</sup>Кравец А.В., <sup>2</sup>Гуммер Я.М.

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

<sup>2</sup>СибНИИСХиТ – филиал СФНЦА РАН, Томск, Россия

zybanovat.i@gmail.com

Известно, что дождевые черви способны изменять структуру почвы, почвенную микрофлору и увеличивать минерализацию питательных веществ, оказывая положительное влияние на рост растений за счет улучшения питания и индукции резистентности к абиотическим и биотическим стрессам. К возможным путям положительного воздействия дождевых червей также относят биоконтроль вредителей и болезней, стимуляцию микробных симбионтов растений, выделение рострегулирующих веществ.

Цель работы – оценка влияния интродукции дождевых червей на ростовые и физиологические показатели растений пшеницы и листового салата в модельных системах.

Объект исследования – малая модельная экосистема: субстрат (верховой торф) – растение (листовой салат *Lactuca sativa* или пшеница *Triticum aestivum*) – дождевые черви (*Eisenia fetida*). Эксперименты проведены в климатической камере: интенсивность освещения – 9,9 кЛк (167 мкмоль квантов/(м<sup>2</sup> сек) ФАР), фотопериод – 16/8, температура – 20...21/18...19 °С. Продолжительность экспериментов с салатом – 64 суток при выращивании растений (78 суток с момента подготовки субстратов), пшеницы – 21 сутки (35 суток весь эксперимент). Концентрация фотосинтетических пигментов определена спектрофотометрически и рассчитана по формулам Lichtenthaler and Wellburn. Измерение флуоресценции хлорофилла *a* проведено на флуориметре Junior-PAM.

Установлено, что присутствие в микрокосмах дождевых червей способствовало увеличению показателей развития растений. Длина и масса растений пшеницы возросла на 7%. Для салата установлено увеличение урожайности на 8%, площади листовой поверхности на 25%. При анализе пигментного состава наблюдалось увеличение концентраций пигментов на 46% для хлорофилла *a*, на 52% для хлорофилла *b*, на 35% для каротиноидов у салата, на 28%, 18% и 21% у пшеницы соответственно. Черви способствовали увеличению максимальной фотохимической эффективности ФС II и параметров фотохимического тушения флуоресценции, а также снижению параметров нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла *a*.

Таким образом, интродукция *E. fetida* в модельные системы при выращивании салата или пшеницы увеличивает параметры развития растений (в оптимальных численностях стартовой популяции – 12 особей/кг субстрата), концентрации пигментов фотосинтеза, стимулирует продуктивность ФС II, способствуя увеличению продуктивности растений.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90065.

### Prospects for introducing *Eisenia fetida* in artificial ecosystems to increase plant productivity

<sup>1</sup>Zybanova T.I., <sup>1,2</sup>Minaeva O.M., <sup>1,2</sup>Akimova E.E., <sup>1</sup>Tereshchenko N.N., <sup>2</sup>Kravets A.V., <sup>2</sup>Gummer Y.M.

<sup>1</sup>Tomsk State University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Siberian Research Institute of Agriculture and Peat, Tomsk, Russia

zybanovat.i@gmail.com

Earthworms are known to be able to modify soil structure, soil microflora and increase mineralisation of nutrients, having a positive effect on plant growth by improving nutrition and inducing resistance to abiotic and biotic stresses. Possible positive impacts of earthworms also include the biocontrol of pests and diseases, promoting beneficial plant-microbe symbioses and growth-stimulated substances.

The aim of the work was to assess the effect of earthworm introduction on the growth and physiological parameters of wheat and lettuce plants in model systems.

The object of the study was a small model ecosystem: substrate (sphagnum oligotrophic peat with degree of decomposition 10–15%) – plant (*Lactuca sativa* or *Triticum aestivum*) – earthworms (*Eisenia fetida*). The experiments were carried out in a climatic chamber with light intensity of 9.9 kLx (167 μmol quanta/(m<sup>2</sup> sec) PAR), photoperiod of 16/8 hours and temperatures of 20...21/18...19°C. The duration of the experiments with lettuce was 64 days when growing plants (78 days from the moment of substrate preparation) and for wheat it was 21 days (35 days of the whole experiment). The concentration of photosynthetic pigments was determined spectrophotometrically and calculated by the method of Lichtenthaler and Wellburn. Chlorophyll *a* fluorescence was measured using a Junior-PAM fluorometer.

It has been established that introducing *E. fetida* in microcosms contributes to an increase in plant development indicators.

The height and weight of wheat plants increased by 7%. For lettuce, an increase in yield by 8% and in leaf surface area by 25% was noted. An increase in pigment concentrations was observed by 46% for chlorophyll *a*, by 52% for chlorophyll *b*, by 35% for carotenoids in lettuce, as well as by 28%, 18% and 21% in wheat, respectively. Introducing *E. fetida* contributed to an increase in the maximum photochemical efficiency of PS II and the photochemical quenching parameters of fluorescence, as well as a decrease in the non-photochemical quenching parameters of chlorophyll *a* fluorescence.

Thus, the introduction of *E. fetida* into model systems when growing lettuce or wheat increases plant development parameters (in optimal numbers of the starting population – 12 individuals/kg of substrate), increases the concentration of photosynthetic pigments, and stimulates the productivity of PS II, contributing to an increase in plant productivity.

The reported study was funded by the RFBR, Project Number 20-34-90065



### Влияние детритной субстрата на заражение проростков озимой пшеницы фузариозным увяданием

<sup>1,2</sup>Иванова Е.А., <sup>1,3</sup>Машков К.А., <sup>1,3</sup>Гончаров А.А.

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва

<sup>2</sup>Почвенный институт им. В.В. Докучаева, г. Москва

<sup>3</sup>Институт X-BIO, Тюменский государственный университет, г. Тюмень.

[ektrnivanova@gmail.com](mailto:ektrnivanova@gmail.com)

Фузариоз – обобщенное название заболеваний растений, вызываемое патогенными грибами рода *Fusarium* и сопровождаемое необратимым увяданием растения. В качестве одного из путей предотвращения заражения всходов сельскохозяйственных растений фузариевыми грибами может быть предложено внесение в почву органических остатков (компоста, детритной смеси, соломы и т.д.). Механизмы данного процесса включают в себя подавление патогенных фузариумов сапротрофными грибами, обилие почвенных животных-микофагов, повышение устойчивости растений за счет минерального питания. Целью работы была оценка влияния зоокомпоста из отходов производства личинок черной львинки на возможность контроля корневой гнили (возбудитель *Fusarium oxysporum*) у озимой пшеницы.

Объект исследования – дерново-подзолистая почва, отобранная в Калужской области на территории фермы с органическим земледелием. Для получения количественной информации о влиянии детритной дотации на развитие инфекции *Fusarium* в проростках озимой пшеницы проводили 60-дневный лабораторный эксперимент. Экспериментальные режимы включали внесение зоокомпостной смеси в разные сроки (вначале и через 10 дней после начала эксперимента), а также внесение смеси соломы и компоста с высоким и низким содержанием азота. Измеряли заболеваемость всходов фузариозом и определяли биомассу фузариевых грибов с помощью учета содержания в почве и инокуляте специфичного к р. *Fusarium* белково-полисахаридного конъюгата (БПК) методом иммуно-ферментного анализа (ELISA).

На 20-й день эксперимента зараженных проростков пшеницы при обработке детритовой субсидией (мульчей) обнаружено не было, в то время как в контрольном варианте уровень заражения составил 8,7%. На основании анализа ДНК, грибы, выделенные из зараженных растений, принадлежали к виду *Fusarium oxysporum*. Ни одно из растений на 60-й день не продемонстрировало явных признаков заражения фузариозом. По сравнению с контролем, биомасса побегов увеличилась на 24% при обработке с высоким содержанием азота и уменьшилась на 27% при обработке мульчей с низким содержанием азота. Таким образом, добавление зоокомпоста на поверхность почвы оказывало выраженный положительный эффект на фитопатологический статус растений (развитие корневых гнилей, распространение корневых гнилей, доля больных растений), а также химический состав почвы (содержание растворимых форм калия и фосфора).

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 22-76-10027).

### Influence of detrital substrate on infection of winter wheat seedlings with *Fusarium* wilt

<sup>1,2</sup>Ivanova E.A., <sup>1,3</sup>Mashkov K.A., <sup>1,3</sup>Goncharov A.A.

1A.N. Severtsov Institute for Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow

2 Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow

3Institute X-BIO, Tyumen State University, Tyumen.

[ektrnivanova@gmail.com](mailto:ektrnivanova@gmail.com)

Fusariosis is a generalized name for plant diseases caused by pathogenic fungi of the genus *Fusarium* and accompanied by the irreversible wilting of the plant. To prevent *Fusarium* infestation of agricultural plant seedlings, application of organic residues (compost, detritus mixture, straw, etc.) to the soil can be suggested. The mechanisms of this process include the suppression of pathogenic *Fusarium* by saprotrophic fungi, the abundance of soil mycophagous animals, and the increase in plant resistance due to mineral nutrition. The aim of the work was to evaluate the possibility of the effect of zoocomposition of black lionfly larvae on the control of root rot (*Fusarium oxysporum* pathogen) in winter wheat.

The object of the study was sod-podzolic soil sampled in Kaluga region on a farm with organic land use. A 60-day laboratory experiment was carried out to obtain quantitative information on the effect of detrital supplementation on the occurrence of *Fusarium* infection in winter wheat seedlings. Experimental regimens included the introduction of a zoocomposite mixture at different times (at the beginning and 10 days after the beginning of the experiment), as well as the introduction of a mixture of straw and compost with high and low nitrogen content. We measured the incidence of *Fusarium* seedlings and determined the biomass of *Fusarium* fungi by measuring the content of *Fusarium*-specific protein-polysaccharide conjugate (APC) in the soil and inoculum by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

On the 20th day of the experiment no infected wheat seedlings were found when treated with detrital subsidy (mulch), while in the control variant the infection rate was 8.7%. Based on DNA analysis, fungi isolated from infected plants belonged to the species *Fusarium oxysporum*. None of the plants at day 60 showed obvious signs of *Fusarium oxysporum* infestation. Compared with the control, shoot biomass increased by 24% in the high-nitrogen treatment and decreased by 27% in the low-nitrogen mulch treatment. Thus, the addition of zoocomposite to the soil surface had a pronounced positive effect on the phytopathological status of plants (development of root rots, spread of root rots, proportion of diseased plants) as well as the chemical composition of soil (content of soluble forms of potassium and phosphorus).

This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 22-76-10027).

**The *a-hairpinin SmAMP-X* gene promoter from *Stellaria media* plant**

Ivanova L.A., Komakhin R.A.

All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow

[recombination@iab.ac.ru](mailto:recombination@iab.ac.ru)

Efficient promoters of plant origin are essential for developing vector systems for efficient genetic transformation of crops. Here, we report the isolation and *in planta* functional characterization of a novel promoter, that of the *a-HAIRPININ ANTIMICROBIAL PEPTIDE X (SmAMP-X)* gene from *Stellaria media*. We found two promoter sequences that are by 83% identical in their core and proximal regions. We showed that one of the promoter sequences belongs to the *SmAMP-X* gene and designated it as pro-SmAMP-X promoter. The other promoter sequence belongs to the *SmAMP-X-Ψ2* gene with high sequence similarity and was designated as pro-SmAMP-X-Ψ2 promoter. *In silico* and 5'-deletion analyses demonstrated that these differ in their number and types of *cis*-acting elements and in their effectiveness for *in planta* expression of the *uidA* reporter gene and the *nptII* selectable marker. GUS analysis of *Agrobacterium*-infiltrated *Nicotiana benthamiana* leaves, transgenic *Arabidopsis thaliana* homozygous lines and transgenic potato (*Solanum tuberosum*) plants revealed that the pro-SmAMP-X and pro-SmAMP-X-Ψ2 promoters in pCambia1381Z and pCambia2301 binary vectors produced at least 42% of the GUS activity produced by the *Cauliflower mosaic virus* 35S promoter. However, using the 5'-RACE method, we showed that, in transgenic *A. thaliana* lines, the pro-SmAMP-X and pro-SmAMP-X-Ψ2 promoters in pCambia2301 vector produced *uidA* transcripts with longer, more heterogeneous 5'-untranslated regions (5'-UTRs) than expected based on the 5'-UTR of *SmAMP-X* mRNA in *S. media* plants. These results suggest that the pro-SmAMP-X and pro-SmAMP-X-Ψ2 promoters are influenced by the 2x CaMV35S enhancer element employed for the expression of selectable marker in pCambia2301 vector. Replacing the 2x CaMV35S enhancer with the *lacZ* gene from *Escherichia coli* dramatically reduced the potency of the pro-SmAMP-X-Ψ2 promoter in pCambia1381Z vector. Simultaneously, both promoters pro-SmAMP-X and pro-SmAMP-X-Ψ2 in pCambia2300 binary vector without 2x CaMV35S enhancer also provided constitutive expression of the *nptII* selectable marker in various tissues and in seedlings of transgenic *Nicotiana tabacum* plants and allowed the selection of transgenic cells on nutrient medium with a high concentration of kanamycin. Our results thus indicate that pro-SmAMP-X and pro-SmAMP-X-Ψ2 promoters may have limited application in the molecular breeding of crop species.

**Lipophilic representatives of *Pseudomonas* from natural and anthropogenic habitats promising for industrial biotechnology**<sup>1,2</sup>Ivasenko D.A., <sup>2</sup>Kasymova A.A., <sup>1,2</sup>Bukhtiyarova P.A., <sup>1</sup>Gerasimchuk A.L.<sup>1</sup>Tomsk State University, Tomsk<sup>2</sup>OOO Darwin, Tomsk

ivasenko.da@mail.ru

The genus *Pseudomonas* comprises a large group of gram-negative bacteria with versatile metabolic capacity that enables them to utilize a wide range of organic compounds, including lipid-containing compounds (Lee et al., 2008; Fendri et al., 2010 and others), and these bacteria play an important role in the carbon cycle. Members of the genus *Pseudomonas* are ubiquitous and occupy a wide variety of habitats, including riverine ecosystems and polluted industrial effluents (Pirnay et al., 2005; Cyriaque et al., 2020). The study aimed to search for biotechnologically promising strains for organic waste degradation. The objects of the study were *Pseudomonas* strains isolated from the grease trap of a meat processing plant, wastewater of a storage pond of a dairy plant, and bottom sediments from the middle course of the Ob River. The analysis of 16S rRNA genes showed that different members of the genus *Pseudomonas* were isolated from different habitats by cultivation on fat-containing media. Pure cultures of *P. extremaustralis*, *P. citronellolis*, and *P. synxantha* were isolated from the grease trap. Strains of *P. nitroreducens* were isolated from wastewater, and *P. brassicacearum*, *P. putida*, *P. lini*, *P. baetica*, *P. protegens*, *P. veronii*, and *P. fildesensis* were isolated from bottom sediments.

Representatives of each species were examined for lipolytic activity using a diagnostic medium that contained tributyrin agar. Strains of *P. protegens* sp. KGS3Ps2 and *P. brassicacearum* sp. KGS5K1 exhibited pronounced lipolytic activity in the form of complete hydrolysis of tributyrin, in contrast to other strains, which contained hydrolysis zones of less than 3 mm. Strains of *P. protegens* sp. KGS3Ps2 and *P. brassicacearum* sp. KGS5K1 grew and showed lipolytic activity at +4 °C. For a number of strains, the ability to grow on dense mineral media supplemented with pork fat, olive oil, butter, and glycerol as the only source of carbon at a final concentration of 1% was studied. Only *P. lini* sp. KGS5k3 grew on a solid medium that contained pork fat and olive oil. *P. citronellolis* sp. A13 and *P. brassicacearum* sp. KGS5K1 along with *P. lini* sp. KGS5k3 showed growth on a solid medium supplemented with butter and glycerol.

Growth and lipolytic activity of strains of *P. citronellolis* sp. A13, *P. extremaustralis* sp. BF11 and *P. synxantha* sp. B21 were studied on a liquid medium supplemented with olive oil. The highest lipolytic activity of strains BF11 and B21,  $10 \mu\text{M}\times\text{h}^{-1}\times\text{ml}^{-1}$  and  $25 \mu\text{M}\times\text{h}^{-1}\times\text{ml}^{-1}$ , respectively, was observed after 25 h of cultivation. Strain A13 exhibited the lipolytic activity of  $10 \mu\text{M}\times\text{h}^{-1}\times\text{ml}^{-1}$  within 6–30 h of cultivation. The lipolytic activity of strains A13 and BF11 was studied on a liquid medium supplemented with pork fat and butter. Gas chromatography with plasma ionization detection was employed to compare the composition of fatty acids (FAs) after 4 d of cultivation with that in control samples cultivated on the medium with a substrate without inoculum. The quantitative content of some FAs in the broth culture was shown to be significantly different from that in the control, namely, the content of palmitic acid in the experiment with animal fat, and hexanoic, caprylic, alpha-linolenic and other acids on the medium supplemented with butter increased dramatically. In total, 62.48 mg of FA/g of the sample was found in the control with pork fat, while the content of FAs in the broth culture of strains A13 and BF11 was 77.53 and 79.07 mg/g, respectively. In the control with butter, the total content of free FAs was 106.57 mg/g, and in the broth culture of strains A13 and BF, it was 433.41 mg/g and 543.94 mg/g, respectively. The results obtained indicate the processes of fat hydrolysis with formation of free FAs. A more intense biodegradation was observed on the medium supplemented with milk fat, and the highest content of free fatty acids was found in strain BF11.

*Pseudomonas* strains isolated from natural and anthropogenic habitats exhibit different metabolic characteristics in terms of degradation of lipid-containing organic substances and therefore can be used to develop biological preparations for utilization of a wide range of pollutants.

The study was supported by the Tomsk State University Development Program (Priority 2030).

**Использование молекулярно-генетических и биохимических маркеров  
для характеристики диких форм и сортов сои**

<sup>1,2</sup>Иваченко Л.Е., <sup>1</sup>Бондаренко О.Н., <sup>1</sup>Блинова Н.А., <sup>1,2</sup>Лаврентьева С.И.

<sup>1</sup>ФГБНУ ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский институт сои, г. Благовещенск

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Благовещенский государственный педагогический университет,

г. Благовещенск

ivachenko-rog@yandex.ru

Изучение и использование дикой и сортов сои, адаптированных к климатическим условиям региона – это основа безопасности страны. Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) занимает в Амурской области 60% пахотных земель. Для использования биотехнологических методов селекции необходимы маркеры. Белковые маркеры – это маркеры соответствующих генов. Многие ферменты функционируют в виде множественных форм. Ферменты, как и низкомолекулярные метаболиты, позволяют оценить адаптивный потенциал сортов и форм дикой сои к изменяющимся условиям среды. Для идентификации сортов сои также важно использовать уникальные профили ДНК, полученные с помощью микросателлитных маркеров.

Цель исследований – изучить молекулярно-генетический полиморфизм дикой и культурной сои и создать на основе множественных форм ферментов и микросателлитов ДНК систему маркеров для идентификации генотипов. Объектом исследования служили 9 сортов (селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИ сои) и 5 образцов дикой сои. Множественные формы ферментов определяли методом электрофореза. Содержание низкомолекулярных метаболитов ( $\beta$ -каротин, аскорбиновая кислота) определяли спектрофотометрическим методом. Методика выделения и очистки ДНК проведена с использованием набора для выделения геномной ДНК. Для амплификации выделенной ДНК применяли 6 пар SSR-праймеров (*Satt1*, *Satt2*, *Satt5*, *Satt9*, *Sat36* и *Soyhsp176*).

В результате исследований выявлено 19 форм супероксиддисмутаз (КФ 1.15.1.1), 11 форм эстераз (К.Ф. 3.1.1.X), 9 форм пероксидаз (КФ 1.11.1.7), 8 форм рибонуклеаз, (К.Ф. 3.1), 7 форм кислых фосфатаз (К.Ф. 3.1.3.2), 6 форм полифенолоксидаз (КФ 1.10.3.1), 5 форм каталаз (КФ 1.11.1.6) и 3 формы амилаз (К.Ф. 3.2.1.1). Отмечено, что супероксиддисмутазы, эстеразы, пероксидазы и рибонуклеазы обладают повышенным уровнем полиморфизма, что позволяет их использовать в качестве белковых маркеров. Высокое содержание низкомолекулярных метаболитов установлено в семенах сои сорта Даурия. Методом ПЦР-анализа при изучении шести локусов выявлено 19 аллелей. Число аллелей на локус – от 1 до 4. Дендрограмма исследуемых генотипов сои показала два кластера (I – культурные сорта сои и одна форма дикой, во II – остальные формы дикой сои). Для всех культурных сортов и трех форм дикой сои были выявлены уникальные наборы аллелей, созданы их молекулярно-генетические паспорта.

**The use of molecular genetics and biochemical markers  
to characterize wild soy and cultural of soybean**

<sup>1,2</sup>Ivachenko L.E., <sup>1</sup>Bondarenko O.N., <sup>1</sup>Blinova N.A., <sup>1,2</sup>Lavrent'eva S.I.

<sup>1</sup> Federal Research Center «All-Russian Scientific Research Institute of Soybean», Blagoveshchensk

<sup>2</sup>Blagoveshchensk State Pedagogical University, Blagoveshchensk

[ivachenko-rog@yandex.ru](mailto:ivachenko-rog@yandex.ru)

The study and use of wild soy and cultural of soybean adapted to the climatic conditions of the region is the basis of the country's security. Soy (*Glycine max* (L.) Merr.) occupies 60% of arable land in the Amur region. Markers are needed to use biotechnological breeding methods. Protein markers can be considered as markers of the corresponding genes. Many enzymes function in plural forms. To identify soybean, it is convenient to use unique DNA profiles obtained using microsatellite markers. Enzymes, as well as low-molecular weight metabolites, allow us to assess the adaptive potential of wild soy and cultural of soybean to changing environmental conditions.

The aim of the research is to study the molecular genetic polymorphism of wild soy and cultivated soybeans and to create a system of markers for genotype identification based on plural forms of enzymes and DNA microsatellites.

The object of the study was 9 cultural of soybean of breeding of the All-Russian Scientific Research Institute of Soybean and 5 samples of wild soy. Plural forms of enzymes were determined by electrophoresis. The content of low molecular weight metabolites ( $\beta$ -carotene, ascorbic acid) was determined by spectrophotometric method. The technique of DNA isolation and purification was carried out using a kit for genomic DNA isolation. 6 pairs of SSR primers (*Satt1*, *Satt2*, *Satt5*, *Satt9*, *Sat36* and *Soyhsp176*) were used to amplify the isolated DNA.

The research revealed 19 forms of superoxide dismutases (CE 1.15.1.1), 11 forms of esterases (CE 3.1.1.X), 9 forms of peroxidases (CE 1.11.1.7), 8 forms of ribonucleases (CE 3.1), 7 forms of acid phosphatases (CE 3.1.3.2), 6 forms of polyphenol oxidases (CE 1.10.3.1), 5 forms of catalases (CE 1.11.1.6) and 3 forms of amylases (CE 3.2.1.1). It was noted that ribonuclease, esterase and superoxide dismutase have an increased level of polymorphism, which allows them to be used as protein markers. A high content of low-molecular metabolites was found in the Dauria. The PCR analysis method revealed 19 alleles in the study of six loci. The number of alleles per loci is from 1 to 4. The dendrogram of the studied soybean genotypes revealed two clusters (I – cultural of soybean and one form of wild soy, in II – the remaining forms of wild soy). Unique sets of alleles were obtained for all cultural of soybean and three forms of wild soy, and their molecular genetic passports were created.

**Адаптация метода агробактериальной трансформации (*Agrobacterium rhizogenes*) для гречихи посевной**  
**Ильина Е.Л., Пучкова В.А., Кирюшкин А.С., Демченко К.Н.**

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург.  
 eilina@binran.ru

Для решения некоторых научных задач, связанных с развитием корневой системы, таких как молекулярно-генетические и гормональные механизмы развития корня, взаимодействие корневой системы с патогенами и т.д., оптимальной моделью являются композитные растения с побегом дикого типа и трансгенной корневой системой, образующиеся в результате инокуляции растений *Agrobacterium rhizogenes*. У композитных растений сохраняются регуляторные связи между корневой системой и побегом, при этом трансгенные корни несут вставку Т-ДНК вектора, введённого в клетки штамма *A. rhizogenes*. Гречиха посевная (*Fagopyrum esculentum* Moench) является важной сельскохозяйственной культурой, подходы к агробактериальной трансформации которой остаются недостаточно разработанными. Для гречихи, также как для Тыквенных, характерна инициация боковых корней в апикальной меристеме родительского корня, что позволяет рассматривать её как новый объект для расширения круга немодельных растений. Для гречихи описаны методики трансформации *A. rhizogenes*, приводящие к образованию культуры бородатых корней, но отсутствуют данные о получении композитных растений. Целью данной работы была адаптация метода агробактериальной трансформации гречихи посевной штаммами *A. rhizogenes*. Использовали семена гречихи сортов Даша, Диана и Диккуль. Основой для оптимизации протокола послужила методика, ранее разработанная нами для гречихи сорта Баллада, эффективность которой была крайне низкой (около 3%). Очищенные семена подвергали поверхностной стерилизации в смеси 33% перекиси, 96% этилового спирта и стерильной воды (1:2:1), промывали и прорастивали на 0,8% водном агаре. Основание гипокотыля 4-х дневных проростков инокулировали штаммами R1000, A4, R1601 и MSU440 *A. rhizogenes*. Клетки агробактерий содержали вектор 242 pKGW-DR5::mNeonGreen, позволяющий отбор трансгенных корней по флуоресценции белка DsRED1. Были применены различные протоколы инокуляции: с использованием вакуума, с нанесением бактериальной суспензии или пасты, с поранением интактных растений иглой или приготовлением апикальных эксплантов, с добавлением антиоксидантов (аскорбиновой кислоты, цистеина, глутатиона) в среду для ко-культивации. Трансформанты после элиминации агробактерий выращивали в вермикулите или в аэропонной системе. Оптимальным подходом является инокуляция апикальных эксплантов гречихи сорта «Диана» суспензией агробактерий штамма R1000 под вакуумом, ко-культивация на среде MS без антиоксидантов и выращивание композитных растений в аэропонной системе. Эффективность метода составила 6,25%.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 20-016-00233-а.

**Adaptation of agrobacterium-mediated transformation (*Agrobacterium rhizogenes*) method for buckwheat**

Iilina E.L., Puchkova V.A., Kiryushkin A.S., Demchenko K.N.  
 Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg.  
 eilina@binran.ru

Composite plants with wild-type shoot and transgenic root system formed via agrobacterium-mediated (*Agrobacterium rhizogenes*) transformation of plants are the optimal model for investigation of some scientific tasks related to the development of the root system. Area of these tasks includes molecular and hormonal mechanisms of root development, the interaction of the root system with pathogens, etc. Composite plants maintain regulatory links between the root system and the shoot, while the transgenic roots carry the T-DNA insert introduced into the cells by the *A. rhizogenes* cells. Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) is an important cereal crop; however, approaches to the agrobacterium-mediated transformation of buckwheat remain insufficiently developed. For buckwheat, as well as for Cucurbits, the initiation of lateral roots in the apical meristem of the parental root is typical, which allows us to consider it as a new object for expanding the range of non-model plants. *A. rhizogenes*-mediated transformation techniques resulting in formation of hairy roots are described for buckwheat, but there are no data on the getting of composite plants. The aim of this work was to adapt the method of agrobacterium-mediated transformation of buckwheat by strains of *A. rhizogenes*. The seeds of buckwheat cultivars Dasha, Diana and Dikul were used. The basis for optimizing the protocol was the technique we had previously developed for buckwheat cv. Ballada, the efficiency of which was extremely low (about 3%). The dehulled seeds were surface sterilized in a mixture of 33% peroxide, 96% ethanol and sterile water (1:2:1), washed and germinated on 0.8% aqueous agar. The sites of root-shoot junction of 4-day old seedlings were inoculated with *A. rhizogenes* strains R1000, A4, R1601 and MSU440. Agrobacterial cells harbored the 242 pKGW-DR5::mNeonGreen vector, which allows screening of transgenic roots by DsRED1 protein fluorescence. Various inoculation protocols were tested: using vacuum, applying a bacterial suspension or paste, injuring intact plants with a needle or with preparing apical explants as well as with adding antioxidants (ascorbic acid, cysteine, glutathione) to the co-cultivation medium. Transformants after the elimination of agrobacteria were grown in vermiculite or in an aeroponics. The optimal protocol is the inoculation of apical explants of buckwheat cv. Diana with a suspension of R1000 strain agrobacteria under vacuum, co-cultivation on MS medium without antioxidants and growing of composite plants in an aeroponics. The efficiency of the method was 6.25%.

The research was supported by the RFBR grant 20-016-00233-а.

**Rhizospheric bacteria as a basis for the development of biofertilizers in agriculture**

Itkina D.S., Suleymanova A.D., Sharipova M.R.

Kazan Federal University, Kazan

[marsharipova@gmail.com](mailto:marsharipova@gmail.com)

A priority direction in the development of agriculture is the development of new biopesticides to protect plants from phytopathogens in order to improve the quality of the products obtained. The use of chemical fungicides leads to a decrease in the number of beneficial microorganisms in natural biocenoses and a decrease in the biological activity of the soil. In this connection, much attention is paid to the development of biological preparations based on live cultures of microorganisms to combat plant diseases, which are considered as an alternative to the use of chemical pesticides. The object of the study was soil isolates of *Bacillus ginsengihumi* and *Pantoea brenneri* synthesizing phytases of different classes, beta-propeller phytase and histidine acid phytase with different properties and localization: bacilli secrete phytase into the medium, while in *P. brenneri* the enzyme remains in the cells. Soil microorganisms have the ability to interact with the root system of plants, optimize the mineral nutrition of plants, synthesize antimicrobial compounds and have a stimulating effect on the growth and development of crops. The aim of this work was a comprehensive study of enzymes and metabolites of rhizospheric bacteria *B. ginsengihumi* and *P. brenneri* in order to develop new effective biofertilizers. The genomes of both strains were sequenced (*B. ginsengihumi*, AN JRUN00000000.1. and *P. brenneri*, AN JMRT00000000.2), sequence annotation made it possible to detect genes for phytate-hydrolyzing enzymes, genes for metabolite biosynthesis (IAA, lipopeptides), and gene clusters encoding siderophore synthesis. . We conducted a comparative study of *P. brenneri* and *B. ginsengihumi* strains in relation to the synthesis of hydrolytic enzymes (phytase, protease, cellulase), cyanide release (HCN), synthesis of metabolites (IAA, NH<sub>3</sub>) and established the effect of cultivation conditions on their biosynthesis. The maximum level of IAA biosynthesis in the strains was found in the culture liquid at 24 h of bacterial growth at pH 7 and amounted to 28.9 µg/mL for *P. brenneri* and 35.5 µg/mL for *B. ginsengihumi* M2.11; among divalent metal ions, Cu<sup>2+</sup> ions inhibited the production of IAA in by an average of 35%, Ca<sup>2+</sup> ions had no inhibitory effect (100 µg/ml). Both strains have phytate-mobilizing activity. Effective genetic constructs were obtained on yeast expression vectors containing a codon-optimized *B. ginsengihumi* extracellular beta-propeller phytase gene under the control of the inducible yeast AOX1 promoter and a heterologous α-amylase signal peptide; expression in yeast by glycosylation, an increase in the pH range and thermal stability of the recombinant phytase was found. When assessing antagonistic activity against phytopathogenic micromycetes in the in vivo system, bacterial cultures were used, as well as purified phytases produced by strains, and fungicidal activity was established against pathogenic micromycetes of the genus *Fusarium*. The isolates showed a high inhibitory effect (from 63% to 87%) to representatives of the genus *Fusarium*. The growth of micromycetes is reduced by 71% on potato tubers when isolates are treated with culture liquid, and by 43-61% when treated with supernatant. Fungicidal compounds disodium surfactin and n(2-hydroxyhexadecyl)diethanolamic acid, respectively, were isolated and purified from the culture liquid of strains *B. ginsengihumi* and *P. brenneri*. The influence of isolates and purified recombinant phytases of *P. brenneri* and *B. ginsengihumi* on the biomass growth of wheat plants and seed germination energy was established. Treatment of potatoes with bacteria showed a productivity increase of 34%. When wheat seeds were treated with the culture liquid *P. brenneri* AS3, the length of the first leaf increased by 50%, and that of *B. ginsengihumi* M2.11 increased by 25%. Purified phytase increases plant productivity in terms of root growth by 85% and stem growth by 50%. Based on the results of these experiments, it was established that the phytate-hydrolyzing activity of the studied strains is an integral part of the protective mechanism for suppressing plant pathogens. This work was supported by grant from Russian Science Foundation [project no. 22-16-00138].

**Валидация кандидатных генов радиационного гормезиса (гомологов *CML39*, *AOS2*, *PM19L*)  
для дальнейшего генетического редактирования ячменя**

Казакова Е.А., Горбатова И.В., Пишенин И.А., Смирнова А.С., Миценук А.С., Волкова П.Ю.  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», г.Обнинск  
[elisabethafeb19@gmail.com](mailto:elisabethafeb19@gmail.com)

Расшифровка механизмов радиационной стимуляции роста сельскохозяйственных растений является перспективным подходом для создания на их основе сортов с повышенной продуктивностью и устойчивостью к различным стрессорам. Ранее при воздействии низкими дозами  $\gamma$ -излучения на семена *Hordeum vulgare* L. нами были выявлены несколько перспективных генов, гомологов генов *CML39*, *AOS2*, *PM19L* у *Arabidopsis thaliana*, экспрессия которых оказалась связана с увеличением биомассы и/или размеров проростков ячменя обыкновенного. Гомолог *CML39* участвует в передаче кальциевого сигнала, *AOS2* – в жасмонатном сигналинге и *PM19L* – в сигналинге абсцизовой кислоты. В рамках данной работы в вегетационном эксперименте на разных стадиях онтогенеза ячменя обыкновенного осуществлена валидация кандидатных генов радиационного гормезиса и оценена возможность разработки конструкций для дальнейшего генетического редактирования. Семена контрастных по морфологическому ответу на  $\gamma$ -излучение сортов ячменя облучали в дозе 20 Гр (мощность дозы 60 Гр/ч). Смену фенологических фаз растений оценивали на протяжении всего онтогенеза. На стадиях развития ячменя «проросток», «кущение», «трубкавание» и «колошение» методом ПЦР в реальном времени проведена оценка дифференциальной экспрессии кандидатных генов. Выявлено, что зафиксированные сдвиги в динамике фаз роста растений могут зависеть от модуляции экспрессии изучаемых генов. Для последующего генетического редактирования с целью получения более урожайных линий ячменя в качестве генов-кандидатов могут быть использованы все три исследованных гена. На настоящий момент разработаны CRISPR-Cas9 конструкции для редактирования гомологов генов *CML39*, *AOS2*, *PM19L* ячменя обыкновенного. При финансовой поддержке Гранта ФНТП развития генетических технологий на 2019 – 2027 годы Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2021-1068).

**Validation of candidate radiation hormesis genes (*CML39*, *AOS2*, *PM19L* homologues)  
for further genetic editing of barley**

Kazakova E.A., Gorbatova I.V., Pishenin I.A., Smirnova A.S., Mitsenyk A.S., Volkova P.Yu.  
Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk  
[elisabethafeb19@gmail.com](mailto:elisabethafeb19@gmail.com)

The understanding of the mechanisms of growth stimulation of agricultural plants after  $\gamma$ -irradiation of seeds is the promising approach for creating new cultivars with increased productivity and resistance to various stressors. Earlier we identified in barley plants after low-dose irradiation of seeds several promising genes, homologous to *Arabidopsis thaliana* genes *CML39*, *AOS2*, *PM19L*. Their expression was associated with a biomass increase and/or size of barley seedlings. The *CML39* homologue is involved in calcium signalling, *AOS2* – in jasmonate signalling, and *PM19L* – in abscisic acid signalling. In this study, we conducted the greenhouse experiment and validated those candidate genes at different stages of ontogeny, also assessing the possibility of developing constructs for further gene editing.  $\gamma$ -irradiation of seeds of barley cultivars with the contrasting morphological response to radiation was carried out at the dose of 20 Gy (dose rate 60 Gy/h). Changes in the phenological phases of plants were assessed throughout ontogeny. Differential expression of candidate genes was assessed by RT-qPCR at the stages “seedling growth”, “tillering”, “booting”, and “inflorescence (ear)panicle emergence”. We found that the shifts in the dynamics of plant growth phases may depend on the modulation of the expression of the studied genes. For subsequent genetic editing in order to obtain more productive barley lines, all three studied genes can be used as candidate genes. At this time, CRISPR-Cas9 constructs for homologues of the genes *CML39*, *AOS2*, *PM19L* in barley have been developed. Supported by Grant of Federal Scientific and Technical Programme for the Development of Genetic Technologies for 2019-2027 (No. 075-15-2021-1068).

**Особенности культивирования микробных ассоциаций–биодеструкторов растительных остатков**

Каменева И.А., Гритчин М.В., Якубовская А.И., Смирнова И.И., Славинская А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» г. Симферополь  
[irina.kameneva.7@mail.ru](mailto:irina.kameneva.7@mail.ru)

Использование растительных остатков в качестве биомелиоранта является эффективным, экономически выгодным и экологически безопасным способом, направленным на восстановление запасов органического вещества и улучшение биологических свойств почвы. Актуальной проблемой остается разработка комплексного биопрепарата для эффективного управления микробиологическими процессами разложения растительных остатков зерновых культур. Современные технологии микробных препаратов базируются на использовании естественных и лабораторных ассоциаций микроорганизмов, которые могут относиться к разным родам и видам, что требует особого подхода к формированию питательного субстрата, удовлетворяющего пищевые потребности микробиома. Важным технологическим вопросом при создании комплексного микробного препарата для деструкции растительных остатков остается вопросы поддержания ассоциации микроорганизмов *in vitro* с сохранением всех биоконпонент, оптимизации условий их культивирования, хранения и стабилизации. Цель исследований – изучить особенности культивирования естественной целлюлозолитической ассоциации. Глубинное периодическое культивирование исследуемых микроорганизмов осуществляли в колбах Эрленмейера при 27 °С на качалке (УВМТ-12-25) при скорости вращения 180 об./мин. Ассоциации культивировали в питательной среде Гетчинсона и Клейтона для аэробных целлюлозолитических микроорганизмов, в которую в качестве источника энергии вносили разные целлюлозосодержащие компоненты (солома, солома, отруби, КМЦ и др.). Также исследовали период условно активного (на качалке в течение 3-5 суток) и стационарного культивирования (от 3-5 до 10-14 дней) на развитие целлюлозолитической ассоциации. Эффективность исследуемых параметров определяли по численности и активности целлюлозолитических микроорганизмов в динамике классическими методами. Таким образом, подобран целлюлозосодержащий компонент среды, обеспечивающий увеличение численности целлюлозолитиков в 2 раза. Показано, что в течение трех суток увеличивается численность бактерий, в последующий период культивирования – микромицеты, что, на наш взгляд, связано с биодegradацией целлюлозы.

**Peculiarities of Cultivation of Microbial Associations-Biodestructors of Plant Residues**

Kameneva I.A., Gritchyn M.V., Yakubovskaya A.I., Smirnova I.I., Slavinskaya A.V.

Federal State Budgetary Institution of Science "Research Institute of Agriculture of Crimea", Simferopol  
[irina.kameneva.7@mail.ru](mailto:irina.kameneva.7@mail.ru)

The use of plant residues as a bioameliorent is an effective, cost-effective and environmentally friendly way to restore organic matter and improve the biological properties of the soil. The development of a complex biological product for the effective management of microbiological processes of decomposition of plant residues of grain crops remains an urgent problem. Modern technologists of microbial preparations are based on the use of natural and laboratory associations of microorganisms that can belong to different genera and species, which requires a special approach to the formation of a nutrient substrate that satisfies the nutritional needs of the microbiome. An important technological issue in the creation of a complex microbial preparation for the destruction of plant residues remains the issues of maintaining the association of microorganisms *in vitro* with the preservation of all biocomponents, optimizing the conditions for their cultivation, storage and stabilization. The purpose of the research is to study the features of the cultivation of the natural cellulolytic association. Deep periodic cultivation of the studied microorganisms was carried out in Erlenmeyer flasks at 27°C on a shaker (UVMT-12-25) at a rotation speed of 180 rpm. The associations were cultivated in the nutrient medium of Hutchinsonson and Clayton for aerobic cellulolytic microorganisms, into which various cellulose-containing components (straw, chaff, bran, CMC, etc.) were introduced as an energy source. We also studied the period of conditionally active (on a rocking chair for 3-5 days) and stationary cultivation (from 3-5 to 10-14 days) for the development of the cellulolytic association. The effectiveness of the studied parameters was determined by the number and activity of cellulolytic microorganisms in dynamics by classical methods. Thus, a cellulose-containing medium component was selected that provides a 2-fold increase in the number of cellulolytics. It was shown that within three days the number of bacteria increases, during the subsequent period of cultivation - micromycetes, which, in our opinion, is associated with the biodegradation of cellulose.



**Особенности макромолекулярного состава бактериальных биопленок в свете использования метода инфракрасной фурье-спектроскопии**

Камнев А.А., Тугарова А.В.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов –  
обособленное структурное подразделение ФГБУН ФИЦ СНЦ РАН, г. Саратов  
a.a.kamnev@mail.ru; aakamnev@ibppm.ru

Как известно, в природе биопленки представляют собой одну из основных физиологических форм существования бактерий. Для фитостимулирующих бактерий, колонизирующих ризосферу, образование биопленок на поверхности тканей корня – один из важных этапов колонизации. Процессы образования растительно-микробных ассоциаций активнейшим образом исследуются с использованием самых современных методов и подходов, что объясняется исключительной важностью данной области с точки зрения понимания функционирования агробиотехнологических систем типа почва–растение–микробиота.

Для изучения микробиологических объектов (микробных клеток, компонентов биомассы, продуктов метаболизма, биомакромолекул и др.) огромным преимуществом ряда методов молекулярной спектроскопии – в частности, методов колебательной спектроскопии (с возбуждением колебательных уровней функциональных групп молекул, находящихся в области частот среднего инфракрасного (ИК) диапазона) – является их неразрушающий характер, а также высокая чувствительность к различным межмолекулярным взаимодействиям, которые играют важнейшую роль в функциональности (поведении и функциях *in vivo*) биомакромолекул в клетках микроорганизмов. При этом проводимый анализ может быть как качественным, так и количественным (во многих случаях одновременно) и осуществляться *in situ* (в ряде случаев *in vivo*, например, для высушенных клеток бактерий, остающихся живыми, или их биопленок).

Цель настоящего доклада – продемонстрировать возможности метода ИК-фурье-спектроскопии для исследования откликов на внешние воздействия у фитостимулирующих ризобактерий (на примере одних из наиболее широко исследуемых бактерий рода *Azospirillum*). Метод эффективен при исследовании особенностей макромолекулярного состава клеток в различных физиологических состояниях, внутриклеточного накопления гранул резервных соединений класса сложных полиэфиров – полигидроксикалканоев, представленных у азоспирилл поли-3-гидроксибутиратом (ПГБ), а также при сравнительном изучении биопленок и планктонных культур, в том числе для быстрого скрининга с целью выявления штаммов с необходимыми свойствами (включая генетически модифицированные штаммы).

Работа поддержана Российским научным фондом (грант 22-26-00142).

**Featuring the macromolecular composition of bacterial biofilms by using Fourier transform infrared spectroscopy**

Kamnev A.A., Tugarova A.V.

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms – Subdivision of the Federal State Budgetary  
Research Institution Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia  
a.a.kamnev@mail.ru; aakamnev@ibppm.ru

In nature, biofilms are known to be one of the main physiological forms of bacteria. For phytostimulating bacteria colonising the rhizosphere, the formation of biofilms on the surface of root tissues is one of the important stages of colonisation. The processes of formation of plant–microbe associations are being actively studied using the most modern techniques and approaches. This is explained by the exceptional importance of this area for understanding the functioning of agro-biotechnological systems of the type soil–plant–microbiota.

For the study of microbiological objects (microbial cells, biomass components, metabolic products, biomacromolecules, etc.), a substantial advantage of some molecular spectroscopy techniques – in particular, vibrational spectroscopy (based on the excitation of vibrational levels of functional groups in molecules located in the mid-infrared (IR) frequency range) – is their non-destructive nature, as well as high sensitivity to various intermolecular interactions which play an important role in the functionality (behaviour and functions *in vivo*) of biomacromolecules in microbial cells. In this case, the analysis can be performed both qualitatively and quantitatively (in many cases simultaneously) and *in situ* (in some cases *in vivo*, for example, for dried bacterial cells that remain alive, or for their biofilms).

This talk is aimed to demonstrate the possibilities of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for studying responses to external factors in phytostimulating rhizobacteria (by the example of the widely studied bacteria of the genus *Azospirillum*). The technique is effective in studying the features of the macromolecular composition of cells in various physiological states, intracellular accumulation of granules of reserve compounds of the class of polyesters (polyhydroxyalkanoates, represented in azospirilla by poly-3-hydroxybutyrate (PHB)), as well as in the comparative study of biofilms and planktonic cultures, including rapid screening to identify strains with desired properties (also for genetically modified strains).

This work has been supported by The Russian Science Foundation (Grant # 22-26-00142).

**Определение канамицина с помощью микробного датчика на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем**

<sup>1</sup>Караваяева О.А., <sup>2</sup>Зайцев Б.Д., <sup>2</sup>Бородина И.А., <sup>2</sup>Семёнов А.П.,  
<sup>3</sup>Алсовэйдиди А.К.М., <sup>1</sup>Гулий О.И.

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов,  
ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), Саратов, 410049, Россия

<sup>2</sup>Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова РАН,  
Саратовский филиал, Саратов, 410019, Россия

<sup>3</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет  
им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, 410012, Россия  
helga1121@yandex.ru

Антибактериальные препараты являются одной из наиболее широко используемых групп лекарственных средств на фармацевтическом рынке. Одним из антибиотиков, который применяется не только для лечения, но и в качестве стимулятора роста животных и в кормовых добавках для профилактики заболеваний, является канамицин. Неконтролируемое применение канамицина приводит не только к повышению устойчивости бактерий к нему, но и вызывает накопление остатков канамицина в воде и продуктах животного происхождения, что, в конечном итоге, угрожает здоровью человека. Поэтому анализ промышленной и питьевой воды на наличие канамицина представляет особый интерес из-за возможности попадания потенциальных загрязнителей в круговорот воды. Описано достаточно много методов для определения концентраций канамицина, среди которых микробиологические, высокоэффективная жидкостная хроматография, флуориметрические, хемиллюминесцентные, различные варианты хроматографических методов, иммуноферментный анализ, поверхностный плазмонный резонанс, электрофорез, колориметрический метод. Немаловажными для анализа аминогликозидов являются биосенсорные технологии. В работе показана возможность определения канамицина с помощью микробного датчика на основе пьезоэлектрического резонатора с поперечным электрическим полем. В качестве сенсорного элемента датчика использовали микробные клетки, проявляющие чувствительность к канамицину. Время регистрации аналитического сигнала составило ~ 7-10 мин. В качестве аналитического сигнала использовали изменения реальной и мнимой частей электрического импеданса датчика (на частоте 6.5 МГц) до и после воздействия разными концентрациями антибиотика. Разработанная сенсорная система позволяет проводить анализ канамицина в водных растворах в режиме реального времени *in situ*, при этом нижний предел детекции составляет 1.0 мкг/мл. Показана селективность тест-системы с возможностью ее многократного использования для обнаружения канамицина в водных растворах.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 22-29-00587.

**Kanamycin detection by microbial sensor based on a piezoelectric resonator with a transverse electric field**

<sup>1</sup>Karavaeva O.A., <sup>2</sup>Zaitsev B.D., <sup>2</sup>Borodina I.A., <sup>2</sup>Semyonov A.P., <sup>3</sup>Alsowaidi A.K.M., <sup>1</sup>Guliy O.I.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,  
Russian Academy of Sciences, Saratov, 410049, Russia

<sup>2</sup>Kotelnikov Institute of Radio Engineering and Electronics,

Russian Academy of Sciences, Saratov branch, Saratov, 410019, Russia

<sup>3</sup>Chernyshevsky National Research State University, 410012, Saratov, Russia  
helga1121@yandex.ru

Antibacterial drugs are one of the most widely used drug groups in the pharmaceutical market. One of the antibiotics that is used not only for treatment, but also as an animal growth stimulator and in feed additives for the prevention of diseases is kanamycin. Uncontrolled use of kanamycin not only leads to an increase in bacterial resistance to it, but also causes the accumulation of kanamycin residues in water and animal products, which ultimately threatens human health. Therefore, the analysis of industrial and drinking water for the presence of kanamycin is of particular interest due to the possibility of potential contaminants entering the water cycle. Many methods have been described for determining kanamycin concentrations, including microbiological, high performance liquid chromatography, fluorimetric, chemiluminescent, various chromatographic methods, enzyme immunoassay, surface plasmon resonance, electrophoresis, colorimetric method. Biosensor technologies are important for the analysis of aminoglycosides. The paper shows the possibility of determining kanamycin using a microbial sensor based on a piezoelectric resonator with a transverse electric field. Microbial cells exhibiting sensitivity to kanamycin were used as the sensor element of the sensor. The time of analytical signal registration was ~ 7–10 min. Changes in the real and imaginary parts of the electrical impedance of the sensor (at a frequency of 6.5 MHz) before and after exposure to various antibiotic concentrations was used as an analytical signal. The developed sensor system makes it possible to analyze kanamycin in aqueous solutions in real time *in situ*, while the lower detection limit is 1.0 µg/mL. The selectivity of the test system with the possibility of its multiple uses for kanamycin detection in aqueous solutions is shown.

This work was supported by the Russian Science Foundation, project no. 22-29-00587.

**Роль ризобактерий в формировании устойчивости микроклонов картофеля к условиям *ex vitro***<sup>1</sup>Каргаполова К.Ю., <sup>1</sup>Ткаченко О.В., <sup>2</sup>Евсеева Н.В., <sup>1</sup>Денисова А.Ю., <sup>1</sup>Куликов А.А., <sup>1,2</sup>Бурьгин Г.Л.<sup>1</sup>Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, г. Саратов<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ СХЦ РАН, г. Саратов  
[kinaschchri@gmail.com](mailto:kinaschchri@gmail.com)

В семеноводстве картофеля метод клонального микроразмножения *in vitro* позволяет получать оздоровленные микроклоны, но особенности условий культивирования снижают адаптационный потенциал микрорастений, в том числе при высадке в гидро- и аэропонные установки для получения мини-клубней. Показано, что некоторые штаммы ризосферных рост-стимулирующих бактерий способствуют повышению темпов роста и адаптационного потенциала микроклонов.

Микрорастения картофеля сортов Невский и Кондор из коллекции микроклонов картофеля *in vitro* ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ инокулировали консорциумом штаммов ризосферных бактерий *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Бактерии добавляли в среду Мурасиге-Скуга к культивируемым растениям в концентрации 10<sup>6</sup> кл/мл. 30-суточные растения высаживали в аэропонную установку.

В процессе адаптации микрорастений к условиям *ex vitro* в аэропонной установке оценивали морфометрические параметры растений, количество и размер устьиц, содержание фотосинтетических пигментов, малонового диальдегида (МДА), активность антиоксидантных ферментов пероксидазы и каталазы в листьях.

Результаты экспериментов показали, что бактеризация микрорастений в культуре *in vitro* приводила к усилению роста побегов в среднем на 25% и площади листьев – на 20%. Количество устьиц существенно не изменялось, но размер замыкающих клеток значительно уменьшался.

Содержание фотосинтетических пигментов у опытных растений по сравнению с контролем уменьшалось. Бактеризация приводила к повышению активности каталазы и пероксидазы в листьях на 1 и 7 сутки адаптации в условиях аэропонной установки в 1,5–2 раза по сравнению с контрольными растениями. Содержание МДА в листьях бактеризованных растений на 1 и 7 сутки культивирования было ниже, чем у контрольных вариантов, что свидетельствует о снижении уровня окислительного стресса у растений. На 14-21 сутки биохимические показатели контрольных и опытных растений выровнялись.

Несмотря на некоторые сортовые различия, в целом бактеризация микрорастений картофеля способствовала снижению уровня стресса и повышению темпов роста на этапе перехода от культивирования *in vitro* к выращиванию *ex vitro* в условиях аэропоники. Полученные данные могут быть использованы для повышения эффективности семеноводства картофеля в защищенных условиях.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00087, <https://rscf.ru/project/22-26-00087/>

**The role of rhizobacteria in the formation of resistance of potato microclones to *ex vitro* conditions**<sup>1</sup>Kargapolova K.Yu., <sup>1</sup>Tkachenko O.V., <sup>2</sup>Evseeva N.V., <sup>1</sup>Denisova A.Yu., <sup>1</sup>Kulikov A.A., <sup>1,2</sup>Burygin G.L.<sup>1</sup>Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, FRC Saratov Scientific Centre of RAS, Saratov  
[kinaschchri@gmail.com](mailto:kinaschchri@gmail.com)

In potato seed production, the method of *in vitro* micropropagation makes it possible to obtain healthy microclones, but the *in vitro* conditions reduced the adaptive potential of micro-plants. It has been shown that some strains of plant growth-promotion rhizobacteria contribute to an increase in the growth rate and adaptive potential of microclones.

Potato microplants of cultivars Nevsky and Condor were inoculated by a consortium of strains of rhizobacteria *Azospirillum baldaniorum* Sp245 and *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 from the collection of rhizospheric microorganisms of the IBPPM RAS. Bacteria were added to the MS medium to cultivated plants at a concentration of 10<sup>6</sup> cell/ml. 30-day-old plants were planted in an aeroponic system.

During the adaptation of micro-plants to *ex vitro* conditions in an aeroponic, morphometric parameters of plants, the number and size of stomata, the content of photosynthetic pigments, malondialdehyde (MDA), the activity of antioxidant enzymes peroxidase and catalase in leaves were evaluated.

The results of the experiments showed that the bacterization of micro-plants in the *in vitro* culture led to an increase in the growth of shoots by an average of 25% and the leaf area by 20%. The number of stomata did not change significantly, but the size of the closing cells decreased significantly.

The content of photosynthetic pigments in experimental plants decreased in comparison with the control. Bacterization led to an increase in the activity of catalase and peroxidase in the leaves on the 1st and 7th days of adaptation in the conditions of an aeroponic by 1.5–2 times compared with control plants. The content of MDA in the leaves of bacterized plants on the 1st and 7th days of cultivation was lower than in the control variants, which indicates a decrease in the level of oxidative stress in plants. On days 14-21th, the biochemical parameters of the control and experimental plants were leveled.

Despite some varietal differences, in general, the bacterization of potato micro-plants contributed to reducing stress levels and increasing growth rates at the stage of transition from *in vitro* cultivation to *ex vitro* cultivation in aeroponics. The data obtained can be used to improve the efficiency of potato seed production in protected conditions.

The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation № 22-26-00087, <https://rscf.ru/en/project/22-26-00087>

**Arctic rhizobia and their potential role in the formation of pasture phytocenoses in the Far North of Russia**<sup>1</sup>Karlov D.S., <sup>1</sup>Guro P.V., <sup>1</sup>Sazanova A.L., <sup>2</sup>Alekhina I.A., <sup>3</sup>Laschinsky N.N., <sup>1</sup>Belimov A.A., <sup>1</sup>Safronova V.I.<sup>1</sup>All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg<sup>2</sup>Arctic and Antarctic Research Institute, St Petersburg<sup>3</sup>Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk

deniskarlov23@gmail.com

Global climate change is accompanied by a radical restructuring of the entire Arctic ecosystem, which may contribute to the formation of grazing phytocenoses in the northern regions of Russia, a significant part of which are leguminous plants. In order to find and collect seeds and nodules of Arctic wild legumes, an expedition was conducted to remote areas of the Lena River delta and the vicinity of Tiksi settlement (Northern Yakutia). During the expedition, populations of various species of leguminous plants belonging to the genera *Astragalus*, *Oxytropis*, *Hedysarum*, *Vicia* and *Lathyrus* were found. The presence of *L. palustris* L. species on Samoilovsky Island, located in the Lena delta, was described for the first time. Eight plant species (*L. palustris*, *V. cracca*, *A. tugarinovii*, *A. frigidus*, *A. norvegicus*, *O. nigrescens*, *O. sordida* and *O. taimyrensis*) and 60 nodules were selected to obtain isolates from which 95 bacterial strains were isolated. The taxonomic position of 59 isolates was studied by 16S rRNA gene sequencing. Among them, 36 strains were assigned to 5 genera of nodule bacteria of the order Rhizobiales: *Bosea* (17 strains), *Rhizobium* (10 strains), *Tardiphaga* (5 strains), *Mesorhizobium* (3 strains) and *Phyllobacterium* (1 strain). Most *Rhizobium* and *Mesorhizobium* isolates were isolated from *L. palustris* and *V. cracca* populations, while *Bosea* and *Tardiphaga* predominated in nodules of other legume species. It is interesting that in *A. tugarinovii* and *O. taimyrensis* species growing in the area of Lake Sevastyan-Kuele (vicinity of Tiksi settlement), the presence of isolates of *Tardiphaga* genus and absence of *Bosea* representatives was noted, which may be related both to the host plant specificity to microsymbiont and, possibly, to specific soil and climatic conditions in this region, affecting the spectrum of soil microbiome. Strains from the genera *Tardiphaga* and *Bosea* are often isolated from nodules of legumes, but their ability to nodulation has not been described. The ability of some strains of *Rhizobium* sp isolated from *L. palustris* and *V. cracca* nodules to form an effective nitrogen-fixing symbiosis with agricultural forage legumes *V. sativa* and *V. cracca* was shown from sterile test-tube experiments. Thus, as a result of the work, the spectrum of microsymbionts of a number of legumes growing in the Lena River delta and the vicinity of Tiksi settlement was determined, and their ability to form effective nodules on the host plant was studied. The creation and long-term maintenance of a collection of cold-resistant rhizobial strains will allow the conservation of valuable genetic resources for their subsequent use in agriculture, including the formation of highly productive pasture agrophytocenoses in the Far North. This work was supported by Grant No. 20-76-10042 of the Russian Science Foundation.

**Колонизация корней *Triticum aestivum* L. молочнокислыми бактериями и сахаромикетами**

Карпенко А.Е., Ржевская В.С., Теплицкая Л.М., Омельченко А.В.

ФГАОУ ВО Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского, г. Симферополь

[alina09kazakova@gmail.com](mailto:alina09kazakova@gmail.com)

Важным показателем для использования микроорганизмов в микробных препаратах является их возможность колонизировать поверхность корней (создавать биопленку), тем самым усиливая возможности защиты растений от фитопатогенов.

Целью исследований является сравнение способности молочнокислых бактерий и дрожжей колонизировать поверхность корней растений пшеницы.

Способность молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* IMB B-7344, *L. casei* IMB B-7343, а также дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* IMB Y-5046 колонизировать поверхность корней оценивали по образованию микроколоний бактерий на поверхности корня на 3–14 сутки выращивания проростков в культуре *in vitro*. Объектом исследования служили растения пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сортов Смуглянка и Подольянка.

При выращивании растений пшеницы в стерильном голодном агаре (контроль) рост колоний вокруг корня не наблюдался. В опытных вариантах, при внесении в питательную среду каждого штамма, на 3 сутки культивирования вокруг зоны всасывания корней пшеницы образовывалось облако колоний диаметром 1-2 мм. На 14 день культивирования, облака колоний каждого штамма выглядели по-разному: *S. cerevisiae* по всей длине корня образовывал облако крупных колоний диаметром 1-2 мм; штамм *L. casei* образовал облако мелких колоний во всех зонах корня диаметром 1-2мм, за исключением корневого чехлика; облако мелких колоний образованных штаммом *L. plantarum* наблюдалось по всей поверхности корня пшеницы и имело размеры 2-3 мм, в зоне корневых волосков его диаметр увеличивался до 4-5 мм. По сравнению с третьими сутками культивирования увеличилось количество колоний и их размеры, т.е. плотность облака колоний микроорганизмов возросла и корневые волоски плохо просматривались. При микроскопировании давленных препаратов корней пшеницы обнаружены бактериальные клетки. Отличий в колонизации корней пшеницы сортов Смуглянка и Подольянка, не обнаружено.

В результате проведенных нами исследований показано, что исследуемые штаммы молочнокислых бактерий и дрожжей характеризуются выраженной способностью колонизировать поверхность корней растений. Корневые выделения растений являются для инокулированных бактерий основным источником углерода и энергии. Можно предположить, что штаммовые отличия в трофических способностях потреблять те или другие компоненты корневого экссудата, являются причиной их неравномерного распределения по поверхности корней.

**Colonization of the roots of *Triticum aestivum* L. by lactic acid bacteria and saccharomycetes**

Карпенко А.Е., Rzhevskaya V.S., Teplitskaya L.M., Omelchenko A.V.

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol

[alina09kazakova@gmail.com](mailto:alina09kazakova@gmail.com)

An important indicator for the use of microorganisms in microbial preparations is their ability to colonize the surface of the roots (to create a biofilm), thus enhancing the ability to protect plants from phytopathogens.

The aim of the research is to compare the ability of lactic acid bacteria and yeast to colonize the surface of the roots of wheat plants.

The ability of lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* IMB B-7344, *L. casei* IMB B-7343, as well as yeast *Saccharomyces cerevisiae* IMB Y-5046 to colonize the root surface was assessed by the formation of microcolonies of bacteria on the root surface on the 3rd-14th day of growing sprouts *in vitro* culture. The object of the study was wheat plants (*Triticum aestivum* L.) of the Smuglyanka and Podolyanka varieties.

When growing wheat plants in sterile starvation agar (control), the growth of colonies around the root was not observed. In experimental versions, when each strain was introduced into the nutrient medium, a cloud of colonies with a diameter of 1-2 mm was formed around the suction zone of wheat roots on the 3rd day of cultivation. On the 14th day of cultivation, the clouds of colonies of each strain looked different: *S. cerevisiae* formed a cloud of large colonies with a diameter of 1-2 mm along the entire length of the root; the *L. casei* strain formed a cloud of small colonies in all zones of the root with a diameter of 1-2 mm, except for the collar; a cloud of small colonies formed by the *L. plantarum* strain was observed over the entire surface wheat root and had a size of 2-3 mm, in the area of root hairs, its diameter increased to 4-5 mm. Compared with the third day of cultivation, the number of colonies and their sizes increased, i.e. the density of the cloud of colonies of microorganisms increased and the root hairs were poorly visible. Bacterial cells were detected during microscopy of pressed preparations of wheat roots. No differences were found in the colonization of wheat roots of the Smuglyanka and Podolyanka varieties.

As a result of our research, it has been shown that the studied strains of lactic acid bacteria and yeast are characterized by a pronounced ability to colonize the surface of plant roots. The root excretions of plants are the main source of carbon and energy for inoculated bacteria. It can be assumed that strain differences in trophic abilities to consume certain components of root exudate are the reason for their uneven distribution over the surface of the roots.

**Дивергенция коровых и симбиотических компонентов генома *Rhizobium leguminosarum*: использование симбионтов реликтового бобового *Vavilovia formosa* для анализа микроэволюции и видообразования.**

<sup>1,2</sup>Кимеклис А.К., <sup>1</sup>Сафронова В.И., <sup>1</sup>Сазанова А.Л., <sup>1</sup>Белимов А.А., <sup>1</sup>Аксенова Т.С., <sup>1</sup>Пинаев А.Г.,  
<sup>1,2,3</sup>Андронов Е.Е., <sup>1</sup>Проворов Н.А.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург.

<sup>3</sup>Почвенный институт им. В.В. Докучаева, г. Москва.

kimeklis@gmail.com

Ризобии - бактериальные азотфиксирующие симбионты бобовых растений - являются удобной моделью для изучения микроэволюции и видообразования, поскольку факторами отбора для них может служить адаптация как к внешней среде, так и к взаимодействию с растениями-хозяевами. У вида *Rhizobium leguminosarum* геном разделен на коровую, расположенную преимущественно на хромосоме, и аксессуарную (в том числе симбиотическую), расположенную преимущественно на плаزمиде, части. В нашей работе мы исследуем феномен дивергенции этих компонентов генома на примере симбионтов трех популяций реликтового бобового *Vavilovia formosa*, эндемика Кавказа, предположительно являющегося близким родственником общего предка трибы Fabae. Анализ генов домашнего хозяйства (16S rRNA, *dnaK*, *glnA*, и *gsII*) показал, что эти ризобии относятся к виду *R. leguminosarum*, причем по симбиотическим генам (*nodA*, *nodC*, *nodD* и *nifH*) они образуют компактную группу в пределах биовара *Rlv*. Применение метода Group Separation в Bionumerics для групп симбионтов вавиловии, гороха и клевера, показало, что различия между тремя группами по симбиотическим генам гораздо более выражены, чем различия по коровым генам. В то же время, внутрigrупповое варьирование гораздо более выражено по коровым генам. Важной особенностью всех симбионтов вавиловии являлось обязательное присутствие гена *nodX*, участвующего в синтезе специфического для некоторых групп бактерий под-фактора. Микровегетационный опыт показал, что симбионты вавиловии образуют клубеньки с разными растениями из трибы Fabae, однако активно фиксирующие азот клубеньки образуются чаще всего только на вавиловии. Наши данные свидетельствуют о том, что симбионты вавиловии принадлежат к биовару *Rlv*, однако сохраняют уникальные черты популяции, которые могли быть вызваны как географической изоляцией, так и влиянием растения-хозяина. Можно высказать предположение, что у ризобий вида *R. leguminosarum* изменения симбиотических и коровых компонентов генома, которые мы рассматриваем как проявления микроэволюции и видообразования, происходят независимо: первые изменяются под влиянием растения-хозяина, а вторые – под влиянием пока не идентифицированных, вероятно, эдафических факторов среды.

Данная работа была выполнена при поддержке грантом РФФИ 19-16-00081.

**Divergence of core and symbiotic components of the genome of *Rhizobium leguminosarum*: the use of symbionts of the relict legume *Vavilovia formosa* for the analysis of microevolution and speciation**

<sup>1,2</sup>Kimeklis A.K., <sup>1</sup>Safronova V.I., <sup>1</sup>Sazanova A.L., <sup>1</sup>Belimov A.A., <sup>1</sup>Aksenova T.S., <sup>1</sup>Pinaev A.G.,  
<sup>1,2,3</sup>Andronov E.E., <sup>1</sup>Provorov N.A.

<sup>1</sup>All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg.

<sup>2</sup>St. Petersburg State University, St. Petersburg.

<sup>3</sup>V.V. Dokuchaev Soil Science Institute, Moscow.

kimeklis@gmail.com

Rhizobia, bacterial nitrogen-fixing symbionts of leguminous plants, are a suitable model for studying microevolution and speciation, since adaptation to both the environment and interaction with host plants can serve as selection factors for them. In *Rhizobium leguminosarum*, the genome is divided into a core, located mainly on the chromosome, and accessory (including symbiotic), located mainly on plasmids, parts. In our work, we study the phenomenon of divergence of these genome components using the example of symbionts of three populations of the relict legume *Vavilovia formosa*, endemic to the Caucasus, which is presumably a close relative of the common ancestor of the tribe Fabae. The analysis of the housekeeping genes (16S rRNA, *dnaK*, *glnA*, and *gsII*) showed that these rhizobia belong to the *R. leguminosarum* species, and according to the symbiotic genes (*nodA*, *nodC*, *nodD*, and *nifH*) they form a compact group within the biovar *Rlv*. The use of the Group Separation method in the Bionumerics for the groups of symbionts of *V. formosa*, peas, and clover showed that the differences between the three groups in symbiotic genes are much more pronounced than the differences in core genes. At the same time, intragroup variation is much more pronounced in core genes. Another feature of all symbionts of *V. formosa* was the obligatory presence of the *nodX* gene involved in the synthesis of the specific nod factor. The tube test showed that the symbionts of *V. formosa* form nodules with different plants from the tribe Fabae, however, nodules that actively fix nitrogen are most often formed only on *V. formosa*. Our data indicate that symbionts of *V. formosa* belong to the *Rlv* biovar but retain unique population features that could be caused by both geographic isolation and the influence of the host plant. It can be assumed that in *R. leguminosarum*, changes in the symbiotic and core components of the genome, which we consider as manifestations of microevolution and speciation, occur independently: the former change under the influence of the host plant, and the latter, under the influence of yet unidentified, probably edaphic environmental factors. This work was supported by the RSF grant 19-16-00081.

**Симбиотические клубеньки гороха посевного (*Pisum sativum* L.), индуцированные испанскими штаммами *Rhizobium laguerreae*: гистология и ультраструктура**

<sup>1</sup>Киричек Е.А., <sup>1</sup>Горшков А.П., <sup>1</sup>Цыганова А.В., <sup>1</sup>Цыганов В.Е.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.  
jenykir@rambler.ru

Штаммы *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* являются типичными симбионтами гороха посевного. Недавно в Северо-Западной Испании из клубеньков гороха были выделены штаммы *R. laguerreae* sv. *viciae*, формирующие эффективные клубеньки на сорте Rondo.

Цель исследования – оценить эффективность клубенькообразования различных генотипов гороха при инокуляции испанскими штаммами *R. laguerreae*. В ходе работы растения линии SGE, а также сортов Frisson и Rondo были инокулированы штаммами AMPS04, AMPS05, AMPS17, AMPS22, AMPS23 и AMPS34. В качестве контроля растения были инокулированы штаммом *R. leguminosarum* bv. *viciae* 3841. Растения выращивали в климатических камерах при температуре 21 °С в стерильных вегетационных микробоксах для предотвращения кросс-контаминации образцов. Визуализация гистологической структуры клубеньков проводилась с использованием лазерной сканирующей конфокальной микроскопии. Ультраструктурную организацию клубеньков исследовали с помощью методов трансмиссионной электронной микроскопии.

Крупные розовые клубеньки формировались только штаммами 3841 и AMPS05 на всех исследуемых генотипах гороха. Штаммы AMPS17 и AMPS34 формировали клубеньки, подобные клубенькам дикого типа, но только на растениях сорта Rondo. Клубеньки, сформированные штаммом AMPS04 на всех трех изученных генотипах гороха, характеризовались присутствием крупных инфекционных капель, из которых бактерии не высвобождались в цитоплазму клеток хозяина. Штамм AMPS22 также характеризовался нарушением протекания процесса инфекции, однако в клубеньках растений сорта Rondo отмечалось присутствие удлинённых вытянутых клеток, заполненных бактериоидами. При инокуляции штаммом AMPS23 отмечалось формирование мелких белых или бледно-розовых клубеньков с характерными признаками нарушения процесса инфекции.

Таким образом, была выявлена генотипическая специфичность формирования клубеньков штаммами *R. laguerreae* sv. *viciae*.

Было предположено, что изученные штаммы *R. laguerreae* в отличие от штамма *R. leguminosarum* bv. *viciae* 3841 требуют повышенной температуры для формирования эффективных клубеньков. В настоящее время проводится проверка данного предположения.

**Symbiotic nodules of pea (*Pisum sativum* L.) induced by *Rhizobium laguerreae* strains from Spain: histology and ultrastructure**

<sup>1</sup>Kirichek E.A., <sup>1</sup>Gorshkov A.P., <sup>1</sup>Tsyganova A.V., <sup>1</sup>Tsyganov V.E.

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg.  
jenykir@rambler.ru

Strains of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* are typical symbionts for peas. Recently, *R. laguerreae* sv. *viciae* strains were isolated from pea nodules in northwestern Spain, which form effective nodules on cv. "Rondo".

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of nodule formation of various pea genotypes during inoculation with Spanish strains of *R. laguerreae*. During the work, plants of the SGE line, as well as varieties Frisson and Rondo were inoculated with strains AMPS04, AMPS05, AMPS17, AMPS22, AMPS23 and AMPS34. As a control, plants were inoculated with *R. leguminosarum* bv. *viciae* 3841. The plants were grown in growth chambers at 21 °C in sterile vegetation microboxes to prevent cross-contamination of the samples. The histological structure of nodules was visualized using laser scanning confocal microscopy. The ultrastructural organization of nodules was studied using transmission electron microscopy.

Large pink nodules were formed only by strains 3841 and AMPS05 on all studied pea genotypes. The AMPS17 and AMPS34 strains formed nodules similar to those of the wild type, but only on plants of cv. "Rondo". Nodules formed by the AMPS04 strain on all three studied pea genotypes were characterized by the presence of large infection droplets from which bacteria were not released into the cytoplasm of host cells. The AMPS22 strain was also characterized by a disruption of the infection process, however, in the nodules of cv. "Rondo" the presence of elongated cells filled with bacteroids was noted. The AMPS23 strain formed small white or pale pink nodules with characteristic signs of disruption of the infection process.

Thus, the genotypic specificity of nodule formation by *R. laguerreae* sv. *viciae* was revealed.

It was assumed that the studied *R. laguerreae* strains, in contrast to the *R. leguminosarum* bv. *viciae* 3841 require elevated temperatures to form effective nodules. This assumption is currently being tested.

**Роль генов *DEEPER ROOTING 1 (DRO1)* в формировании архитектуры корневой системы огурца (*Cucumis sativus* L.)**

Кiryushkin A.C., Guseva E.D., Ilyina E.L., Kiykova T.Yu., Demchenko K.N.  
Ботанический институт им. В.Л. Комарова, Санкт-Петербург, Россия  
akiryushkin@binran.ru

Вектор роста элементов корневых систем растений регулируется различными генами, в частности генами семейства *IGT (LAZY1/TAC1/DRO1)*. Представитель семейства *IGT*, ген *DRO1*, первоначально был описан как регулятор глубины укоренения у различных сортов риса. Впоследствии гомологи *DRO1* были идентифицированы у других видов растений, как у однодольных, так и у двудольных. Целью данного исследования было выяснение роли гена *DRO1* огурца (*Cucumis sativus* L., сем. Cucurbitaceae) в регуляции изменения угла наклона боковых корней. В результате комбинации филогенетического анализа белков, количественной ПЦР в реальном времени, лазерной сканирующей конфокальной микроскопии и генетического редактирования были получены следующие результаты. У огурца идентифицировано три предполагаемых ортолога белков *DRO1* риса и *Arabidopsis* – *CsDRO1a*, *CsDRO1b*, *CsDRO1c*. Анализ изменения уровня экспрессии генов *CsDRO1a*, *CsDRO1b*, *CsDRO1c* в ответ на обработку корней огурца экзогенным ауксином (нафтилуксусной кислотой) в концентрации 10 мкМ в течение 15 мин, 30 мин, 1 ч, 2 ч и 6 ч, соответственно, показал, что экспрессия гена *CsDRO1a* достоверно повышалась, а *CsDRO1b* и *CsDRO1c* не менялась. Анализ тканевого паттерна экспрессии промоторов генов *CsDRO1a*, *CsDRO1b* и *CsDRO1c* в кончиках корней огурца продемонстрировал, что домены экспрессии этих генов перекрываются. Для выяснения роли каждого из генов (*CsDRO1a*, *CsDRO1b* и *CsDRO1c*) в регуляции угла наклона боковых корней огурца был проведён их нокаут с помощью генетического редактирования. Было выявлено статистически достоверное изменение угла наклона боковых корней у трансгенных корней, несущих редактированную последовательность гена *CsDRO1a*. В корнях с редактированными последовательностями генов *CsDRO1b* или *CsDRO1c* такие изменения отсутствовали. Полученные результаты позволяют предположить, что ген *CsDRO1a* может регулировать угол наклона боковых корней независимо от *CsDRO1b* и *CsDRO1c*. В то же время гены *CsDRO1b* и *CsDRO1c* могут нести перекрывающиеся функции, связанные с формированием архитектуры корневой системы огурца. Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках ФНТП Развитие генетических технологий (Биоресурсные коллекции, соглашение № 075-15-2021-1056).

**Role of *DEEPER ROOTING 1 (DRO1)* genes in root system architecture formation of cucumber (*Cucumis sativus* L.)**

Kiryushkin A.S., Guseva E.D., Ilyina E.L., Kiykova T.Y., Demchenko K.N.  
Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg.  
akiryushkin@binran.ru

The growth vector of a plant root system elements is regulated by various genes, e.g., by genes belonging to the *IGT* family (*LAZY1/TAC1/DRO1*). A member of the *IGT* family, *DRO1* gene, was originally described in various rice cultivars as a regulator of rooting depth. Subsequently, homologs of *DRO1* have been identified in other plant species, both monocots and dicots. The aim of this study was to elucidate the role of cucumber (*Cucumis sativus* L., Cucurbitaceae) *DRO1* gene in the regulation of angle during lateral root emergence. The results were obtained using phylogenetic analysis of cucumber *IGT* protein family, quantitative real time PCR (qPCR), confocal laser scanning microscopy (CLSM), and CRISPR/Cas9-mediated editing of cucumber *DRO1* genes. Three putative orthologs of rice and *Arabidopsis* *DRO1* proteins, encoding by *CsDRO1a*, *CsDRO1b*, and *CsDRO1c* genes were identified in cucumber. Using qPCR the effect of exogenous auxin (1-Naphthaleneacetic acid, NAA) on *CsDRO1a*, *CsDRO1b*, and *CsDRO1c* expression was examined. The expression of *CsDRO1a* gene in cucumber roots was significantly increased during application of 10 μM NAA for 15 min, 30 min, 1 h, 2 h and 6h, while transcript levels of *CsDRO1b* and *CsDRO1c* were not changed. Analysis of *CsDRO1a*, *CsDRO1b* and *CsDRO1c* expression patterns in cucumber root using CLSM showed that expression domains of these genes were overlapped. Knockout of each gene (*CsDRO1a*, *CsDRO1b* and *CsDRO1c*) was carried out by CRISPR/Cas9-mediated genome editing to clarify their roles in regulation of angle during lateral root emergence. A statistically significant changes in angle values during lateral root emergence was found in transgenic roots carrying the edited *CsDRO1a* sequences. However, no changes were shown for roots carrying edited *CsDRO1b* or *CsDRO1c* sequences. These results suggest that *CsDRO1a* gene can regulate angle values during lateral root emergence independently of *CsDRO1b* and *CsDRO1c*. At the same time, *CsDRO1b* and *CsDRO1c* genes can have overlapping functions in formation of cucumber root system architecture. The Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation supported this study in the framework of Bio-resource collections (Grant No. 075-15-2021-1056).



**Разнообразие и биологическая активность эндофитных бактерий, изолированных из листьев сельскохозяйственных злаков**

Киселева И.С., Дарказанли М., Тугбаева А.С., Ермошин А.А.  
ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург  
irina.kiseleva@urfu.ru

Из поверхностно стерилизованных листьев проростков культурных злаков выделены изоляты эндофитных бактерий: 5 из пшеницы и 11 из ячменя. Филлосферные бактерии представлены 6 родами: *Lactococcus*, *Bacillus*, *Buttiauxella*, *Pseudomonas*, *Leclercia*, *Pantoea*, представители двух последних родов изолированы только из ячменя. Секвенирование 16 S RNA и последующий биоинформатический анализ показали высокую степень гомологии выделенных эндофитных бактерий с видами *Lactococcus raffinolactis*, *Bacillus subtilis*, *Buttiauxella noackiae*, *Pseudomonas lurida* у пшеницы и *Bacillus pacificus*, *Bacillus subtilis*, *Lactococcus raffinolactis*, *Leclercia adecarboxylata*, *Pseudomonas lurida*, *Buttiauxella noackiae*, *Pantoea agglomerans* у ячменя. Проведена оценка биологической активности полученных изолятов, включая PGP-свойства. Показано стимулирующее действие инокуляции семян пшеницы и ячменя культурами выделенных бактерий на рост и фотосинтез проростков ячменя и пшеницы.

**Diversity and biological activity of endophytic bacteria isolated from the leaves of agricultural plants**

Kiseleva I.S., Darkazanli M., Tugbaeva A.S., Ermoshin A.A.  
Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education Ural Federal University named after the first  
President of Russia B.N.Yeltsin, Ekaterinburg  
irina.kiseleva@urfu.ru

Strains of endophytic bacteria were isolated from surface sterilized juvenile leaves of agricultural plants: 5 from wheat and 11 from barley. Phyllospheric bacteria were represented by 6 genera: *Lactococcus*, *Bacillus*, *Buttiauxella*, *Pseudomonas*, *Leclercia*, *Pantoea*, last two were isolated only from barley. 16 S RNA sequencing and subsequent bioinformatics showed a high degree of homology of the isolated endophytic bacteria with the species *Lactococcus raffinolactis*, *Bacillus subtilis*, *Buttiauxella noackiae*, *Pseudomonas lurida* in wheat and *Bacillus pacificus*, *Bacillus subtilis*, *Lactococcus raffinolactis*, *Leclercia adecarboxylata*, *Pseudomonas lurida*, *Buttiauxella noackiae*, *Pantoea agglomerans* in barley. The biological activity of the obtained isolates was evaluated, including PGP properties. The stimulating effect of the inoculation of wheat and barley seeds with cultures of isolated bacteria on the growth and photosynthesis of barley and wheat seedlings was found.

**Photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation by the main forest-forming coniferous species at the Ural-Carbon polygon**

Kiseleva I.S., Sinenko O.S., Trubetskoy D.V.

Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg

irina.kiseleva@urfu.ru

The control of climatically active gases is an urgent task facing scientists, industrialists, economists, and politicians. Physicists, climatologists, mathematicians, Big Data specialists, foresters, soil scientists, ecologists, biologists of various specializations are involved in solving this problem. To verify the methods of accounting for greenhouse gases and understand the scale of CO<sub>2</sub> emissions and sinks, networks of carbon polygons are being created in many countries of the world, including Russia, and carbon farms are being created to increase the ability of territories to sequester carbon. In the Middle Urals within the borders of the Sverdlovsk region, the Ural-Carbon polygon has been operating since the fall of 2021. Comprehensive studies have begun on its territories to assess the content of climate-active carbon in the atmosphere, as well as carbon emissions and sinks in regional ecosystems. One of the polygon sites is in the vicinity of the Kourovskaya Astronomical Observatory of the Ural federal University. In this area, the study aimed at assessing the photosynthetic activity of the main forest-forming forest species in the western slope of the Middle Urals were carried out.

Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.), European spruce (*Picea abies* L.), and Siberian fir (*Abies sibirica* Ledeb.) plants were chosen as the objects of the study. The young 7-year-old plants of these species were selected from forest undergrowth. They were transplanted into pots and adapted to laboratory conditions (photoperiod 14 h day/10 h night, PAR 350  $\mu\text{M}/\text{m}^2\text{s}$ , temperature 24°C, relative air humidity 40%). Photosynthetic activity was measured using an infrared gas analyzer Li-COR 6400 XT. Light (0 to 2000  $\mu\text{M}/\text{m}^2\text{s}$  PAR), temperature (5 to 35°C), and carbon dioxide (50 to 2500  $\mu\text{M}$  CO<sub>2</sub>) photosynthesis curves were plotted. Photosynthetic pigments content was determined in acetone extracts (80 %).

Based on the results obtained, the optimal conditions for photosynthesis of the studied species were revealed. The maximum values of the plant CO<sub>2</sub> assimilation rate were found at PAR intensity of 1000–1200  $\mu\text{M}/\text{m}^2\text{s}$ . Pine had the highest rate of photosynthesis at saturating light intensity (35  $\mu\text{M}$  CO<sub>2</sub>/m<sup>2</sup>s), which was 1.7 times higher than that of fir and 2.2 times higher than that of spruce. At the same time, the more shade-tolerant spruce and fir assimilated CO<sub>2</sub> more efficiently under low illumination, and therefore had higher photosynthesis quantum yields under such light. The content of photosynthetic pigments was higher in fir (chlorophylls - 4.2 mg/g dry weight, carotenoids - 0.8 mg/g dry weight), which is 1.2 times more than in pine and 1.5 times than in spruce. The assimilation number, which reflects the efficiency of using light by a unit of chlorophyll, was the highest in spruce.

The temperature optimum for photosynthesis in pine and spruce was 22°C, and in fir – 20°C. The carbon dioxide curves indicate that at low CO<sub>2</sub> concentrations, pine had a higher rate of photosynthesis than spruce and fir.

Thus, based on model experiments, the optimum conditions for maximum photosynthetic activity were determined. It was shown that shade-tolerant spruce and fir used low-intensity light more efficiently than pine, while in pine the rate of photosynthesis with increasing carbon dioxide concentration enhanced more intensively than in spruce and fir.

The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Project No. FEUZ-2021–0014.

### Микробные препараты в технологии возделывания винограда

Клименко Н.Н.

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

[ninaklymenko@yandex.ru](mailto:ninaklymenko@yandex.ru)

При возделывании винограда на ампелоценоз оказывается существенное антропогенное влияние. Применение большого числа удобрений и агрохимикатов приводит к загрязнению агроценоза остатками пестицидов и тяжелыми металлами. Проводится большое число обработок почвы междурядий, что приводит к разрушению ее структуры и утрате полезных физических свойств. В связи с этим необходимо внедрение нового, биологизированного способа возделывания виноградников, включающего применение микробных препаратов (МП) на основе агрономически ценных штаммов микроорганизмов, а также задернения почвы междурядий многолетними травами. В связи с этим цель наших исследований заключалась в изучении совместного влияния МП и задернения на элементы биологической активности почвы, основные показатели почвенного плодородия, а также урожайность и качество продукции винограда. Исследования проводили в условиях двухфакторного полевого опыта в 2013-2015 гг. (с. Хмельницкое, г. Севастополь), тип почвы – лугово-аллювиальная карбонатная. Сорт винограда – Мускат белый на подвое Шасла х Берландиери 41 Б. Первый фактор – МП производства ФГБУН «НИИСХ Крыма»: Азостим-Агро (улучшает азотное питание растений); Фосфостим-Агро (улучшает фосфорное питание растений), Микробиоком-Агро (комплексный микробный препарат для улучшения азотного, фосфорного питания растений, обладает биопротекторными свойствами). Препараты вносили в прикорневую зону виноградного куста ежегодно перед цветением в фазу роста побегов в количестве 2 мл исходной суспензии на одно растение. Второй фактор – многолетние травы: райграс пастбищный (*Lolium perenne* L.) и люцерна синяя (*Medicago sativa* L.) (1:1). Контроль – вариант без бактеризации на фоне естественного задернения. Установлено, что численность бактерий основных эколого-трофических групп микроорганизмов в ризосфере винограда существенно возрастала: в среднем на 104 % по сравнению с контролем. Доказано существенное возрастание значений основных показателей почвенного плодородия: содержание N-NO<sub>3</sub> повышалось на 64 %, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – на 20 % и K<sub>2</sub>O – на 48 % по отношению к контролю. Отмечено увеличение содержания органического вещества в почве виноградника: на 25 % против контроля. Выявлено, что использование приемов биологизации оказало позитивный эффект на урожайность винограда и его качество. Так, при воздействии Микробиокома-Агро продуктивность винограда возрастала на 2-4 т/га от контроля. Улучшалось качество урожая при воздействии Фосфостима-Агро и Микробиокома-агро: возрастала сахаристость суслу на 5-7 г/дм<sup>3</sup>, при этом кислотность снижалась на 0,2-0,3 г/дм<sup>3</sup>. Таким образом, предложенные приемы способствуют оптимизации микробиологической активности ризосферы и плодородия почвы, повышению продуктивности винограда и качества получаемой продукции без применения минеральных удобрений.

### Microbial preparations in the technology of grape cultivation

Klimenko N.N.

FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”

[ninaklymenko@yandex.ru](mailto:ninaklymenko@yandex.ru)

When cultivating grapes, the ampelocenosis has a significant anthropogenic impact. The use of a large number of fertilizers and agrochemicals leads to contamination of the agrocenosis with pesticide residues and heavy metals. A large number of row-spacing soil treatments are carried out, which leads to the destruction of its structure and the loss of useful physical properties. In this regard, it is necessary to introduce a new, biologized method of vineyard cultivation, including the use of microbial preparations (MP) based on agronomically valuable strains of microorganisms, as well as grassing the soil between rows with perennial grasses. In this regard, the purpose of our research was to study the combined effect of MP and grassing on the elements of soil biological activity, the main indicators of soil fertility, as well as the yield and quality of grape products. The research was carried out in the conditions of two-factor field experiment in 2013-2015 (Khmelnitsky village, Sevastopol); the type of soil is meadow-alluvial carbonate. Grape variety – Muscat white on the rootstock of Shasla x Berlandieri 41 B. The first factor is MP produced by the FSBSI “Research Institute of Agriculture of Crimea”: Azostim-Agro (improves nitrogen nutrition of plants); Phosphostim-Agro (improves phosphorus nutrition of plants), Microbiocom-Agro (a complex of microbial preparations for improving nitrogen, phosphorus nutrition of plants, has bioprotective properties). Preparations were introduced into the root zone of the grape bush annually before flowering in the phase of growth of shoots in an amount of 2 ml of the initial suspension per plant. The second factor is perennial grasses: grassland ryegrass (*Lolium perenne* L.) and blue alfalfa (*Medicago sativa* L.) (1:1). Control is an option without bacterization against the background of natural grassing. It was found that the number of bacteria of the main ecological and trophic groups of microorganisms in the rhizosphere of grapes increased significantly: on average by 104 % compared with the control. A significant increase in the values of the main indicators of soil fertility was proved: the content of N-NO<sub>3</sub> increased by 64 %, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> – by 20 % and K<sub>2</sub>O – by 48 % relative to the control. An increase in the content of organic matter in the soil of the vineyard was noted: by 25 % against the control. It was revealed that the use of biologization techniques had a positive effect on the yield of grapes and its quality. Thus, when exposed to Microbiocom-Agro, the productivity of grapes increased by 2-4 t/ha from the control. The quality of the crop improved under the influence of Phosphostim-Agro and Microbiocom-Agro: the sugar content of the grape must increased by 5-7 g/dm<sup>3</sup>, while the acidity decreased by 0.2-0.3 g/dm<sup>3</sup>. Thus, the proposed techniques contribute to optimizing the microbiological activity of the rhizosphere and soil fertility, increasing the productivity of grapes and the quality of the products obtained without the use of mineral fertilizers.

**Влияние микробных препаратов на плодородие почвы  
и продуктивность агроценоза персика в предгорном Крыму**

<sup>1</sup>Клименко О.Е., <sup>1</sup>Клименко Н.И., <sup>2</sup>Клименко Н.Н., <sup>1</sup>Евтушенко А.П.

<sup>1</sup>ФГБУН «Никитский ботанический сад – Национальный научный центр РАН», г. Ялта

<sup>2</sup>ФГБУН «НИИ сельского хозяйства Крыма», г. Симферополь

[olga.gnbs@mail.ru](mailto:olga.gnbs@mail.ru)

Интенсификация садоводства требует применения высоких доз удобрений и пестицидов. На фоне черного пара – традиционной системы содержания почвы на юге страны это приводит к снижению плодородия почвы и загрязнению продукции. В связи с этим применение дерново-перегнойной системы земледелия и биоудобрений является весьма перспективным для экологизации агроценоза и повышения качества продукции. Целью исследования было изучить влияние микробных препаратов (МП) различного спектра действия на фоне задернения сада различными смесями многолетних трав на показатели плодородия почвы и продуктивность агроценоза персика. Для достижения поставленной цели был заложен двухфакторный полевой опыт в саду персика (Бахчисарайский район, Республика Крым). Исследования проводили в 2019-2021 гг. Первый фактор – МП: Азотобактерин (*Azotobacter chroococcum* 10702) и комплекс микробных препаратов (КМП), полученный путем механического смешивания в равных долях препаратов: Диазофит – азотфиксатор (*Agrobacterium radiobacter* 204), Фосфоэнтерин – фосфатмобилизатор, ростстимулятор (*Enterobacter nimipressuralis* 32-3) и Биополицид (*Paenibacillus polymyxa* П) – биопротектор, фосфатмобилизатор. Контроль – без применения МП. Второй фактор – задернение: 1) смесь овсяницы луговой (*Festuca pratensis* Huds.) и клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) (1:1) и 2) смесь райграса многоцветкового (*Lolium multiflorum* Lam.), люцерны синей (*Medicago sativa* L.), овсяницы луговой, клевера лугового и костреца безостого (*Bromus inermis* Leyss.) в соотношении: 1,7:1,3:1,3:1,7:1. Контроль – естественное зарастание междурядий сеgetальной растительностью. Почва – чернозем предгорный карбонатный. Препараты вносили в ризосферу дерева ежегодно из расчета 5 мл исходной суспензии на 1 дерево. Титр препаратов 1,01-1,08 x 10<sup>8</sup> КОЕ/мл. Установлено, что применение данных приемов и их сочетаний, привело к снижению щелочной реакции среды (рН<sub>H2O</sub>) на 0,13-0,31, увеличению содержания гумуса на 32-54 относительных % и активного углерода, а также его доли в общем пуле органического вещества почвы, существенному увеличению содержания нитратного азота (на 45-88%) и подвижного фосфора – в 3 раза. Это способствовало увеличению урожайности персика в 1,7-2 раза по сравнению с естественным задернением без применения МП. Лучшим сочетанием задернения и МП признано применение смеси овсяницы луговой и клевера лугового с Азотобактерином. Это позволяет получать стабильный урожай персика на уровне 12-14 т/га без применения минеральных удобрений при повышении плодородия почвы.

**Influence of microbial preparations on soil fertility and productivity of peach agrocenosis in the foothill Crimea**

<sup>1</sup>Klimenko O.E., <sup>1</sup>Klimenko N.I., <sup>2</sup>Klimenko N.N., <sup>1</sup>Evtushenko A.P.

<sup>1</sup>FSBIS "Nikitsky Botanical Gardens - National Scientific Center of the RAS", Yalta

<sup>2</sup>FSBIS "Research Institute of Agriculture of the Crimea", Simferopol

[olga.gnbs@mail.ru](mailto:olga.gnbs@mail.ru)

The intensification of horticulture requires the use of high doses of fertilizers and pesticides. Against the backdrop of black fallow, a traditional soil management system in the south of the country, this leads to a decrease in soil fertility and product contamination. In this regard, the use of a sod-humus farming system and biofertilizers is very promising for the greening of agrocenosis and improving product quality. The aim of the study was to investigate the effect of microbial preparations (MPs) of various spectrums against the background of sodding the garden with various mixtures of perennial grasses on soil fertility and productivity of peach agrocenosis. To achieve this goal, a two-factor field experiment was laid in a peach orchard (Bakhchisaray district, Republic of Crimea). The studies were carried out in 2019-2021. The first factor is MP: Azotobacterin (*Azotobacter chroococcum* 10702) and a complex of microbial preparations (CMP) obtained by mechanical mixing in equal proportions of preparations: Diazophyte - nitrogen fixer (*Agrobacterium radiobacter* 204), Phosphoenterin - phosphate mobilizer, growth stimulator (*Enterobacter nimipressuralis* 32-3) and Biopolicide (*Paenibacillus polymyxa* P) – bioprotector, phosphate mobilizer. Control – without the use of MP. The second factor is sodding: 1) a mixture of meadow fescue (*Festuca pratensis* Huds.) and red clover (*Trifolium pratense* L.) (1:1) and 2) a mixture of multiflorous ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.), blue alfalfa (*Medicago sativa* L.), meadow fescue, red clover and awnless brome (*Bromus inermis* Leyss.) in the ratio: 1.7:1.3:1.3:1.7:1. Control – natural overgrowth of row-spacings with segetal vegetation. The soil is carbonate foothill chernozem. The preparations were introduced into the rhizosphere of the tree annually at the rate of 5 ml of the initial suspension per 1 tree. The titer of preparations is 1.01-1.08 x 10<sup>8</sup> CFU/ml. It was established that the use of these methods and their combinations led to a decrease in the alkaline reaction of the environment (pH<sub>H2O</sub>) by 0.13-0.31, an increase in the content of humus by 32-54 relative % and active carbon, as well as its share in the total pool of organic matter soil, a significant increase in the content of nitrate nitrogen (by 45-88%) and mobile phosphorus – 3 times. This contributed to an increase in peach yield by 1.7-2.0 times compared with natural turfing without the use of MP. The best combination of turfing and MP is the use of a mixture of meadow fescue and red clover with Azotobacterin. This makes it possible to obtain a stable peach yield at the level of 12-14 t/ha without the use of mineral fertilizers while increasing soil fertility.

**Фитопротекторные эффекты цианобактерий в условиях загрязнения метилфосфоновой кислотой**<sup>1</sup>Коваль Е.В., <sup>2</sup>Огородникова С.Ю.<sup>1</sup> ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, г. Тюмень<sup>2</sup> Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, г. Сыктывкар.  
undina2-10@yandex.ru

Интенсификация сельского хозяйства требует внесения больших объемов пестицидов, в том числе фосфорорганических – лидеров в использовании среди гербицидов. В результате трансформации гербицида глифосата в окружающей среде образуется метилфосфоновая кислота (МФК) и ее производные.

Цель работы – оценка фитопротекторных свойств цианобактерий (ЦБ) *Nostoc linckia*, *N. muscorum* и *N. paludosum* для растений ячменя, выращенных в условиях загрязнения. Семена ячменя (сорт Новичок) проращивали в присутствии ЦБ и без них (контроль). Титр культур ЦБ составлял от  $2,6 \cdot 10^7$  кл./мл до  $6 \cdot 10^7$  кл./мл. Проростки пересаживали на песок, увлажненный раствором МФК (0,5 моль/л). В растениях ячменя определяли интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), накопление пластидных пигментов и линейные показатели роста. Обработка семян ЦБ приводила к снижению интенсивности окислительных процессов в листьях ячменя. В опытах с *N. linckia*, *N. muscorum* и *N. paludosum* содержание продукта ПОЛ – малонового диальдегида в листьях было ниже на 25, 33 и 75% соответственно. *N. paludosum* запускала аналогичный эффект в корнях.

В листьях растений, обработанных *N. linckia* и *N. muscorum* и выращенных на загрязненном МФК субстрате отмечали повышенное содержание хлорофиллов *a* и *b* на 15 и 20% соответственно. Уровень каротиноидов – пигментов с антиоксидантными свойствами, был достоверно выше только в варианте с ЦБ *N. muscorum*, где отмечали низкую интенсивность процессов ПОЛ в листьях. Обработка семян *N. paludosum* не ослабляла токсического действия МФК на пигментный комплекс ячменя, содержание фотосинтетических пигментов было снижено. Обработка семян *N. muscorum* положительно влияла только на биохимические показатели ячменя, выращенного в условиях загрязнения МФК, и не оказывала ростактивирующего действия. ЦБ *N. paludosum* инициировала рост корней ячменя, выращенного на загрязненном субстрате, его длина была на 60% больше, чем в контроле. В этом же варианте отмечали низкую интенсивность процессов ПОЛ в корнях. Обработка семян *N. linckia* оказывала ростостимулирующее действие на растения ячменя в условиях загрязнения МФК: длина корней и листьев опытных растений была выше контрольных в 1,2 и 1,3 раза соответственно. Ростактивирующее действие ЦБ обработки в условиях химического загрязнения, может быть обусловлено или непосредственным влиянием ЦБ на жизнедеятельность растений, или присутствием биологически активных веществ в культуре.

Таким образом, ЦБ *N. linckia*, *N. muscorum* и *N. paludosum* оказывают протекторное действие на растения, находящиеся в условиях химического стресса, вызванного МФК.

**Phytoprotective effects of cyanobacteria under conditions of pollution with methylphosphonic acid**<sup>1</sup>Koval E.V., <sup>2</sup>Ogorodnikova S.Yu.<sup>1</sup> State Agrarian University of the Northern Trans-Urals, Tyumen<sup>2</sup> Institute of Biology of Komi Science Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Syktyvkar  
undina2-10@yandex.ru

The intensification of agriculture requires the introduction of large volumes of pesticides, including organophosphorus - the leaders in use among herbicides. As a result of the transformation of the herbicide glyphosate in the environment, methylphosphonic acid (MPA) and its derivatives are formed.

The purpose of this work is to evaluate the phytoprotective properties of cyanobacteria (CB) *Nostoc linckia*, *N. muscorum*, and *N. paludosum* for barley plants grown on sand under conditions of MPA contamination by biochemical responses and growth rates. To do this, the seeds were germinated in the presence of CB and without them (control) and transplanted onto sand moistened with a solution of MPA (0.5 mol/l). Studies of the intensity of the processes of lipid peroxidation (LPO) and the accumulation of plastid pigments were carried out spectrophotometrically by conventional methods. The titer of cultures of microorganisms ranged from  $2.6 \cdot 10^7$  cells/ml to  $6 \cdot 10^7$  cells/ml. The treatment of seeds with CB had the greatest protective effect on reducing the intensity of LPO processes in the leaves. *N. linckia*, *N. muscorum*, and *N. paludosum* reduced the content of malondialdehyde (the main LPO product) in barley leaves by 25, 33, and 75%, respectively. At the same time, *N. paludosum* triggered a similar effect in the roots. In seedlings inoculated with *N. linckia* and *N. muscorum* and grown on MPA-contaminated sand, the accumulation of chlorophylls *a* and *b* by 15 and 20%, respectively, was noted. At the same time, the content of carotenoids, pigments with antioxidant properties, significantly increased only in the variant with the use of *N. muscorum*, which is consistent with the low intensity of LPO processes in barley leaves of this variant. Treatment with *N. paludosum* led to inhibition of the accumulation of plastid pigments. Probably, in this case, other compounds took on the role of the main cellular antioxidants, which contributed to a decrease in the amount of malondialdehyde in the leaves. Despite the positive effects on the biochemical parameters of experimental plants caused by the treatment of seeds with *N. muscorum*, this did not affect the growth of seedlings. Also, a significant growth of the ground part of barley in the variant with the use of *N. paludosum* was not noted, however, the CB treatment led to the activation of root growth by 60% of the control. *N. linckia* also acted as a significant growth stimulator under conditions of MPA pollution: the length of the roots and leaves of the experimental plants increased by 17 and 27%, respectively. This is probably due to the presence of phytohormone-like substances in the culture of CB.

Thus, *N. linckia*, *N. muscorum*, and *N. paludosum* CBs exhibit phytoprotective effects for plants under chemical stress caused by MPA.

**Анализ почвенных бактериофагов *Sinorhizobium meliloti***

Козлова А.П., Мунтян В.С., Владимирова М.Е., Румянцева М.Л.

ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, Санкт-Петербург.

[alexandrak95@mail.ru](mailto:alexandrak95@mail.ru)

Бактериофаги могут существенно влиять на численность штаммов в почвенном микробиоме, а также в ризосфере бобового растения-хозяина. Фаги, интегрированные в геном бактерии (лизогенный путь развития) могут оказывать влияние на культуральные и/или симбиотические свойства ризобий. Целью данной работы было изучение почвенных бактериофагов в одном из очагов разнообразия бобовых растений, относящегося к первичному центру разнообразия культурных растений на Кавказе. В этом же районе, как показано нами ранее, было выявлено высокое генетическое разнообразие азотфиксирующих клубеньковых бактерий, микросимбионтов бобовых растений.

Было получено три новых бактериофага, контрастно различавшихся по морфотипу негативных колоний, оцениваемых по методу двуслойного агара по Адамсу с тест-штаммами *Sinorhizobium meliloti* из коллекции природных изолятов клубеньковых бактерий (выделены в разных генцентрах бобовых растений), лаборатории генетики и селекции микроорганизмов ФГБНУ ВНИИСХМ. Были выделены нуклеиновые кислоты фагов, проведено их секвенирование с использованием MiSeq, Illumina и осуществлена сборка (модули SPAdes, Flye, Racon и Medaka, Pilon) и аннотация (Prokka) геномов. Анализ геномов показал, что фаг, имевший геном размером более 60 т. п.н., относился к семейству *Siphoviridae*. Для данного фага было установлено высокое сходство с геномом фага Rhizobium phage 16-3 (Ref Seq NC\_011103). Фаг, имевший геном размером более 120 т.п.н., относился к семейству *Podoviridae*, а фаг, геном которого составил более 400 т.п.н., относился к семейству *Myoviridae*. Установлено, что нуклеотидные последовательности обоих упомянутых выше фагов не имели гомологии с известными бактериофагами.

Генцентры культурных растений характеризуются не только высоким разнообразием макро- и микросимбионтов азотфиксирующих растительно-микробных систем, но также являются сосредоточием ризобиофагов, значительно различающихся по морфологии и активности.

Работа выполнена при поддержке РФФ 20-16-00105

**Analysis of soil bacteriophages *Sinorhizobium meliloti***

Kozlova A.P., Muntyan V.S., Vladimirova M.E., Rumyantseva M.L.

FSBSI All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Pushkin, St. Petersburg.

[alexandrak95@mail.ru](mailto:alexandrak95@mail.ru)

Bacteriophages can significantly affect the abundance of strains in the soil microbiome, as well as in the rhizosphere of the host leguminous plant. Phages integrated into bacterial genome (lysogenic pathway) can affect cultural and/or symbiotic properties of rhizobia. The aim of this work was to study soil bacteriophages native to origin of legume plants diversity, which belongs to the primary center of diversity of cultivated plants at the NW of Caucasus. In the same region, as we showed earlier, a high genetic diversity of nitrogen-fixing nodule bacteria, microsymbionts of alfalfa was revealed.

The three new bacteriophages were obtained, contrastingly different in morphotype of negative colonies, assessed by double agar overlay plaque assay method with test strains of *Sinorhizobium meliloti* from the collection of the laboratory of genetics of microorganisms of ARRIAM of native rhizobia isolates recovered from different gene centers of legume plants. Phage nucleic acids were isolated, sequenced using MiSeq, Illumina, and assembly (modules SPAdes, Flye, Racon and Medaka, Pilon) and annotation (Prokka) of genomes were carried out. Genome analysis showed that phage, which genome size was larger than 60 kb, belonged to *Siphoviridae* family. This phage was found to be highly similar to Rhizobium phage 16-3 (Ref Seq NC\_011103). The second one phage, which genome was larger than 120 kb belonged to family *Podoviridae*, and the last one phage with a genome larger than 400 kb belonged to family *Myoviridae*. The nucleotide sequences of the last both phages had no homology with known bacteriophages.

So, the gene centers of cultivated plants characterized by a high diversity of macro- and microsymbionts of nitrogen-fixing plant-microbial systems, are also regions enriched in rhizobiophages differ significantly in morphology and activity parameters.

The work was supported by the RSF 20-16-00105.

***Pectobacterium versatile* вызывает снижение количества абсцизовой кислоты в клубнях картофеля *Solanum tuberosum***

<sup>1</sup>Колубако А.В., <sup>1</sup>Шруб Е.В., <sup>2</sup>Иванов Р.С., <sup>3</sup>Гоголева Н.Е., <sup>2</sup>Кудоярова Г.Р., <sup>3</sup>Гоголев Ю.В., <sup>1</sup>Николайчик Е.А.

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

<sup>2</sup>Уфимский институт биологии УФИЦ РАН, Уфа

<sup>3</sup>Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань

[shrubkaterina@gmail.com](mailto:shrubkaterina@gmail.com)

*P. versatile* является одним из основных патогенов картофеля и вызывает существенную перестройку гормональной сигнализации растения во время инфекции. Роли жасмонатов, салицилата и этилена в контроле устойчивости и чувствительности растений картофеля к бактериозам во многом установлены, однако роль абсцизовой кислоты изучена минимально. Абсцизовая кислота является основным регулятором ответа на стрессы абиотической и биотической природы, а в растениях картофеля дополнительно играет одну из главных ролей в клубнеобразовании, поэтому изучение деталей АБК-зависимых регуляторных механизмов видится важной задачей для повышения урожайности и лежкости клубней картофеля.

Оценка количеств транскриптов в клубнях с помощью RNA-seq и кПЦР показала, что заражение растений *S. tuberosum* бактериями *P. versatile* приводит к скоординированному примерно 10-кратному снижению уровней экспрессии генов *ZEP*, *NCED* и *AAO3*, кодирующих ферменты биосинтеза абсцизовой кислоты, и аналогичную по амплитуде активацию экспрессии генов нескольких изоформ 8'-гидроксилазы абсцизовой кислоты. Измерение количеств абсцизовой кислоты в контрольных и инокулированных *P. versatile* клубнях показало достоверное двухкратное снижение концентрации абсцизовой кислоты через 48 часов после заражения патогеном.

Мы предполагаем, что вызываемое *P. versatile* нарушение АБК-зависимой сигнализации может способствовать проникновению патогена через первичные ворота инфекции (раневые поверхности и/или чечевички) или ограничивать возможности растения по локализации инфекции в первичном очаге.

***Pectobacterium versatile* decreases abscisic acid concentrations in *Solanum tuberosum* tubers**

<sup>1</sup>Kalubaka A.V., <sup>1</sup>Shrub E.V., <sup>2</sup>Ivanov R.S., <sup>3</sup>Gogoleva N.E., <sup>2</sup>Kudoyarova G.R., <sup>3</sup>Gogolev Y.V., <sup>1</sup>Nikolaichik Y.A.

<sup>1</sup>Belarusian State University, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>Institute of Biology URC RAS, Ufa

<sup>3</sup>Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics KSC RAS, Kazan

[shrubkaterina@gmail.com](mailto:shrubkaterina@gmail.com)

*P. versatile* is one of the major potato pathogens. It induces significant rearrangement of the plant's hormonal signalling during infection. While the roles of jasmonates, salicylate, and ethylene in the control of resistance and sensitivity of potato plants to bacteria have been largely established, the role of abscisic acid remains poorly investigated. Abscisic acid is the main regulator of the response to abiotic and biotic stresses. In potato, it is also involved in tuber formation and maturation, so understanding ABA-dependent regulatory mechanisms is important for increasing the yield and keeping the quality of potato tubers.

Evaluation of transcripts abundance in tubers using RNA-seq and qPCR showed that infection of *S. tuberosum* plants with *P. versatile* leads to a coordinated approximately 10-fold decrease in the expression levels of the *ZEP*, *NCED*, and *AAO3* genes encoding enzymes for the biosynthesis of abscisic acid. We have also observed at least tenfold activation of several isoforms of abscisic acid 8'-hydroxylase. Measuring the amounts of abscisic acid in control and inoculated with *P. versatile* tubers showed a confident two-fold decrease in abscisic acid concentration 48 hours after infection with the pathogen.

We speculate that the disruption of ABA-dependent signalling caused by *P. versatile* may facilitate the penetration of the pathogen through the primary gates of infection (wound surfaces and/or lenticels) or limit the ability of the plant to localize the infection within its primary focus.

**Влияние *Beauveria bassiana* на рост и развитие регенерантов *Fragaria × ananassa* Duchesne ex Rozier в условиях *ex vitro***

<sup>1,2</sup>Коляда А.А., <sup>1</sup>Амброс Е.В., <sup>3</sup>Тюрин М.В., <sup>1</sup>Новикова Т.И.

<sup>1</sup>Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск.

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Алтайский государственный университет, г. Барнаул.

<sup>3</sup>Институт систематики и экологии животных СО РАН, г. Новосибирск.

[ann7sh99@mail.ru](mailto:ann7sh99@mail.ru)

Энтомопатогенный аскомицет *Beauveria bassiana* способен колонизировать широкий спектр видов растений в качестве эндофита. Доказано, что такой симбиоз положительно влияет на адаптивные свойства растений, их рост и развитие. Популярность земляники садовой (*Fragaria ananassa* Duchesne ex Rozier) как ягодной культуры и востребованность применения биологических препаратов для улучшения роста и развития растений, определяет перспективу развития научных исследований. Количество комплексных исследований, направленных на изучение роли *B. bassiana* в процессах адаптогенеза растений земляники ограничено. В этой связи, целью работы является изучение роста и развития микроклонов земляники садовой («Солнечная полянка») на этапе адаптации к нестерильным условиям *ex vitro* под действием *B. bassiana* (штамм Сар 31 из коллекции микроорганизмов ИСиЭЖ СО РАН). Для инокуляции растений применяли два типа обработки конидиальной суспензией (титр  $1 \times 10^8$  конидий/мл): замачивание корней на 2 мин в 30 мл суспензии; однократный полив растений 2 мл суспензии. В качестве контроля использовали растения без обработки. Регенеранты культивировали в вегетационных кассетах объемом 80 см<sup>3</sup> с вермикулитом в течение 30 сут. Каждые 10 сут части растений (лист с черешком и корень) отбирали для проведения тестов на уровень их колонизации грибом. Колонизация растений грибом (20-100%) наблюдалась через 10 сут после обработки и сохранялась до 30 сут на всех частях растений взятых для анализа. Под действием *B. bassiana* определено увеличение ростовых параметров у микроклонов (длины корней, розеток, количество листьев, корней, сырой, сухой массы корней) в сравнении с контролем (на 2-27%,  $p < 0,05$ ). На поверхности листовой пластинки формировалось большее количество трихом (на 6-59%,  $p < 0,05$ ), устьиц (на 17%,  $p < 0,05$ ), зарегистрировано увеличение размеров устьиц (на 7-20%,  $p < 0,05$ ). Определенные изменения морфологии листа снижают интенсивность транспирации и способствуют успешной адаптации растений в условиях *ex vitro*. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях растений под действием *B. bassiana* также увеличивалось (на 5-22%,  $p < 0,05$ ), что указывает на высокий физиологический статус. Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии *B. bassiana* на рост, развитие и адаптивный потенциал микрорастений земляники садовой в условиях *ex vitro*. В работе использованы материалы биоресурсной научной «Коллекции живых растений в открытом и закрытом грунте» ЦСБС СО РАН, USU 440534.

**Effect of *Beauveria bassiana* on growth and development of *Fragaria × ananassa* Duchesne ex Rozier regenerants in *ex vitro* conditions**

<sup>1,2</sup>Kolyada A.A., <sup>1</sup>Ambros E.V., <sup>3</sup>Tyurin M.V., <sup>1</sup>Novikova T.I.

<sup>1</sup> Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk.

<sup>2</sup> Altai State University, Barnaul.

<sup>3</sup> Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, Novosibirsk.

[ann7sh99@mail.ru](mailto:ann7sh99@mail.ru)

The entomopathogenic ascomycete *Beauveria bassiana* is able to colonize many plant species as an endophyte. This symbiosis has a positive effect on the adaptability of plants, their growth and development. Perspective of the development of scientific research in the direction of organic farming is determined by popularity of strawberry (*Fragaria ananassa* Duchesne ex Rozier) as a berry crop and relevance of biological rather than chemical preparations to improve plant growth and development. The number of complex researches aimed at studying the role of *B. bassiana* in the processes of adaptogenesis of strawberry plants is limited. The study aimed to assess on the growth and development of strawberry microclones for the assessment of adaptability to *ex vitro* conditions under the effect of *B. bassiana* (strain Sar-31 from the collection of microorganisms at ISEA SB). Two types of treatment with conidial suspension (titer  $1 \times 10^8$  conidia/ml) were used for inoculation of plants: dipping of plant roots for 2 minutes in 30 ml of suspension; single watering of plants with 2 ml of suspension. Plants without treatment were used as control. Microclones placed in plastic trays with individual cells (80 cm<sup>3</sup>) containing vermiculite and cultivated for 30 days. Colonization of plants by the fungus (20-100%) was observed 10 days after treatment and persisted until 30 days on all analyzed parts of the plants. Root length, rosette height, number of leaves and roots, fresh and dry weight of roots were increased by 2-27% compared with control variants ( $p < 0.05$ ). Surface of the leaf blade morphometric analysis showed that fungus treatments led to increased trichome (by 6-59%,  $p < 0.05$ ), stomata density (by 17%,  $p < 0.05$ ) and stomata size (by 7-20%,  $p < 0.05$ ) in comparison with the control. These structural changes led to reduce the intensity of transpiration and indicated successful *ex vitro* acclimation of plants. Concentrations of photosynthetic pigments (chlorophylls a and b, and carotenoids) (5-22%,  $p < 0.05$ ) were increased, indicating a high physiological state of the plantlets grown with *B. bassiana*. Therefore, the obtained results indicate a positive effect of *B. bassiana* on the growth, development and adaptability of *in vitro*-derived strawberry plants to *ex vitro* conditions. In our study, the material from the collection of the CSBG, SB RAS – USU 440534 “Collection of living plants indoors and outdoors” was used.



**Возможности биоремедиации почв полифункциональным штаммом *Ochrobactrum intermedium***

Косимов Д.И., Зайнитдинова Л.И., Жураева Р.Н., Эргашев Р.Б.

Институт микробиологии АН РУз, г.Ташкент

[diyoy-qosimov91@mail.ru](mailto:diyoy-qosimov91@mail.ru)

В настоящее время в мире чрезмерно и бесконтрольно используются различные пестициды для сохранения урожайности сельскохозяйственных культур. В результате такого применения происходит накопление токсических веществ в окружающей среде. Одним из дешевых и экологически безопасных способов уменьшения или полного устранения остатков пестицидов в почве является биоремедиация. Биоремедиация — это метод очистки окружающей среды (почва, вода и др.) от различных ксенобиотиков (в том числе пестицидов) с помощью метаболического потенциала биологических агентов. Основными биологическими агентами в процессе биоремедиации могут служить различные группы микроорганизмов.

С целью получения активных штаммов-деструкторов пестицидов, выделенных нами из загрязненных почв, обогащенных биошламом биогазовой установки, проведен скрининг в результате которого получен и охарактеризован штамм *Ochrobactrum intermedium*. Этот вид бактерий доминировал среди всех выделенных изолятов и показал наиболее высокую деструктивную активность в отношении хлорпирифоса и циперметрина.

Исследования проводились в лабораторных условиях с использованием штамма *Ochrobactrum intermedium* в стерильных почвах, загрязненных пестицидами хлорпирифосом (100 мг/кг) и циперметрином (40 мг/кг) в течение 30 суток. Отбор проб почвы для хроматографического анализа осуществляли сразу после загрязнения, и каждые 15 суток. Контролем служила стерильная почва с пестицидом (без инокулята). Показано, что, на 15 сутки исходное количество пестицида хлорпирифос уменьшается до 35,3 мг/кг и на 30 сутки до 20,7 мг/кг. Процент деструкции в данном случае составил 79,3, тогда как в контрольном варианте - 5,3%. Результаты, полученные при разложении циперметрина штаммом *Ochrobactrum intermedium* показывают, что на 15 сутки остаточная концентрация составила 4,97 мг/кг и на 30 сутки циперметрин не обнаруживался. В контрольном варианте содержание циперметрина на 30 сутки составило 36,2 мг/кг (% разложения – 9,5).

Таким образом, применение штамма *Ochrobactrum intermedium* способствует быстрому и активному разложению пестицидов хлорпирифоса и циперметрина и он может быть рекомендован для процесса биоремедиации почв, загрязненных пестицидами.

**Possibilities of soil bioremediation by a polyfunctional strain of *Ochrobactrum intermedium***

Kosimov D.I., Zaynitdinova L.I., Jurayeva R.N., Ergashev R.B.

Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent

[diyoy-qosimov91@mail.ru](mailto:diyoy-qosimov91@mail.ru)

At present, various pesticides are used excessively and uncontrollably in the world to maintain crop yields. As a result of such use, the accumulation of toxic substances in the environment occurs. One cheap and environmentally friendly way to reduce or completely eliminate pesticide residues in the soil is bioremediation. Bioremediation is a method of cleaning the environment (soil, water, etc.) from various xenobiotics (including pesticides) using the metabolic potential of biological agents. Various groups of microorganisms can serve as the main biological agents in the process of bioremediation.

In order to obtain active strains-destroyers of pesticides isolated by us from contaminated soils enriched with biosludge from a biogas plant, a screening was carried out, as a result of which a strain of *Ochrobactrum intermedium* was obtained and characterized. This type of bacteria dominated among all isolated isolates and showed the highest destructive activity against chlorpyrifos and cypermethrin.

The studies were carried out in laboratory conditions using the strain *Ochrobactrum intermedium* in sterile soils contaminated with pesticides chlorpyrifos (100 mg/kg) and cypermethrin (40 mg/kg) for 30 days. Soil sampling for chromatographic analysis was carried out immediately after contamination, and every 15 days. Sterile soil with pesticide (without inoculum) served as control. It is shown that on the 15th day the initial amount of the pesticide chlorpyrifos decreases to 35.3 mg/kg and on the 30th day to 20.7 mg/kg. The percentage of destruction in this case was 79.3, while in the control variant it was 5.3%. The results obtained from the degradation of cypermethrin by the strain *Ochrobactrum intermedium* show that on day 15 the residual concentration was 4.97 mg/kg and on day 30 no cypermethrin was detected. In the control variant, the content of cypermethrin on day 30 was 36.2 mg/kg (% decomposition - 9.5).

Thus, the use of the *Ochrobactrum intermedium* strain contributes to the rapid and active decomposition of the pesticides chlorpyrifos and cypermethrin, and it can be recommended for the process of bioremediation of soils contaminated with pesticides.

**Fungi of the genus *Fusarium* in the microbiota of potato roots and their role in the development of tuber dry rot**<sup>1</sup>Kostennikova Z.S., <sup>1</sup>Galimov M.A., <sup>2</sup>Akosah Y.A., <sup>3</sup>Vologin S.G., <sup>1</sup>Mardanova A.M.<sup>1</sup>Kazan Federal University, Kazan<sup>2</sup>New York University, College of Dentistry, Department of Molecular Pathobiology, New York<sup>3</sup>Tatar Research Institute of Agriculture, Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences, Kazan.

mardanovaaylu@mail.ru

Fungi of the genus *Fusarium* are ubiquitous in the soil, and included in the root microbiota of various plants as saprotrophs. They are also phytopathogens for many types of crops, including the highly significant agricultural crops. For instance, *Fusarium* spp. cause Fusarium wilt and dry rot of potatoes, leading to substantial yield losses. The investigation of fungal communities associated with different compartments of potato roots, the study of the dynamics of *Fusarium* populations in these compartments, as well as the isolation and characterization of virulent isolates in relation to different potato cultivars are imperative for deciphering the patterns of potato colonization by pathogenic fungi and developing strategies for controlling Fusarium.

The aim of the work was to analyze the root microbiota of the rhizosphere and rhizoplane of the Zhukovskij rannij potato cultivar, as well as to isolate *Fusarium* spp. and characterize their virulent properties in relation to tubers of different potato cultivars.

A comparative analysis of fungal communities in the soil, rhizosphere, and rhizoplane of potatoes showed that fungal communities in root compartments differ from those in the bulk soil and change depending on the stage of potato vegetation. In general, higher species diversity was observed in the rhizosphere (OTU 320±30) relative to the rhizoplane (OTU 170±20). The *Fusarium* population belongs to the dominant group and is most represented during the flowering of plants. The representation of *Fusarium* in summer samples of the rhizoplane reached up to 35%, while in the soil and rhizosphere their number was significantly lower (about 11-12%). It was shown that the representation of *Fusarium* depends on crop rotation, which indicates the possibility of controlling the abundance of Fusaria using competent agricultural technology. Fusarium strains were isolated from potato tubers with dry rot and visually healthy tubers, which were identified based on the homology of ITS regions of the 5.8S rRNA gene as *F. oxysporum* strains. It is known that *F. oxysporum* strains are one of the most common causative agents of dry rot in potato tubers globally. Based on the metagenomic analysis data, *F. oxysporum* is also the dominant species in samples of gray forest soil and potato roots within the Tatarstan region. The growth and pigmentation of the isolated strains on Czapek, Sabouraud, and PDA media, the spore morphology, and the enzymatic properties of fungi, such as cellulase, endoglucanase, and proteolytic activities, were characterized. One of the methods for controlling *Fusarium* is the selection of resistant cultivars. We analyzed the ability of 7 isolates of *F. oxysporum* to cause dry rot of potato tubers of 26 cultivars. The tubers were artificially infected with fungal spores, and after 21 days, the presence of affected areas and their size were assessed. The data were statistically processed using the Kruskal-Wallis test. The test results  $H = 65.114 (25)$ ,  $p < 0.001$  indicate significant differences in the resistance of cultivars. According to the results of the analysis for virulence, the isolates were divided into 3 groups based on their ability to cause dry rot in tubers. Tubers of different varieties also differed in sensitivity to Fusarium dry rot. Tubers of Zumba, Korchma, Nevskij, and Narymskaya Nochka cultivars showed the highest resistance to all strains of *F. oxysporum*. The cultivars Avgustina, Dachnitsa, Varyag, and Kaliber showed moderate resistance.

Thus, it was shown that fungi of the genus *Fusarium* are one of the dominant groups in the microbiota of potato roots. The abundance of *Fusariums* depends on the stage of potato vegetation and crop rotation. Highly virulent strains of *F. oxysporum*, as well as dry rot-resistant potato varieties, were selected for further analysis.

This work was supported by grant from Russian Science Foundation [project no. 22-16-00138] and Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program (PRIORITY-2030).

**Сравнительная характеристика микробоценозов ризосферы сельскохозяйственных растений в  
вегетационном эксперименте с почвой Черневой тайги  
и зональной почвой**

<sup>1</sup>Кравченко И.К., <sup>2</sup>Райко М. П., <sup>1</sup>Тихонова Е.Н., <sup>1</sup>Конопкин А.А., <sup>2</sup>Лapidус А.Л.

<sup>1</sup>Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва

<sup>2</sup>Центр биоинформатики и алгоритмической биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный университет,  
г. Санкт-Петербург.

[irinakravchenko@inbox.ru](mailto:irinakravchenko@inbox.ru)

Черневая тайга Сибири это уникальный природный объект в Алтае-Саянской горной области. Почвы черневой тайги обладают рядом уникальных свойств, включая высокую продуктивность при низком содержании гумуса (эффективное плодородие) и образование высокотравных сообществ, включая феномен гигантизма. Нами была высказана гипотеза, что исключительно высокая продуктивность растений определяется синергетическим взаимодействием различных факторов, и особая роль принадлежит микроорганизмам, колонизирующим корни растений. Для проверки были проведены вегетационные эксперименты с растениями пшеницы и редиса на черневой и контрольной почве Томского региона. Анализ состава бактериального ризобиома растений черневой почвы методом высокопроизводительного секвенирования 16S рРНК показал, что в его составе доминировали представители родов *Chthoniobacter*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Massilia*, для которых характерно образование соединений, стимулирующих рост растений. Впервые установлено наличие в ризосфере растений, выращенных на черневой почве, нитрифицирующих архей *Cand. Nitrosocosmius* и *Cand. Nitrososphaera*, а также коммоч *Nitrospira* бактерий. Сформирована представительная, более 100 штаммов, коллекция ризосферных бактерий-фитостимуляторов, выделенных из ризосферы сельскохозяйственных растений, выращенных на черневой почве. Полученные результаты могут быть использованы для разработки приемов повышения урожайности с использованием естественного природного потенциала экосистемы.

Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 19-16-00049-П.

**Comparative characteristics of the rhizosphere microbocenoses of agricultural plants in the vegetation experiment  
with the Chernevaya taiga soil and zonal soil**

<sup>1</sup>Kravchenko I.K., <sup>2</sup>Rayko M.P., <sup>1</sup>Tikhonova E.N., <sup>1</sup>Konopkin A.A., <sup>2</sup>Lapidus A.L.

<sup>1</sup>Winogradsky Institute of Microbiology Research Center of Biotechnology RAS, Moscow

<sup>2</sup> Center for Bioinformatics and Algorithmic Biotechnology, St. Petersburg State University,  
St. Petersburg,

[irinakravchenko@inbox.ru](mailto:irinakravchenko@inbox.ru)

Chernevaya taiga of Siberia is a unique natural object in the Altai-Sayan mountain region. The soils of the Chernevaya taiga have a number of unique properties, including high productivity with low humus content (effective fertility) and the formation of high-grass communities, including the phenomenon of plant gigantism. We hypothesized that the exceptionally high productivity of plants is determined by the synergistic interaction of various factors, and a special role belongs to microorganisms that colonize plant roots. For verification, vegetation experiments were conducted with wheat and radish plants on the Chernevaya and control soil of the Tomsk region. Analysis of the bacterial rhizobiome composition of Chernevaya soil plants by high-performance 16S rRNA sequencing revealed prevalence of *Chthoniobacter*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Massilia*, which are known to produce compounds stimulated plant growth. For the first time, the presence of nitrifying archaea *Cand. Nitrosocosmius* and *Cand. Nitrososphaera*, as well as commoch *Nitrospira* bacteria were identified in the rhizosphere of plants grown on Chernevaya soil. A representative collection of more than 100 strains of rhizosphere bacteria-phytostimulators isolated from the rhizosphere of agricultural plants grown on Chernevaya soil has been formed. The results obtained can be used to develop techniques for increasing yields using the natural potential of the ecosystem.

This research was funded by Russian Science Foundation, grant number 19-16-00049-П.

**Оптимизация методики получения протопластов кукурузы и оценка их целостности после электропорации**Красова Ю.В.<sup>1,2</sup>, Фадеев В.В.<sup>1,2</sup>, Моисеева Е.М.<sup>2</sup>, Чумаков М.И.<sup>2</sup>, Гусев Ю.С.<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, г. Саратов<sup>2</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов,

ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», г. Саратов

krasova.yuv@yandex.ru

На современном этапе развития биотехнологии протопласты растительных клеток широко используются для научных исследований и в биотехнологических процессах, поскольку присутствие клеточной стенки у растений делает невозможными генетические манипуляции путем трансфекции и трансформации, соматической гибридизации и т. д. Подбор условий для получения жизнеспособных протопластов растительных клеток с наименьшим уровнем повреждений весьма индивидуален для различных тканей и в каждом случае необходима предварительная работа по их оптимизации.

В рамках исследования временной экспрессии генов, получения стабильной трансформации и изучения клеточной физиологии растительных организмов широкое применение находит метод электропорации. Поскольку в литературе есть данные о гибели около 50 % обрабатываемых клеток в результате неравномерной интенсивности воздействующего электрического поля, подбор параметров и условий электропорации с последующей оценкой целостности протопластов могут дать приоритетные данные о возможности повышения эффективности геномного редактирования живых организмов.

Материалом для данного исследования послужили растения кукурузы (*Zea mays* L.) линии Коричневый маркер (КМ). Протопласты были выделены из эпидермальных клеток корней кукурузы по методике Ortiz-Ramírez *et al.* (2018) с модификациями. На этапе оптимизации методики были проведены скрининговые исследования по подбору состава и концентрации ферментов, соотношения времени ферментативной обработки растительного материала и объема ферментной смеси, концентрации осмотического агента, режима центрифугирования и размера пор фильтра, применяемого при очистке суспензии протопластов. Выход интактных протопластов составил  $\sim 2 \times 10^5$  кл/мл.

Осуществлен подбор параметров электропорации (импульсное напряжение, ширина и количество импульса, состав буфера, концентрация ДНК) и проведена оценка остаточного количества протопластов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ МК-4527.2022.1.4.

**Optimization of the technique for obtaining maize protoplasts and evaluation of their integrity after electroporation**Yu.V. Krasova<sup>1,2</sup>, V.V. Fadeev<sup>1,2</sup>, Ye.M. Moiseeva<sup>2</sup>, M.I. Chumakov<sup>2</sup>, Yu.S. Gusev<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Saratov State University, Saratov<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,

Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov

krasova.yuv@yandex.ru

At the present stage of development of biotechnology, plant cell protoplasts are widely used for scientific research and in biotechnological processes, since the presence of a cell wall in plants makes genetic manipulations impossible by transfection and transformation, somatic hybridization, etc. Selection of conditions for obtaining viable plant cell protoplasts with the least The level of damage is very individual for different tissues and in each case preliminary work is needed to optimize them.

In the framework of the study of transient gene expression, obtaining a stable transformation and studying the cellular physiology of plant organisms, the electroporation method is widely used. Since there are data in the literature on the death of about 50% of treated cells as a result of an uneven intensity of the applied electric field, the selection of parameters and conditions for electroporation, followed by an assessment of the integrity of protoplasts, can provide priority data on the possibility of increasing the efficiency of genome editing in living organisms.

The material for this study was maize plants (*Zea mays* L.) of the Brown Marker (KM) line. Protoplasts were isolated from maize root epidermal cells according to the method of Ortiz-Ramírez *et al.* (2018) with modifications. At the method optimization stage, screening studies were carried out to select the composition and concentration of enzymes, the ratio of the time of enzymatic treatment of plant material and the volume of the enzyme mixture, the concentration of the osmotic agent, the centrifugation mode, and the pore size of the filter used to purify the protoplast suspension. The yield of intact protoplasts was  $\sim 2 \times 10^5$  cells/mL.

The selection of electroporation parameters (pulse voltage, pulse width and number, buffer composition, DNA concentration) was carried out, and the residual amount of protoplasts was estimated.

Research was supported by grant of President of Russian Federation MK-4527.2022.1.4.

**Биотехнологический метод эмбриокультуры *in vitro* автономных зародышей  
в ускоренной оценке засухоустойчивости селекционных образцов:  
постановка проблемы**

Круглова Н.Н., Зинатуллина А.Е.  
Уфимский институт биологии УФИЦ РАН, г. Уфа.  
kruglova@anrb.ru

Метод эмбриокультуры *in vitro* как культивирование разновозрастных зародышей можно рассценивать как перспективный биотехнологический приём в целях ускорения селекции засухоустойчивых генотипов, поскольку позволяет выявлять такие генотипы на самом раннем этапе онтогенеза в селективных модельных условиях имитации засухи. Важно предварительно выявить оптимальную стадию развития инокулируемых зародышей, когда они способны к самостоятельному развитию, главным образом независимо от влияния гормонов материнского организма. На примере 10 гибридных комбинаций яровой мягкой пшеницы (получены в лаборатории селекции и семеноводства яровой пшеницы Башкирского НИИ СХ УФИЦ РАН и в полевых условиях по структуре урожая в сравнении со стандартным сортом Омская 35 оценены как засухоустойчивые) с использованием авторской периодизации эмбриогенеза злаков нами установлено, что такому условию удовлетворяют незрелые зародыши в стадии автономности, формирующие нормальные проростки на безгормональной среде *in vitro*. Выявлено, что автономные зародыши формируются на 15-17 сут после опыления и характеризуются нормальной для злаков морфологией. Светооптический анализ показал наличие в таких зародышах сформированных органов, типичных для злаков. Ультраструктурными исследованиями по наличию развитых амилопластов и митохондрий продемонстрирована высокая метаболическая активность клеток всех органов, а иммуногистохимическим методом показана локализация в них ряда эндогенных гормонов (ИУК, АБК). Культивирование автономных зародышей *in vitro* на селективной среде, имитирующей засуху введением маннита 8%, выявило 7 генотипов, формирующих в таких условиях нормальные проростки, которые далее, в почвенных условиях *ex vitro*, давали начало фертильным регенерантам. Высокие (85-95%) показатели лабораторной всхожести зерновок таких регенерантов в условиях использования маннита 8%, а также нормальный статус тканей апекса побегов 3-суточных проростков подтвердили засухоустойчивость этих гибридов, выявленную ранее в полевых условиях. В целом, принципиальное совпадение результатов полевых опытов с лабораторными показателями засухоустойчивости большинства изученных гибридов пшеницы позволяет сделать вывод о перспективности использования незрелых автономных зародышей в ускоренной первичной оценке засухоустойчивости вновь получаемых селекционных образцов в селективных условиях *in vitro*, по крайней мере для пшеницы.

**Biotechnological method of embryo culture *in vitro* of autonomous embryos  
in the accelerated assessment of drought-resistance of breeding samples:  
problem statement**

Kruglova N.N., Zinatullina A.E.  
Ufa Institute of Biology of UFRC RAS, Ufa.  
kruglova@anrb.ru

The *in vitro* embryo culture method as the cultivation of embryos at different ages can be regarded as a promising biotechnological technique in order to accelerate the selection of drought-resistant genotypes, since it allows identifying such genotypes at the earliest stage of ontogenesis in selective model conditions of drought simulation. It is important to first identify the optimal stage of development of inoculated embryos, when they are capable of independent development, mainly regardless of the influence of hormones of the maternal organism. Using the example of 10 hybrid combinations of spring soft wheat (were obtained in the laboratory of breeding and seed production of spring wheat of the Bashkir Agriculture Research Institute of UFRC RAS and in the field conditions, according to the structure of the crop in comparison with the standard cultivar Omsk 35, were evaluated as drought-resistant) using the author's periodization of the cereal embryogenesis, we found that such a condition is satisfied by immature embryos at the stage of autonomy, forming normal seedlings on a hormone-free medium *in vitro*. It was revealed that autonomous embryos are formed at 15-17 days after pollination and are characterized by normal morphology for cereals. Light-optical analysis showed the presence of formed organs typical to cereal embryos. Ultrastructural studies on the presence of developed amyloplasts and mitochondria have demonstrated high metabolic activity of all organs cells, and the immunohistochemical method has shown the localization of a number of endogenous hormones (IAA, ABA) in them. Culture of autonomous embryos *in vitro* on the selective medium simulating drought with the introduction of 8% mannitol revealed 7 genotypes forming normal seedlings under such conditions, which further, in *ex vitro* soil conditions, gave rise to fertile regenerants. The high (85-95%) laboratory germination rates of such regenerants in the conditions of using 8% mannitol, as well as the normal status of the apex tissues of shoots of 3-day-old seedlings confirmed the drought-resistance of these hybrids, previously identified in the field. In general, the fundamental coincidence of the results of field experiments with laboratory indicators of drought-resistance of most of the studied wheat hybrids allows us to conclude that the use of immature autonomous embryos in the accelerated primary assessment of drought-resistance of newly obtained breeding samples under selective conditions *in vitro*, at least for wheat.

**Оптимизация и влияние состава питательных сред  
на экспрессию гена токсинообразования *B. thuringiensis* 0371**

Крыжко А.В.

ФГБУН Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма, г. Симферополь  
solanum@ukr.net

$\beta$ -экзотоксин, термостабильный экзотоксин, продуцируемый *B. thuringiensis* во время вегетативного роста, является одним из основных факторов энтомопатогенности описанных для этой бактерии. Для быстрого качественного определения способности штамма продуцировать  $\beta$ -эндотоксин целесообразно использовать ПЦР. В качестве целевого гена в кластере каскада синтеза  $\beta$ -экзотоксина использовали *thuE*. Подбор праймеров для детекции гена *thuE* осуществляли путем анализа нуклеотидных последовательностей генов *thuE* штаммов *B. thuringiensis* из базы GenBank NCBI. Были подобраны две пары праймеров ThuE 133 и ThuE 102. В качестве позитивного контроля использовали штаммы *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 41 (H1) и *B. thuringiensis* var. *darmstadiensis* 109 (H10), содержащие ген *thuE*. Было установлено наличие целевых ампликонов в геноме штамма *B. thuringiensis* 0371 (133 и 102 bp соответственно), оптимизированы условия проведения ПЦР-РВ.

Для получения жидкой препаративной формы штамма *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 0371 оптимизировалась питательная среда на основе кукурузной муки и дрожжевого автолизата. Уравнение регрессии функции отклика, описывающее рост культуры включающее только статистически значимые эффекты, можно записать так:  $Y=8,31-1,56x_1+5,66x_2-2,41x_1x_2$ . Анализ уравнения показал, что для максимального выхода спор необходимо повышать уровень дрожжевого автолизата и уменьшать концентрацию кукурузной муки. Был установлен шаг варьирования крутого восхождения и получен набор экспериментальных питательных сред ПС1-ПС6. Результаты экспериментов показывают, что, лучший результат был получен на средах ПС4 и ПС5 (титр спор 0,67-0,70 млрд./мл). Исследование экспрессии гена *thuE*, отвечающего за синтез экзотоксина *B. thuringiensis* показали, что максимальным данный показатель был на 24 часа культивирования, в средах ПС3, ПС4 и ПС5. Таким образом, хотя исследованные питательные среды нуждаются в доработке ввиду недостаточно высокого для перехода к промышленному культивированию титра спор, среды ПС4 и ПС5 перспективны для усовершенствования жидкой препаративной формы энтомоцидного препарата.

Работа была выполнена в рамках Государственного задания Министерства образования и науки РФ № FNZW-2022-0006.

**Optimization and influence of nutrient media composition  
on the *B. thuringiensis* 0371 toxin formation gene expression**

Kryzhko A.V.

FSBSI "Research Institute of Agriculture of Crimea", Simferopol, Russian Federation  
solanum@ukr.net

$\beta$ -exotoxin is a thermally stable exotoxin produced by *B. thuringiensis* during vegetative growth. It is one of the main entomopathogenic factors described for this bacterium. One of the quick methods of qualitative determination of the strain ability to produce  $\beta$ -endotoxin is PCR. *thuE* was used as the target gene in the cluster of the  $\beta$ -exotoxin synthesis cascade. The selection of primers for the detection of the *thuE* gene was carried out by analyzing the nucleotide sequences of the *B. thuringiensis* strains *thuE* genes of from the GenBank NCBI database. Two pairs of primers - ThuE 133 and ThuE 102 were selected. *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 41 (H1) and *B. thuringiensis* var. *darmstadiensis* 109 (H10) containing *thuE* gene were used as a positive control. The presence of target amplicons in genome *B. thuringiensis* 0371 (133 and 102 bp, respectively) was established, the conditions for PCR-RV were optimized.

To obtain a liquid formulation of *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* 0371, a nutrient medium based on corn flour and yeast autolysate was optimized. The regression equation of the response function describing the growth of culture can be written as follows:  $Y=8,31-1,56x_1+5,66x_2-2,41x_1x_2$ . The equation analysis showed that in order to maximize the yield of spores, it is necessary to increase the level of yeast autolysate and reduce the concentration of corn flour. The step of variation of the steep ascent was established and a set of experimental nutrient media PS1-PS6 was obtained. The experimental results show that the best result was obtained on media PS4 and PS5 (spore titer 0.67-0.70 billion/ml). A study of the expression of the *thuE* gene responsible for the synthesis of *B. thuringiensis*  $\beta$ -exotoxin showed that this indicator was maximal at 24 hours of cultivation, in PS3, PS4 and PS5 media. Thus, although the studied nutrient media need to be refined for the transition to industrial cultivation due to the insufficiently high titer of spores, the media of PS4 and PS5 are promising for improving the liquid preparative form of the bioinsecticide.

The work was performed within the State tasks of Russian Ministry of education and science № FNZW-2022-0006.

**SWEET транспортеры в растительно-микробных системах  
на примере арбускулярной микоризы**

<sup>1</sup>Крюков А.А., <sup>1</sup>Юрков А.П., <sup>1</sup>Горбунова А.О., <sup>1,2</sup>Кудряшова Т.Р., <sup>2</sup>Калинина А.А.,  
<sup>2</sup>Филатов П.В., <sup>2</sup>Ковальчук А.И.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт  
сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,  
г. Санкт-Петербург  
[rainniar@rambler.ru](mailto:rainniar@rambler.ru)

Симбиоз арбускулярной микоризы (АМ) является одним из древнейших и наиболее распространенным. Растение и гриб АМ обмениваются между собой необходимыми для роста и развития веществами - гриб поставляет растению воду и неорганику, взамен получает углеводы и другие органические соединения. Изучение механизмов установления и поддержания симбиоза АМ, в частности транспорта сахаров от растения к грибам, способствует созданию высокопродуктивных растительно-микробных систем и развитию сельского хозяйства. Транспорт сахаров в растении осуществляется 3 семействами переносчиков, но непосредственно транспорт углеводов от растения к грибам реализуется, вероятно, транспортерами только одного семейства – SWEET (Sugars Will Eventually be Exported Transporters). В тоже время эти белки характеризуются низкой специфичностью и полифункциональностью, могут работать в разных тканях растения и транспортировать не только сахара. Филогенетически и отчасти функционально SWEET разделяются на 4 группы. Наши исследования SWEET проводятся на трех уровнях фосфорного питания растения. Для работы используется высокочувствительная растительно-микробная система, включающая мутанта *Medicago lupulina* и гриб *Rhizophagus irregularis*. Оценивается экспрессия генов *SWEET* в корнях и листьях. Анализ материала проводится на 7 различных сроках развития растения. Результаты подтверждают уже известные данные о том, что к симбиотическим белкам SWEET в первую очередь относятся транспортеры 1 и 3 группы SWEET в корнях (по нашим данным: MISWEET1a, MISWEET1b, SWEET3c, MISWEET12), в тоже время SWEET7 2 группы, ранее указанный другими исследователями, как важнейший и симбиотический транспортер углеводов от растения к грибам АМ не показал какой либо генной экспрессии в наших опытах и не был обнаружен вообще по результатам нашего транскриптомного анализа *M. lupulina*. Кроме того, в литературе, симбиотическим указывается ген *SWEET11*, у нас не показавший значимой разницы для микоризованных и безмикоризных растений. Вероятно, симбиотические функции SWEET11 в *M. lupulina* на себя берет SWEET12 из той же 3 группы, что склоняет нас к гипотезе о взаимозаменяемости некоторых близких по структуре SWEET.

Работа поддержана грантами: РФФИ 20-016-00245 и РФФИ 19-29-05275.

**SWEET transporters in plant-microbial systems  
on the example of arbuscular mycorrhiza**

<sup>1</sup>Kryukov A.A., <sup>1</sup>Yurkov A.P., <sup>1</sup>Gorbunova A.O., <sup>1,2</sup>Kudryashova T.R., <sup>2</sup>Kalinina A.A.,  
<sup>2</sup>Filatov P.V., <sup>2</sup>Kovalchuk A.I.

<sup>1</sup>All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint Petersburg

<sup>2</sup>Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg  
[rainniar@rambler.ru](mailto:rainniar@rambler.ru)

The symbiosis of arbuscular mycorrhiza (AM) is one of the oldest and most widespread. The plant and fungus AM exchange with each other the substances necessary for growth and development - the fungus supplies the plant with water and inorganics, in return it receives carbohydrates and other organic compounds. The study of the mechanisms of establishment and maintenance of AM symbiosis, in particular, the transport of sugars from plants to fungi, contributes to the creation of highly productive plant-microbial systems and the development of agriculture. The transport of sugars in the plant is carried out by 3 families of carriers, but the direct transport of carbohydrates from the plant to the fungi is probably realized by the transporters of only one family - SWEET (Sugars Will Eventually Be Exported Transporters). At the same time, these proteins are characterized by low specificity and polyfunctionality, they can work in different plant tissues and transport not only sugars. Phylogenetically and partly functionally, SWEETs are divided into 4 groups. Our SWEET studies are conducted at three levels of plant phosphorus nutrition. For work, a highly sensitive plant-microbial system is used, including the mutant *Medicago lupulina* and the fungus *Rhizophagus irregularis*. The expression of *SWEET* genes in roots and leaves is assessed. The analysis of the material is carried out at 7 different periods of plant development. The results confirm the already known data that symbiotic SWEET proteins primarily include transporters of SWEET groups 1 and 3 in roots (according to our data: MISWEET1a, MISWEET1b, SWEET3c, MISWEET12), while SWEET7 group 2, previously indicated by other researchers, as the most important and symbiotic transporter of carbohydrates from plants to AM fungi, did not show any gene expression in our experiments and was not found at results of our *M. lupulina* transcriptomic analysis. In addition, in the literature, the *SWEET11* gene is indicated as symbiotic, which did not show a significant difference for mycorrhizal and non-mycorrhizal plants. Probably, the symbiotic functions of SWEET11 in *M. lupulina* are taken over by SWEET12 from the same group 3, which inclines us to the hypothesis of interchangeability of some structurally similar SWEETs.

This work was supported by grants: RFBR 20-016-00245 and RFBR 19-29-05275.

**Катаболизм ароматических компонентов штаммом *Achromobacter insolitus* LCu2**

Крючкова Е.В., Бурьгин Г.Л.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН»  
[kryu-lena@yandex.ru](mailto:kryu-lena@yandex.ru)

Цель исследования заключалась в катаболической реконструкции *in silico* реакций трансформации и последующих путей деградации ароматических компонентов ризосферной бактерией *A. insolitus* LCu2. Анализ генома LCu2 показал наличие следующих путей расщепления химических связей ароматического кольца –  $\beta$  кетoadипатного пути с двумя ветвями орто- и мета- расщепления катехола; гентисатного и гомогентисатного путей; фенилацетил-СоА и бензоил-СоА путей. Выявлены Рискс оксигеназные системы (РОС), отвечающие за периферический метаболизм ароматики, среди которых ферменты, катализирующие образование *cis*-дигидродиольных производных, родственные нафталин- и бифенил- диоксигеназам, а также деметилазы из группы ванилатдеметилаз. Проведена корреляция между геномными данными и способностью *A. insolitus* LCu2 к росту на различных ароматических субстратах, добавленных в среду в качестве единственного источника углерода. Полученные данные могут использоваться для оптимизации процессов бактериальной деградации ароматики, а также демонстрируют адаптивный потенциал штамма LCu2 к различным условиям окружающей среды.

**Catabolism of aromatic compounds by *Achromobacter insolitus* LCu2**

Kryuchkova E.V., Burygin G.L.

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,  
Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Science  
[kryu-lena@yandex.ru](mailto:kryu-lena@yandex.ru)

We performed the catabolic reconstruction *in silico* of transformation reactions and aromatic degradation pathways by the rhizosphere bacterium. Analysis of the *A. insolitus* LCu2 genome showed the presence of the following ring-cleavage pathways: the  $\beta$ -ketoadipate pathway with two branches of ortho- and meta-catechol cleavage; gentisate and homogentisate pathways; phenylacetyl-CoA and benzoyl-CoA pathways. Riske oxygenase systems (ROS) responsible for the peripheral metabolism of aromatics have been identified, including enzymes catalyzing the formation of *cis*-dihydrodiol derivatives, related to naphthalene and biphenyl dioxygenases, as well as demethylases from the group of vanillate-O-demethylase. A correlation was made between genomic data and the ability of *A. insolitus* LCu2 to grow on various aromatic substrates added to the medium as the sole carbon source. The obtained data can be used to optimize the processes of bacterial degradation of aromatics, and also demonstrate the adaptive potential of the LCu2 strain to various environmental conditions.



**Влияние *Pseudomonas mandelii* на образование апопластных барьеров, уровень аквапоринов и гидравлическую проводимость растений ячменя**

Кудоярова Г.Р., Архипова Т.Н., Шарипова Г.В., Ахиярова Г.Р., Галин И.Р., Мартыненко Е.В., Сельдиминова О.В  
Уфимский институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа  
[guzel@anrb.ru](mailto:guzel@anrb.ru)

Недавно было показано, что штамм *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 усиливает апопластные барьеры растений, подверженных солевому стрессу, что препятствует поступлению токсичного натрия. Было интересно узнать проявляется ли такой же эффект при отсутствии засоления и как это влияет на гидравлическую проводимость растений ячменя. Окрашивание берберинном подтвердило, что бактериальная обработка ускорила и усилила отложение лигнина и суберина и образование полос Каспари в корнях растений ячменя. Расчет гидравлической проводимости путем соотношения транспирации с водным потенциалом листа показал, что она не уменьшалась у растений, обработанных бактериями. Мы предположили, что снижение проводимости апопласта может быть компенсировано более высокой проводимостью водного пути через мембраны. Это предположение было подтверждено результатами иммунолокализации аквапоринов HvPIP2;5 с помощью специфических антител, которые показывали повышение их уровня вокруг эндодермы и экзодермы растений, обработанных бактериями. Иммунолокализация антителами против ауксинов и абсцизовой кислоты выявила повышенный уровень этих гормонов в корнях растений, обработанных бактериями. Накопление гормонов, вероятно, связано со способностью *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 синтезировать эти гормоны. Обсуждается участие абсцизовой кислоты в контроле количества аквапоринов и ауксинов – в регуляции формирования апопластных барьеров. Работа поддержана грантом РФФИ 21-14-00070.

**The effects of rhizosphere inoculation with *Pseudomonas mandelii* on formation of apoplast barriers, HvPIP2 aquaporins and hydraulic conductance of barley**

Kudoyarova G.R., Arkhipova T.N., Sharipova G.V., Akhiyarova G.R., Galin I.R., Martynenko E.V., Seldimirova O.V.  
Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre, Russian Academy of Sciences,  
[guzel@anrb.ru](mailto:guzel@anrb.ru)

*Pseudomonas mandelii* strain IB-Ki14 has recently been shown to strengthen the apoplastic barriers of salt-stressed plants, which prevents the entry of toxic sodium. It was of interest to find out whether the same effect manifests itself in the absence of salinity and how this affects the hydraulic conductivity of barley plants. Berberine staining confirmed that the bacterial treatment enhanced the deposition of lignin and suberin and formation of Casparian bands in the roots of barley plants. The calculation of hydraulic conductance by relating transpiration to leaf water potential showed that it did not decrease in bacteria-treated plants. We hypothesized that reduced apoplastic conductivity could be compensated by the higher conductivity of the water pathway across the membranes. This assumption was confirmed by the results of the immunolocalization of HvPIP2;5 aquaporins with specific antibodies, showing their increased abundance around the areas of the endodermis and exodermis of bacteria-treated plants. The immunolocalization with antibodies against auxins and abscisic acid revealed elevated levels of these hormones in the roots of plants treated with bacteria. This root accumulation of hormones is likely to be associated with the ability of *Pseudomonas mandelii* IB-Ki14 to synthesize these hormones. The involvement of abscisic acid in the control of aquaporin abundance and auxins—in the regulation of and formation of apoplast barriers—is discussed.

**Экспрессия одиннадцати SWEET-генов у *Medicago lupulina* при развитии арбускулярной микоризы в условиях внесения среднего уровня фосфора в субстрат**

Кудряшова Т.Р.<sup>1,2</sup>, Калинина А.Е.<sup>1</sup>, Филатов П.В.<sup>1</sup>, Крюков А.А.<sup>2</sup>, Иванченко О.Б.<sup>1</sup>,  
Юрков А.П.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.  
tahacorfu@yandex.ru

Риниофиты вступали в симбиотические отношения с грибами, выполнявшими функцию корней – всасывание воды и минеральных веществ в различных экосистемах суши. В настоящее время этот симбиоз получил развитие и представлен у большинства растений: АМ-гриб получает от растения продукты фотосинтеза, растение – минеральные вещества из почвы, в основном фосфор. Существует актуальность в выявлении генов-контролеров симбиотической эффективности АМ, регулирование их экспрессии позволит перейти от агротехнологий к биологическому земледелию за счет создания высокопродуктивных растительно-микробных систем. Единственным семейством углеводных транспортеров, где могут быть обнаружены специфичные для симбиоза транспортеры углеводов является SWEET (Sugars Will Eventually be Exported Transporters). Целью работы - оценка уровней экспрессии генов транспортеров SWEET при развитии АМ-симбиоза формируемого у *Medicago lupulina* с *Rhizophagus irregularis* в условиях среднего уровня доступного для питания растений фосфора в субстрате (Рд) - 58,5 мгР<sub>2</sub>О<sub>5</sub>/кг. Модельным растением являлась ранее селективная растительная линия MIS-1 люцерны хмелевидной, сильномикотрофная и отзывчивая к АМ-грибу. Полученные результаты свидетельствуют о том, что инокуляция растений *M. lupulina* штаммом АМ-гриба *R. irregularis* RCAM00320 (изолят был отобран, в результате скрининга исследуемых ранее АМ-грибов, как эффективный) повышает продуктивность надземной биомассы растений и ускоряет прохождение фаз их развития у растений в условиях среднего уровня фосфора в субстрате. Оценка экспрессии генов показала, что генами кандидатами на специфическую экспрессию в листьях микоризованного растения-хозяина при среднем уровне Рд в субстрате являются: *MISWEET1a*, *MISWEET1b*. Гены кандидаты на специфическую экспрессию в корнях представлены следующим списком: *MISWEET1a*, *MISWEET1b*, *MISWEET12*, *SWEET3c*. Среди них абсолютное лидерство за геном *MISWEET1b*, который с уверенностью можно считать маркером симбиотической эффективности со специфической экспрессией для эффективного развития АМ-симбиоза *M. lupulina* с *R. irregularis* в условиях среднего уровня Рд в субстрате. Оценка экспрессии генов семейства SWEET при развитии АМ, включала все ключевые фазы развития растения-хозяина, что является необходимым при изучении механизмов, контролирующих развитие АМ. Научные исследования проводятся при поддержке РФФИ 19-29-05275-МК, РФФИ 20-016-00245.

**Expression of eleven SWEET genes in *Medicago lupulina* during the development of arbuscular mycorrhiza under the conditions of introducing an average level of phosphorus into the substrate**

Kudriashova T.R.<sup>1,2</sup>, Kalinina A.E.<sup>1</sup>, Filatov P.V.<sup>1</sup>, Ivanchenko O.B.<sup>1</sup>, Kryukov A.A.<sup>2</sup>,  
Yurkov A.P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg,

<sup>2</sup>All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg.  
tahacorfu@yandex.ru

Rhizophytes entered into a symbiotic relationship with fungi that performed the function of roots, the absorption of substances in various ecosystems of the land. The AM fungus receives carbohydrates from the plant, while the plant receives minerals from the soil, more often phosphorus. The AM fungus receives products of photosynthesis from the plant, while the plant receives minerals from the soil, more often phosphorus. The urgency in the identification of genes controllers of the symbiotic efficiency of AM is growing; the regulation of their expression will make it possible to switch from agricultural technologies to biological farming by creating highly productive plant-microbial systems. The only family where specific carbohydrate transporters can be found is SWEET. The aim is to evaluate the levels of expression of transporter genes of this family during the development of AM symbiosis formed in *Medicago lupulina* with *Rhizophagus irregularis* under the condition of an average level of phosphorus available for plant nutrition in the substrate (Pd). The model plant was the previously selected plant line MIS-1 of hop alfalfa, strongly mycotrophic and responsive to the AM fungus. The data obtained indicate that the inoculation of hop *M. lupulina* with the strain of AM fungus *R. irregularis* RCAM00320. The isolate increases the productivity of the aboveground plant biomass and accelerates the passage of the phases of their development in plants in condition of the average level of phosphorus in the substrate. The evaluation of gene expression showed that the candidate genes for specific expression in the leaves of the mycorrhized host plant at an average level of Pg in the substrate are *MISWEET1a*, *MISWEET1b*. Candidate genes for specific expression in roots are *MISWEET1b*, *MISWEET12*, *SWEET3c* and *MISWEET1a*. Among them, absolute leadership belongs to the *MISWEET1b* gene. We consider this gene to be a marker with specific expression for the efficient development of the AM symbiosis of *M. lupulina* with *R. irregularis* under conditions of an average level of Pd in the substrate. The expression dynamics of the SWEET family genes during the development of AM included all the key phases of host plant development, which is a necessary aspect in studying the mechanisms that control the development of effective AM. We carry out scientific research with the support of RFBR 19-29-05275-МК, RFBR 20-016-00245.

**Oil-destroyer strain UOM 4 as a promising component of microbial-plant association for bioremediation of oil-contaminated soils**<sup>1</sup>Kuzina E.V., <sup>1</sup>Mukhamatdyarova S.R., <sup>2</sup>Loginov D.O., <sup>1</sup>Sharipova Yu.Yu.<sup>1</sup>Ufa Institute of Biology, Ural Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Ufa<sup>2</sup>Ufa State Oil Technical University, Ufa  
lab.biotech@yandex.ru

At present and in the near future, hydrocarbons will remain the main source of energy on our planet. Their extraction and processing have a negative impact on all components of the environment. The most significant damage is done to the soil. The use of microbial-plant complexes for cleaning oil-contaminated soils is a highly effective biotechnological method. Hydrocarbon-oxidizing microorganisms, which are part of their composition, provide conditions for the growth and development of plants, primarily due to the destruction of the pollutant and the reduction of soil phytotoxicity. The latter indicator is actively used to characterize the level of soil contamination with pollutants. The effect of hydrocarbon-oxidizing bacteria *Pseudomonas songnenensis* UOM 4 on the biodegradation of oil in leached chernozem (Luvic Chernozem) and its toxicity to radish plants (*Raphanus sativus* L.) was studied. Pre-cleared from plant residues and dried soil was placed in 3 kg pots. Oil (5% wt.) was added to the experimental options. The introduction of microorganisms was carried out in the form of a liquid culture in the amount of  $2 \times 10^6$  CFU per 1 g of soil. Phytotoxicity was assessed on wet soil plates by seed germination and root growth according to FR.1.39.2006.02264. The content of oil products in the soil was determined by the gravimetric method in accordance with PND F 16.1.41-04. The duration of the experiment is 95 days.

After completion of the experiment, in the control variant, the degree of oil biodegradation was 53.0%, and with the introduction of bacteria, it was 79.8%, which indicates the active participation of the strain *P. songnenensis* UOM 4 in the decomposition of the ecotoxicant. Seed germination and root elongation in the control soil were 93.3 and 98.0%, respectively, while in the oil-contaminated soil they were only 63.1 and 46.2% (moderately toxic soil). This can be explained by the direct toxic effect of hydrocarbons and the formation of an oil film on the surface of the seeds, which reduces the availability of water and prevents the germination process. Against the background of oil, treatment with *P. songnenensis* UOM 4 had a positive effect on the measured parameters of plants (germination rate 82.2%, root elongation 67.0%), transferring the contaminated soil from moderately toxic to low toxic. Most likely, this is due to an increase in the rate of biodegradation of hydrocarbons and, as a result, a decrease in the amount of toxic components of oil. Based on the data obtained, the strain *P. songnenensis* UOM 4 is recommended as a component of microbial-plant associations to reduce the oil content in the soil and reduce its toxicity to remediant plants.

**Динамика изменения активности оксидоредуктаз *Glycine max*  
после инокуляции ее семян *Bradyrhizobium japonicum***

<sup>1</sup>Кузнецова В.А., <sup>2</sup>Блинова А.А.

<sup>1</sup>ФБГНУ ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений им Н.И. Вавилова»,  
Дальневосточная опытная станция, г. Владивосток

<sup>2</sup>ФБГНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», г. Благовещенск.  
[kuzvika3385@yandex.ru](mailto:kuzvika3385@yandex.ru)

Особую роль в повышении устойчивости *Glycine max* к влиянию факторов окружающей среды, играют специфические клубеньковые бактерии, вступающие в симбиоз с растением, что является важным фактором в формировании высокой продуктивности. К основным антиоксидантным ферментам относятся оксидоредуктазы, представляющие собой важную защитную систему растений от влияния различных факторов среды, активность которых значительно варьирует в зависимости от условий среды, а также коррелирует с индуцированной резистентностью.

В настоящем исследовании представлены результаты по применению активных штаммов *Bradyrhizobium japonicum* для инокуляции сои различных сортов с использованием оксидоредуктазной активности в качестве биомаркеров. Объектами исследования служили штаммы *B. japonicum* Cm-42, 639a, АмБ-21 и АмБ-22, а также растения сои сортов российской и зарубежной селекции Лидия, Сентябринка, Топаз, Евгения, Грация, Невеста, Китросса, Даурия, Кордоба, Волма, Пруденс, Амадеус, Хана, Рось, МК-100. Выбор указанных сортов обоснован популярностью их применения агрономами в Амурской области. Все используемые штаммы депонированы и хранятся в Банке микробиологических культур. Симбиотические свойства штаммов клубеньковых бактерий сои изучали в вегетационных опытах путем лабораторного скрининга. Показано, что наиболее активным симбиотическим азотфиксатором является штамм *B. japonicum* АмБ-22, который приводил к значительному повышению активности и появлению новых множественных форм оксидоредуктаз. При этом у этого штамма оказалась самыми высокими симбиотическая и азотфиксирующая активности по сравнению с другими изученными штаммами клубеньковых бактерий. В результате проведенных исследований и анализа полученных результатов нами предложено использовать этот штамм в производстве инокулянта для повышения урожайности сои.

**Dynamics of changes in the activity of *Glycine max* oxidoreductases after the inoculation of its seeds with  
*Bradyrhizobium japonicum***

<sup>1</sup>Kuznetsova V.A., <sup>2</sup>Blinova A.A.

<sup>1</sup>All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after N.I. Vavilov, Far Eastern Experimental Station, Vladivostok

<sup>2</sup>Federal State Scientific Institution Federal Research Center «All-Russian Research Institute of Soybean»,  
Blagoveshchensk.  
[kuzvika3385@yandex.ru](mailto:kuzvika3385@yandex.ru)

A significant role in increasing the resistance of *Glycine max* to the influence of environmental factors is played by specific nodule bacteria that enter into symbiosis with the plant, which is an important factor in the formation of high productivity. The main antioxidant enzymes include oxidoreductases, which are an important plant defense system against the influence of various environmental factors, the activity of which varies significantly depending on environmental conditions, and also correlates with induced resistance.

This study presents the results of the use of active strains of *Bradyrhizobium japonicum* for the inoculation of soybeans of various varieties using oxidoreductase activity as biomarkers. The objects of the study were strains of *B. japonicum* Cm-42, 639a, AmB-21 and AmB-22, as well as soybean plants of Russian and foreign breeding varieties Lidiya, Sentyabrinka, Topaz, Evgeniya, Gratsiya, Bride, Kitrossa, Dauria, Kordoba, Volma, Prudence, Amadeus, Khan, Ros, MK-100. The choice of these varieties is justified by the popularity of their use by agronomists in the Amur region. All used strains are deposited and stored in the Bank of Microbiological Cultures. The symbiotic properties of strains of soy nodule bacteria were studied in vegetation experiments by laboratory screening. It was shown that the most active symbiotic nitrogen fixer is the *B. japonicum* AmB-22 strain, which led to a significant increase in activity and the appearance of new multiple forms of oxidoreductases. At the same time, this strain had the highest symbiotic and nitrogen-fixing activities compared to other studied strains of nodule bacteria. As a result of the analysis of the obtained results, we proposed to use this strain in the production of an inoculant to increase soybean yield.

**Проращивание семян ряда редких растений Удмуртии в условиях *in vitro***

Кузнецова Е.Н.

Удмуртский государственный университет, г. Ижевск

[pteris-2008@mail.ru](mailto:pteris-2008@mail.ru)

Создание коллекции *in vitro* дает возможность сохранения редких и исчезающих видов растений вне их природных местообитаний. Для ввода в стерильную культуру и дальнейшего культивирования используются различные экспланты, в том числе плоды и семена. Однако при использовании семенного материала необходимо учитывать различные аспекты биологии семян и влияние применяемых стерилизующих агентов на прорастание семян.

В качестве объектов исследования были выбраны виды, занесенные в Красную книгу Удмуртской Республики (2012): *Aster amellus* L. (3 статус редкости), *Digitalis grandiflora* Mill. (2) и *Trichophorum alpinum* (L.) Pers (2). Для определения жизнеспособности семенного материала и для ввода в культуру *in vitro* использовались общепринятые методики.

Эксперименты показали, что для *Digitalis grandiflora* и *Trichophorum alpinum* необходимо использование стратификации (всхожесть составила 86,7%±4,4 и 67,78%±6,19 соответственно). Семена *Aster amellus* прорастают на свету при 25° С без применения низкотемпературной предпосевной подготовки (всхожесть 60,0%±5,8). При использовании стерилизующих агентов для ввода в культуру *in vitro* показатель всхожести у всех изученных видов снижен, что связано с высокой долей инфицированных и нежизнеспособных семян. Для *Aster amellus* наилучшим вариантом стерилизации явилось сочетание 70%-ного этилового спирта и 15%-ной перекиси водорода (всхожесть 30,0%±5,8). При обработке семян *Digitalis grandiflora* и *Trichophorum alpinum* наиболее щадящим комплексом оказалось сочетание 70%-ного этилового спирта и 10%-ного раствора препарата «Белизна» (всхожесть 50,0%±5,0 и 33,3%±4,41 соответственно). Также для всех исследованных видов в условиях *in vitro* отмечено замедление процесса прорастания семян и дальнейшего развития проростков по сравнению с аналогичными показателями в нестерильных условиях. Так, прорастание *Trichophorum alpinum* в нестерильных условиях начинается на 5 день после окончания стратификации, пик прорастания приходится на 7 день. В условиях *in vitro* данный вид начинает прорасти на 9-10 день, а пик приходится примерно на 12-14 день.

**The germination of seeds of some rare plants of Udmurtia *in vitro***

Kuznetsova E.N.

Udmurt state university, Izhevsk

[pteris-2008@mail.ru](mailto:pteris-2008@mail.ru)

The creation of the *in vitro* collection gives an opportunity to preserve rare and endangered plant species outside their natural habitats. Various explants, including fruits and seeds, are used for the introduction into sterile culture and further cultivation. However, when using a seed material it is necessary to consider various aspects of the seed biology and the effect of applied sterilizing agents on seed germination.

The objects of research are three rare species listed in the Red Book of Udmurt Republic (2012): *Aster amellus* L. (3 status of rarity), *Digitalis grandiflora* Mill (2) and *Trichophorum alpinum* (L.) Pers (2). Generally accepted methods were used to determine the viability of the seed material and for input into the culture *in vitro*.

Experiments have shown that stratification is necessary for *Digitalis grandiflora* and *Trichophorum alpinum* (germination rate was 86,7%±4,4 and 67,78%±6,19 respectively). Seeds of *Aster amellus* germinate in the light at 25° C, without the use of low-temperature pre-sowing preparation (germination rate 60,0%±5,8). When using sterilizing agents, the germinating capacity of all studied species is reduced, and it is associated with a high proportion of infected and non-viable seeds. For *Aster amellus* the best sterilization option was a combination of 70% ethyl alcohol and 15% hydrogen peroxide (germination 30,0%±5,8%). The most gentle complex for seeds of *Digitalis grandiflora* and *Trichophorum alpinum* was the combination of 70% ethyl alcohol and 10% solution of the preparation "Belizna" (germination 50,0%±5,0 and 33,3%±4,41 respectively). Also, for all studied species the process of seed germination and further development of seedlings *in vitro* conditions slowed down compared to similar indicators in non-sterile conditions. Thus, the germination of *Trichophorum alpinum* in non-sterile conditions begins on 5th day after the end of stratification, the germination peak is observed on 7th day. Under *in vitro* conditions this species begins to germinate on 9-10 days, and the peak is observed on 12-14 days.

**Кластеризация биохимического состава надземной биомассы суданской травы**

Куколева С.С.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы»,

г. Саратов.

lily74-88@mail.ru

Проведен кластерный анализ 53 образцов суданской травы по 11 признакам. На 44 шаге итерации (минимум евклидовых расстояний равен 12,542) сортообразцы суданской травы сгруппировали в 11 кластеров. По большинству признаков 1, 2, 3 и 7 кластеры – значимо не различались. В 4 кластере наблюдалось высокое содержание БЭВ – 56,28% (9 различий) и абсолютно сухого вещества – 42,07 % (6 различий). Линия Л-106, которая входит в 5 кластер отличилась высоким содержанием жира (10 различий), но низким содержанием протеина и каротина (по 6 различий). В 6-ом кластере отмечены различия по признакам: «содержание БЭВ», «содержание клетчатки» (по 9 различий). Растения этого кластера характеризуются высоким содержанием БЭВ, а низким – клетчатки. В состав 8-го кластера вошли образцы с наибольшим числом различий (9) по содержанию протеина, золы и каротина, но низким содержанием БЭВ (10 различий). 9 кластер отличился от других кластеров высоким содержанием протеина и золы с большим количеством различий – по 9, но низкое содержание абсолютно сухого вещества (9 различий), урожайность сухого вещества, выход валовой энергии, выход кормовых единиц (по 10 различий). В 10-м кластере сорт Кулундинская имеет 10 различий от других кластеров по содержанию клетчатки и низким содержание жира (4 различия). У 11-го кластера выявлены различия по урожайности сухого вещества, выхода валовой энергии, выхода кормовых единиц (по 10 различий), урожайности биомассы (9) и низкое содержание золы (7 различий).

**Clustering of the biochemical composition of the aboveground biomass of Sudanese grass**

Kukoleva S.S.

Federal State Budgetary Research Institute

of "Russian Research and Design-Technological Institute for Sorghum and Corn",

Saratov

lily74-88@mail.ru

Cluster analysis of 53 samples of Sudan grass was carried out according to 11 traits. At the 44th iteration step (the minimum of Euclidean distances is 12.542), varieties of Sudan grass were grouped into 11 clusters. For most features, clusters 1, 2, 3, and 7 did not differ significantly. In cluster 4, a high content of BES was observed - 56.28% (9 differences) and absolutely dry matter – 42.07% (6 differences). Line L-106, which is included in the 5th cluster, was distinguished by a high content of fat (10 differences), but a low content of protein and carotene (6 differences each). In the 6th cluster, differences were noted according to the signs: “BEV content”, “fiber content” (9 differences each). The plants of this cluster are characterized by a high BEV content and a low fiber content. The 8th cluster included samples with the largest number of differences (9) in the content of protein, ash and carotene, but with a low content of BEV (10 differences). Cluster 9 differed from other clusters in high content of protein and ash and a large number of differences in 9, but low content of absolutely dry matter (9 differences), dry matter yield, gross energy output, yield of feed units (10 differences each). In the 10th cluster, the Kulundinskaya variety has 10 differences from other clusters in terms of fiber content and low fat content (4 differences). Cluster 11 showed differences in dry matter yield, gross energy yield, feed unit yield (10 differences each), biomass yield (9), and low ash content (7 differences).

**Analysis of *Pisum sativum* (L.) microRNAs**

Kulaeva O.A.<sup>1</sup>, Zorin E.A.<sup>1</sup>, Zhernakov A.I.<sup>1</sup>, Romanyuk D.A.<sup>1</sup>, Gribchenko E.S.<sup>1</sup>, Afonin A.M.<sup>1</sup>, Gordon M.L.<sup>1</sup>, Shtark O.Y.<sup>1</sup>, Tikhonovich I.A.<sup>1,2</sup>, Zhukov V.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Saint-Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

[okulaeva@arriam.ru](mailto:okulaeva@arriam.ru)

Non-coding RNAs are essential regulators of various processes of plant development, biotic and abiotic interactions. One of the main ones are microRNAs. To date, there is limited information about microRNAs of valuable pulse crop - garden pea (*Pisum sativum* L.) In this study pea microRNAs were analyzed by Next Generation Sequencing (NGS) technologies. Studies included the detection of microRNAs and their analysis in experiments on the interaction of plants with nodule bacteria and arbuscular mycorrhiza fungi. As a result, sets of pea microRNAs from lower and upper parts of plants were identified and annotated. In addition, identification of cleavage sites in transcripts was done by analysis of degradome sequencing. And targets of pea microRNAs were revealed.

Next, we studied the influence of the humidity factor on the formation of arbuscular mycorrhiza symbiosis. The role of certain microRNAs in this process has also been studied. For this, pea plants were grown under two conditions: 1) whole plant in a completely closed sterile box; 2) only the root system in a closed sterile box. Studies were carried out on both control plants and those inoculated with arbuscular mycorrhiza fungi. Expression of microRNA in roots and shoots was examined using the TrueQuant SmallRNA Seq Kit (GenXPro). Analysis of differential expression was carried out both to study the processes of mycorrhization and to analyze the effect of environmental humidity.

Separately, the identification of microRNAs, the expression of which is stable, was carried out. As a result, we identify several microRNAs with stable expression level, as for all conditions and for different interaction processes separately. These microRNAs can be considered as reference sequences for the further study of expression by RealTime PCR. Expression analysis of some pea microRNAs was done by RealTime PCR. Certain pea microRNAs were shown to be involved in the processes of legume-rhizobia symbiosis.

Acknowledgements: This work was supported by RFBR grant No. 20-04-01136.

***Brassica oleracea* как потенциальный стабилизатор меди при использовании биоудобрения на основе биочара**

Кумар А., Малева М.Г., Борисова Г.Г., Воропаева О.В., Трипти  
Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,  
г. Екатеринбург, Россия.  
[adarsh.biorem@gmail.com](mailto:adarsh.biorem@gmail.com)

Актуальной задачей в области современных агротехнологий является создание биопрепаратов на основе стимулирующих рост растений ризобактерий (PGPR), способствующих не только увеличению продуктивности листовых культур, но и стабилизации тяжелых металлов в подземных органах. Цель работы – изучить влияние бактериального биоудобрения (ББУ) на основе металлоторерантных PGPR и древесного биочара на накопление меди у *Brassica oleraceae* L. Для приготовления ББУ использовали жидкий инокулят *Bacillus altitudinis* TF16a в концентрации  $10^8$  КОЕ/мл. Растения выращивали в горшечных культурах в течение 30 дней. Варианты опыта включали: контроль (субстрат на основе торфа); субстрат с добавлением 5 % ББУ; субстрат с добавлением 100 мг/кг Cu (сульфатная форма); субстрат с добавлением 5 % ББУ и 100 мг/кг Cu. В исходном субстрате и при добавлении ББУ содержание меди было в 2 раза ниже ПДК (25 мг/кг). В конце вегетации содержание Cu в контрольных побегах и корнях *B. oleraceae* составляло 7 и 10 мг/кг сухого веса, что соответствует агрономической норме содержания металла у культурных растений. Аналогичные данные наблюдались при добавлении ББУ. При внесении Cu, ее аккумуляция в побегах и корнях возрастала в 3,4 и 2,7 раз, соответственно, по сравнению с контрольными растениями. Совместное добавление ББУ и меди существенно снижало ее аккумуляцию (в 3,0 раза в побегах и 2,0 раза в корнях). Таким образом, можно предположить, что ББУ на основе металлоторерантных PGPR (*B. altitudinis* TF16a) и биочара препятствовало избыточному накоплению ионов меди и стабилизировало их в подземной биомассе. Исследования выполнены за счет гранта Российского научного фонда № 21-76-00011, <https://rscf.ru/project/21-76-00011>.

***Brassica oleracea* as a putative copper stabilizer using a biochar based biofertilizer**

Kumar A., Maleva M.G., Borisova G.G., Voropaeva O.V., Tripti  
Ural Federal University named after the first President of Russia B. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia.  
[adarsh.biorem@gmail.com](mailto:adarsh.biorem@gmail.com)

An urgent task in the field of modern agricultural technologies is the creation of bioformulation using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), which contribute not only to increase the productivity of leaf crops, but also to stabilize heavy metals in underground organs. The aim of the work was to study the effect of bacterial biofertilizer (BBF) based on metal tolerant PGPR and woody biochar on copper accumulation in *Brassica oleraceae* L. BBF was prepared using a liquid inoculum of *Bacillus altitudinis* TF16a at the concentration of  $10^8$  CFU/mL. Plants were grown in pot experiments for 30 days. The experiment treatments included: control (peat based substrate); substrate with the 5% BBF; substrate with 100 mg/kg Cu (sulfate form); substrate with 5% BBF and 100 mg/kg Cu. In the control substrate and with the addition of BBF, the copper content was 2 times lower than the maximum permissible concentration (25 mg/kg). At the end of plant growth, the Cu in the control shoots and roots of *B. oleraceae* was 7 and 10 mg/kg DW, which corresponds to the agronomic norm for the metal content in crops. Similar data were observed when BBF was added. When Cu was added, its accumulation in shoots and roots increased by 3.4 and 2.7 times, respectively, compared with control plants. The combined action of BBF and Cu significantly reduced its accumulation (by 3 times in shoots and 2 times in roots). Thus, it can be concluded that BBF based on metal tolerant PGPR (*B. altitudinis* TF16a) and biochar restricted excessive accumulation of copper and stabilized them in the underground biomass.

The work was supported by the Russian Science Foundation grant № 21-76-00011, <https://rscf.ru/project/21-76-00011>.



**Деколоризация синтетических красителей с использованием иммобилизованных непатогенных бактерий**<sup>1,2</sup>Купряшина М.А., <sup>1</sup>Пономарева Е.Г., <sup>1,2</sup>Авдеева Е.С., <sup>1,2</sup>Пылаев Т.Е.<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), г. Саратов.<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, г. Саратов.  
kupryashina\_m@mail.ru

Одними из наиболее распространенных органополютантов, обладающих выраженными канцерогенными и мутагенными свойствами, являются синтетические красители. На сегодняшний день, для соответствия предъявляемым современным требованиям к качеству сточных вод, в практику внедряются биологические методы очистки, основанные на ферментативной активности микроорганизмов.

В наших предыдущих работах было показано, что бактерии рода *Azospirillum* участвуют в окислении и сорбции синтетических красителей. Несмотря на то, что азоспириллы встречаются в консорциуме с бактериями, осуществляющими очистку сточных вод, высокие концентрации органополютантов в жидкой среде резко снижают эффективность деградации. Приемы иммобилизации могут способствовать интенсификации физиологических возможностей азоспирилл. Целью настоящей работы явилось исследование возможности использования иммобилизованных клеток азоспирилл в реакциях обесцвечивания синтетических красителей.

В качестве модельного препарата был выбран синтетический краситель малахитовый зеленый, объектом исследования являлся штамм *A. brasilense* SR80. В работе использовался метод мягкой иммобилизации в альгинатный гидрогель.

Результаты исследования показали эффективность деколоризации высоких концентраций малахитового зеленого иммобилизованными клетками азоспирилл, по сравнению с суспензионными. В первые сутки нами отмечалось резкое падение концентрации красителя от 5 до 15% по сравнению с контролем, связанное исключительно с адсорбционной способностью самого альгината. Дальнейшие изменения в интенсивности обесцвечивания, положительно коррелирующие с увеличением ферментативной активности, отмечались с 4-х суток инкубации. Проведение повторных циклов обесцвечивания (10 дней инкубации с последующей отмывкой Са-альгинатных шариков в фосфатно-солевом буфере) показало возможность реиспользования иммобилизованных клеток. Определение функциональности иммобилизованных клеток во времени показало, что *A. brasilense* SR80 не теряют жизнеспособность и сохраняют степень деколоризации не ниже 42% после 6 месяцев хранения при 4°C в стерильном растворе хлорида кальция.

Полученные данные достаточно актуальны в связи с активным на сегодняшний день поиском перспективных биореакторов на основе экологически чистых сорбентов и непатогенных микроорганизмов, способных к окислению токсичных поллютантов, сочетающих достоинства сорбционного и биодеструктивного методов очистки.

**Decolorization of synthetic dyes using immobilized non-pathogenic bacteria**<sup>1,2</sup> Kupryashina M.A., <sup>1</sup> Ponomareva E.G., <sup>1,2</sup> Avdeeva E.S., <sup>1,2</sup> Pylaev T.E.<sup>1</sup> Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences (IBPPM RAS), Saratov.<sup>2</sup> Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Saratov.  
kupryashina\_m@mail.ru

Synthetic dyes are one of the most common organopollutants with pronounced oncogenic and mutagenic properties. To date, in order to meet the modern requirements for the quality of wastewater, biological treatment methods based on the enzymatic activity of microorganisms are being introduced into practice.

In our previous works, it was shown that bacteria of the genus *Azospirillum* are involved in the oxidation and sorption of synthetic dyes. Despite the fact that azospirillum occurs in consortium with wastewater treatment bacteria, high concentrations of organopollutants in a liquid medium dramatically reduce the degradation efficiency. Immobilization techniques can contribute to the intensification of the physiological capabilities of azospirillum. The aim of this work was to study the possibility of using immobilized azospirilla cells in the bleaching reactions of synthetic dyes.

The synthetic dye malachite green was chosen as a model substance; the *A. brasilense* SR80 strain was the object of study. We used the method of soft immobilization in alginate hydrogel.

The results of the study showed the effectiveness of decolorization of high concentrations of malachite green by immobilized azospirillum cells, compared with suspension ones. On the first day, we noted a sharp drop in the concentration of the dye from 5 to 15% compared with the control, associated exclusively with the adsorption capacity of the alginate itself. Further changes in the intensity of discoloration, positively correlated with an increase in enzymatic activity, were noted starting from the 4th day of incubation. Severally repeated cycles of decolorization (consisted of 10 days of incubation followed by washing of Ca-alginate beads in phosphate-buffered saline) showed the ability of reusing immobilized cells. Determination of the functionality of immobilized cells over time showed that *A. brasilense* SR80 did not lose viability and retained a degree of decolorization of at least 42% after 6 months of storage at 4°C in a sterile calcium chloride solution.

The obtained data are quite relevant in connection with the current active search for promising bioreactors based on environmentally friendly sorbents and non-pathogenic microorganisms capable of oxidizing toxic pollutants, combining the advantages of sorption and biodestructive purification methods.

### Сравнительная оценка фитозащитного и ростстимулирующего действия белорусских и вьетнамских штаммов бактерий-антагонистов

<sup>1</sup>Купцов В.Н., <sup>1</sup>Шмыга Е.Ю., <sup>1</sup>Мандрик-Литвинкович М.Н., <sup>1</sup>Коломиец Э.И., <sup>2</sup>Левченко Д.Д.

<sup>1</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, г. Минск.

[kuptsov@hotmail.com](mailto:kuptsov@hotmail.com)

Необходимым условием успешного применения комплексных микробных препаратов является способность бактерий проявлять свои функциональные свойства в различных почвенно-климатических условиях. С этой целью в данной работе была проведена сравнительная оценка бактериальных штаммов, выделенных из природных субстратов Беларуси и Вьетнама, по способности контролировать развитие фитопатогенов и оказывать стимулирующее действие на рост растений.

Из образцов почвы и речного ила выделены два белорусских штамма *Bacillus amyloliquefaciens* 12П и 1ИМ и два вьетнамских штамма *Bacillus amyloliquefaciens* 2Вб и 16Вп, которые в опытах *in vitro* задерживали рост фитопатогенных грибов, широко распространенных в Беларуси (*Fusarium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*) и Вьетнаме (*Phytophthora capsici*, *Lasioidiplodia sp.*, *Neoscytalidium dimidiatum*).

В модельных опытах в сосудах с искусственно инфицированной почвой изучено фитозащитное действие отобранных штаммов бактерий в отношении фузариозных корневых гнилей пшеницы. Установлено, что внесение культуральной жидкости бактерий в концентрации 10% в почву снижает поражение всходов корневыми гнилями в 1.7 – 2.0 раза. Биологическая эффективность в отношении возбудителя корневой гнили составила 49% для белорусских штаммов 12П, 1ИМ и 40%, 45% для вьетнамских штаммов 16Вп, 2Вб, соответственно.

Проведена оценка ростстимулирующего действия 5% культуральной жидкости бактериальных штаммов в отношении растений редиса. Показано, что выраженный ростстимулирующий эффект от обработки семян проявлялся в увеличении длины корней и всходов на 10 – 15%. Наибольшим ростстимулирующим действием характеризовались вьетнамские штаммы 2Вб и 16Вп. Все изученные штаммы синтезировали индоллил-3-уксусную кислоту в количестве 20,9 – 53,8 мкг/мл. Показано, что белорусские штаммы 12П и 1ИМ проявляют также фосфатмобилизирующую и азотфиксирующую активности, что может способствовать улучшению минерального питания растений. Все изученные штаммы обладают эндо-1,4-β-глюканазной активностью в диапазоне от 0,706 до 1,749 ед./мл, которая играет важную роль в минерализации растительных остатков в почве. Таким образом, отобранные штаммы бактерий представляют потенциальную ценность в качестве агентов биологического контроля фитопатогенов, стимуляции роста сельскохозяйственных растений и повышения почвенного плодородия. Данная работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант № Б21ВА-002).

### Comparative evaluation of phytoprotective and growth-stimulating effects of Belarusian and Vietnamese strains of antagonistic bacteria

<sup>1</sup>Kuptsov V.N., <sup>1</sup>Shmyga E.Yu., <sup>1</sup>Mandrik-Litvinkovich M.N., <sup>1</sup>Kolomiets E.I., <sup>2</sup>Levchenko D.D.

<sup>1</sup>Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk

<sup>2</sup>Belarusian State University, Minsk.

[kuptsov@hotmail.com](mailto:kuptsov@hotmail.com)

An essential condition for the successful application of complex microbial preparations is the ability of bacteria to display their functional properties under various soil and climatic conditions. To meet this research objective a comparative assessment of bacterial strains isolated from natural substrates of Belarus and Vietnam was carried out to check the ability to control the development of phytopathogens and to cause stimulating effect on plant growth.

Two Belarusian strains *Bacillus amyloliquefaciens* 12P and 1IM and two Vietnamese strains of *Bacillus amyloliquefaciens* 2Bb and 16Vp isolated from soil and river silt samples, during *in vitro* experiments inhibited growth of phytopathogenic fungi widely distributed in Belarus (*Fusarium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*) and Vietnam (*Phytophthora capsici*, *Lasioidiplodia sp.*, *Neoscytalidium dimidiatum*).

In model experiments in vessels with artificially infected soil, phytoprotective effect of the selected bacterial strains against fusarial root rot of wheat was studied. It was found that introduction of bacterial cultural liquid in 10% concentration into the soil reduced the damage of seedlings by root rot 1.7 – 2.0 times. The biological efficacy against the root rot pathogen was 49% for Belarusian strains 12P, 1IM and 40%, 45% for Vietnamese strains 16Vp, 2Bb, respectively.

The growth-stimulating effect of 5% cultural liquid of bacterial strains on radish plants was evaluated. It was shown that the pronounced growth-stimulating effect of seed treatment was manifested as 10 - 15% increase in the length of roots and seedlings. The Vietnamese strains 2Bb and 16Vp were characterized by the remarkable growth-promoting action. All studied strains synthesized indolyl-3-acetic acid in amount of 20.9 – 53.8 µg/ml. It was shown that Belarusian strains 12P and 1IM also exhibit phosphate-mobilizing and nitrogen-fixing activities, which can upgrade mineral nutrition of plants. All studied strains possess endo-1,4-β-glucanase activity in the range from 0.706 to 1.749 units/ml, playing a vital role in the mineralization of plant residues in soil. Thus, the selected bacterial strains are of potential value as agents of biological control of phytopathogens, stimulating growth of agricultural plants and increasing soil fertility.

This work was carried out with the financial support of the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant No. Б21ВА-002).

**Влияние *Bacillus subtilis* на рост растений в условиях нефтяного загрязнения**

Курамшина З.М., Саттарова Л.Р.

Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета, г. Стерлитамак  
[kuramshina\\_zilya@mail.ru](mailto:kuramshina_zilya@mail.ru)

Токсические вещества, присутствующие в сырой нефти, при попадании в окружающую среду отрицательно влияют на рост и развитие растений. Фиторемедиация, основанная на сотрудничестве растений и микробов, является многообещающей стратегией восстановления почв, загрязненных нефтепродуктами. Растения могут адаптироваться и смягчать стрессовые условия, однако их рост и биомасса часто ограничены в таких условиях и как следствие эффективность фиторемедиации снижается. Бактерии, стимулирующие рост растений, можно использовать для усиления роста растений в стрессовых условиях, тем самым повышая эффективность фиторемедиации.

Целью работы было исследовать влияние предпосевной обработки семян эндофитными бактериями *Bacillus subtilis* на рост растений в условиях нефтяного загрязнения. В результате проведенных исследований было показано, что растения, семена которых были предварительно обработаны бактериями, в условиях нефтяного загрязнения росли лучше, чем необработанные растения. Данные бактерии способны стимулировать рост растений за счет продукции различных биологически активных веществ, в том числе и фитогормонов – стимуляторов роста, а также за счет улучшения минерального питания растений. Воздействие бактерий на растения обеспечивается и индукцией устойчивости, а также улучшения структуры почвы, уменьшения степени воздействия загрязнения почв ксенобиотиками. Следовательно, эндофиты могут обладать способностью к деградации или обезвреживанию органических загрязнителей, что делает их применимыми для процессов фиторемедиации.

**Effect of *Bacillus subtilis* on plant growth under conditions of oil pollution**

Kuramshina Z.M., Sattarova L.R.

Sterlitamak branch of the Bashkir State University, Sterlmtamak  
[kuramshina\\_zilya@mail.ru](mailto:kuramshina_zilya@mail.ru)

Toxic substances in crude oil adversely affect the growth and development of plants when released into the environment. Phytoremediation is based on the cooperation of plants and microbes and is an important strategy for the restoration of soils contaminated with oil products. Plants can adapt and mitigate stressful conditions, however, their growth and biomass are often limited under such conditions and, as a result, the efficiency of phytoremediation is reduced. Plant growth promoting bacteria can be used to enhance plant growth under stressful conditions, thereby increasing the efficiency of phytoremediation.

The aim of the work was to investigate the effect of presowing seed treatment with endophytic bacteria *Bacillus subtilis* on plant growth under conditions of oil pollution. As a result of the research, it was shown that plants whose seeds were pretreated with bacteria grew better under conditions of oil pollution than untreated plants. These bacteria are able to stimulate plant growth through the production of various biologically active substances, including phytohormones - growth stimulants, as well as by improving the mineral nutrition of plants. The impact of bacteria on plants is also ensured by the induction of resistance, as well as by improving the structure of the soil, reducing the degree of impact of soil pollution by xenobiotics. Therefore, endophytes may have the ability to degrade or render harmless organic pollutants, which makes them applicable for phytoremediation processes.

**Влияние *Bacillus subtilis* на устойчивость растений к нефтяному загрязнению**

Курамшина З.М., Саттарова Л.Р.

Стерлитамакский филиал Башкирского государственного университета, г. Стерлитамак  
[kuramshina\\_zilya@mail.ru](mailto:kuramshina_zilya@mail.ru)

Сырая нефть, попадая в окружающую среду, становится серьезной экологической проблемой. Токсические вещества, присутствующие в нефти, как известно, вызывают у растений множество разнообразных физиологических и биохимических повреждений. Они способствуют развитию окислительного стресса, прямо или косвенно повышая уровень активных форм кислорода, что в дальнейшем приводит к повреждению мембранных липидов, белков, ферментов, пигментов хлоропластов, нуклеиновых кислот.

Целью работы было исследовать влияние обработки семян эндофитными бактериями *Bacillus subtilis* на биохимические показатели растений в условиях нефтяного загрязнения. В результате проведенных экспериментов было показано, обработка семян бактериями вызывала увеличение активности ферментов каталазы и пероксидазы в надземной части растений, растущих в чистой почве. При загрязнении почвы нефтью эта закономерность сохранялась – активность ферментов в бактеризованных растениях была всегда выше, чем в необработанных бактериями растений. У обработанных бактериями растений содержание малонового диальдегида при росте в почве, содержащей нефть в различных концентрациях, было меньше, чем у необработанных растений, выросших при тех же концентрации нефти в почве. Таким образом, повышение активности ферментов у инокулированных клетками эндофитных бактерий *B. subtilis* растений свидетельствует об эффективной работе ферментативной антиоксидантной системы в условиях стресса и положительно сказывается на росте растений. Доказательством этого является и более низкий уровень продуктов перекисного окисления липидов.

**Effect of *Bacillus subtilis* on plant resistance to oil pollution**

Kuramshina Z.M., Sattarova L.R.

Sterlitamak branch of the Bashkir State University, Sterlitamak  
[kuramshina\\_zilya@mail.ru](mailto:kuramshina_zilya@mail.ru)

Crude oil becomes a serious environmental problem when released into the environment. Toxic substances that are present in oil are known to cause a wide variety of physiological and biochemical damage to plants. They contribute to the development of oxidative stress, directly or indirectly increasing the level of reactive oxygen species, which further leads to damage to membrane lipids, proteins, enzymes, chloroplast pigments, and nucleic acids.

The aim of the work was to investigate the effect of seed treatment with bacteria *Bacillus subtilis* on the biochemical parameters of plants under conditions of oil pollution. As a result of the experiments, it was shown that seed treatment with bacteria caused an increase in the activity of catalase and peroxidase enzymes in the aerial parts of plants growing in clean soil. When the soil was contaminated with oil, this regularity was preserved: the activity of enzymes in bacterized plants was always higher than in plants not treated with bacteria. In plants treated with bacteria, the content of MDA when growing in soil containing oil in various concentrations was lower than in untreated plants grown at the same concentration of oil in the soil. Thus, an increase in the activity of enzymes in plants inoculated with cells of bacteria *B. subtilis* indicates the effective operation of the enzymatic antioxidant system under stress conditions and has a positive effect on plant growth. This is also evidenced by the lower level of lipid peroxidation products.

**Влияние внесения биочара инокулированного свободноживущими азотфиксирующими бактериями на почвенный микробиом**

<sup>1</sup>Курынцева П.А., <sup>1</sup>Глазунова Д.М., <sup>1</sup>Галицкая П.Ю., <sup>1</sup>Селивановская С.Ю.  
<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Казанский Федеральный Университете», г. Казань  
[polinazwerewa@yandex.ru](mailto:polinazwerewa@yandex.ru)

Экологизация земледелия предполагает собой отказ от использования минеральных удобрений и пестицидов, однако необходимость поддержания здоровья почв и почвенного плодородия сохраняется. Применение органических удобрений и биопрепаратов рассматривается в качестве альтернативы химическим средствам защиты растений и минеральных удобрений. Однако, и интродукция новых штаммов, и внесение инородных органических субстратов (например, компостов, пироугля) приводит к изменению микробного сообщества почв. Именно состав и функционирование микробного сообщества почв определяет почвенное здоровье и плодородие. В данной работе было оценено влияние биочара из куриного помета инокулированного свободноживущими азотфиксирующими бактериями на функционирование почвенного микробного сообщества по изменению функциональной активности микробного сообщества почвы (Biolog Ecoplate™, респираторная активность почвы, активность экзоферментов лейциназы и аминопептидазы). Установлено, что внесение биочара, инокулированного свободноживущими азотфиксирующими бактериями не привело к достоверному снижению ферментативной активности почв и функционального разнообразия к 30 суткам вегетационного эксперимента, в отличие от внесения минеральных удобрений (Диаммофоска).

**Effect of biochar application inoculated with free-living nitrogen-fixing bacteria on soil microbiome**

<sup>1</sup>Kuryntseva P.A., <sup>1</sup>Glazunova D.M., <sup>1</sup>Galitskaya P.Yu., <sup>1</sup>Selivanovskaya S.Yu.  
<sup>1</sup>Kazan Federal University, Kazan.  
[polinazwerewa@yandex.ru](mailto:polinazwerewa@yandex.ru)

The organic farming involves the rejection of the use of mineral fertilizers and pesticides, but the need to maintain soil health and soil fertility remains. The use of organic fertilizers and biological agents is considered as an alternative to chemical plant protection and mineral fertilizers. However, both the introduction of new strains and the introduction of foreign organic substrates (for example, composts, biochars) lead to changes in the soil microbial community. The structure and functioning of the soil microbial community determinate soil health and fertility. In this work, we evaluated the effect of biochar from chicken manure inoculated with free-living nitrogen-fixing bacteria on the functioning of the soil microbial community by detection the functional activity of the soil microbial community (Biolog Ecoplate™, soil respiratory activity, activity of exoenzymes, like leucinase and aminopeptidase). It was found that the introduction of biochar inoculated with free-living nitrogen-fixing bacteria did not lead to a significant decrease in soil enzymatic activity and functional diversity by the 30th day of the vegetation experiment, in contrast to the application of mineral fertilizers (Diammofoska).

**Идентификация гена *wspR* у ризосферных бактерий рода *Pseudomonas***<sup>1,2</sup>Лавина А.М., <sup>1,2</sup>Хакимова Л.Р., <sup>1,2</sup>Чубукова О.В., <sup>1,2</sup>Вершинина З.Р.<sup>1</sup>ФГБНУ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа.<sup>2</sup>Уфимский государственный нефтяной технический университет, г. Уфа  
owlwoman@mail.ru

Ризосферные микроорганизмы должны быстро адаптироваться к изменениям окружающей среды, чтобы выжить в условиях высокой конкуренции и экологического стресса. Смена стратегии образа жизни в ответ на сигналы окружающей среды и переход от планктонной, единичной клетки к поверхностно-ассоциированному сообществу клеток, называемому биопленкой, опосредован изменением уровня уникального вторичного мессенджера – циклического димера гуанозинмонофосфата (c-di-GMP). Регулирование концентрации c-di-GMP в клетке осуществляется дигуанилатциклазами и фосфодиэстеразами, которые ответственны за его производство и деградацию. Дигуанилатциклаза, кодируемая геном *wspR*, представляет собой консервативный регулятор синтеза c-di-GMP грамотрицательных бактерий. Для дальнейших исследований роли дигуанилатциклазы в процессах биопленкообразования ризосферных бактерий рода *Pseudomonas*, в рамках данной работы, нами был проведен скрининг штаммов ризосферных псевдомонад на предмет наличия в их геноме гена *wspR*.

Для того чтобы подобрать наиболее универсальные праймеры к гену *wspR*, нами был проведен сравнительный анализ последовательностей исследуемого гена у *P. asiatica*, *P. juntendi*, *P. monteilii* и *P. putida*, представленных в GenBank (ресурс базы данных NCBI), с помощью ресурса Blast, а также с помощью программы Megaline пакета «Lasergene» фирмы (DNASTAR, Inc., США). Подбор специфичных праймеров производили в программе PrimerSelect пакета Lasergene (DNASTAR, Inc., США). Амплификацию участков ДНК осуществляли с использованием стандартных наборов на амплификаторе «Терцик МС-2», «ДНК-технология». Длина амплифицированного фрагмента гена составляла 389 п.н.

В результате скрининга 10 штаммов *Pseudomonas* на наличие у них гена *wspR*, нами был отмечен положительный результат у 9 штаммов. Изучаемый ген не был идентифицирован у *Pseudomonas chlororaphis*. Анализ данных, полученных при секвенировании, показал, что найденные последовательности генов *wspR* были гомологичны последовательности, зарегистрированной в GenBank под номером KT186439.1.

Таким образом, было показано, что ген *wspR* является высококонсервативным, а также довольно часто идентифицируется в геноме ризосферных псевдомонад, что, в свою очередь, указывает на важную роль, которую играет кодируемая этим геном дигуанилатциклаза.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России (№ АААА-А21-121011990120-7, «Евразийский карбоновый полигон» на 2022-2023 годы FEUR-2022-0001) с использованием оборудования ЦКП «Агидель» и УНУ «Кодинк» УФИЦ РАН.

**Identification of the *wspR* gene in the rhizospheric *Pseudomonas***<sup>1,2</sup>Lavina A.M., <sup>1,2</sup>Khakimova L.R., <sup>1,2</sup>Chubukova O.V., <sup>1,2</sup>Vershinina Z.R.<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa.<sup>2</sup>Ufa State Petroleum Technological University, Ufa  
owlwoman@mail.ru

Rhizospheric microorganisms must quickly adapt to environmental changes in order to survive in conditions of high competition and environmental stress. The change in lifestyle strategy in response to environmental signals and the transition from a planktonic, single cell to a surface-associated cell community called a biofilm is mediated by a change in the level of a unique second messenger, the cyclic dimer of guanosine monophosphate (c-di-GMP). Regulation of the concentration of c-di-GMP in the cell is carried out by diguanylate cyclases and phosphodiesterases, which are responsible for its production and degradation. Diguanylate cyclase, encoded by the *wspR* gene, is a conservative regulator of c-di-GMP synthesis in Gram-negative bacteria. For further studies of the role of diguanylate cyclase in the processes of biofilm formation of rhizospheric bacteria of the genus *Pseudomonas*, in the framework of this work, we screened strains of rhizospheric *Pseudomonas* for the presence of the *wspR* gene in their genome.

In order to select the most universal primers for the *wspR* gene, we conducted a comparative analysis of the sequences of the studied gene in *P. asiatica*, *P. juntendi*, *P. monteilii*, and *P. putida*, presented in GenBank (NCBI database resource), using the Blast resource, as well as using the Megaline program of the Lasergene package of the company (DNASTAR, Inc., USA). The selection of specific primers was carried out using the PrimerSelect program of the Lasergene package (DNASTAR, Inc., USA). Amplification of DNA segments was carried out using standard kits on a Tertsik MS-2 amplifier, DNA-technology. The length of the amplified gene fragment was 389 bp.

As a result of screening 10 strains of *Pseudomonas* for the presence of the *wspR* gene, we noted a positive result in 9 strains. The *wspR* gene has not been identified in *Pseudomonas chlororaphis*. The data obtained during sequencing of the amplified sequences showed that the sequenced sequence of the *wspR* gene was homologous to the sequence registered under the number KT186439.1.

Thus, it was shown that the *wspR* gene is highly conserved and is also quite often identified in the genome of rhizospheric pseudomonads, which, in turn, indicates an important role played by diguanylate cyclase encoded by this gene.

The work was carried out within the framework of the state order of the Ministry of Education and Science of Russia (no. АААА-А21-121011990120-7, "Eurasian carbon polygon" for 2022-2023 FEUR-2022-0001) with using the instrument park of the RCCU "Agidel" and "KODINK" UFRC RAS.

### Технологичность микробиологических препаратов в растениеводстве

Лактионов Ю.В., Косульников Ю.В., Кожемяков А.П.

ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.

Laktionov@list.ru

Штаммы клубеньковых бактерий сои *Bradyrhizobium japonicum* обладают не только различной симбиотической активностью, но и различной технологичностью, т.е. своей пригодностью для производства бактериальных биопрепаратов. Одним из наиболее важных технологических качеств ризобий является их устойчивость к осмотическому стрессу на обработанных семенах, что позволяет сельскохозяйственным предприятиям обрабатывать семена заблаговременно.

Клубеньковые бактерии способны вступать в симбиотические взаимодействия с бобовыми растениями с образованием на корнях растений азотфиксирующих клубеньков. Данное явление носит ярко-выраженную практическую значимость. Штаммы современных инокулянтов обладают высокой вирулентностью и азотфиксирующей активностью, но, зачастую, неудовлетворительными технологическими свойствами. В частности, многие штаммы ризобий являются чувствительными к осмотическому стрессу, которому подвергаются при высушивании на обработанных семенах, что приводит к существенному сокращению их численности на момент заделки семени в почву. Данное явление не позволяет в полной мере реализовать потенциал продуктивности бобово-ризобиального симбиоза, несмотря на высокую биологическую совместимость микробного симбионта и растительного хозяина. Наши исследования были направлены на определение устойчивости различных коллекционных штаммов ризобий к осмотическому стрессу посредством изучения динамики сокращения числа жизнеспособных клеток на обработанных семенах. Также изучалось влияние состава питательной среды на устойчивость клеток к осмотическому стрессу.

В результате проведенных исследований показано, что изучаемые штаммы существенно отличаются по степени своей устойчивости к высушиванию. Так, штамм 634б, будучи нанесенным на семена в составе инокулянта (исходный титр  $3,4 \cdot 10^9$  КОЕ/мл) из расчета 2 л на 1 т семян, за 24 часа сокращался в численности с  $280 \cdot 10^3$  КОЕ на 1 семени до  $15 \cdot 10^3$  КОЕ на семени, в то время как титр ризобий штамма Н9 даже за 72 часа не падал ниже  $50 \cdot 10^3$  КОЕ на 1 семени. Кроме того, показано, что состав питательной среды может оказывать существенное влияние на жизнеспособность ризобий обоих штаммов. В частности, замена дрожжевого экстракта на пептон способствует повышению жизнеспособности клеток ризобий обоих штаммов на обработанных семенах. Повышение содержания пептона вплоть до 3 г/л способствует повышению устойчивости клеток к высушиванию, обеспечивая спустя 24 часа после инокуляции наличие не менее  $40 \cdot 10^3$  КОЕ на 1 семени штамма 634б и не менее  $215 \cdot 10^3$  КОЕ на 1 семени штамма Н9.

### Manufacturability of microbiological preparations in crop production

Laktionov Y.V., Kosulnikov Y.V., Kozhemyakov A.P.

All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology (ARRIAM), RAAS,

St. Petersburg.

Laktionov@list.ru

Strains of nodule bacteria of soybean *Bradyrhizobium japonicum* have different symbiotic activity and adaptability, i.e. its suitability for the production of bacterial biological products. An important technological quality of rhizobia is resistance to osmotic stress on treated seeds, which allows agricultural enterprises to process seeds in advance.

Nodule bacteria enter into symbiotic interactions with leguminous plants and form nitrogen-fixing nodules on plant roots. This phenomenon is of great practical importance. The strains of modern inoculants have high virulence and nitrogen-fixing activity, but often unsatisfactory technological properties. Many strains of rhizobia are sensitive to the osmotic stress they experience when dried on treated seeds. This leads to a significant reduction in their bacteria at the time the seed is planted in the soil. This does not allow to fully realize the productivity potential of the legume-rhizobium symbiosis, despite the high biological compatibility of the microbial symbiont and the plant host. Our studies were aimed at determining the resistance of various collection strains of rhizobia to osmotic stress. The dynamics of the reduction in the number of viable cells on the treated seeds was studied. The influence of the composition of the nutrient medium on the resistance of cells to osmotic stress was also studied.

As a result of the studies, it was shown that the studied strains differ significantly in the degree of their resistance to drying. Thus, strain 634b, being applied to seeds as part of an inoculant (initial titer  $3.4 \cdot 10^9$  CFU/ml) at the rate of 2 liters per 1 ton of seeds, decreased in number from  $280 \cdot 10^3$  CFU per 1 seed to  $15 \cdot 10^3$  CFU within 24 hours on the seed. While the titer of rhizobia strain H9 did not fall below  $50 \cdot 10^3$  CFU per seed even in 72 hours. In addition, it was shown that the composition of the nutrient medium can have a significant effect on the viability of rhizobia of both strains. Replacing the yeast extract with peptone increased the viability of rhizobia cells of both strains on the treated seeds. Increasing the content of peptone to 3 g/l increases the resistance of cells to desiccation. 24 hours after inoculation, the presence of  $40 \cdot 10^3$  CFU per 1 seed of strain 634b and  $215 \cdot 10^3$  CFU per 1 seed of strain H9.

**Modulation of growth and development of wheat genotypes contrasting in drought sensitivity by endophytic bacteria *Bacillus subtilis* under the influence of herbicides and soil drought**

<sup>1</sup>Lastochkina O.V., <sup>1</sup>Fedorova K.A., <sup>1,2</sup>Ibragimov A.E., <sup>1,2</sup>Lastochkina A.A., <sup>1</sup>Garshina D.Y.,

<sup>2</sup>Yakupova A.I., <sup>2</sup>Avtushenko I.A.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa, Russia

<sup>2</sup>Bashkir State University, Ufa

oksana.lastochkina@ufaras.ru

Soft spring wheat (*Triticum aestivum* L.) is a strategically important grain and bread crop, which is of great importance in ensuring food security in the world. Yield and grain quality losses of wheat from drought and its combinations with other stress factors, including the effect of the use of herbicides to control weeds, cause significant damage to agriculture, the food industry and the economy, which determines the urgency of solving this problem. In this work, we studied the influence of pre-sowing seed treatment with bacterial endophytes *Bacillus subtilis* (strains 10-4 and 26D) on growth and development of two wheat genotypes (*Triticum aestivum* L., drought tolerant (DT) cv. Ekada 70; drought sensitive (DS) cv. Salavat Yulaev) under combined herbicide and drought stresses. The seeds treated with *B. subtilis* 10-4, *B. subtilis* 26D or water (control), were sown in pots with soil and grown under controlled conditions (pot experiments). Soil drought was simulated in 72 hours after spraying of the 17-days old wheat plants (3-4 leaf phase) with herbicide Sekator Turbo (Bayer, Germany) by stopping irrigating the plants for 7 days (until the water deficit was reached, 60% lower than the normal irrigated control groups) with subsequent resumption of normal irrigation. Morphological and physiological assessment of the state of the plants was carried out in dynamics at 4 points: 1) before exposure to stresses (16-days old plants, 3-4 leaf phase); 2) after 96 hours of drought exposure; 3) after 168 hours of drought exposure; 4) 96 hours after the resumption of normal irrigation (recovery). It was found that exposure to herbicide and drought stresses slowed down growth of both wheat genotypes showing higher damaging effects for DS cv. Salavat Yulaev, which was reflected in the reduced plant length, biomass, leaf chlorophyll (Chl) content, leaf area, and increased lipid peroxidation (LPO) of cell membranes. It was revealed that pre-treatment with *B. subtilis* 10-4 and *B. subtilis* 26D mitigated (in different levels) the negative impacts of herbicide and drought stresses on plants growth (length of roots and shoots, their fresh and dry biomass), leaf photosynthetic activity (i.e., Chl and leaf area), and membrane integrity (i.e., malondialdehyde (MDA) - a marker of LPO) as well as contributed to a faster repair (recovery) of plants growth, photosynthetic activity and redox-status of both genotypes in post-stress period (after the resumption of normal irrigation) in comparison to non-bacterized control plants. Which ultimately manifests in the form of better grain yield in bacteria inoculated and stressed plants. In general, the obtained results indicate that endophytic *B. subtilis* capable significantly improve wheat growth, development, and yield under herbicide and drought stresses. However, the level of their efficacy is varied depending on the combination of bacterial strains and wheat genotypes. Thus, further research should be focused on understanding the mechanisms that determine the strain and genotype-specificity of endophytic symbiosis and the role bacteria in the modulation of the physiological status of inoculated wheat plants under such stressful conditions as herbicide and drought stresses.

This work was supported by the Russian Science Foundation (grant no. 22-26-00076).



**Вклад гормональных перестроек в защитное действие  
эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* на контрастные по засухоустойчивости генотипы пшеницы в условиях  
обезвоживания**

Ласточкина О.В., Авальбаев А.М., Аллагулова Ч.Р., Юлдашев Р.А., Шакирова Ф.М.  
Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа  
[oksana.lastochkina@ufaras.ru](mailto:oksana.lastochkina@ufaras.ru)

Засуха является наиболее широко распространенным и непредсказуемым экстремальным явлением, оказывающим негативное действие на все звенья растительного метаболизма, и как следствие вызывая существенное торможение роста и снижение урожайности сельскохозяйственных культур, включая пшеницу. Ранее нами была показана способность эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* 10-4 при предпосевном способе обработки оказывать рост-стимулирующее и защитное действие на растения пшеницы, что можно объяснить его влиянием на состояние гормональной системы, поскольку ей отводится лидирующая роль в регулировании процессов роста и развития растений. В связи с чем в данной работе был проведен сравнительный анализ влияния бактерий-эндофитов *B. subtilis* 10-4 на содержание фитогормонов (АБК, ИУК, цитокинины) мягкой яровой пшеницы *Triticum aestivum* L. двух контрастных по засухоустойчивости сортов (Экада70 – засухоустойчивый сорт; Салават Юлаев – восприимчивый к засухе сорт) в норме и в условиях ПЭГ-индуцированной засухи (12%ПЭГ-6000). Выявлено, что стимуляция ростовых процессов растений пшеницы под влиянием *B. subtilis* 10-4 обусловлена перестройками в гормональном балансе в сторону накопления ИУК. В условиях засухи обнаружен ярко выраженный дисбаланс в гормональной системе проростков пшеницы, который обусловлен, как существенным накоплением АБК, так и снижением уровня ИУК и цитокининов, что отразилось в сильном торможении роста растений обоих генотипов. Предобработка *B. subtilis* 10-4 оказала ярко выраженный защитный эффект на подвергнутые засухе растения пшеницы, о чем свидетельствуют существенно меньшие по амплитуде стресс-индуцированные перестройки в состоянии гормональной системы, а именно, поддержание содержания ИУК на уровне близком к контролю, а также уменьшение стресс-индуцированного увеличения АБК и снижения цитокининов, что отразилось в нормализации ростовых параметров проростков в условиях обезвоживания. Причем, более выраженный защитный эффект бактериальная обработка оказала на растения пшеницы сорта Экада 70, о чем свидетельствуют меньшие по амплитуде стресс-индуцированные перестройки гормональной системы и поддержание роста растений при обезвоживании на уровне близком к контрольным нестрессированным растениям. Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России (№ АААА-А21-121011990120-7) с использованием оборудования ЦКП «Агидель» и УНУ «Кодинк» УФИЦ РАН.

**The contribution of hormonal changes to the protective effect of bacterial endophyte *Bacillus subtilis* on wheat  
genotypes contrasting in drought sensitivity under dehydration**

Lastochkina O.V., Avalbaev A.M., Allagulova Ch.R., Yuldashev R.A., Shakirova F.M.  
Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa, Russia  
[oksana.lastochkina@ufaras.ru](mailto:oksana.lastochkina@ufaras.ru)

Drought is the most widespread and unpredictable extreme event that has a negative effect on all pathways of plant metabolism, and as a result, causes significant inhibition of growth and productivity of crops, including wheat. Previously, we have shown that seed pre-sowing treatment with endophytic bacteria *Bacillus subtilis* 10-4 has a growth-stimulating and protective effects on wheat plants, which can be explained by its influence on the state of the hormonal system, since it plays a leading role in regulating the processes of plant growth and development. In this connection, in this work, a comparative analysis of the effect of endophyte bacteria *B. subtilis* 10-4 on the state of the hormonal system of soft spring wheat *Triticum aestivum* L. of two varieties (Ekada70 - drought-tolerant; SalavatYulaev – drought-sensitive) under normal and 12% PEG-induced drought conditions was carried out. It was found that the stimulation of growth processes in wheat plants under the influence of *B. subtilis* 10-4 is due to changes in the hormonal balance towards the accumulation of IAA. Under drought conditions, a pronounced imbalance in the hormonal system of wheat seedlings was revealed, which is due to both a significant accumulation of ABA and a decrease in the level of IAA and cytokinins, which was reflected in a strong inhibition of plant growth of both genotypes. Pretreatment with *B. subtilis* 10-4 had a pronounced protective effect on stressed wheat plants, as evidenced by significantly lower amplitude stress-induced changes in the state of the hormonal system, namely, maintaining the content of IAA at a level close to control as well as decreasing a stress-induced accumulation of ABA and decline in cytokinins level, which was reflected in the normalization of the growth parameters of seedlings under dehydration conditions. Moreover, the bacterial treatment had a more pronounced protective effect on wheat plants of the Ekada 70 variety, as evidenced by the smaller amplitude of stress-induced changes of the hormonal system and maintenance of plant growth under stress at a level close to control unstressed plants.

The work was carried out within the framework of the state order of the Ministry of Education and Science of Russia (no. АААА-А21-121011990120-7) with using the instrument park of the RCCU "Agidel" and "KODINK" UFRC RAS.

**Определение эффективности ростостимулирующего действия биопрепарата  
на основе *Pseudomonas* sp. на растения огурца**

Лукаткин А.А., Лукаткин А.С.

ФГБОУ ВО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», г. Саранск  
ussr1960@yandex.ru

Почва, в которой выращивают сельскохозяйственные культуры, способна принять в себя популяции, внесенные извне. Численность микробных популяций в почве регулируется в основном за счет межпопуляционных взаимодействий и зависит от свойств почвы, количественного уровня внесения, стадии микробной сукцессии. Ризосферные микроорганизмы играют важную роль в питании и устойчивости растений. Бактерии рода *Pseudomonas*, нанесенные на семена сельскохозяйственных растений, способны успешно колонизировать ризосферу различных видов, поддерживая высокую численность, достигающую  $10^3 - 10^5$  КОЕ/г корней. Формирование комплекса ризосферной микрофлоры происходит в первые дни прорастания семян, а дальнейшее продвижение в более глубокие слои почвы обусловлено движением за растущим корнем. Состав экзометаболитов, выделяемых прорастающими семенами и корнями, может варьировать у растений различных генотипов, и эти различия могут оказывать заметное влияние на рост прикорневой микрофлоры. При этом корневые выделения оказывают либо ингибирующее, либо стимулирующее рост отдельных микроорганизмов действие метаболитов.

В работе изучали влияние биопрепарата, созданного на основе *Pseudomonas* sp., на ростовые характеристики растений огурца. Семена сорта Монастырский замачивали в биопрепарате, представляющем собой культуральную жидкость *Pseudomonas* sp. в концентрации  $10^6$  КОЕ/мл, в течение 48 ч и помещали на увлажненную фильтровальную бумагу; в качестве контроля использовали семена, замоченные то же время в водопроводной воде. Спустя 3 и 7 суток определяли энергию прорастания и всхожесть семян. Энергия прорастания в обоих вариантах была схожей и составила 40%. Всхожесть семян огурца при использовании биопрепарата составила 100%, тогда как в контрольном варианте не превышала 93%. Затем проросшие семена высаживали в почву и по достижении возраста 10, 20 и 30 суток определяли длину корневой системы и площадь листовой пластинки. Спустя 10 суток роста растений были получены сходные данные по площади листовой пластинки, но длина корневой системы была больше на 10 % в варианте обработки растений биопрепаратом. В дальнейшем разница в длине корневой системы возросла до 15 % (20 сут.) и 23 % (30 сут.). Сходная тенденция наблюдалась при измерении площади листовой пластинки огурца: к 20-м суткам превышение в варианте с обработкой семян биопрепаратом достигло 6%, а на 30-е сутки эта разница стала более существенной – 14%.

Полученные данные показывают, что использование биопрепарата способствует лучшему росту растений огурца. Вероятно, это обусловлено его антифунгальным действием и продуцированием рост-стимулирующих метаболитов.

**Determination of the growth-stimulating effect of *Pseudomonas* sp. biological preparation on cucumber plants**

Lukatkin A.A., Lukatkin A.S.

Mordovia State University, Saransk  
ussr1960@yandex.ru

The soil in which crops are grown is able to accept introduced populations. The number of microbial populations in the soil is regulated by interpopulation interactions and depends on the properties of the soil, the amount of application level, and the stage of microbial succession. Rhizosphere microorganisms play an important role in plant nutrition and resistance. Bacteria from the genus *Pseudomonas*, applied to the seeds of crops, are able to successfully colonize the rhizosphere of various species, maintaining a high abundance, reaching  $10^3-10^5$  CFU/g of roots. The formation of a rhizosphere microflora complex occurs in the first days of seed germination, and further advancement into the deeper layers of the soil is due to the movement behind the growing root. The composition of exometabolites secreted by germinating seeds and roots can vary in different genotypes of plants, and these differences can have a noticeable effect on the growth of root microflora. At the same time, root metabolites have either an inhibitory or a stimulating effect on the growth of individual microorganisms.

In this work, we studied the effects of a biological preparation created with *Pseudomonas* sp. on the growth characteristics of cucumber plants. Seeds of the variety Monastyrsky were soaked for 48 h in a biological preparation, which is a cultural liquid of *Pseudomonas* sp. at a concentration of  $10^6$  CFU/ml, and placed on moistened filter paper. Seeds soaked in tap water for the same time were used as controls. After 3 and 7 days, the germinating power and seed germination were determined, respectively. The germinating power in both variants was similar and amounted to 40%. The germination of cucumber seeds when using a biological preparation was 100%, while in the control variant it did not exceed 93%. Then, the germinated seeds were planted in the soil, and upon reaching the age of 10, 20, and 30 days, the length of the root system and the area of the leaf blade were determined. After 10 days of plant growth, similar data were obtained on the area of the leaf blade, but the length of the root system was 10% longer in the treatment of plants with a biological preparation. Subsequently, the difference in the length of the root system increased to 15% (20 days) and 23% (30 days). A similar trend was observed when measuring the area of the cucumber leaf blade: by the 20th day, the excess in the variant with seed treatment by biological preparation reached 6%, and on the 30th day, this difference became more significant, 14%.

The data obtained show that the use of the biological preparation contributes to better growth of cucumber plants. This is probably due to its antifungal action and the production of growth-stimulating metabolites.

**Identification of the causal agent of the Canada thistle shoot bleaching  
and the prospects for its use in plant protection**

<sup>1,2</sup>Lukina.E.G., <sup>2</sup>Gomzhina M.M., <sup>2</sup>Dalinova A.A., <sup>2</sup>Dubovik V.R., <sup>2</sup>Berestetskiy A.O.

<sup>1</sup>Saint Petersburg State University, St. Petersburg.

<sup>2</sup>All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg.

[elizaveta121999@mail.ru](mailto:elizaveta121999@mail.ru)

At the present time, there is a trend towards the introduction into agriculture of environmentally friendly means for weed control such as bioherbicides (preparations based on living cells of microorganisms) and biorational herbicides (preparations based on natural phytotoxins) (Golubev, Berestetskii, 2021). For example, the microscopic fungus *Didymella macrostoma* (Mont.) Qian Chen & L. Cai (syn. *Phoma macrostoma* Mont.) was registered in Canada and the United States as a bioherbicide due to its ability to produce phytotoxic secondary metabolites, macrocidins (Graupner et al., 2003; Bailey et al., 2012). The strains of this fungus were isolated from chlorotic shoots of the perennial weed, *Cirsium arvense* (L.) Scop. found in Canada (Bailey, Derby, 2001).

Recently, we found *C. arvense* shoots with similar symptoms in some regions of the Russian Federation. From these samples several fungal strains were isolated preliminarily identified as *D. macrostoma*. The aim of the research was to assess the prospects of the causal agent of the *C. arvense* shoot bleaching as a biocontrol agent and a producer of phytotoxins.

The ITS and LSU regions of the rDNA and partial *TUB* and *RPB2* genes were amplified and sequenced for several isolates. The Canada thistle seedlings were inoculated by application of mycelial suspension at a concentration of 100 mg/mL in the soil. The development of symptoms was assessed weekly for a month, the reisolation was carried out every week. To assess ability to produce phytotoxins the isolates were liquid-surface incubated on potato-dextrose broth (PDB). Culture filtrates was extracted with ethyl acetate. The extracts were fractioned and purified using chromatographic techniques. The structures of natural compounds were elucidated by NMR and mass spectrometry. Phytotoxicity to *C. arvense* and *Triticum aestivum* was assessed with leaf puncture assay at a concentration of 2 mg/ml. Antimicrobial activity was tested against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Dickeya dianthicola* and *Clavibacter michiganensis* in the range of concentrations from 64 to 512 µg/ml. Entomotoxicity was evaluated to *Galleria mellonella* using the injection method at a concentration of 10 µg/larva. Zootoxic assay was performed on *Paramecium caudatum* (100 mg/ml).

As a result of molecular phylogenetic analysis based on the ITS, LSU, *TUB* and *RPB2* sequences, the isolates were identified as *Didymella* sp. Pathogenicity tests resulted in discoloration of the shoots in percentage of 40.7±1.8%. The reisolation of the fungus occurred both from affected and asymptomatic plants so it was assumed that this fungus is an endophyte or a weak pathogen of the Canada thistle. Macrocidins A, Z were detected in the fungal extract obtained from the culture filtrate from PDB. These compounds showed high phytotoxic activity to *C. arvense* and *T. aestivum*, antimicrobial activity against *B. subtilis*, *E. coli*, *D. dianthicola* and *C. michiganensis*. Also macrocidins did not demonstrated entomotoxicity to *G. mellonella* and did not have toxicity against *P. caudatum*.

Thus, Canada thistle shoot bleaching and the fungus *Didymella* sp. caused these symptoms were discovered for the first time on the territory of the Russian Federation. Since the isolates derived from plants with such symptoms in pathogenicity tests caused the weak symptoms, this fungus could be an endophyte or a weak pathogen, it probably can not use for the development of a bioherbicide to control this weed. *Didymella* sp. isolates are producers of phytotoxic natural products, macrocidins, however, the toxicological characterization of these compounds needs further studying.

**Влияние стрептомицетов, выращенных на молочной сыворотке,  
на ростовые характеристики культурных растений**

Маградзе Е.И.

Удмуртский государственный университет, г. Ижевск

[elena.magradze@gmail.com](mailto:elena.magradze@gmail.com)

Из огромного разнообразия почвенной микробиоты с практической точки зрения наиболее интересны бактерии, улучшающие плодородие почвы. Численность населения земного шара в ближайшие годы достигнет 8 миллиардов человек и будет неуклонно расти, поэтому продовольственная проблема не утратит своей актуальности. Почвенные бактерии, полезные для человека, вступают в симбиоз с растениями, синтезируют вещества, стимулирующие их рост, оказывают антагонистическое действие на патогенную и условно-патогенную для растений микрофлору. Полезное действие этих бактерий коррелирует с их количеством. Поэтому в сельском хозяйстве наряду с минеральными используют бактериальные удобрения, содержащие микроорганизмы, внесение которых увеличивает количество соответствующих бактерий в почве.

В качестве микроорганизмов для бактериального удобрения мы используем *Streptomyces coelicolor*, которые выращиваем на молочной сыворотке, отходе производства сыра и творога. Выращивая бактерии на молочной сыворотке, мы частично решаем проблему ее утилизации, так как в России сыворотка вырабатывается в большом объеме, до пяти миллионов тонн в год, и является загрязнителем окружающей среды. Выбор стрептомицетов связан с их способностью синтезировать фитогормоны, способствующие росту и развитию растений, а также антибиотики, оказывающие биостатическое действие на конкурентов в почве.

Удобрение проверяли на сельскохозяйственных культурах в лабораторных условиях (выращивание семян в контейнерах с почвой или между слоев бумаги) и в условиях ботанического сада на делянках размером 0,5\*1 м<sup>2</sup>. Изучали влияние удобрения на томаты, люцерну, пшеницу, кресс-салат, редис. Стрептомицеты увеличивают всхожесть семян на 13-16%, длину побегов на 11-13% по сравнению с поливом водой. Необходимо также отметить, что при поливе стрептомицетами увеличивается вегетативная биомасса растений по сравнению с контролем. Среднее количество листьев у капусты через месяц после посева увеличилось на 26,6%, средняя масса листьев салата-латука увеличилась в 1,83 раза. Это позволяет использовать удобрение на стадии выращивания рассады, либо при выращивании зеленных культур. В лабораторных условиях в контейнерах с почвой, политой стрептомицетами, побеги выживали дольше, чем при поливе водой и разбавленной сывороткой. При выращивании между слоями бумаги, пропитанной удобрением, содержащим стрептомицеты, наблюдалось меньше побегов, пораженных плесенью, чем в контроле.

Таким образом, удобрение, полученное путем выращивания стрептомицетов на молочной сыворотке, показало хорошие результаты. В дальнейшем планируется разработать технологию промышленного получения удобрения.

**The effect of streptomycetes grown on whey on the growth characteristics of crop plants**

Magradze E.I.

Udmurt State University, Izhevsk

[elena.magradze@gmail.com](mailto:elena.magradze@gmail.com)

Bacteria that improve soil fertility are the most interesting of all the soil microbiota. The world's population will reach 8 billion people in the coming years and will steadily grow, so the food problem remains actual. Soil bacteria, which are useful for humans, are in symbiosis with plants, produce compounds that stimulate their growth and have an antagonistic effect on pathogenic and conditionally pathogenic microflora. The beneficial effect of these bacteria correlates with their number. Therefore, bacterial fertilizers containing microorganisms are used along with mineral fertilizers in agriculture. The application of these fertilizers increases the number of relevant bacteria in the soil.

We use *Streptomyces coelicolor* as microorganisms for bacterial fertilizer, which are growing on whey, that is cheese and cottage cheese production waste. In Russia, whey is produced in large volumes, up to five million tons per annum, and is an environmental pollutant. We partially solve the problem of whey utilization, as we grow bacteria on it. The choice of *Streptomyces* is connected with their ability to synthesize phytohormones that promote plant growth, as well as antibiotics that have a biostatic effect on competitive bacteria in the soil. The effect of fertilizer on the growth of agricultural crops was tested in laboratory conditions (growing seeds in containers with soil or between layers of paper) and in open ground plots of 0.5 × 1 m<sup>2</sup>. We studied the effect of fertilizers on tomatoes, alfalfa, wheat, watercress, radishes. Streptomyces increase seed germination by 13-16 % and shoot length by 11-13 % compared to watering with water. When watering with streptomyces, the vegetative biomass of plants increases compared to the control. The average number of cabbage leaves increased by 26.6 % a month after sowing, the average weight of lettuce leaves increased by 1.83 times. All shoots survived longer when watered with streptomycetes than when watered with water. When we grew seeds between layers of paper soaked with a fertilizer containing streptomycetes, there were fewer shoots infected with mold than in the control. Thus, the fertilizer obtained by growing streptomycetes on whey showed good results. In the future, it is planned to develop a technology for the industrial production of fertilizers.

**Содержание негативных аллелопатических соединений в корневых экссудатах у проростков гороха зависит от воздействующих на их корни бактерий**

Макарова Л.Е., Петрова И.Г., Соколова Н.А., Гурина В.В.  
Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск  
makarova@sifibr.irk.ru

Среди ароматических соединений, выделяемых в корневые экссудаты, у растений гороха имеются компоненты, относящиеся к негативным аллелопатическим веществам. Это пизатин, N-фенил-2-нафтиламин и фталаты (дибутил-, диизоокти-, диэтил-фталаты).

Ранее нами показано, что бактерии *R. leguminosarum* bv. *viceae*, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, *Azotobacter chroococcum* оказались способными деградировать N-фенил-2-нафтиламин до фталатов и изменять соотношение видов фталатов. Изменение соотношения фталатов может происходить вследствие преобразования бактериями их структур (изменение или замена их алкильных группировок).

Повлиять на содержание N-фенил-2-нафтиламина и состав фталатов в ризосфере растений гороха могут не только почвенные бактерии, попадающие извне в прикорневую область, но и эндофитные бактерии, которые способны перемещаться из тканей корня во внешнюю среду. Почвенные бактерии по-разному влияли и на содержание фитоалексина. Эффект действия на состав исследуемых компонентов при совместной инокуляции (при действии бикультур) отличался от эффекта, вызываемого теми же, отдельно вносимыми в среду роста корня культурами (монокультуры) бактерий. При этом при коинокуляции имел значение видовой состав бактерий. Полученные результаты анализа позволяют высказать предположение, что выявленные различия в содержании изучаемых соединений связаны с межмикробными взаимодействиями, характер которых определяется видами бактерий, совместно присутствующими в ризосфере растений гороха.

**The content of negative allelopathic compounds in root exudates of pea seedlings depends on the bacteria affecting their roots**

Makarova L.E., Petrova I.G., Sokolova N.A., Gurina V.V.  
Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry of the Siberian Branch of RAS, Irkutsk  
makarova@sifibr.irk.ru

Among the aromatic compounds released into root exudates, pea plants have components related to negative allelopathic substances. These are pycnatan, N-phenyl-2-naphthylamine and phthalates (dibutyl-, diisooctyl-, diethyl-phthalates).

Previously, we have shown that the bacteria *R. leguminosarum* bv. *viceae*, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, *Bradyrhizobium japonicum*, *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, *Azotobacter chroococcum* were able to degrade N-phenyl-2-naphthylamine to phthalates and change the ratio of phthalates species. A change in the ratio of phthalates can occur due to the transformation of their structures by bacteria (change or replacement of their alkyl groups).

The content of N-phenyl-2-naphthylamine and the composition of phthalates in the rhizosphere of pea plants can be affected not only by soil bacteria that enter the root region from the outside, but also by endophytic bacteria that are able to move from root tissues to the external environment. Soil bacteria differently influenced the content of phytoalexin. The effect on the composition of the studied components during joint inoculation (under the action of bicultures) differed from the effect caused by the same cultures (monocultures) of bacteria separately introduced into the root growth medium. At the same time, the species composition of bacteria was important during coinoculation. The obtained results of the analysis allow us to suggest that the revealed differences in the content of the studied compounds are associated with intermicrobial interactions, the nature of which is determined by the bacterial species coexisting in the rhizosphere of pea plants.

**Ростостимулирующая активность бактерий, изолированных из ризосферы гелофита *Typhalatifolia*, произрастающего в местообитаниях с разной техногенной нагрузкой**

Малева М.Г., Воропаева О.В., Ширяев Г.И., Борисова Г.Г., Кумар А.

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина,  
г. Екатеринбург, Россия.  
[maria.maleva@mail.ru](mailto:maria.maleva@mail.ru)

Известно, что многие ризобактерии стимулируют рост растений (PGPR) с помощью различных механизмов, что особенно важно в неблагоприятных условиях. Изучена PGP-активность ризобактерий гелофита *Typha latifolia* L., произрастающего в прибрежной зоне шести водных объектов с разной степенью техногенной нагрузки. Участки были представлены тремя слабозагрязненными (индекс токсической нагрузки для субстратов равен 1–2), двумя – сильнозагрязненными (15–32) и одним – экстремально загрязненным (40). Доля *T. latifolia* от общей воздушно-сухой фитомассы растений на загрязненных участках возрастала с одновременным уменьшением видового разнообразия (от 28 до 3 видов растений). Общее КМАФАнМ (КОЕ/г сухого веса) в ризосферном субстрате на слабозагрязненных участках варьировало от  $2,5 \times 10^6$  до  $3,8 \times 10^7$ , снижаясь в экстремально загрязненном – до  $4,5 \times 10^5$ . С каждого участка было выделено около 50 изолятов, среди которых доля PGPR на слабозагрязненных составляла в среднем 57 %, в то время как на сильно- и экстремально загрязненных снижалась в среднем до 39 %. При этом доля PGPR, способных к фиксации атмосферного азота, снижалась в 1,7 раза, солибилизирующих фосфаты – в 1,5 раза, синтезирующих индолил-3-уксусную кислоту – в 1,4 раза. В то же время количество PGPR, продуцирующих сидерофоры и АЦК-деаминазу, не изменялось. Таким образом, повышенная техногенная нагрузка негативно сказывалась на некоторых PGP-свойствах ризобактерий, однако в целом не оказывала влияния на продуктивность локальных популяций *T. latifolia*. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Государственного задания FEUZ-2021-0014.

**Plant growth promoting activity of bacteria isolated from the rhizosphere of helophyte *Typha latifolia* growing in different technogenic impacted habitats**

Maleva M.G., Voropaeva O.V., Shiryayev G.I., Borisova G.G., Kumar A.

Ural Federal University named after the first President of Russia B. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia  
[maria.maleva@mail.ru](mailto:maria.maleva@mail.ru)

It is known that many rhizobacteria stimulate plant growth (PGPR) through various mechanisms, which is especially important in adverse environmental conditions. The PGP activity of the rhizobacteria of helophyte *Typha latifolia* L. growing in the coastal zone of six water bodies with varying degrees of technogenic load was studied. The studied area was represented by three low contaminated sites (toxic load index for substrates was 1–2), two high contaminated sites (15–32), and one extremely contaminated site (40). The proportion of *T. latifolia* in the total air-dry plant phytomass of the contaminated sites increased with a simultaneous decrease in species diversity (from 28 to 3 plant species). The total QMAFAnM (CFU/g dry weight) of rhizospheric substrate in low contaminated sites varied from  $2.5 \times 10^6$  to  $3.8 \times 10^7$ , decreasing in extremely contaminated site to  $4.5 \times 10^5$ . About 50 colonies of rhizobacteria were isolated from each site, among which the share of PGPR on low contaminated sites averaged 57 %, while on high and extremely contaminated sites decreased on average to 39 %. At the same time, the proportion of PGPR capable of fixing atmospheric nitrogen decreased by 1.7 times, solubilizing phosphates by 1.5 times, and synthesizing indol-3-acetic acid by 1.4 times. At the same time, the amount of PGPR producing siderophores and ACC deaminase did not change. Thus, the increased technogenic load negatively affected some PGP properties of rhizobacteria, but, in general, did not affect the productivity of local *T. latifolia* population. The work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of State Assignment FEUZ-2021-0014.

**Влияние атранов на *Rhodococcus qingshengii* VKM AC-2784D, культивируемый в присутствии различных источников углерода**

<sup>1</sup>Маркова Ю.А., <sup>2</sup>Беловежец Л.А., <sup>2</sup>Левчук А.А., <sup>2</sup>Оборина Е.Н., <sup>2</sup>Адамович С.Н.

<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск,

<sup>2</sup>Иркутский институт химии им. Фаворского СО РАН, г. Иркутск

juliam06@mail.ru

*Rhodococcus* обладают значительным биотехнологическим потенциалом и входят в состав микробиологических препаратов для очистки почв от нефти и других поллютантов. Многие штаммы родококков характеризуются относительно медленным набором биомассы, что обуславливает необходимость поиска соединений – стимуляторов их роста. Ранее в ИрИХ СО РАН (г. Иркутск) были синтезированы вещества атрановой природы, для которых на ряде микроорганизмов был обнаружен стимулирующий эффект. Поэтому цель данной работы состояла в изучении действия атранов на *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D и способность этих бактерий к деструкции компонентов нефти, на примере нафталина. Для работы были выбраны четыре атрана и триэтаноламин (ТЭА), который является их предшественником. Эксперименты проводили на следующих питательных средах: МПБ (Оболensk) и минеральной среде 8E без углерода, с глюкозой или нафталином (5 г/л). Оценивали скорость роста и биопленкообразование в динамике через 1, 4, 5 и 7 суток культивирования, морфологию биопленки, активность дегидрогеназных ферментов, гидрофобность и синтез сурфактантов, деструкцию нафталина. Установлено, что природа источника углерода оказывает существенное воздействие на силу и характер влияния исследуемых атранов. Так, например, было отмечено незначительное сокращение лаг фазы у бактерий, культивируемых в МПБ. В среде 8E с глюкозой, напротив, наблюдалась стимуляция роста в начале культивирования, а с нафталином влияние атранов было преимущественно неблагоприятным. Воздействие на биопленкообразование было негативным практически на всех средах, особенно в присутствии нафталина. Интересно, что все протатраны существенно снижали гидрофобность клеточной стенки и количество внеклеточных биосурфактантов, даже у бактерий, культивируемых в среде с 8E с добавлением гексадекана. Данный факт свидетельствует о перестройке клеточной стенки родококка. Деструкция нафталина в присутствии атранов была в пределах или ниже контрольных значений. Таким образом, исследуемые атраны, также как и ТЭА не могут использоваться в составе питательной среды для ускорения роста *R. qingshengii* VKM Ac-2784D или для стимуляции нефтедеструкции. Однако, биологические эффекты которые продемонстрировала эта группа соединений, такие как неблагоприятное действие на биопленку и снижение гидрофобности клеток заслуживают дальнейшего изучения.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-016-00114 А.

**Effect of atranes on *Rhodococcus qingshengii* VKM AC-2784D cultivated in the presence of various carbon sources**

<sup>1</sup>Markova Yu.A., <sup>2</sup>Belovezhets L.A., <sup>2</sup>Levchuk A.A., <sup>2</sup>Oborina E.N., <sup>2</sup>Adamovich S.N.

<sup>1</sup>Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, SB RAS, Irkutsk,

<sup>2</sup>Irkutsk Institute of Chemistry, Favorsky SB RAS, Irkutsk

juliam06@mail.ru

*Rhodococcus* have significant biotechnological potential and are part of microbiological preparations for cleaning soils from oil and other pollutants. Many *Rhodococcus* strains are characterized by a relatively slow biomass gain, which necessitates the search for compounds that stimulate their growth. Earlier, substances of atrane nature were synthesized at the Institute of Chemical Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Irkutsk), for which a stimulating effect was found on a number of microorganisms. Therefore, the purpose of this work was to study the effect of atranes on *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D and the ability of these bacteria to degrade oil components, using naphthalene as an example. Four atranes and triethanolamine (TEA), which is their precursor, were chosen for the work. The experiments were carried out on the following nutrient media: MPB (Obolensk) and mineral medium 8E without carbon, with glucose or naphthalene (5 g/L). The growth rate and biofilm formation in dynamics after 1, 4, 5 and 7 days of cultivation, biofilm morphology, activity of dehydrogenase enzymes, hydrophobicity and surfactant synthesis, and naphthalene degradation were assessed. It has been established that the nature of the carbon source has a significant effect on the strength and nature of the influence of the studied atranes. For example, a slight decrease in the lag phase was noted in bacteria cultivated in the MPB. In the 8E medium with glucose, on the contrary, growth stimulation was observed at the beginning of cultivation, while with naphthalene, the effect of atranes was predominantly unfavorable. The impact on biofilm formation was negative on almost all media, especially in the presence of naphthalene. Interestingly, all protatranes significantly reduced the hydrophobicity of the cell wall and the amount of extracellular biosurfactants, even in bacteria cultured in a medium with 8E supplemented with hexadecane. This fact indicates the restructuring of the cell wall of *Rhodococcus*. The degradation of naphthalene in the presence of atranes was within or below the control values. Thus, the studied atranes, as well as TEA, cannot be used as part of a nutrient medium to accelerate the growth of *R. qingshengii* VKM Ac-2784D or to stimulate oil degradation. However, the biological effects that this group of compounds has demonstrated, such as adverse effects on biofilm and reduced cell hydrophobicity, merit further study.

The work was supported by RFBR grant No. 20-016-00114 A.

**Assessing the physiological and protective effects of rhizobacteria on wheat plants**<sup>1,2</sup>Maslennikova D.R., <sup>2</sup>Nasyrova K.R., <sup>1,2</sup>Chubukova O.V., <sup>1</sup>Akimova E.S,<sup>1</sup>Baymiev An.Kh., <sup>1</sup>Blagova D.K., <sup>1</sup>Ibragimov A.E., <sup>1</sup>Lastochkina O.V.<sup>1</sup> Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Ufa<sup>2</sup> Ufa State Petroleum Technical University, Ufa

dishaoil@mail.ru

An actual and environmentally friendly approach to increase the stability and productivity of plants is the use of preparations based on the bacterium of the genus *R. leguminosarum* - PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) - microorganisms that have a whole range of beneficial properties for plants, which makes them successful symbionts of different plant species. In this paper, a comparative analysis of the effect of pre-sowing seed treatment (*Triticum aestivum* L.) of the wheat cv. Salavat Yulaev was carried out with *Rizobium leguminosarum* strains Pvu5, VSy12, Thy2, TPr4 on plant growth and development under normal and stress conditions. In the course of the work, it was found that the Thy2 strain has a significant growth-stimulating effect on wheat. This is supported by the data on seed germination, indicators of fresh and dry biomass of roots and shoots and pigment content - chl a, chlorophyll b and carotenoids. The protective effect of Thy2 seed pretreatment under the action of 1mM cadmium acetate was manifested in a decrease in the level of the inhibitory effect of stress on seed germination, plant biomass, and a significant decrease in the level of lipid peroxidation (POL) and an increase in the stability index of membranes. In addition, the bacterization of Thy2 seeds prevented a stress-induced drop in the content of photosynthetic pigments. The results obtained indicate the effectiveness of using the Thy2 strain to increase the resistance of wheat to cadmium stress, as evidenced by a significant prolonged protective effect on plant growth – stress 72 h. The totality of the data obtained convincingly proves the prospects of using the strain Thy2 to reduce the toxic effect of heavy metal ions on crop products.

The work was done with involvement of the instrumentation fleet of the regional Agidel Center for the Collective Use of Unique Equipment (Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences) as part of a state task (subject no. AAAA-A21-121011990120-7) and with partial funding of the Programs for the Creation and Operation of a Carbon Landfill on the territory of the Republic of Bashkortostan “Eurasian Carbon Landfill” for 2022–2023.



**The participation of salicylic acid and proline the implementation of the protective effect of nitric oxide on wheat plants under drought**

Maslennikova D.R., Lastochkina O.V., Shakirova F.M.

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Ufa  
dishaoil@mail.ru

Nitric oxide (NO) is an intracellular signaling molecule that regulates the implementation of basic physiological processes at all stages of the plant life cycle, participating in the regulation of seed germination, root formation, gravitropism, stomatal closure, flowering, fruit ripening, aging. In addition, NO makes an important contribution to increasing the resistance of plants to the stressful effects of biotic and abiotic nature. The range of mechanisms involved in the implementation of NO-induced reactions is quite wide, so we found that 200  $\mu\text{mol}$  of SNP (sodium nitroprusside) is a donor of nitric oxide, is able to positively regulate the state of hormonal and antioxidant systems, stabilize the state of the photosynthetic apparatus, all this corresponds to the complete restoration of plant growth parameters in conditions of violation of the water regime. An important next step in the study of the mechanisms of regulated NO is the assessment of the content of proline and salicylic acid (SA) in treated plants in normal and with moisture deficiency. It is well known that SA and proline have antioxidant properties and are involved in the regulation and implementation of a wide range of physiological and protective reactions throughout plant ontogenesis. In this paper, the influence of pretreatment of wheat plants *Triticum aestivum* L. for 24 hours was analyzed cv. Salavat Yulaev 200  $\mu\text{mol}$  SNP for the content of total proline and SA in whole wheat plants in normal and under the action of 12% PEG, modeling moisture deficiency. The HPLC method obtained results that showed that in the control variant the level of SA was 87.7 ng/g FW 7h exposure to 12% PEG caused the accumulation of SA up to 150 ng / g FW. Such an almost twofold increase in the content of SA is quite understandable and corresponds to the literature data. Assessment of the content of SA in wheat plants after 24 hours of SNP exposure, we can consider this as a zero point, revealed an almost fivefold increase in the content of SA, which amounted to 429.4 ng/g FW, the subsequent 7 hours of stress led to a drop in the content of SA to 154.6 ng/g FW. The spectrophotometric method for estimating the proline content showed that in the control plants was 0.75  $\mu\text{mol}$  / g FW. The proline content in the pretreated 24 nitric oxide donors was 1.1  $\mu\text{mol}$ /g FW. After 7 h of stress, the wheat plants became 1.5  $\mu\text{mol}$ /g FW, in pretreated SNP plants the proline content was 1.8  $\mu\text{mol}$ /g FW. Thus, pretreatment with a nitric oxide donor contributes to the additional accumulation of proline and a decrease in the level of SA under stress. This indicates the involvement of these antioxidants in the spectrum of physiological and protection reactions of NO to wheat plants. The obtained results indicate the protective effect of 200  $\mu\text{mol}$  SNP on wheat seedlings in conditions of moisture deficiency and expand our knowledge about the manifestations of the protective action of nitric oxide in plants.

The work was supported by the Russian Foundation for Basic Researches (grant number 20-04-00904) and partially carried out within the framework of the state assignment (registration number AAAA-A21-121011990120-7) with using the instrument park of the RCCU "Agidel" and "KODINK" of the UFRC RAS.

**О чем могут рассказать агробактериальные гены природных ГМО**

Матвеева Т.В., Журбенко П.М., Жидкин Р.Р.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург  
[radishlet@gmail.com](mailto:radishlet@gmail.com)

Природно-трансгенные растения – это растения в геномах которых содержатся гомологи агробактериальных генов, как результат горизонтального переноса. Начиная с 2019 года список видов природных ГМО был нами сильно расширен. По современным оценкам около 7 процентов двудольных растений содержат следы агробактериальной трансформации в своей ДНК. Благодаря этому открытию стало возможным сделать определенные обобщения и более предметно обсуждать возможную эволюционную роль горизонтального переноса агробактериальных генов в растения. В докладе будут обобщены данные относительно распространения различных групп генов в клТ-ДНК, вероятных функций генов агробактериального происхождения в растениях, а также возможности использования клТ-ДНК в филогенетических исследованиях на примере пГМО из порядка Ericales

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с договором № 075-15-2022-322 от 22.04.2022 о предоставлении гранта в виде субсидии из федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен для государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

**What can agrobacterial genes of natural GMOs tell about**

Matveeva T.V., Zhurbenko P.M., Zhidkin R.R.

St. Petersburg State University, St. Petersburg  
[radishlet@gmail.com](mailto:radishlet@gmail.com)

Naturally transgenic plants are plants whose genomes contain homologues of agrobacterial genes as a result of horizontal transfer. Starting from 2019, we have greatly expanded the list of species of natural GMOs. According to current estimates, about 7 percent of dicotyledonous plants contain traces of agrobacterial transformation in their DNA. Due to this discovery, it became possible to make certain generalizations and discuss in more detail the possible evolutionary role of the horizontal transfer of agrobacterial genes in plants. The presentation will summarize data on the distribution of various groups of genes in cT-DNA, the likely functions of genes of agrobacterial origin in plants, as well as the possibility of application of cT-DNA in phylogenetic studies (illustrating by the example of nGMOs from the order Ericales)

The work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with agreement No. 075-15-2022-322 dated April 22, 2022 on a grant in the form of a subsidy from the federal budget of the Russian Federation. The grant was provided for state support for the creation and development of the world-class Scientific Center "Agrotechnologies for the Future".

**Phenotyping and genotyping of the *Microdochium nivale* stains – the causal agents of the pink snow mold disease**<sup>1</sup>Meshcherov A.R., <sup>1</sup>Gogoleva O.A., <sup>1,3</sup>Sahabudynov I.T., <sup>1,3</sup>Ryazanov E.A., <sup>1</sup>Murzagulova G.S.,<sup>2</sup>Ponomareva M.L., <sup>2</sup>Ponomarev S.N. <sup>1</sup>Gorshkov V.Y.<sup>1</sup>Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences"<sup>2</sup>Tatar Scientific Research Institute of Agriculture, Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences"<sup>3</sup>Kazan (Volga region) Federal University, Kazan  
strosaz125@gmail.com

*Microdochium nivale* is a phytopathogenic psychrotolerant fungus able to cause different types of plant diseases (pink snow mold, foot rot, leaf blight, and head blight) throughout the entire growing season, including winter, when it thrives on plants overwintering under the snow cover. Yield losses could reach more than 50% during pink snow mold epiphytiosis. However, the genetic structure of *M. nivale* populations and physiological properties (including virulence towards various cereal crops and resistance to different fungicides) of individual *M. nivale* strains are poorly characterized. The aim of our study was to characterize the genetic and phenotypic diversity of *M. nivale* strains inhabiting two different agroecosystems with different soil-climatic conditions. 136 *M. nivale* strains were isolated from winter rye, winter wheat, and winter triticale plants collected three weeks after the snow melt. The strains were split into different genetic groups based on the nucleotide sequences of three taxonomically significant genomic regions: internal transcribed spacer 2 (ITS), elongation factor-1a (EF-1a), and beta-tubulin (Tub). We found two variants of ITS sequence, two variants of EF-1a sequence and three variants of Tub sequence within the isolated *M. nivale* strains. Twelve different combinations of sequences across all strains were found. Then, we described the phenotypic characteristics of the *M. nivale* strains, including virulence tests and fungicide sensitivity tests using three fungicide types (tebuconazole, carbendazim, and azoxystrobin) with various modes of action. We estimated virulence of 136 *M. nivale* strains using different test systems (detached leaf (rye, wheat and triticale) assay and inoculation of intact rye plant under different temperature condition). The majority of the strains showed variation in their virulence degree when they were tested under different experimental conditions. None of the 136 strains were resistant to tebuconazole (the fungal growth rate was inhibited on media with fungicide), 82 strains were resistant to carbendazim, and 17 strains were resistant to azoxystrobin. Our results show high phenotypic and genotypic diversity of *M. nivale* strains indicating that this fungus has high adaptive potential and broad ecological versatility. Currently, we are attempting to determine whether any variation in the nucleotide sequence or combination of them correlates with any phenotypic features of fungi (virulence degree, resistance to fungicides and original hosts). Based on the results of such a thorough phenotypic and genotypic analysis of *M. nivale*, we can estimate the diversity of this phytopathogen within the analyzed area. This study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (grant № 075-15-2022-251).

### Комплексная оценка применения ризосферных бактерий в модельных системах для контроля фитопатогенов и стимуляции роста растений

<sup>1,2</sup>Минаева О.М., <sup>1,2</sup>Акимова Е.Е., <sup>1,2</sup>Зюбанова Т.И.

<sup>1</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия

<sup>2</sup>СибНИИСХиТ – филиал СФНЦА РАН, Томск, Россия

mom05@mail.ru

Эффективность применения биофунгицидов на основе ризобактерий напрямую зависит от знания механизмов, обуславливающих взаимосвязь полезных микроорганизмов и растений, и от возможности влияния в сторону ее укрепления. При этом, основные механизмы, обеспечивающие устойчивый положительный результат, на настоящий момент остаются не до конца ясными и изученными. Применение искусственных малых экосистем – эффективный способ получения данных в лабораторных условиях, достаточно близко коррелирующих с полевыми экспериментами, направленными на создание новых биопрепаратов, и позволяют предсказать поведение агента защиты растений в естественных условиях.

Цель работы – комплексная оценка применения ризобактерий в модельных системах для контроля фитопатогенов и стимуляции роста растений. Объект исследования – малая модельная экосистема: субстрат (стерильный крупный речной песок) – пшеница *Triticum aestivum* – ризобактерии (*Pseudomonas aureofaciens*, *P. extremorientalis*, *P. fluorescens*, *Pseudomonas* sp.) – фитопатогенный гриб *Fusarium oxysporum* или *Bipolaris sorokiniana* (в тестах с внесением агаровых блоков фитопатогена в субстрат). Растения три недели выращивали в фитокамерах при 12-ти часовом освещении и температуре 24±0,5°C. Определение активности гваяколизависимой пероксидазы проведено в конце эксперимента спектрофотометрически ( $\lambda=470$ , расчет по Chance and Maehly). Выживаемость бактерий в ризосфере пшеницы оценена с использованием тетрациклинрезистентных (0,4 г/л) мутантов данных штаммов методом Коха.

Установлено, что бактеризация способствовала увеличению длины проростков пшеницы на 21–24% по сравнению с контролем в зависимости от бактериального штамма, что может сопровождаться стимуляцией развития корневой системы (на 15–27%). В присутствии фитопатогенов увеличение длины растений достигает 7–21,7%. Бактеризация снижала количество растений с признаками корневых гнилей на 30,5–71,0%. Численность тетрациклинрезистентных бактерий увеличивалась в 4,5 раза в отсутствие и в 400 раз в присутствии фитопатогенов. Обилие резистентных к антибиотику бактерий составляло 1–1,2% от общей микробной численности на поверхности корней и 5,3–7,5% в ризосфере. Бактеризация увеличивала активность пероксидазы в вегетативных частях растений: данный показатель, на основании многочисленных экспериментальных данных, может служить одним из методов оценки эффективности использования агентов биопрепаратов против возбудителей корневых гнилей пшеницы в лабораторных условиях.

### Comprehensive evaluation of applying rhizosphere bacteria in model systems for phytopathogen control and plant growth stimulation

<sup>1,2</sup>Minaeva O.M., <sup>1,2</sup>Akimova E.E., <sup>1,2</sup>Zyubanova T.I.

<sup>1</sup>Tomsk State University, Tomsk, Russia

<sup>2</sup>Siberian Research Institute of Agriculture and Peat, Tomsk, Russia

mom05@mail.ru

The effectiveness of rhizobacteria-based biofungicides depends directly on knowledge of the mechanisms behind the beneficial microorganism-plant relationship and the ability to influence its strengthening. At the same time, the basic mechanisms that ensure a sustained positive result are currently not completely clear and well-studied. Artificial small ecosystems are a convenient method that makes it possible to obtain information in the laboratory that correlates quite closely with field experiments aimed at creating new bioformulations and make it possible to predict the behavior of a plant protection agent in nature.

The aim was a comprehensive evaluation of applying rhizosphere bacteria in model systems for phytopathogen control and plant growth stimulation. The object of the study was a small model ecosystem: substrate (sterile coarse river sand) – wheat *Triticum aestivum* – rhizobacteria (*Pseudomonas aureofaciens*, *P. extremorientalis*, *P. fluorescens*, *Pseudomonas* sp.) – *Fusarium oxysporum* or *Bipolaris sorokiniana* (in tests with phytopathogen agar strips in substrate). The plants were grown in growth chambers for three weeks under 12 hours of light and a temperature of 24±0.5 °C. Guaiacol-dependent peroxidase activity was determined spectrophotometrically ( $\lambda=470$ , calculated by the Chance and Maehly method). The survival of bacteria in the wheat rhizosphere was estimated using tetracycline-resistant (0.4 g/l) mutants of these strains by the Koch method. It was shown that the height of wheat seedlings increases by 21–24% during bacterization compared with unbacterized plants depending on the experimental strains, which may be connected with the stimulation of the root system development (by 15–27%). In the presence of phytopathogens, the increase in plant height reaches 7–21.7%. Bacterization reduces the number of plants with signs of root rot by 30.5–71.0%. The number of tetracycline-resistant bacteria increases 4.5 times in tests without phytopathogens and 400 times in tests with phytopathogens. The abundance of antibiotic-resistant bacteria is 1–1.2% of the total microbial abundance on the root surface and 5.3–7.5% in the rhizosphere. Bacterization increases the peroxidase activity in the vegetative parts of plants. Therefore, based on numerous data, peroxidase activity can serve as one of the methods for assessing the effectiveness of applying biological agents against wheat root rot pathogens in the laboratory.

**Культивирование микоризного гриба *Glomus intraradices* на волосовидных корнях моркови**<sup>1</sup>Минеев Я.П., <sup>1</sup>Мусин Х.Г., <sup>2</sup>Кузнецова М.В., <sup>1</sup>Кулueв Б.Р.<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа<sup>2</sup>ООО Научно-внедренческое предприятие Башинком, г. Уфа  
kuluev@bk.ru

*Glomus intraradices* относится к гломеромицетам (Glomeromycetes Caval.-Sm., 1998), представители которых вступают в облигатный симбиоз с растениями с образованием арбускулярной микоризы. Среди арбускулообразующих видов, *G. intraradices* является наиболее универсальным видом, способным вступать в симбиоз с самым широким диапазоном растительных культур. Ещё одной особенностью этого рода является то, что его гифы не заменяют корневые волоски, а действуют параллельно с аппаратом всасывания растений. Повышение потенциала всасывания может позитивно влиять на урожайность и стрессоустойчивость растений, приживаемость посадочного материала и темпы развития и набора биомассы. Исходя из этого разрабатываются различные биопрепараты эндомикоризы гломуса для применения на практике, однако крупномасштабное производство таких препаратов сопряжено с рядом проблем, среди которых наиболее актуальна невозможность изолированного культивирования гломуса без использования растительных культур. Одним из способов решения данной проблемы является получение совместных культур корней растений и гломуса. Наиболее перспективным может оказаться подход с использованием генетически трансформированных волосовидных корней способных к быстрому неограниченному росту на безгормональных средах. Поэтому целью нашего исследования было получение совместных культур волосовидных корней моркови и гломуса, а также подбор оптимальных условий культивирования на твердых и жидких средах. Для работы были использованы полученные нами ранее волосовидные корни моркови, а также хорошо известный штамм ВКПМ F-1572 (MUCL 49410) *G. intraradices*. В результате проведенной работы были получены совместные культуры волосовидных корней с гломусом, которые показали экспоненциальный рост как в твердых, так и в жидких средах. Получение совместных культур доказывали микроскопически, для этого корни предварительно окрашивали красителем трипановый синий. Также были испытаны два варианта биореактора для выращивания полученных культур, показана перспективность использования смешанной жидкогазовой среды. Ведется работа по получению и испытанию лабораторного образца биопрепарата гломуса, выращенного на волосовидных корнях моркови в условиях биореактора.

**Cultivation of mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on hairy roots of carrots**<sup>1</sup>Mineev Ya.P., <sup>1</sup>Musin Kh.G., <sup>2</sup>Kuznetsova M.V., <sup>1</sup>Kuluev B.R.<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, RAS, Ufa<sup>2</sup>Bashinkom LLC, Ufa  
kuluev@bk.ru

*Glomus intraradices* refers to Glomeromycetes (Caval.-Sm., 1998), whose representatives enter into an obligate symbiosis with plants with the formation of arbuscular mycorrhiza. Among the arbusculum-forming species, *G. intraradices* is the most versatile species, able to symbiose with the widest range of crops. Another feature of this genus is that its hyphae do not replace root hairs, but act in parallel with the plant's absorption apparatus. An increase in absorption potential can positively affect the yield and stress resistance of plants, the survival rate of planting material, and the rate of development and biomass growth. Based on this, various biological preparations of glomus endomycorrhiza are being developed for practical use, however, large-scale production of such preparations is associated with a number of problems, among which the impossibility of isolated cultivation of glomus without the use of plant cultures is most relevant. One way to solve this problem is to obtain joint cultures of plant roots and glomus. The most promising approach may be the use hairy roots capable of rapid unlimited growth on hormone-free media. Therefore, the purpose of our study was to obtain joint cultures of hairy roots of carrots and glomus, as well as to select the optimal conditions for cultivation on solid and liquid media. We used previously obtained hairy roots of carrot and strain VKPM F-1572 (MUCL 49410) *G. intraradices*. As a result of the work carried out, joint cultures of hairy roots with glomus were obtained, which showed exponential growth in both solid and liquid media. Obtaining joint cultures was proved microscopically; for this, the roots were preliminarily stained with trypan blue dye. Also, two variants of a bioreactor for growing the obtained cultures were tested, and the prospects for using a mixed liquid-gas medium were shown. Work is underway to obtain and test a laboratory sample of the glomus biological product grown on the hairy roots of carrots in a bioreactor.

**Биологическая детоксикация загрязнителей**<sup>1</sup>Миндубаев А.З., <sup>2</sup>Бабынин Э.В., <sup>1</sup>Караева Ю.В.<sup>1</sup>Институт энергетических перспективных технологий ФИЦ Казанского научного центра РАН<sup>2</sup>Татарский НИИ АХП ФИЦ КазНЦ РАН

mindubaev-az@yandex.ru

В проведенных исследованиях микробные культуры адаптировались к присутствию в среде белого фосфора, окисляли его до фосфата и использовали в качестве источника биогенного макроэлемента. Ранее была продемонстрирована биodeградация белого фосфора штаммами плесневого гриба *Aspergillus niger*. Метод конфокальной микроскопии показал, что белый фосфор незначительно влияет на соотношение живых и мертвых клеток в колониях грибов, т.е. устойчивость к нему очень высока.

Получено подтверждение наличия молекулярных механизмов устойчивости *A. niger* к белому фосфору, так как выявлены существенные отличия белкового профиля в отсутствие и в присутствии данного токсиканта. Методом MALDI показан биосинтез новых белков – ферментов, либо активаторов каскадной клеточной регуляции, которые могут принимать участие в обезвреживании белого фосфора.

Установлено, что *A. niger* AM1 способен утилизировать в качестве источника фосфора гербицид глифосат. Проведено исследование филогенетического родства *A. niger* AM1 со способными к биodeградации штаммами *A. niger*, *A. bombycis* и *A. fumigatus* из базы NCBI. Оказалось, что ближайшими родственниками исследуемого штамма являются два штамма *A. niger* из Китая, являющиеся почвенными солубилизаторами труднорастворимых фосфатов.

Проведена оценка генотоксичности белого фосфора. SOS-lux тест продемонстрировал генотоксичность. Выявлено негативное влияние белого фосфора на клеточный цикл эукариот методом Allium теста. Показано, что белый фосфор даже в очень низкой концентрации (около 0.01%), в 6.4 раз увеличивает количество хромосомных aberrаций по сравнению с контролем, а в 0.02% - в 10 раз.

**Biological detoxification of pollutants**<sup>1</sup>Mindubaev A.Z., <sup>2</sup>Babynin E.V., <sup>1</sup>Karaeva J.V.<sup>1</sup> Institute of Power Engineering and Advanced Technologies, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences<sup>2</sup> Tatar Research Institute of Agricultural Chemistry and Soil Science – Subdivision of the Federal Research Center

“Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences”

mindubaev-az@yandex.ru

In these studies microbial cultures were adapted to the presence of white phosphorus in the medium, oxidizing it to phosphate and using it as a source of biogenic macronutrient. Biodegradation of white phosphorus by strains of the mould fungus *Aspergillus niger* has been previously demonstrated. Confocal microscopy showed that white phosphorus had a negligible effect on the ratio of live to dead cells in fungal colonies, i.e. resistance to it was very high.

Molecular mechanisms of *A. niger* resistance to white phosphorus were confirmed as significant differences in protein profile were revealed in the absence and in the presence of this toxicant. Biosynthesis of new proteins, either enzymes or activators of cascade cell regulation, which can take part in neutralization of white phosphorus, was shown by MALDI.

*A. niger* AM1 was found to be capable of utilizing the herbicide glyphosate as a phosphorus source. The phylogenetic relatedness of *A. niger* AM1 with biodegradable strains of *A. niger*, *A. bombycis*, and *A. fumigatus* from the NCBI database was studied. It turned out that two *A. niger* strains from China, which are soil solubilizers of hardly soluble phosphates, are the closest relatives of the studied strain.

The genotoxicity of white phosphorus was evaluated. The SOS-lux test showed genotoxicity. The negative effects of white phosphorus on the cell cycle of eukaryotes were determined by the Allium test. White phosphorus, even at a very low concentration (about 0.01%), was shown to increase 6.4-fold the number of chromosomal aberrations in comparison with control, and 0.02% - 10-fold.

**Применение технологии обработки семян плазмой барьерного разряда для улучшения их посевных качеств и повышения продуктивности горчицы сарептской**

<sup>1</sup>Минич А.С., <sup>1</sup>Минич И.Б., <sup>1</sup>Чурсина Н.Л., <sup>1</sup>Васильев С.Е., <sup>1</sup>Финичёва А.А.,  
<sup>2</sup>Кудряшов С.В., <sup>2</sup>Рябов А.Ю., <sup>2</sup>Очеретько А.Н.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Томский государственный педагогический университет, г. Томск

<sup>2</sup>ФГБНУ Институт химии нефти СО РАН, г. Томск

[minich@tspu.edu.ru](mailto:minich@tspu.edu.ru)

Предпосевная обработка семян плазмой барьерного разряда может влиять на их жизнедеятельность за счет модификации поверхности семян и проникновения активных частиц плазмы внутрь семени через семенной слой. Улучшается смачиваемость поверхности семян, повышается поглощение воды, нарушается состояние покоя, стимулируется использование запасов семени за счет изменения ферментативной и гормональной активности. Это может приводить к повышению всхожести семян и более раннему их прорастанию, интенсивному росту и развитию, увеличению продуктивности растений, выращенных из них.

Целью работы – изучение влияния предпосевной обработки семян *Brassica juncea* ‘Бутербродная’ плазмой барьерного разряда в воздушной среде на их качество, морфогенез и продуктивность выращенных из них растений. Семена обрабатывались в плазмохимическом реакторе с планарным расположением электродов и одним диэлектрическим барьером с активной мощностью плазмы ~7 Вт. Время обработки семян – 5, 10, 15 и 25 с (опыт), контролем служили необработанные плазмой семена и проростки горчицы, выращиваемые из них.

Посевные качества семян определялись по ГОСТ 12038-84. Семена горчицы высевались в контейнерах в почву и проращивались до 7 суток под лампами ДНАЗ-150 (интенсивность – 150 Вт/м<sup>2</sup>, фотопериод – 12 ч).

Эксперимент проводился в трех биологических повторностях на 100 проростках с оценкой достоверности результатов исследований при уровне надежности 95 %.

Результаты исследований показали, что относительно контроля энергия прорастания и лабораторная всхожесть семян горчицы, обработанных в течение 5 с, 10 с, 25 с была ниже на 6%, 12%, 10% соответственно, у обработанных в течение 15 с – выше на 6% и 13%. Морфометрические параметры проростков горчицы, выращенных из семян, обработанных плазмой в течение 5 с, достоверно не отличались от контроля. У проростков, выращенных из семян, обработанных плазмой в течение 10 и 25 с, все показатели надземной части были больше на 20 – 60%. Максимальные положительные изменения ростовых процессов выявлены у проростков, выращиваемых из семян, обработанных плазмой в течение 15 с – увеличение показателей от 40% (сухая и сырая биомассы) до 130% (площадь ассимилирующей поверхности).

Такой результат показывает, что технология обработки семян плазмой барьерного разряда может быть использована в сельском хозяйстве с целью повышения продуктивности горчицы сарептской.

**Application of seed treatment technology with barrier discharge plasma to improve their sowing qualities and increase the productivity of Sarepta mustard**

<sup>1</sup>Minich A.S., <sup>1</sup>Minich I.B., <sup>1</sup>Chursina N.L., <sup>1</sup>Vasiliev S.E., <sup>1</sup>Finicheva A.A.,

<sup>2</sup>Kudryashov S.V., <sup>2</sup>Ryabov A.Yu., <sup>2</sup>Ocheredko A.N.

<sup>1</sup>Tomsk State Pedagogical University, Tomsk

<sup>2</sup>Institute of Petroleum Chemistry SB RAS, Tomsk

[minich@tspu.edu.ru](mailto:minich@tspu.edu.ru)

Presowing seed treatment with barrier discharge plasma can affect their vital activity due to modification of the seed surface and penetration of active plasma particles into the seed through the seed layer. The wettability of the seed surface improves, water absorption increases, dormancy is disturbed, the use of seed reserves is stimulated due to changes in enzymatic and hormonal activity. This can lead to an increase in the germination of seeds and their earlier germination, intensive growth and development, and an increase in the productivity of plants grown from them.

The aim of the work is to study the effect of presowing treatment of *Brassica juncea* ‘Buterbrodnaya’ seeds with barrier discharge plasma in air on their quality, morphogenesis and productivity of plants grown from them.

The seeds were processed in a plasma-chemical reactor with a planar arrangement of electrodes and one dielectric barrier with an active plasma power of ~7 W. The seed treatment time was 5, 10, 15, and 25 s (experiment); seeds untreated with plasma and mustard seedlings grown from them served as controls.

Sowing qualities of seeds were determined according to GOST 12038-84. Mustard seeds were sown in containers in the soil and germinated for up to 7 days under DNAZ-150 lamps (intensity – 150 W/m<sup>2</sup>, photoperiod – 12 h).

The experiment was carried out in three biological replicates on 100 seedlings with an assessment of the reliability of the research results at a reliability level of 95%.

The research results showed that, relative to the control, the germination energy and laboratory germination of mustard seeds treated for 5 s, 10 s, 25 s were lower by 6%, 12%, 10%, respectively, in those treated for 15 s - higher by 6% and 13%. The morphometric parameters of mustard seedlings grown from seeds treated with plasma for 5 s did not differ significantly from the control. In seedlings grown from seeds treated with plasma for 10 and 25 s, all parameters of the aerial part were higher by 20 – 60%. The maximum positive changes in growth processes were found in seedlings grown from seeds treated with plasma for 15 s – an increase in indicators from 40% (dry and wet biomass) to 130% (assimilating surface area). This result shows that the barrier discharge plasma seed treatment technology can be used in agriculture to increase the productivity of Sarepta mustard.

**Роль эффектора SnTox1 патогенного гриба *Stagonospora nodorum* (Berk.) в подавлении защитного ответа растений пшеницы за счет регуляции работы компонентов про-/антиоксидантной системы**

<sup>1</sup> Миннигалиева А.Ф., <sup>1</sup> Нужная Т.В., <sup>1</sup> Веселова С.В., <sup>2</sup> Шоева О.Ю., <sup>1</sup> Максимов И.В.

<sup>1</sup> Институт биохимии и генетики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского Федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия

<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия.

3477122413@mail.ru

Важнейшим фактором вирулентности *S. nodorum* являются многочисленные некротрофные эффекторы (НЭ) гриба (SnTox). Такие НЭ обеспечивают вирулентность штамма патогена к растению-хозяину, в геноме которого присутствует соответствующий эффектору доминирующий ген восприимчивости (*Snn*). В патосистеме пшеница–*S. nodorum* специфическое взаимодействие продуктов генов вирулентности патогена НЭ с продуктами генов восприимчивости растения-хозяина осуществляется по типу ген-на-ген в зеркальном отражении, вызывает развитие болезни и направлено на манипулирование редокс-статусом растения. Целью исследований являлось изучение роли эффектора SnTox1 патогенного гриба *Stagonospora nodorum* в развитии инфекции, связанной со специфической и неспецифической восприимчивостью к патогену. В данной работе была установлена нечувствительность сорта Саратовская 29 и чувствительность сорта Омская 35 к эффектору SnTox1. В гене *Snn1* у сорта Саратовская 29 обнаружен ряд однонуклеотидных замен (инсерций), которые приводят к аминокислотным заменам, также выявлена инсерция одного нуклеотида, приводящая к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона TAG. Показана роль эффектора SnTox1 в подавлении генерации активных форм кислорода при совместимом взаимодействии на раннем этапе инфицирования за счет влияния в основном на активность пероксидаз. Эффектор SnTox1 незначительно влиял или не влиял на активность каталазы и транскрипционную активность генов, кодирующих изоформы НАДФН-оксидаз. Установлена отрицательная роль эффектора SnTox1 на транскрипционную активность гена, кодирующего анионную пероксидазу пшеницы, участвующую в генерации активных форм кислорода *TaAnper*. Показана положительная роль эффектора SnTox1 на транскрипционную активность генов, кодирующих пероксидазы пшеницы *TaPox4*, *TaPrx67*. Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № № 22-76-00055.

**The role of the SnTox1 effector of the pathogenic fungus *Stagonospora nodorum* (Berk.) in suppressing the protective response of wheat plants due to the regulation of the components of the pro-/antioxidant system**

<sup>1</sup> Minnigalieva A.F., <sup>1</sup> Nuzhnaya T.V., <sup>1</sup> Veselova S.V., <sup>2</sup> Shoeva O.Yu., <sup>1</sup> Maksimov I.V.

<sup>1</sup> Institute of Biochemistry and Genetics is a separate structural subdivision of the Federal State Budgetary Scientific Institution of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia.

<sup>2</sup> Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

3477122413@mail.ru

The most important factor in the virulence of *S. nodorum* is numerous necrotrophic effectors (NE) of the fungus (SnTox). Such NEs ensure the virulence of the pathogen strain to the host plant, in the genome of which the dominant susceptibility gene corresponding to the effector (*Snn*) is present. In the wheat–*S. nodorum* pathosystem, the specific interaction of products of NE genes with the products of susceptibility genes of host plant is carried out in a mirror image gene-for-gene type, causes the development of the disease and is aimed at manipulating the redox status of the plant. The aim of the research was to study the role of the SnTox1 effector of the pathogenic fungus *Stagonospora nodorum* in the development of infection associated with specific and nonspecific susceptibility to the pathogen. In this work, the insensitivity of the Saratovskaya 29 variety and the sensitivity of the Omskaya 35 variety to the SnTox1 effector were established. In the gene *Snn1* in the Saratovskaya 29, a number of single-nucleotide substitutions (insertions) were found, which lead to amino acid substitutions; an insertion of one nucleotide was also detected, leading to a reading frame shift and the formation of a premature TAG stop codon. The role of the SnTox1 effector in the suppression of the generation of reactive oxygen species during compatible interaction at the early stage of infection due to the influence mainly on the activity of peroxidases was shown. The SnTox1 effector had little or no effect on catalase activity and transcriptional activity of genes encoding NADPH oxidase isoforms. The negative role of the SnTox1 effector on the transcriptional activity of the gene encoding the anionic wheat peroxidase involved in the generation of reactive oxygen species *TaAnper* has been established. The positive role of the SnTox1 effector on the transcriptional activity of genes encoding wheat peroxidases *TaPox4*, *TaPrx67* was shown. The work was carried out within the framework of the RSF grant no. 22-76-00055.



**Использование грибов-эндофитов вересковых для улучшения фосфорного питания растений клюквы крупноплодной**

<sup>1,2</sup>Михеев В.С., <sup>1,2</sup>Стручкова И.В., <sup>1,2</sup>Агеева М.Н., <sup>1</sup>Березина Е.В.

<sup>1</sup>ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Россия, г. Нижний Новгород

<sup>2</sup>ООО «Микофит», Россия, г. Бор

m89625107456@gmail.com

Поиск на территории РФ изолятов грибов, способных улучшить снабжение фосфором растение-хозяина без дополнительного внесения фосфорных удобрений, является актуальной задачей. В случае ценных ягодных растений сем. Вересковых – клюквы, голубики и др., – представляется перспективным отбирать грибы, выделенные в естественных местах обитания этих растений.

Целью работы являлась оценка способности грибов *Phialocephala fortinii* и *Oidiodendron maius* гидролизовать органические фосфаты почв, а также изменять корневую архитектуру и накопление фосфора у растения-хозяина – клюквы крупноплодной *Vaccinium macrocarpon*.

Изолят *P. fortinii* был выделен нами из корней дикорастущих вересковых, штамм *O. maius* F-3860 получен из ВКМ. Способность гидролизовать органические соединения фосфора оценивали по фитазной активности в культуральной жидкости. За единицу удельной активности фитазы (U) принимали количество мкг фосфора, высвобождаемого ферментом из фитата натрия за 1 мин в расчете на 1 мг белка. Концентрацию фосфат-ионов определяли спектрофотометрически с помощью рабочего реактива, содержащего молибдат аммония, серную кислоту и ацетон, при длине волны 355 нм.

Грибы сокультивировали с растениями клюквы в горшечной культуре. В грунт на глубину 1,5 см вносили фрагменты мицелия и высаживали микроклонально размноженные трехмесячные растения. В контрольном варианте гриб не вносили. Процесс заселения корней грибом изучали методами микроскопии. Спустя 6 мес. после посадки у растений измеряли длину и разветвленность корней и побегов, а также содержание фосфора в корнях и листьях.

Фитазная активность у *P. fortinii* достигала максимума на 21 сут. роста ( $6,87 \pm 0,25$  U), у *O. maius* – на 14 сут. роста ( $7,37 \pm 0,74$  U). Грибные гифы внутри корня обнаруживались через 5 мес. после высадки растений. Спустя 6 мес. после посадки у инокулированных *P. fortinii* растений по сравнению с неинокулированными возрастала разветвленность и длина корневой системы, а также содержание фосфора в листьях и корнях.

Таким образом, *P. fortinii* и *O. maius* обладают фитазной активностью и способны высвобождать фосфор из органических соединений почв. Они также способны заселять ткани корня растений, а *P. fortinii* – увеличивать разветвленность и длину корневой системы. Увеличение содержания фосфора в растениях доказывает способность гриба *P. fortinii* усиливать усвоение фосфора почвой растениями.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям (договор № 3993ГЦ1/65535), при финансовой поддержке Программы стратегического академического лидерства “Приоритет 2030”.

**The use of heather endophyte fungi to improve the phosphorus nutrition of large cranberry plants**

<sup>1,2</sup>Mikheev V.S., <sup>1,2</sup>Struchkova I.V., <sup>1,2</sup>Ageeva M.N., <sup>1</sup>Berezina E.V.

<sup>1</sup>Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevsky, Nizhny Novgorod

<sup>2</sup>LLC «Mycophyte», Bor

m896251074562gmail.com

The search on the territory of the Russian Federation for fungal isolates capable of improving the supply of phosphorus to the host plant without additional application of phosphorus fertilizers is an urgent task. It is seems promising to select fungi isolated from the natural habitats in the case of valuable berry plants from Ericaceae genus – cranberries, blueberries, etc.

The aim of the work was to evaluate the ability of the fungi *Phialocephala fortinii* and *Oidiodendron maius* to hydrolyze organic soil phosphates, as well as to change the root architecture and phosphorus accumulation in the host plant - large cranberry *Vaccinium macrocarpon*.

An isolate of *P. fortinii* was isolated from the roots of wild heather, the strain *O. maius* F-3860 was obtained from VCM. The ability of hydrolyzation of organic phosphorus compounds was assessed by phytase activity in the culture fluid. The amount of micrograms of phosphorus released by the enzyme from sodium phytate per 1 min per 1 mg of protein was taken as a unit of specific activity of phytase (U). The concentration of phosphate ions was determined spectrophotometrically using a working reagent containing ammonium molybdate, sulfuric acid and acetone at a wavelength of 355 nm. Fungi were co-cultivated with cranberry plants in a pot culture. Mycelium fragments were introduced into the soil to a depth of 1.5 cm to microclonally propagated three-month-old plants. The fungus was not introduced in the control version. The process of root colonization by fungus was studied by microscopy methods. The length and branching of the roots and shoots were measured in the plants after 6 months of planting, as well as the phosphorus content in the roots and leaves.

Phytase activity for *P. fortinii* peaked at 21 days of growth and reached ( $6.87 \pm 0.25$  U), for *O. maius* – for 14 days of growth ( $7.37 \pm 0.74$  U). Fungal hyphae inside the root were detected 5 months after planting. the branching and length of the root system after 6 months planting increased in inoculated *P. fortinii* plants compared to non-inoculated plants, as well as the phosphorus content in leaves and roots. Thus, *P. fortinii* and *O. maius* have phytase activity and are able to release phosphorus from organic soil compounds. They are also able to colonize plant root tissues, and *P. fortinii* is able to increase the branching and length of the root system. An increase in the phosphorus content in plants proves the ability of the fungus *P. fortinii* to enhance the absorption of soil phosphorus by plants.

**Выбор целевых сайтов и направляющей РНК для нокаута генов ячменя обыкновенного *HORVU3Hr1G109230*, *HORVU4Hr1G066230*, *HORVU5Hr1G125450*, гомологичных генам *CML39* арабидопсиса и *AOS2*, *PM19L* риса, вовлеченных в ответ растения на абиотический стресс**

Миценюк А.С., Бондаренко Е.В., Бондаренко В.С., Волкова П.Ю.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии»,

г. Обнинск

[micenyk-anastasi@mail.ru](mailto:micenyk-anastasi@mail.ru)

В ходе ранее проведенных исследований были выявлены 3 гена *Hordeum vulgare*, связанных с проявлением радиационного гормезиса. Ген *HORVU3Hr1G109230* является гомологом *CML39* (*Arabidopsis thaliana*), продукт которого – кальциевый сенсор – способствует передаче световых сигналов и принимает участие в ответе на различные стрессоры. Гомологом *HORVU5Hr1G125450* является ген риса *PM19L*, кодирующий мембранный белок, вовлеченный в передачу АБК-зависимых сигналов. *HORVU4Hr1G066230* является гомологом гена *AOS2* риса, продукт которого вовлечен в биосинтез жасмоновой кислоты, регулирует рост растений и выступает медиатором передачи сигналов в защите от различных факторов. Эти гены являются перспективными мишенями как для исследований механизмов стимулирующего эффекта  $\gamma$ -облучения, так и для получения продуктивных и стрессоустойчивых генотипов при помощи геномного редактирования. Для подтверждения роли целевых генов в устойчивости к различным факторам было решено разработать конструкции для внесения изменений в 1-ый экзон исследуемых генов, с целью нокаута или получения белка с утраченной функцией.

Анализ баз Ensembl Plants, UniProt, CATH позволил выявить ряд целевых сайтов для последующего нокаута: домены EF-hand с сайтами связывания  $Ca^{2+}$  (3 домена в позициях 239-274, 350-385 и 593-628 п.н.) у гена *HORVU3Hr1G109230*; домен цитохрома P450 (позиция 812-1117 п.н.) у гена *HORVU4Hr1G066230*; 2 трансмембранных домена (позиции 69-134 и 168-236 п.н.) у гена *HORVU5Hr1G125450*.

Подбор и анализ вторичных структур направляющих РНК (нРНК), нацеленных на целевые регионы кандидатных генов ячменя, проводился при помощи ресурсов CRISPOR, CRISPR-P 2.0, UGENE и RNAfold. Оценку и отбор нРНК осуществляли в соответствии со стандартными требованиями, предъявляемыми к нРНК. Для дальнейшей работы отобрали следующие оптимальные нРНК:

*HORVU3Hr1G109230*: 5'-GGACGGCAGGATCTCCGCGA-3' (позиция 250-269 п.н.), 5'-GCTTAGCAGCCCGTCTCCGT-3' (позиция 357-376 п.н.) и 5'-TGCAATAACAACACTGCACCAC-3' (позиция 598-617 п.н.).

*HORVU4Hr1G066230*: 5'-TACGGCGGTGCGTACCTCCG-3' (позиция 828-847 п.н.), 5'-GGAGGTACGCACCGCCGTAG-3' (позиция 829-848 п.н.) и 5'-GTACCAGCCATGCGCCACCA-3' (позиция 1033-1052 п.н.).

*HORVU5Hr1G125450*: 5'-CTCCGCCTTCTTCGCTGG-3' (позиция 77-96 п.н.) и 5'-CACGTACAGGAGCTGCGTGA-3' (позиция 211-230 п.н.).

Результаты получены при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (Соглашение № 075-15-2021-1068 от 28.09.2021).

**Selection of target sites and guide RNA for knockout of *Hordeum vulgare* genes *HORVU3Hr1G109230*, *HORVU4Hr1G066230*, *HORVU5Hr1G125450*, homologous to *CML39* of arabidopsis and *AOS2*, *PM19L* genes of rice, involved in plant response to abiotic stress**

Mitsenyk A.S., Bondarenko E.V., Bondarenko V.S., Volkova P.Yu.

Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk

[micenyk-anastasi@mail.ru](mailto:micenyk-anastasi@mail.ru)

Previous studies resulted in identification of three *Hordeum vulgare* genes associated with the manifestation of radiation hormesis. The *HORVU3Hr1G109230* gene is a homologue of *CML39* (*Arabidopsis thaliana*), whose product, the calcium sensor, promotes the transmission of light signals and is involved in the response to various stressors. The homologue of *HORVU5Hr1G125450* is the rice *PM19L* gene encoding a membrane protein involved in ABA-dependent signal transduction. *HORVU4Hr1G066230* is a homologue of the rice *AOS2* gene, the product of which is involved in the biosynthesis of jasmonic acid, regulates plant growth, and acts as a mediator of defense signaling against various factors. These genes are promising targets both for studying the mechanisms of the stimulating effect of  $\gamma$ -irradiation and for obtaining productive and stress-resistant genotypes using genomic editing. To confirm the role of target genes in resistance to various factors, we decided to develop constructs editing the 1<sup>st</sup> exon of the studied genes in order to knock out or obtain a loss-of-function protein.

Analysis of the Ensembl Plants, UniProt, and CATH databases revealed a number of target sites for subsequent knockout, namely: EF-hand domains with  $Ca^{2+}$  binding sites (3 domains at positions 239-274, 350-385, and 593-628 bp) in the *HORVU3Hr1G109230* gene; cytochrome P450 domain (position 812-1117 bp) in the *HORVU4Hr1G066230* gene; 2 transmembrane domains (positions 69-134 and 168-236 bp) in the *HORVU5Hr1G125450* gene.

CRISPOR, CRISPR-P 2.0, UGENE, and RNAfold resources were applied for the selection and analysis of the secondary structures of guide RNA (gRNA), directed to the target regions of candidate barley genes. The assessment of gRNA structures was carried out in accordance with the standard requirements for gRNA. The following optimal gRNAs were selected for further studies:

1. *HORVU3Hr1G109230*: 5'-GGACGGCAGGATCTCCGCGA-3' (targeting the position 250-269 bp), 5'-GCTTAGCAGCCCGTCTCCGT-3' (position 357-376 bp), and 5'-TGCAATAACAACACTGCACCAC-3' (position 598-617 bp).

2. *HORVU4Hr1G066230*: 5'-TACGGCGGTGCGTACCTCCG-3' (position 828-847 bp), 5'-GGAGGTACGCACCGCCGTAG-3' (position 829-848 bp) and 5'-GTACCAGCCATGCGCCACCA-3' (position 1033-1052 bp).

3. *HORVU5Hr1G125450*: 5'-CTCCGCCTTCTTCGCTGG-3' (position 77-96 bp) and 5'-CACGTACAGGAGCTGCGTGA-3' (position 211-230 bp).

The results were obtained with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-15-2021-1068 dated September 28, 2021).

**Выбор оптимальных генетических конструкций для редактирования генов *HORVU3Hr1G109230*, *HORVU4Hr1G066230*, *HORVU5Hr1G125450* ячменя (*Hordeum vulgare*), вовлеченных в ответ на воздействие ионизирующего излучения, с целью их нокаута**

Миценюк А.С., Подобед М.Ю., Бондаренко Е.В., Бабина Д.Д., Бондаренко В.С., Волкова П.Ю.  
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии»,  
г. Обнинск  
[podobedmyu@gmail.com](mailto:podobedmyu@gmail.com)

Нокаут-мутанты являются важным инструментом обратной генетики и активно используются в исследованиях модельных растений и несколько реже – в исследованиях сельскохозяйственных культур.

Ранее, на основе анализа транскриптома зародышей семян ячменя, облученных стимулирующими дозами  $\gamma$ -излучения, были выбраны гены-мишени: *HORVU3Hr1G109230*, *HORVU4Hr1G066230*, *HORVU5Hr1G125450*, гомологичные генам *CML31*, *AOS2*, *PM19L* *Oryza sativa*, соответственно.

С целью нокаута или получения усеченного белка с утраченной функцией были выбраны конструкции для внесения изменений в первый экзон исследуемых генов ячменя обыкновенного.

Для увеличения вероятности возникновения мутаций в целевых генах в конструкцию были включены две химерные направляющие РНК (хнРНК), нацеленных на один ген. Ожидается, что такой подход позволит внести не только небольшие инсерции/делеции, но и создать более крупные делеции (с утратой фрагмента ДНК между двумя хнРНК).

Для стабильной трансформации эксплантов ячменя выбраны бинарные Ti-плазмиды *Agrobacterium tumefaciens*. Плазмида 1-го уровня делится на четыре кассеты. У левой границы Ti-плазмиды находится первая кассета, которая обеспечивает устойчивость к гиромоцину и позволяет регенерировать растениям ячменя, содержащим интегрированную в геном T-ДНК. Вторая кассета экспрессирует Cas9 с сигналом ядерной локализации. Экспрессия Cas9 контролируется промотором убиквитина кукурузы и терминатором гена нопалинсинтазы из *A. tumefaciens*. Третья и четвертая кассеты используют промотор U6 пшеницы для управления транскрипцией хнРНК, специфичной соответствующему локусу-мишени. Плазмидой-акцептором, в которую проводится сборка всех кассет 1-го уровня, является плазмида pAGM8031 (AddGene #48037). Для всех плазмид 1-го уровня селективным агентом является карбенициллин, а для плазмиды 2-го уровня – спектиномицин.

Линии ячменя с нокаутом исследуемых генов будут использованы в качестве моделей в фундаментальных исследованиях для изучения физиологической роли этих генов, как в норме, так и в ответ на воздействие абиотических факторов, включая ионизирующее излучение.

Результаты получены при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (Соглашение № 075-15-2021-1068 от 28.09.2021).

**Selection of optimal genetic constructs for knockout of *HORVU3Hr1G109230*, *HORVU4Hr1G066230*, and *HORVU5Hr1G125450* barley genes involved in response to ionizing radiation exposure**

Mitsenyuk A.S., Podobed M.Yu., Bondarenko E.V., Babina D.D., Bondarenko V.S., Volkova P.Yu.  
Russian Institute of Radiology and Agroecology, Obninsk  
[podobedmyu@gmail.com](mailto:podobedmyu@gmail.com)

Knockout mutants are an important tool in reverse genetics and are widely used in model plant studies and, somewhat less frequently, in studies of crops.

Earlier, based on the analysis of the transcriptome of barley seed embryos irradiated with stimulating doses of  $\gamma$ -radiation, target genes were selected: *HORVU3Hr1G109230*, *HORVU4Hr1G066230*, *HORVU5Hr1G125450*, homologous to the *CML31*, *AOS2*, and *PM19L* genes of *Oryza sativa*, respectively. In order to knock out or obtain a truncated loss-of-function protein, genetic constructs were selected to edit the first exon of the studied barley genes.

To increase the mutation rate in the target genes, two guide RNAs (gRNAs) targeting the same gene were included in the construct. It is expected that this approach will generate not only small insertions/deletions, but also create larger deletions. Binary Ti-plasmids of *Agrobacterium tumefaciens* were chosen for stable transformation of barley explants. Level 1 plasmid is divided into four cassettes. The first cassette is at the left border of the Ti-plasmid, providing resistance to hygromycin and allowing the regeneration of barley plants with T-DNA integrated into their genome. The second cassette expresses Cas9 with a nuclear localization signal. Cas9 expression is controlled by the maize ubiquitin promoter and the nopaline synthase gene terminator from *A. tumefaciens*. The third and fourth cassettes use the wheat U6 promoter to direct the transcription of gRNA specific to the respective target locus. All level 1 cassettes are assembled to the acceptor plasmid pAGM8031 (AddGene #48037). Carbenicillin is the selective agent for all plasmids of the 1<sup>st</sup> level, and spectinomycin is applied for the plasmid of the 2<sup>nd</sup> level.

Barley lines with a knockout of the studied genes will be used as models in basic research to study the physiological role of these genes, both in normal conditions and in response to abiotic factors, including ionizing radiation.

The results were obtained with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Agreement No. 075-15-2021-1068 dated September 28, 2021).

**Молекулярно-филогенетический анализ генов первичной реакции клубеньковых бактерий вида *Sinorhizobium meliloti* на солевой стресс**

Мунтян В.С., Мунтян А.Н., Румянцева М.Л.

ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.  
vucovar@yandex.ru

Микросимбионты бобовых растений способствуют повышению устойчивости растений-хозяев к солевому стрессу и, соответственно, увеличению их продуктивности, однако генетический потенциал таких бактерий остается недооцененным. Целью настоящего исследования был молекулярно-филогенетический анализ внутривидового разнообразия генов (наличие, число копий и локализация в геноме), связанных с первичной реакцией на солевой стресс, а также получение данных об эволюционных путях формирования набора генов интереса, посредством анализа геномов штаммов клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti*, формирующих облигатный мутуалистический азотфиксирующий симбиоз с люцерной. Было отобрано пять генов, четыре из которых относились к первичному ответу клеток на солевой стресс, и ген 16S рРНК, которые изучали в геномах 51 представителя 4-х классов бактерий. В результате анализа 210 нуклеотидных последовательностей пяти генов было показано, что пул генов *S. meliloti*, связанных со стрессоустойчивостью, объединяет ортологи (*aqpZ1/aqpZ2*) или паралоги (*trkH/trkH-2*), привнесенные в результате горизонтального переноса генов из различных таксонов бактерий. Например, ген *kdpA*, расположенный на SMA, был привнесен в геномы *S. meliloti* (класс  $\alpha$ -протеобактерий) из класса *Actinobacteria* (BD 100%, bootstrap 1000). Выявлены факты активного переноса этого гена внутри класса  $\alpha$ -протеобактерий. Предположительно, двухкопийность генов, относящихся к пулу генов стрессоустойчивости (копии расположены на хромосоме и на SMA) можно рассматривать в качестве видоспецифичной характеристики бактерий вида *S. meliloti*.

**Molecular phylogenetic analysis of genes of *Sinorhizobium meliloti* responsible for primary salt stress adaptation**

Muntyan V.S., Muntyan A.N., Rumyantseva M.L.

FSBSI All-Russia Research Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg  
vucovar@yandex.ru

Microsymbionts are contribute to salt stress tolerance of the host plants, which results in increased of plants productivity, while genetic potential of bacterial symbionts remains underestimated. The aim of this study was to obtain data on the evolutionary pathways of the formation of gene pool responsible for the primary reaction to salt stress in *Sinorhizobium meliloti*, root nodule bacteria forming a non-obligate mutualistic nitrogen-fixing symbiosis with alfalfa. Our approach was a molecular phylogenetic analysis of intraspecies diversity of genes (the presence, number of copies and the localization in genome) by analyzing their nucleotide sequences available in a whole genome sequences of rhizobia data set. The five genes were selected, among which 16S rRNA gene and four genes related to the primary response of bacteria cells to salt stress. All corresponding sequences were tested in genomes of 51 reference strains of 4 bacterial classes. As a result, a bioinformatic analysis of 210 nucleotide sequences of genes of interest it was shown that gene pool associated with stress tolerance of *S. meliloti* united orthologs (*aqpZ1/aqpZ2*) or paralogs (*trkH/trkH-2*), which were introduced into *S. meliloti* as a result of horizontal gene transfer from different taxa of bacteria. For example, the *kdpA* gene located on SMA was transferred to *S. meliloti* ( $\alpha$ -proteobacteria) from *Actinobacteria* class (BD 100%, bootstrap 1000). The facts of active transfer of this gene within the class of  $\alpha$ -proteobacteria have been revealed. Obtained data allowed to suggest that genes related to stress tolerance in *S. meliloti* are generally represented by two-copies (copies are located on the chromosome and on SMA) and that could be considered as a species-specific characteristic of this rhizobia species.

**Ризосферные микробные сообщества мятлика лугового (*Poa pratensis* L.), выращенного в почвах с техногенными полиэлементными аномалиями**

<sup>1</sup>Муратова А.Ю., <sup>2</sup>Горелова С.В.

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов ФИЦ Саратовский научный центр РАН, г. Саратов

<sup>2</sup>Тульский государственный университет, г. Тула

[muratova\\_a@ibppm.ru](mailto:muratova_a@ibppm.ru)

Мятлик луговой (*Poa pratensis* L.) рассматривается как растение-ремедиант, способное к накоплению и стабилизации тяжелых металлов в почвах с повышенным их содержанием. Однако влияние техногенного загрязнения на ризосферное сообщество как компонент устойчивости и фиторемедиационного потенциала этого растения изучено недостаточно. Целью работы являлся сравнительный анализ ризосферного сообщества *P. pratensis*, выращенных в почвах с различными полиэлементными аномалиями.

Растения выращивали в условиях лабораторного опыта в 4 видах техногенно загрязненных почв г. Тула: санитарно-защитных зон предприятий металлургии: (ПАО «Косогорский металлургический завод» и ПАО «Тулачермет»), а также городских территорий (центральной улицы пр. Ленина, Набережной р. Упа около Оружейного завода). Все почвы характеризовались полиэлементными аномалиями. В качестве незагрязненного контроля использовали почву фоновой зоны с территории музея-усадьбы Л. Н. Толстого «Ясная Поляна». Для определения общей численности гетеротрофных бактерий, актиномицетов и микромицетов в ризомикрофлоре мятлика использовали культуральные методы. Исследование таксономической структуры ризосферных микробных сообществ проводили при помощи метагеномного анализа образцов по гену 16S рРНК, секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq. Установлено, что численность основных групп микроорганизмов (бактерий, актиномицетов и микромицетов) в ризосфере *P. pratensis* зависела от типа почвы, в которой выращивались растения, и определялась ее характеристиками. Ризосферные популяции мятлика, выращенного в контрольной почве Ясной поляны, характеризовались наименьшим таксономическим разнообразием по сравнению с ризобиомами растений, выращенных в загрязненных урбаноземах. Максимальный индекс видового богатства отмечен для ризосферных сообществ растений, выращенных на почвах Тулачермет. Таксономическая структура ризосферных микробиомов мятлика была представлена доминирующими бактериальными типами Proteobacteria, Actinobacteria, а также типами Planctomycetes, Acidobacteria, Chloroflexi и Bacterioides. По сравнению с контрольной чистой почвой выращивание мятлика в урбаноземах приводило к изменению соотношения основных типов: снижалась доля Proteobacteria и Firmicutes, но увеличивалась доля Actinobacteria, Planctomycetes, Chloroflexi и Acidobacteria.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-29-05257 «Техногенное загрязнение почв токсичными элементами и возможные методы его устранения».

**Rhizospheric microbial communities of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) grown in soils with technogenic polyelement anomalies**

<sup>1</sup>Muratova A.Yu., <sup>2</sup>Gorelova S.V.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, Saratov

<sup>2</sup>Tula State University, Tula

[muratova\\_a@ibppm.ru](mailto:muratova_a@ibppm.ru)

Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) is a remediating plant capable of accumulation and stabilization of heavy metals in soils contained exceeded content of pollutants. However, the impact of man-made pollution on the rhizosphere community as a component of heavy metal-resistance and phytoremediation potential of this plant has not been sufficiently studied. The objective of the study was a comparative analysis of the rhizosphere community of *P. pratensis* grown in soils with various polyelement anomalies.

The plants were grown under laboratory experiment conditions in 4 types of technogenically polluted soils of Tula: sanitary protection zones of metallurgy enterprises: (PJSC Kosogorsky Metallurgical Plant and PJSC Tulachermet), as well as urban areas (central street, Lenin Ave., Embankment of the Upa River near the Weapons Factory). All soils were characterized by polyelement anomalies. The control soil was collected from the area of the Yasnaya Polyana Museum-Estate of Leo Tolstoy was used as an uncontaminated control. Cultural methods were used to determine the total number of heterotrophic bacteria, actinomycetes and micromycetes in the rhizomicroflora of Kentucky bluegrass. The study of the taxonomic structure of rhizospheric microbial communities was carried out using metagenomic analysis of samples from the 16S rRNA gene, sequencing was carried out on the Illumina MiSeq platform. It was found that the number of the main groups of microorganisms (bacteria, actinomycetes and micromycetes) in the rhizosphere of *P. pratensis* depended on the type of soil in which the plants were grown and was determined by its characteristics. Rhizosphere populations of Kentucky bluegrass grown in the control soil of Yasnaya Polyana were characterized by the least taxonomic diversity compared to rhizobiomes of plants grown in polluted urbanozems. The index of species richness was maximal for rhizosphere communities of plants grown on Tulachermet soil. The taxonomic structure of the rhizosphere microbiomes of bluegrass was represented by the dominant bacterial types of Proteobacteria, Actinobacteria, as well as types of Planctomycetes, Acidobacteria, Chloroflexi and Bacterioides. In comparison with the control uncontaminated soil, the cultivation of bluegrass in urbanozems led to a change in the ratio of the main types: the proportion of Proteobacteria and Firmicutes decreased, but the proportion of Actinobacteria, Planctomycetes, Chloroflexi and Acidobacteria increased.

The research was carried out with the financial support of the RFBR within the framework of the scientific project No. 19-29-05257 "Technogenic pollution of soil with toxic elements and possible methods of its elimination".

**Effect of the *AtARL* transgene on the growth and proliferation of tobacco hairy roots**

Musin Kh.G., Gumerova G.R., Baimukhametova E.A., Kuluev B.R.  
Institute of Biochemistry and Genetics, UFRS RAS, Ufa, Russia  
khalit.musin@yandex.ru

*ARGOS-LIKE (ARL)*, a homologue of *ARGOS*, regulates organ size by predominantly affecting cell size. There is evidence that tobacco plants transgenic for this gene had large organ sizes. We hypothesized that the creation of hairy roots (HRs) carrying the *ARL* gene could also increase their size, which would favorably affect root productivity and, possibly, stress resistance. Therefore, the aim of this study was to create HRs with constitutive expression of the *ARL* gene and to analyze the productivity, stress resistance, and the state of the antioxidant system of the obtained HRs. HRs is a natural phenomenon initiated by the genetic transformation of plants by agrobacteria of the species *Agrobacterium rhizogenes (Rhizobium rhizogenes)*. These roots are genetically transformed plant organs capable of unlimited growth on hormone-free nutrient media.

After agrobacterial transformation of leaf disks of transgenic tobacco plants, 276 root lines *DMVPr::AtARL* were obtained. Based on the results of semi-quantitative RT-PCR, 3 lines of HRs were selected (subsequently given plant numbers) with the highest levels of *AtARL* gene transcripts. HRs lines created from non-transgenic *N. tabacum* Petit Havana SR1 line served as controls. The general scheme for testing the resistance of HRs cultures to stress factors included 3 different treatment options: salinity (150 mM NaCl), hyperthermia (cultivation at 32°C), and contamination of the media with cadmium (100 µM cadmium acetate).

HRs with constitutive expression of the transgene *AtARL* grew significantly faster than the control line HRs. An interesting feature of the transgenic lines was noticed: most of the transgenic HRs lines had little branching in the first two weeks of growth and consisted of one long root, while the control lines had at least one lateral branching. It should also be noted that the transgenic HRs had a shortened lag phase, which lasted about 2-3 days, while the control HRs had a lag phase that lasted about 6-8 days.

Micrographs showed that the transgenic roots were characterized by larger cells. After measuring the cell area, it was found that the cells of the transgenic lines were approximately 1.5 times larger than the cells of the control HRs lines. Moreover, this pattern persisted under the influence of stress factors. Thus, under salinity, transgenic cells were 2.1 times larger than non-transgenic ones, and 1.3 times larger under hyperthermia. The transgene increased the ability of cells to divide under the action of 100 µM cadmium acetate. Because the control roots elongated slowly and had highly elongated cells, while the transgenic lines grew slowly but had cells of normal size.

The redox status of tobacco HRs expressing the *AtARL* gene under normal conditions differed from the control roots. Under normal conditions, the concentrations of hydrogen peroxide, oxidized and reduced glutathione, higher activity of APOX, GSTs, and GR were significantly higher in HRs with the gene *AtARL*, while the activity of GPOX was lower. The high activities of the GSTs and GR enzymes can be explained by the faster growth rates of transgenic HRs and the participation of these enzymes in the vital activity of cultures. This may also explain the higher concentrations of reduced and oxidized glutathione in transgenic root cultures, which can maintain stable growth under the action of various stress factors.

Tobacco HRs with constitutive expression the *AtARL* gene had a shorter lag phase when transplanting cultures to a new medium, which means a greater adaptive potential, and were resistant to salinity, high temperatures, and environmental pollution with cadmium. In fact, the positive effects of the *AtARL* gene product on stress resistance are realized not only through the effect on cell proliferation and growth, as previously shown in the literature, but also through the effect on the antioxidant system. This mechanism is associated primarily with an increase in the pool of reduced glutathione in the cells and, in part, with an increase in the content of proline and an increase in ascorbate peroxidase activity.

**Salicylate-induced changes of the pea root apoplast proteins**<sup>1</sup>Naidanova I.E., <sup>2</sup>Egorova A.M.<sup>1</sup>Kazan Federal University, Kazan, Russia.<sup>2</sup>Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia.  
egorova@kibb.knc.ru

Plant apoplast comprises the cell wall matrix and the intercellular spaces, and plays an important role in a wide range of physiological processes as water and nutrient transport, plant-pathogen interactions, perception and transduction of environmental signals. The diversity of molecules that can be observed in the apoplast clearly indicates its important role in plant resistance. The first meet between pathogens and plants occurs in apoplast. Proteins present in the plant apoplast reflect this broad functional diversity. Studies on the change of apoplast protein composition revealed new insights into plant responses to nutrient supply, water deficiency, abiotic stress, pathogen response, wounding and others.

Salicylic acid (SA) is a one of the phytoimmunity key factors that largely determines plant resistance to pathogens. Effect of SA on the apoplast proteins studied mainly on the aboveground organs, and more less is known about the effect of SA the roots secretome. This data can help in understanding the mechanisms of plant resistance to various pathogens and in developing new approaches to plant protection.

Pea seedlings were treated with SA (50 mkM) for 72 h. For the isolation of apoplast proteins the infiltration centrifugation method was used. The activity of malate dehydrogenase was used to assess the purity of the apoplast proteins fraction of proteins. Extracted proteins were separated using 2D-gel electrophoresis and analyzed using PDQuest software (Bio-Rad). Proteins whose secretion changed were identified by LC-MS.

The effect of the SA on the pea roots apoplast proteins spectra was studied. It was revealed, that secretion of chitinase-like proteins most significantly increased. Analysis of the domain organization of these proteins showed that they belong to the family 18 glycoside hydrolases. In addition, the secretion of proteins that can be classified as defense proteins increased. These are  $\beta$ -1,3-glucanase, endochitinase, family 18 glycoside hydrolase, disease resistance response protein and protease inhibitor. The above-mentioned proteins identified by us belong to different classes of PR proteins, and their action is directed directly against pathogens.  $\beta$ -1,3-glucanases and chitinases destroy the pathogens cell walls, thereby preventing their further penetration into plant cells.

Also it was noted that SA has multidirectional effect on the secretion of various forms of peroxidases. SA caused a decrease in the secretion of two isoforms of peroxidases. At the same time, the secretion of two other isoforms increased. Peroxidases are involved in both the formation and degradation of ROS, in the apoplast to. It can be assumed that peroxidase isoforms secreted in the control plants are involved in the regulation of the redox status of cells under normal growth conditions. Peroxidase isoforms, whose secretion is increased under the action of SA, are likely to be involved in the formation of ROS, leading to an oxidative burst.

Thus, SA caused the alteration of the secreted proteins spectra in the pea roots. Secretion of proteins belonging to the different groups of PR-proteins increased. In addition, the secretion of the enzymes involved in the redox metabolism changed.

The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (project no. 20-016-00238a).

**Использование клеточных технологий для введения в культуру аралии сердцевидной (*Aralia cordata* Thunb.)**

Некрасова Д.А., Повыдыш М.Н.

Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет, г. Санкт-Петербург

nekrasova.darya@pharminnotech.com

Аралия сердцевидная (*Aralia cordata* Thunb.) – многолетнее травянистое растение, произрастающее на Сахалине, Курильских островах, в Японии. На территории России вид занесен в Красную книгу.

Вторичные метаболиты, накапливаемые аралией сердцевидной оказывают адаптогенное, противодиабетическое, гепатопротекторное, противоопухолевое и кардиотоническое действие, что делает возможным рассматривать данное растение в качестве потенциального источника биологически активных молекул.

Особый статус растения на территории страны, совокупность ценных для человека видов фармакологической активности ставят вопрос о целесообразности введения аралии сердцевидной в культуру *in vitro*.

Целью работы является изучение биосинтетической активности каллусных культур аралии сердцевидной, сравнение химического состава полученных объектов в сравнении с интактным растением.

Первичный каллус получали из листьев аралии сердцевидной, культивируемой в Ботаническом институте имени В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН). Экспланты высаживали на питательную среду Мурасиге-Скуга (МС) с добавлением 0,5 мг/мл 2,4-Д и 0,5 мг/мл кинетина. На 30 сутки полученный первичный каллус был перенесен на свежую питательную среду МС с добавлением различных фитогормонов: 1 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) и 1,0 мг/л кинетина, 1,0 мг/л 2,4-Д и 0,5 мг/л  $\alpha$ -нафтилуксусной кислоты (НУК). Последующий пассаж производили спустя 30 суток на среды для древесных растений: WPM (Woody Plant Medium) и ВТ с добавлением 0,5 мг/л кинетина, 0,5 мг/л 6-бензиламинопурина и 2 мг/л 2,4-Д, 1 мг/л кинетина соответственно.

Было установлено, что наибольший прирост биомассы осуществляется на питательной среде МС с добавлением 2 мг/л 2,4-Д и 1 мг/л кинетина и на среде ВТ с аналогичным соотношением фитогормонов.

Кроме этого, был проведен предварительный фитохимический анализ интактного растения методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) в системе хлороформ – этилацетат – метанол – вода (15:40:22:9), который позволил обнаружить два гинзенозида: Rb<sub>2</sub> (R<sub>f</sub> = 0,25) и Rd (R<sub>f</sub> = 0,43).

Ход исследования позволил установить условия для получения каллуса аралии сердцевидной, однако дальнейшее изучение наиболее благоприятных условий для культивирования все еще является целесообразным.

Предварительный фитохимический анализ интактного растения помог определить характеристики, гарантирующие высокую степень разделения биологически активных веществ, что делает возможным последующее изучение накопления вторичных метаболитов непосредственно в культуре клеток после наращивания необходимого количества биомассы.

**Using of cell technologies for the introduction of *Aralia cordata* Thunb.**

Nekrasova D.A., Povydysh M.N.

Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, Saint-Petersburg

nekrasova.darya@pharminnotech.com

*Aralia cordata* Thunb. is a perennial herbaceous plant, which has distribution on Sakhalin, the Kuril Islands, in Japan. This species belongs to Red Book in the Russian Federation.

Secondary metabolites accumulated by *Aralia cordata* possess adaptogenic, antidiabetic, hepatoprotective, antitumor and cardiotonic effects, which makes possible to consider this plant as a potential source of biologically active molecules.

Especially status of the plant in Russia, set of valuable pharmacological properties raise the question about practicability of introduction plant into culture *in vitro*.

The aim of the study is an investigation of biosynthetic activity cell culture of *Aralia cordata*, the comparison of chemical constituents of cell culture with composition of intact plant.

The primary callus was obtained from the leaves of *Aralia cordata* cultivated at the Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences (BIN RAS). The explants were cultivated on Murashige-Skoog (MS) nutrient medium supplemented with 0.5 mg/ml 2,4-D and 0.5 mg/ml kinetin. On the 30th day, the obtained primary callus was transferred to a fresh nutrient medium MS with the addition of various phytohormones: 1 mg/l 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 1.0 mg/l kinetin, 1.0 mg/l 2,4-D and 0.5 mg/l  $\alpha$ -naphthylacetic acid (NAA). The next passage was produced after 30 days-growing on the media for woody plants: WPM (Woody Plant Medium) and BT with the addition of 0.5 mg/l kinetin, 0.5 mg/l 6-benzylaminopurine and 2 mg/l 2,4-D, 1 mg/l kinetin, respectively.

It was found, that the greatest increase in biomass was observed on the MS nutrient medium with the addition of 2 mg/l 2,4-D and 1 mg/l kinetin and on the BT medium with a similar ratio of phytohormones.

In addition, a preliminary phytochemical analysis of the intact plant was carried out by high performance thin layer chromatography (HPTLC) in the system chloroform - ethyl acetate - methanol - water (15:40:22:9), which made it possible to detect two ginsenosides: Rb<sub>2</sub> (R<sub>f</sub> = 0.25) and Rd (R<sub>f</sub> = 0.43).

The course of the study helped to establish the conditions for obtaining the callus of *Aralia cordata*, however, further study of the most favorable conditions for cultivation is still appropriate.

A preliminary phytochemical analysis of an intact plant helped to determine the characteristics, that guarantee a high degree of separation of biologically active substances, which makes it possible to further study the accumulation of secondary metabolites directly in cell culture after increasing the required amount of biomass.



**Разработка биопрепарата на основе бактерий рода *Bacillus* для биоремедиации почв с накопленным экологическим ущербом**

<sup>1</sup>Нечаева О.В., <sup>1</sup>Тихомирова Е.И., <sup>1</sup>Арефьев К.А., <sup>2</sup>Коробейникова А.С., <sup>2</sup>Мурзина Ю.И., <sup>2</sup>Глинская Е.В.

<sup>1</sup>Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А., г. Саратов

<sup>2</sup>Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов

[olgav.nechaeva@rambler.ru](mailto:olgav.nechaeva@rambler.ru)

Загрязнение почвы нефтепродуктами – глобальная экологическая проблема. В естественных условиях биодеструкция нефти протекает медленно, особенно на территориях с низкими температурами. Бактерии рода *Bacillus* являются представителями аборигенной почвенной микрофлоры и, благодаря способности к спорообразованию, устойчивы к действию неблагоприятных факторов окружающей среды.

Цель работы – обоснование использования аборигенных штаммов бактерий рода *Bacillus*, выделенных из нефтезагрязненной почвы, в качестве потенциальных биодеструкторов углеводородов нефти.

Объект исследования – образцы почвы с хроническим нефтяным загрязнением (с. Новокривовка Саратовской области). Из образцов нефтезагрязненной почвы было выделено 15 изолятов бактерий, принадлежавших к 3 родам и 11 видам: 7 видов рода *Bacillus*, 1 вид рода *Paenibacillus* и 3 вида рода *Pseudomonas*.

Изучение устойчивости аборигенных штаммов бактерий родов *Bacillus* и *Paenibacillus* к нефти проводили на ГРМ-агаре, содержащим ее различные концентрации. При температуре 28 °С и концентрации нефти 5 % жизнеспособность сохраняли 9 штаммов бацилл, при 10 и 15 % – 8 штаммов, при 20 % – 6 штаммов: *B. firmus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. galactosidilyticus*, *B. cereus* № 1 и *B. cereus* № 2. Содержание нефти 25 % ингибировало рост всех выделенных бактерий. При температуре 4 °С и концентрации нефти 5 % жизнеспособность сохраняли 7 штаммов бацилл, при 10 % – 3 штамма, а при 15 % – 2 штамма: *B. amyloliquefaciens* и *B. galactosidilyticus*, при концентрации 20 и 25 % рост бактерий отсутствовал.

Способность бактерий использовать нефть в качестве единственного источника углерода определяли на безуглеродной среде М9. При 28 °С и концентрации нефти 5, 10 и 15 % к ее утилизации были способны *B. firmus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. galactosidilyticus*, при концентрации 20 % – *B. firmus*, *B. subtilis*, *B. galactosidilyticus*. Концентрация нефти 25 % ингибировала рост выделенных штаммов бактерий. При 4 °С и концентрации нефти 5 и 10 % аналогичная способность была выявлена у *B. firmus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. galactosidilyticus*, а при повышении концентрации до 15 % – только у *B. subtilis*. При концентрации нефти 20 и 25 % рост бактерий отсутствовал.

Полученные результаты позволяют рекомендовать аборигенные штаммы *B. firmus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis* и *B. galactosidilyticus* в качестве потенциальных деструкторов при конструировании биопрепаратов для реабилитации нефтезагрязненных почв в низкотемпературных регионах при уровне нефтяного загрязнения 5-15 %.

**The development of the biological product containing *Bacillus* for the bioremediation of the soils with the accumulated environmental damage**

<sup>1</sup>Nechaeva O.V., <sup>1</sup>Tikhomirova E.I., <sup>1</sup>Arefiev K.A., <sup>2</sup>Korobeinikova A.S., <sup>2</sup>Murzina Yu.I., <sup>2</sup>Glinskaya E.V.

<sup>1</sup>Yu.A. Gagarin Saratov State Technical University, Saratov

<sup>2</sup>Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov

[olgav.nechaeva@rambler.ru](mailto:olgav.nechaeva@rambler.ru)

Soil pollution with oil products is a global environmental problem. Naturally the biodegradation of oil proceeds slowly, especially in areas with low temperatures. *Bacillus* are representatives of the native soil microflora and, due to the ability to spore formation, are resistant to the action of adverse environmental conditions. The purpose of the work is to substantiate the use of native strains of *Bacillus* isolated from the oil-contaminated soil as potential biodegraders of oil hydrocarbons.

The object of the study is soil samples with chronic oil pollution (the village of Novokrivovka, Saratov region).

From the samples of the oil-contaminated soil, 15 bacterial species belonging to 3 genera and 11 species were isolated: 7 species of *Bacillus*, 1 species of *Paenibacillus* and 3 species of *Pseudomonas*. The study of the native strains resistance of *Bacillus* and *Paenibacillus* to oil was carried out on GRM-agar containing various concentrations of oil. At the 28 °С and oil concentration of 5 % 9 strains of *Bacillus* remained viable, at the one of 10 and 15 % – 8 strains, at the concentration of 20 % – 6 strains: *B. firmus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. galactosidilyticus*, *B. cereus* № 1 and *B. cereus* № 2. The oil content of 25 % inhibited the growth of all isolated bacteria. At 4 °С and the oil concentrations of 5 % 7 strains of *Bacillus* remained viable, at the concentration of 10 % – 3 strains, and at the one of 15% – *B. amyloliquefaciens* and *B. galactosidilyticus*, at the concentration of 20 and 25 % the bacterial growth was absent. The ability of bacteria to use oil as the sole source of carbon was determined on the carbon-free medium М9. At 28 °С and oil concentrations of 5, 10 and 15 %, *B. firmus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. galactosidilyticus* were able to utilize it, at a concentration of 20 % – *B. firmus*, *B. subtilis*, *B. galactosidilyticus*. An oil concentration of 25 % inhibited the growth of isolated bacterial strains. At 4 °С and the oil concentrations of 5 and 10 %, the similar ability was found in *B. firmus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. galactosidilyticus*, and when the concentration increased to 15 % – only *B. subtilis*. At 20 and 25 % oil concentrations, the bacteria growth was absent.

The obtained results make it possible to recommend native strains of *B. firmus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis* and *B. galactosidilyticus* as potential decomposers in the design of the biopreparations for the rehabilitation of the oil-contaminated soils in the low-temperature regions with the oil pollution level of 5-15 %.

**Амилоидные белки растений**<sup>1,2</sup>Нижников А.А.<sup>1</sup>Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, Россия, Санкт-Петербург, Подбельского ш., д. 3.<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7/9

Амилоиды это фибриллярные белковые агрегаты с особой пространственной структурой, которые не только связаны с развитием около 50 неизлечимых или трудно поддающихся лечению заболеваний человека и животных, но и выполняют жизненно-важные функции у архей, бактерий, эукариот. В докладе рассмотрены данные, касающиеся недавнего открытия амилоидных белков у растений и их бактериальных симбионтов. Рассматриваются механизмы и функциональные последствия амилоидогенеза в семенах растений. Обсуждаются данные о влиянии амилоидогенеза на пищевую ценность семян, включая результаты проводимого нами анализа вариабельности амилоидных белковых фракций в различных линиях посевного гороха. Проводится обсуждение и анализ выдвинутой нами гипотезы о наличии сети взаимодействующих функциональных амилоидов растений и ризобий в корневых клубеньках бобовых.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-320 от 20.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

**Amyloid proteins of plants**<sup>1,2</sup>Nizhnikov A.A.<sup>1</sup>All-Russia Research Institute of Agricultural Microbiology, Podbelskogo sh., 3, St. Petersburg, Russia.<sup>2</sup>St. Petersburg State University, Universitetskaya nab., 7/9, St. Petersburg, Russia

Amyloids are fibrillar protein aggregates with a specific spatial structure, which are not only associated with the development of about 50 incurable or difficult-to-treat human and animal diseases but also perform vital functions in archaea, bacteria, and eukaryotes. The report considers the data concerning the recent discovery of amyloid proteins in plants and their bacterial symbionts [1-2]. The mechanisms and functional consequences of amyloidogenesis in plant seeds are considered. The data on the effect of amyloidogenesis on the nutritional value of seeds are discussed, including the results of our analysis of the variability of amyloid protein fractions in various lines of garden pea. Our hypothesis regarding the presence of a network of interacting functional plant and rhizobia amyloids in the root nodules of legumes is discussed and analyzed.

The work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation under agreement No. 075-15-2022-320 dated April 20, 2022 on providing a grant in the form of subsidies from the Federal budget of Russian Federation. The grant was provided for state support for the creation and development of a World-class Scientific Center "Agrotechnologies for the Future".

### Transcriptional regulation of plant-microbe interactions: a *Pectobacterium* spp. example

Nikolaichik Y., Vychyk P., Kruk A., Diubo J., Kalubaka A., Sharanhovich M.  
 Belarusian State University, Minsk, Belarus  
[nikolaichik@bio.bsu.by](mailto:nikolaichik@bio.bsu.by)

Ideas about plant-microbe interactions are largely based on studies of a small group of model pathosystems. The outcome of the interaction strongly depends on the pathogen strain and host line used: minimal differences in genotypes can lead to fundamentally different outcomes. Traditionally, when analyzing the genotypes of members of a pathosystem, much more attention is paid to differences in gene sets or their coding sequences than to the regulation of closely related or identical genes.

Pectobacteria have traditionally been considered non-specialized pathogens, relying mainly on the massive production of hydrolytic exoenzymes and therefore not requiring complex communication with the plant. However, it is becoming increasingly clear that *Pectobacterium* spp. are fairly specialized pathogens with fine adaptation to a narrow range of host plants and "wide host range" of pectobacteria can be largely attributed to the imperfection of their early classification. Here we discuss the results of the analysis of transcriptional regulation (mainly from the bacterial side) of the *Pectobacterium*-containing pathosystems development. Several arrays of transcriptomic data available for pectobacteria, as well as our specialized software for the analysis of transcriptional regulation ([github.com/nikolaichik/SigmoID](https://github.com/nikolaichik/SigmoID)), allowed us to perform a genome-wide analysis of transcriptional regulation for two species of pectobacteria.

The key conclusions of this analysis are likely valid for most taxonomic groups of plant pathogens:

- The set of genes encoding the main virulence factors is quite similar in different species and strains, but the regulatory regions and hence the expression patterns of many genes differ radically
- Up to half of all genes may not be expressed or have very low expression levels under particular conditions, while some poorly expressed genes are key virulence factors.
- Miniature transposable elements (MITE) are located predominantly within intergenic regulatory regions, obviously affect the regulation, but are almost never annotated and therefore are not considered.
- *Pectobacteria* have up to 350 transcription factors, about a quarter of which may be not annotated as such.
- Global transcriptional regulators are more conserved, but their regulons are more variable. The opposite is true for local regulators.
- The percentage of genes differentially expressed in the plant is higher among transcription factors than in other functional categories (more than half of TFs can change expression levels in the plant).
- Sets of differentially expressed genes have little overlap for related pathosystems.
- Many transcription factors (and therefore their regulons) radically change their expression level as the disease progresses.
- Genome-wide analysis of transcriptional regulation *in silico* facilitates understanding of the processes occurring during the formation of pathosystems and simplifies their experimental study.

The factors listed above determine the fundamentally different character of gene expression of related strains upon infection of related plants. Therefore, transfer of conclusions made for one pathosystem to a related one should be approached with great caution.

**Влияние ряда нанокompозитных веществ на процессы окисления у растений во время стресса.**<sup>1</sup>Ножкина О.А., <sup>1</sup>Перфильева А.И., <sup>1</sup>Граскова И.А., <sup>2</sup>Сухов Б.Г.<sup>1</sup>Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск<sup>2</sup>Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН, г. Новосибирск.  
[smallolga@mail.ru](mailto:smallolga@mail.ru)

Бактериальные заболевания сельскохозяйственных растений приводят к нарушению метаболизма у растений: к повышению уровня активных форм кислорода (АФК), запускает процессы вторичного метаболита перекисного окисления липидов (ПОЛ) и как следствие гибель. Все предусматриваемые меры борьбы с заболеваниями растений являются лишь профилактическими. Поиски новых методов профилактики привели к изучению нанокompозитов – препараты с адресной доставкой лекарственных веществ. Работа была направлена на изучение влияния нанокompозитов (НК), инкапсулированных в различные природные полисахаридные оболочки (арабиногалактан, крахмалл и каррагинан) на здоровые растения картофеля *in vitro* и инфицированные возбудителем кольцевой гнили картофеля, бактерией *Clavibacter sepedonicus* (*Cms*). Корни и листья растений, после инкубирования с НК селеном, исследовали с применением биохимических методов для определения концентрации вторичных продуктов (ПОЛ) (диеновые конъюгаты (ДК) и малоновый диальдегид (МДА)), для определения содержания АФК использовали методы лазерной микроскопии. Результаты микроскопии показали снижение содержания АФК у инфицированных растений, проинкубированных с НК селеном в матричной оболочке арабиногалактана. Биохимические методы выявили снижение уровня ДК и МДА у ряда исследуемых веществ. Негативное действие НК на здоровые растения не было зафиксировано. Снижающее действие окислительных реакций, исследуемых НК в тканях растений при стрессе, косвенно дает основание рассматривать НК, как потенциальные средства защиты от бактериальных заболеваний у сельскохозяйственных растений.

**The effect of a number of nanocomposite substances on oxidation processes in plants during stress.**<sup>1</sup>Nozhkina O.A., <sup>1</sup>Perfileva A.I., <sup>1</sup>Graskova I.A., <sup>2</sup>Sukhov B.G.<sup>1</sup>Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk<sup>2</sup>Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion SB RAS, Novosibirsk.  
[smallolga@mail.ru](mailto:smallolga@mail.ru)

Bacterial diseases of agricultural plants lead to metabolic disorders in plants: to an increase in the level of reactive oxygen species (ROS), triggers the processes of the secondary metabolite of lipid peroxidation (LPO) and, as a consequence, death. All envisaged measures to combat plant diseases are only preventive. The search for new methods of prevention led to the study of nanocomposites – drugs with targeted delivery of drugs. The work was aimed at studying the effect of nanocomposites (NC) encapsulated in various natural polysaccharide shells (arabinogalactan, starch and carrageenan) on healthy potato plants *in vitro* and infected with the causative agent of potato ring rot, the bacterium *Clavibacter sepedonicus* (*Cms*). The roots and leaves of plants, after incubation with NC selenium, were examined using biochemical methods to determine the concentration of secondary products LPO (diene conjugates (DC) and malondialdehyde (MDA)), laser microscopy methods were used to determine the content of ROS. Microscopy results showed a decrease in the content of ROS in infected plants incubated with NC selenium in the matrix shell of arabinogalactan. Biochemical methods revealed a decrease in the level of DC and MDA in a number of the studied substances. The negative effect of NC on healthy plants has not been recorded. The reducing effect of oxidative reactions studied by NC in plant tissues under stress indirectly gives grounds to consider NC as potential means of protection against bacterial diseases in agricultural plants.

**Роль взаимодействия SnTox1-Snn1 в развитии инфекции  
в патосистеме *Stagonospora nodorum*–*Triticum* spp.**

<sup>1</sup>Нужная Т.В., <sup>1</sup>Миннигалиева А.Ф., <sup>1</sup>Веселова С.В., <sup>2</sup>Шоева О.Ю., <sup>1</sup>Максимов И.В.

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского Федерального исследовательского центра РАН, г. Уфа

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, г.

Новосибирск.

[tanyawww89@mail.ru](mailto:tanyawww89@mail.ru)

Вирулентность возбудителя септориоза пшеницы патогенного гриба *S. nodorum* Berk. обусловлена наличием у изолятов некротрофных эффекторов (НЭ) (SnTox), которые взаимодействуют с белками растения-хозяина, кодируемыми доминантными генами восприимчивости (*Snn*). Такие взаимодействия SnTox-Snn осуществляются по типу ген-на-ген в зеркальном отражении, и приводят к развитию инфекции. Выдвигается несколько гипотез о регуляторных механизмах, обеспечивающих различия в эффектах SnTox-Snn. Со стороны патогена разнообразие проявлений одной взаимосвязи может быть вызвано эпистатическим взаимодействием генов эффекторов или различным уровнем экспрессии генов НЭ при инфицировании растительного образца. Со стороны растения-хозяина вклад в разнообразие реакций могут вносить мутации, содержащиеся в гене восприимчивости *Snn*, приводящие к нечувствительности растения к НЭ, а так же, как показали последние данные, регуляция транскрипции гена восприимчивости *Snn* может обеспечить устойчивость сорта. Однако транскрипционная активность генов восприимчивости практически не изучена, тогда как ее исследование может дать дополнительную информацию по устойчивости/восприимчивости сорта. Таким образом, на основании скрининга на наличие доминантных аллелей генов восприимчивости, изучения симптомов болезни и транскрипционной активности генов восприимчивости было отобрано несколько сортов пшеницы, проявляющих разную степень устойчивости, для секвенирования кодирующих районов гена *Snn1*. У трех устойчивых сортов обнаружены 3 миссенс-мутации - замены аминокислот в положениях 815, 927 и 1907. Первая замена не была функциональной и не влияла на функцию белка, вторая и третья замены, скорее всего, будут изменять функцию белка Snn1, так как привели к смене типа аминокислот. Таким образом, установлено, что устойчивость изученных сортов обеспечивается за счет мутаций в гене восприимчивости, в дальнейшем эти сорта могут быть использованы для маркер-ориентированной селекции. Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № № 22-76-00055.

**The role of SnTox1-Snn1 interaction in the development of infection in the pathosystem  
of *Stagonospora nodorum* – *Triticum* spp.**

<sup>1</sup>Nuzhnaya T.V., <sup>1</sup>Minnigaliyeva A.F., <sup>1</sup>Veselova S.V., <sup>2</sup>Shoyeva O.Yu., <sup>1</sup>Maksimov I.V.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Federal Research Centre of the Russian academy of sciences, Ufa

<sup>2</sup>Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,

Novosibirsk

[tanyawww89@mail.ru](mailto:tanyawww89@mail.ru)

Virulence of the pathogenic fungus *S. nodorum* (Berk.) is due to the presence of necrotrophic effectors (NE) (SnTox) in isolates, which interact with host plant proteins encoded by dominant susceptibility genes (*Snn*). Such SnTox-Snn interactions occur in a mirror-image gene-for-gene pattern and lead to the development of infection. Several hypotheses are put forward about the regulatory mechanisms that provide differences in the effects of SnTox-Snn. On the part of the pathogen, the variety of manifestations of one relationship can be caused by epistatic interaction of effector genes or different levels of NE gene expression upon infection of a plant sample. On the part of the host plant, mutations contained in the *Snn* susceptibility gene, which lead to plant insensitivity to NE, can contribute to the diversity of responses, and, as recent data have shown, regulation of transcription of the *Snn* susceptibility gene can provide cultivar resistance. However, the transcriptional activity of susceptibility genes is practically not studied, while its study can provide additional information on the resistance/susceptibility of the variety. Thus, based on screening for the presence of dominant alleles of susceptibility genes, studying the symptoms of the disease, and the transcriptional activity of susceptibility genes, several wheat varieties exhibiting different degrees of resistance were selected for sequencing of the coding regions of the *Snn1* gene. In three resistant varieties, 3 missense mutations were found - amino acid substitutions at positions 815, 927 and 1907. The first substitution was not functional and did not affect the function of the protein, the second and third substitutions, most likely, will change the function of the Snn1 protein, as they led to change in the type of amino acids. Thus, it has been established that the resistance of the studied varieties is ensured by mutations in the susceptibility gene; in the future, these varieties can be used for marker-oriented breeding. The work was carried out within the framework of the RSF grant no. 22-76-00055.

**Growth features of the transgenic Berlin poplar**

Pavlichenko V.V., Protopopova M.V.

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk  
vpavlichenko@gmail.com

Genes encoding key enzymes of gibberellins biosynthesis were shown as an effective tool for transgenesis aiming at fast-growing plant development. By the present study, we show one more successful genetic transformation by gibberellin-20-oxidase gene resulting in a specific phenotype. *Populus × berolinensis* K. Koch, the hybrid of laurel-leaf poplar (*P. laurifolia*) and black poplar (*P. nigra*), was chosen as an object for the genetic transformation. We used *GA20ox1* CDS from *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. cDNA for agrobacterium mediated transformation of *Populus berolinensis* using pBI121 binary vector system. The nutrient media for regeneration and micropropagation was based on Murashige and Skoog basal salt mixture 5524 (MS5524) supplemented with thiamine (1 mg L<sup>-1</sup>), pyridoxine (0.5 mg L<sup>-1</sup>), nicotinic acid (0.5 mg L<sup>-1</sup>), sucrose (20 g L<sup>-1</sup>) and agar (7 g L<sup>-1</sup>). The acidity of the media was adjusted to pH 5.7. Only one type nutrient media supplemented with BAP (0.2 mg L<sup>-1</sup>), thidiazuron (TDZ) (0.02 mg L<sup>-1</sup>), NAA (0.01 mg L<sup>-1</sup>) was used for the regeneration of transgenic plants. As a result of micropropagation on selective nutrient media containing kanamycin (50 mg L<sup>-1</sup>) and cefotaxime (250 mg L<sup>-1</sup>), 15 different transgenic lines were selected. The absence of *A. tumefaciens* contamination in plants was checked by incubation of leaves parts on the YEB nutrient media. Transgenesis was proved by rooting in the presence of kanamycin in the nutrient media and by PCR for both *nptII* and *AtGA20ox1* genes. The subsequent cultivation of the obtained transgenic lines led to the loss of some of them, due to the low efficiency of their reproduction *in vitro*. Only 4 lines were successfully multiplied *in vitro* for the further experiments. All six lines showed different resistance to the kanamycin if added to the nutrient media. First line were not able to root in the presence of kanamycin in the nutrient media and the second, third and fourth lines were successfully rooted at the kanamycin concentrations 25, 50 and 75 mg L<sup>-1</sup> respectively. This fact probably may be explained by the different copy number of the *nptII* gene. All obtained transgenic plants are characterized by narrow leaves, long and thin internodes and at least 300% faster growing in comparison to control plants. One of the selected transgenic lines was transferred to the soil at the semi-natural conditions in the green house and showed a growth rate of 2 to 3 cm in 24 hours. The common feature observed for all transgenic lines is spontaneous death of the apical bud and intensive grow of the new branches (from one to five at the time). The tree with died apical bud immediately gave new stem growing even faster than previous one. The further study of all obtained transgenic lines including tests in semi-natural conditions and in the field are needed. The research was done using the equipment of the Core Facilities Center 'Bioanalitika' at Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (Irkutsk, Russia). The study was supported by the Russian Science Foundation grant # 22-24-01113, <https://rscf.ru/project/22-24-01113/>.

### Исследование роли гена *HAT* в устойчивости растений к стрессу

<sup>1</sup>Панфилова М.А., <sup>1,2</sup>Хакимова Л.Р., <sup>1,2</sup>Вершинина З.Р., <sup>1,2</sup>Михайлова Е. В.

<sup>1</sup>Уфимский государственный нефтяной технический университет, г. Уфа

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа

mikhele@list.ru

Белок HAT1 (HOMEBOX ARABIDOPSIS THALIANA1) и его близкие гомологи относятся к классу II HD-ZIP факторов транскрипции, которые в основном действуют как репрессоры, связываясь с промоторами своих генов-мишеней, и играют важную роль в развитии растений и в ответе на стресс. *HAT1* предположительно действует как негативный регулятор устойчивости растений к засухе, опосредованной передачей сигналов АБК. Ген *HAT1*, содержащий два EAR-мотива, является многообещающей мишенью для редактирования генов у *A. thaliana*. Мутации в этом гене могут приводить к повышению устойчивости растения к засухе. К сожалению, у других видов растений гомологи этого гена еще не описаны.

С использованием баз данных OrthoDB и NCBI нами был проведен биоинформатический поиск вероятных гомологов гена *AtHAT1* в геномах растений семейства Пасленовых, которые являются ценными хозяйственными культурами, для которых проблема абиотического стресса остается очень актуальной. У перца, табака, томата, картофеля, наиболее близкими по нуклеотидной последовательности к *AtHAT1* были гены *HAT4-like*, однако в них отсутствовал второй EAR-мотив (LQLNLK). Удалось обнаружить единственные варианты гомологов у табака (Gene ID: 107807172) и томата (Gene ID: 101262232), где EAR-мотив присутствовал частично. Предположительно, именно эти гены могут выполнять те же функции, что и *AtHAT1*, а их нокаут может приводить к повышению устойчивости к засухе.

Были подобраны праймеры для секвенирования данных генов у модельных сортов табака и томата (SR-1 и Грунтовый грибовский), для которых имеются протоколы агробактериальной трансформации и регенерации в *in vitro* культуре. На основе анализа нуклеотидной последовательности в программе CRISPOR были подобраны спейсеры гидовых РНК, которые были проклонированы в генно-инженерные конструкции для последующего нокаута гена *HAT4-like* в табаке и томате.

Исследование позволит установить роль генов *HAT4-like* в растениях семейства Пасленовых.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России (№ АААА-А21-121011990120-7, «Евразийский карбоновый полигон» на 2022-2023 годы FEUR-2022-0001) с использованием оборудования ЦКП «Агидель» и УНУ «Кодинк» УФИЦ РАН.

### Investigation of the role of the *HAT* gene in plant resistance to stress

<sup>1</sup>Panfilova M.A., <sup>1,2</sup>Khakimova L.R., <sup>1,2</sup>Vershinina Z.R., <sup>1,2</sup>Mikhaylova E.V.

<sup>1</sup>Ufa State Petroleum Technological University, Ufa

<sup>2</sup>Institute of biochemistry and genetics UFRC RAS, Ufa

mikhele@list.ru

The HAT1 protein (HOMEBOX ARABIDOPSIS THALIANA1) and its close homologs are class II HD-ZIP transcription factors that mainly act as repressors by binding to the promoters of their target genes. They play an important role in plant development and stress response. *HAT1* presumably acts as a negative regulator of plant resistance to drought mediated by ABA signaling.

The *HAT1* gene containing two EAR motifs is a promising target for gene editing in *A. thaliana*. Mutations in this gene can lead to increased plant resistance to drought. Unfortunately, homologs of this gene have not yet been described in other plant species.

Using the OrthoDB and NCBI databases, we carried out a bioinformatic search for *AtHAT1* gene homologs in the genomes of plants of the Solanaceae family, which are valuable commercial crops, affected by abiotic stress. In pepper, tobacco, tomato, and potato, *HAT4-like* genes were closest in nucleotide sequence to *AtHAT1*, but they lacked the second EAR motif (LQLNLK). It was only possible to detect homologs with partially present EAR motif in tobacco (Gene ID: 107807172) and tomato (Gene ID: 101262232). Presumably, these genes can perform the same functions as *AtHAT1*, and their knockout may lead to an increase in drought resistance.

Primers were selected for sequencing of these genes in model varieties of tobacco and tomato (SR-1 and Gruntovy Gribovsky), for which there are protocols for agrobacterium-mediated transformation and regeneration *in vitro*. Based on the analysis of the nucleotide sequence in the CRISPOR program, guide RNA spacers were selected, and then cloned into genetically engineered constructs for subsequent knockout of the *HAT4-like* gene in tobacco and tomato.

The study will help to clarify the role of *HAT4-like* genes in plants of the Solanaceae family.

The work was carried out within the framework of the state order of the Ministry of Education and Science of Russia (no. АААА-А21-121011990120-7, "Eurasian carbon polygon" for 2022-2023 FEUR-2022-0001) with using the instrument park of the RCCU "Agidel" and "KODINK" UFRC RAS.

**The role of the siderophore enterobactin in the virulence and stress resistance of pectobacteria**<sup>1</sup>Parfirova O.I., <sup>1</sup>Petrova O.E., <sup>1,2</sup>Gogoleva N.E., <sup>1,2</sup>Gogolev Y.V., <sup>1,2</sup>Gorshkov V.Y.<sup>1</sup>Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan<sup>2</sup>Kazan Federal University, Kazan

Parfirovaolga.i@gmail.com

*Pectobacterium* species are the causal agents of plant soft rot disease. Their main virulence determinants are plant cell wall degrading enzymes (PCWDEs). However, the development of soft rot is determined by the action of both these enzymes and non-enzymatic virulence factors. To date, among the low molecular weight virulence factors of pectobacteria, only coronafacic acid has been described which acts as an inducer of jasmonate-regulated susceptible host responses. Our study is dedicated to identifying potential low molecular weight virulence factors in pectobacteria and elucidating the possible effect of these metabolites on plant-microbial interactions.

By RNA-Seq analysis we have shown that *Pectobacterium atrosepticum* SCRI 1043 (*Pba*) siderophore-related genes are up-regulated under *in planta* conditions compared culture *in vitro*. Siderophores are small metabolites that scavenge iron from mineral and organic substrates due to high iron-affinity and deliver it to cell via specific receptors. Siderophores play importance roles in plant-microbe interactions. It is known that *Dickeya dadantii* (previously *Erwinia chrysanthemi*) produced two types of siderophore – chrysobactin and achromobactin. Both siderophores are necessary for successful infection and systemic spreading of soft rot symptoms. In spite of the fact that *Pectobacterium* species are closely related to *Dickeya* species and both genera utilize similar strategies of host plant colonization, pectobacteria do not produce chrysobactin or achromobactin. Instead, pectobacteria possess a cluster of genes for biosynthesis of enterobactin — a siderophore widely represented among *Enterobacteriales*. And the role of enterobactin in *Pectobacterium*-plant interaction has not been studied to date. Herewith, we hypothesized that enterobactin can contribute to *Pba* virulence and/or its resistance to different stressors including the defense reactions of the colonized plant. The aim of our study was to understand the role of enterobactin in *Pba* virulence and resistance.

To elucidate the role of enterobactin in the virulence of pectobacteria, a mutant strain of pectobacteria with a knockout of the *entA* gene encoding one of the siderophore biosynthesis enzymes and the *entA* complementation mutant strain, into which the lost *entA* gene was introduced as part of a plasmid, were constructed. The *entA* knockout did not reduce *Pba* virulence and activities of bacterial extracellular enzymes (including pectate lyase, polygalacturonase, cellulose and protease). However the *entA* mutant reduced resistance to oxidative stress and this data were consistent with data that siderophores contributed not only to virulence, but also to resistance to some stressors. Therefore we compared the virulence of the wild type, the *entA* mutant and the *entA* complementation mutant in the primed plants that were pretreated with 0.2 mM salicylic acid (SA). This SA concentration was sufficient to significantly reduce disease incidents caused by *entA* mutant strain, but not by wild type and the *entA* complementation mutant. The observed effect was due to the fact that treatment of plants with SA led to an increase in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-level, in which the *entA* mutant was susceptible. The increased reactive oxygen species (ROS) level within the SA-primed plants can prevent the manifestation of full virulence of the *entA* mutant due to its high ROS-vulnerability.

Our results show that enterobactin increases the resistance of pectobacteria to ROS, the level of which increases during the transformation of a latent infection into a typical one. The action of enterobactin as a virulence factor is not manifested under conditions that are most favorable for the development of infection; however, this siderophore is required for virulence against primed plants in which the level of ROS is increased. Taking into account the fact that under natural conditions, plants are mainly in a primed state, enterobactin may be considered as a conditionally beneficial virulence factor of *Pba*.

This study was supported by Russian Science Foundation (project No. 19-14-00194).



**Биоразнообразие и перспективные свойства азотфиксирующих микроорганизмов  
в почвах Астраханской области**

Пархоменко А.Н., Гальперина А.Р.

ФГБОУ ВО Астраханский государственный технический университет, г. Астрахань  
[parhoman@mail.ru](mailto:parhoman@mail.ru)

Азот – важнейший элемент, определяющий условия жизни и развития растений в почвах. Исследованию почвенных азотфиксирующих микроорганизмов посвящено множество научных работ. При этом, всё больше внимания уделяется «универсальным» штаммам, обладающим, наряду с азотфиксацией, широким спектром практически полезных свойств. Так, азотфиксирующие микроорганизмы, способны к активному растворению как неорганических, так и органических фосфатов, проявлению активности в отношении фитопатогенов, вызывающих заболевания растений, продукции витаминов и гормонов роста. Активный поиск, выделение, изучение и применение подобных штаммов в качестве основы для производства биопрепаратов является актуальным направлением для современной агробиотехнологии.

В качестве объектов исследования выступали новые изоляты азотфиксирующих микроорганизмов, выделенные из почв г. Астрахани и Астраханской области. В отношении данных штаммов проведены исследования культурально-морфологических и некоторых физиолого-биохимических признаков микроорганизмов, среди которых определены активные продуценты БАВ (ИУК, ферментов, некоторых витаминов). В результате исследований также определены изоляты, проявляющие биоконтролирующую активность в отношении грибных фитопатогенов – представителей рода *Fusarium*, *Cladosporium* и *Alternaria*. Проведены исследования ростостимулирующих свойств исследуемых изолятов в отношении различных семян растений, выбранных в качестве тест-объектов.

В результате экспериментальных исследований удалось разделить изоляты по степени проявления полезных свойств, а также выявить изоляты, обладающие несколькими из изученных активностей. Такие изоляты наиболее перспективны и представляют интерес для дальнейшего изучения и разработки биологических средств комплексного действия, благоприятно воздействующих на почву и растения, применение которых возможно в условиях аридного климата Астраханской области.

**Biodiversity and promising properties of nitrogen-fixing microorganisms in the soils of the Astrakhan region**

Parkhomenko A.N., Galperina A.R.

Astrakhan State Technical University, Astrakhan  
[parhoman@mail.ru](mailto:parhoman@mail.ru)

Nitrogen is the most important element that determines the conditions of life and development of plants in soils. Many scientific papers have been devoted to the study of soil nitrogen-fixing microorganisms. At the same time, more and more attention is being paid to "universal" strains, which, along with nitrogen fixation, have a wide range of practically useful properties. Thus, nitrogen-fixing microorganisms are capable of active dissolution of both inorganic and organic phosphates, manifestation of activity against phytopathogens that cause plant diseases, production of vitamins and growth hormones. Active search, isolation, study and application of such strains as a basis for the production of biological products is an urgent direction for modern agrobiotechnology.

The objects of the study were new isolates of nitrogen-fixing microorganisms isolated from the soils of Astrakhan and the Astrakhan region. In relation to these strains, studies of cultural and morphological and some physiological and biochemical signs of microorganisms have been carried out, among which active producers of BAS (IUC, enzymes, some vitamins) have been identified. As a result of the studies, isolates showing biocontrol activity against fungal phytopathogens – representatives of the genus *Fusarium*, *Cladosporium* and *Alternaria* were also identified.

The growth-stimulating properties of the studied isolates have been studied in relation to various plant seeds selected as test objects. As a result of experimental studies, it was possible to separate the isolates according to the degree of manifestation of useful properties, as well as to identify isolates with several of the studied activities. Such isolates are the most promising and are of interest for further study and development of biological means of complex action that favorably affect the soil and plants, the use of which is possible in the arid climate of the Astrakhan region.

**The role of intercellular signaling in the regulation of bacterial adaptive proliferation**

Petrova O.E., Parfirova O.I., Vorob'ev V.N., Islamov B.R., Tsers I.D., Gorshkov V.Y.

Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, 420111 Kazan, Russia  
poe60@mail.ru

The adaptive responses of bacteria are regulated at the population level and cannot be triggered in the absence of intercellular communication. However, we found that if the cell number is below the quorum sensing level, bacteria are able to increase it even in the absence of an exogenous growth substrate. The phenomenon of an increase in population density under a low initial cell titer starvation we named adaptive proliferation (AP). The model object was the phytopathogenic enterobacterium *Pectobacterium atrosepticum*, which causes soft rot of many agricultural crops.

In the absence of exogenous organic carbon in the medium, the number of bacterial cells in cultures of low initial density ( $10^1$ – $10^5$  CFU/mL) increased regardless of the initial cell titer to approximately the same value,  $\sim 10^6$  CFU/mL. Thus, the increase in cell titer to the threshold level was determined not by the number of divisions, but by the achievement of a certain population density. This density probably made it possible to carry out intercellular communication, which was necessary for the implementation of adaptive programs. The process of AP was inhibited by metabolites contained in the supernatants of starving cultures, and the termination of adaptive proliferation was associated with the induction of the acyl homoserine lactone (AHL)-mediated quorum sensing system: the expression of the AHL synthase gene *expI* and appearance of AHL molecules in supernatants of starving cultures.

The end of division was accompanied by the induction of stringent response genes and the formation of multiple resistance to repeated stress effects in starving cells: oxidative and heat shocks, and antibiotics. In starving bacteria, virulence was completely preserved. Starving bacterial cells after the division had an unusual ultrastructure. The population was dominated by cells with a reduction in the cytoplasm but the cell wall and the outer membrane only slightly decreased in size, being a kind of cell antenna, probably participating in the reception of external signals. Significant pool of dividing cells was presented in starving population.

Thus, AP is cell division in the absence of an exogenous growth substrate, which resulted in the induction of the quorum sensing system and the formation of a resistant bacterial population. Termination of AP made it possible to save internal energy resources when the population density reached the minimum required level for intercellular communication.

In addition to the AHL-dependent quorum system, *Pba* has a universal AI-2 interspecies communication system. Mutations in the genes of AHL synthase (*expI*) or synthase of autoinducers of the second type (AI-2) (*luxS*) did not affect cell division of pectobacteria during starvation. However, starving culture supernatants had different effects on AP. The supernatant of a starving wild-type pectobacterium (+AHL +AI-2) suppressed cell division, the supernatant of a starving culture of the *expI* mutant *Pba* strain (-AHL +AI-2) inhibited the proliferation process even more, while the supernatant of a starving culture of a mutant *luxS* gene strain *Pba* (+AHL -AI-2) only slightly reduced the threshold level of AP. Thus, AHL- and AI-2-dependent systems of intercellular communication are likely to be involved in the regulation of AP, but their action can be compensated by other metabolites.

Other candidates for the role of AP regulators can be metabolites - universal markers of cell density such as carbon dioxide. In the absence of dissolved CO<sub>2</sub>, the AP process was not induced. Cell division under starvation conditions was activated only in the presence of atmosphere air. The AP process was accompanied by activation of the cAMP-dependent signaling cascade. An increase in the level of intracellular c-AMP in most cases leads to suppression of proliferation.

Thus, the termination of adaptive proliferation during starvation is a consequence of the formation of a multicomponent signal background that includes mediators of the AHL and AI-2 quorum systems, CO<sub>2</sub>/bicarbonate, and, probably, other metabolites and ensures intercellular communication.

For the first time our study identified the key participants in the regulation of adaptive proliferation and indicated the presence of feedback between the individual branches of this regulatory network. This study was supported by the Russian Science Foundation (project No. 22-24-00787).

### Картофель с сенсором Pt-GFP для исследования изменения pHcyt

Печёрина А.А., Агеева М.Н., Гринберг М.А., Здобнова Т.А., Воденев В.А., Брилкина А.А.  
Нижегородский государственный университет им Н.И. Лобачевского, 603950, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23  
pechyorinaa@gmail.com

Неинвазивное измерение pH цитозоля возможно благодаря созданию растений с генетически-кодированными сенсорами, например, Pt-GFP. Одновременно с исследованием pH возможно изучение других параметров, например, электрических потенциалов и параметров PAM-флуориметрии. Цель работы - получение картофеля с Pt-GFP для исследования изменения pHcyt. Отбор подходящих для трансформации сортов и типов экспланта проводили среди сортов Ред Скарлет, Удача, Триумф, Ирбитский и Невский. Индукцию органогенеза осуществляли на листовых и стеблевых эксплантах на питательных средах Мурасиге и Скуга (МС) с различными концентрациями 6-БАП (1-3 мг/л), ИУК (0-0,5 мг/л) и НУК (0-0,5 мг/л). Успешнее органогенез проходил на стеблевых эксплантах растений сортов Невский и Ирбитский на среде МС 3В/0,5I с 3 мг/л 6-БАП и 0,5 мг/л ИУК. При этих условиях проверяли устойчивость картофеля к цефотаксиму (Cf) (элиминация агробактерий). Наиболее эффективной концентрацией Cf оказалась 300 мг/л. Трансформацию делали с помощью агробактерий штамма AGL0 с плазмидой pART27 с генами Pt-GFP и nptII под контролем CaMV 35S (NanoLight® Technologies, США). Селекцию проводили на среде МС 3В/0,5I/300Cf и 100 мг/л канамицина. Наличие вставки гена Pt-GFP подтвердили с помощью ПЦР. В работе использовали взрослые растения (5 недель) и микрорастения (4 недели), культивированные *in vitro*. Для выявления зависимости Pt-GFP от pH получали флуоресцентные изображения листьев и стеблей, инкубированных в растворах с pH 4,0-9,0 и с 125 мкМ КЦХФГ, в установке оптического имиджинга и PAM-флуориметрии PlantExplorerPro+ (PhenoVation, The Netherlands) или в установке оптического имиджинга DVS-03 (ИФТ РАН, Россия). Взрослые растения обрабатывали 400 мМ NaCl с трехдневным мониторингом pH и параметров PAM-флуориметрии в PlantExplorerPro+. В DVS-03 изучали влияние изменения температуры на pH у листа взрослых растений и измеряли электрические потенциалы. Микрорастения картофеля подвергали обработке 200 мМ NaCl и мониторингу: pHcyt - в DVS-03; параметров PAM-флуориметрии - в PAM-флуориметре MINI-PAM (Walz, Germany). Засоление приводит к закислению цитозоля и снижению Fv/Fm и Fq'/Fm'. При охлаждении листа происходило снижение pHcyt; при нагревании характер изменения pH был противоположным, и наблюдалась генерация переменного потенциала. Созданные модельные растения картофеля с Pt-GFP – удачный объект для мониторинга pHcyt и других важных параметров при действии различных стрессоров. Поддержано НЦМУ «Центр Фотоники», при финансировании Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2020-927

### Pt-GFP-encoded potato plants for the study of pHcyt changes

Pecherina A.A., Ageeva M.N., Grinberg M.A., Zdobnova T.A., Vodenev V.A., Brilkina A.A.  
Lobachevsky University, 23 Gagarin Avenue, Nizhny Novgorod, 603950  
pechyorinaa@gmail.com

Noninvasive measure of cytosol pH is possible due to the creation of plants expressing genetically encoded sensors, for example, Pt-GFP. Research of other parameters (e.g., electrical potentials or parameters of PAM-fluorimetry) is possible simultaneously with the measure of pHcyt level. The aim of this research is to obtain potato plants expressing Pt-GFP to study changes in pHcyt. The selection of varieties and explant types suitable for genetic transformation was carried out among the varieties Red Scarlet, Udacha, Triumph, Irbitsky and Nevsky. Organogenesis was induced on leaf and stem explants on Murashige and Skoog (MS) media with different concentrations of phytohormones: 6-BAP (1-3 mg/l), IAA (0-0.5 mg/l) and NAA (0-0.5 mg/l). Yield of organogenesis was maximal on stem explants of Nevsky and Irbitsky varieties on MS 3B/0.5I medium contained 3 mg/l 6-BAP and 0.5 mg/l IAA. Potato resistance to cefotaxime (Cf) (elimination of agrobacteria) was tested on varieties, explant type and medium that were selected earlier. The most effective concentration of Cf was 300 mg/l. The transformation was performed using AGL0 strain of *Agrobacterium tumefaciens* with pART27 plasmid contained Pt-GFP and nptII genes under the control of CaMV 35S promoter (NanoLight® Technologies, USA). The selection was carried out on a medium of MS 3B/0.5I/300Cf contained 100 mg/l of kanamycin. The presence of the Pt-GFP gene insertion was analyzed by PCR. Adult plants (5-week-old) grown in pots with soil and plantlets (4-week-old) cultured *in vitro* were used in the experiments. Leaves and stems were incubated in buffer solutions with different pH levels (4.0-9.0) and with 125 µM of CCCP to obtain the dependence of Pt-GFP fluorescence on pH. Fluorescent images of stem and leaves for calculations were obtained in PlantExplorerPro+ (PhenoVation, The Netherlands) (system of fluorescent imaging and PAM-fluorimetry) or in fluorescent imaging system DVS-03 (ILIT RAS, Russia). Adult plants were treated with 400 mM NaCl with three-day monitoring of pH and parameters of PAM-fluorimetry in PlantExplorerPro+ system. The effect of temperature changes on pHcyt and electrical potentials in the leaf of adult plants were measured in DVS-03 system. Plantlets were treated with 200 mM NaCl; pHcyt was monitored by DVS-03 and parameters of PAM-fluorimetry detected by PAM-fluorimetry system MINI-PAM (Walz, Germany). Salinity leads to acidification of the cytosol and decrease in Fv/Fm and Fq'/Fm' parameters. Cooling of leaf was reason of the pHcyt decrease; heating caused alkalization of the cytoplasm, and the generation of a variable potential. These experiments illustrate that the model potato plants expressing Pt-GFP sensor are great object for monitoring pHcyt and other important parameters under the action of various stressors. This research was supported by The Center of Excellence, Center of Photonics, funded by The Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, contract No 075-15-2020-927

**Физико-химические свойства и параметры единичного цикла роста  
вирусов фитопатогенных бактерий рода *Pseudomonas***

Пилипчук Т.А., Коломиец Э.И.

Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь  
tanya.pilipchuk@tut.by

В связи с проблемой возрастания резистентности патогенных бактерий к антибиотикам, применение вирусов бактерий (бактериофагов) является альтернативным способом борьбы с бактериозами. Одним из важных этапов разработки фаговых препаратов является отбор штаммов бактериофагов устойчивых к факторам окружающей среды и способных быстро воспроизводить вирусные частицы с высоким титром.

Таким образом, целью исследования явилось изучение физико-химических свойств и особенностей развития шести фагов фитопатогенных бактерий рода *Pseudomonas*.

При выполнении работы использовали микробиологические методы исследования. Объектами исследования явились шесть фагов, депонированных в белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов как *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д, *Pseudomonas phage* БИМ BV-46 Д, *Pseudomonas phage* БИМ BV-47 Д, *Pseudomonas phage* БИМ BV-50 Д, *Pseudomonas phage* БИМ BV-53 Д, *Pseudomonas phage* БИМ BV-61 Д.

В результате исследования физико-химических свойств бактериофагов отмечена их высокая выживаемость при экспозиции 1 ч в диапазоне температур 30-60°C, pH среды 5-9 и концентрации хлороформа 1-10%. Выявлено, что все исследуемые фаги способны адсорбироваться на индикаторной культуре *Pseudomonas helmanticensis* БИМ В-582 Д за 9-15 мин (около 80% фаговых частиц) со средним выходом фаговых частиц 80±1,2–110±4,2 БОЕ/кл. Латентный период составил 20-30 мин, период лизиса – 20-35 мин, что свидетельствует о быстрой воспроизводимости фаговых частиц.

В совокупности полученные данные свидетельствуют о перспективности использования изученных штаммов бактериофагов в качестве высокоэффективного средства для защиты растений от бактериозов.

**Physical-chemical properties and parameters of a single growth cycle  
viruses infecting phytopathogenic bacteria of the genus *Pseudomonas***

Pilipchuk T.A., Kalamiyets E.I.

Institute of Microbiology, NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus  
tanya.pilipchuk@tut.by

Due to enhanced resistance of pathogenic bacteria to antibiotics, application of bacterial viruses (phages) appears to be an effective alternative method to control bacterial diseases. One of the important stages in development of phage preparations is selection of bacteriophages showing resistance to adverse environmental factors and capable to rapidly reproduce viral particles with an elevated titer.

Thus, the aim of the study was to investigate physical-chemical properties and aspects of genesis of 6 phages of phytopathogenic bacteria of the genus *Pseudomonas*.

Microbiological methods were used in this research. The objects of the study were 6 phages deposited in the Belarusian collection of non-pathogenic microorganisms – *Pseudomonas phage* BIM BV-45 D, *Pseudomonas phage* BIM BV-46 D, *Pseudomonas phage* BIM BV-47 D, *Pseudomonas phage* BIM BV-50 D, *Pseudomonas phage* BIM BV-53 D, *Pseudomonas phage* BIM BV-61 D.

During examination of physical-chemical properties of bacteriophages, their high survival rate was recorded following 1 hour exposure within temperature range 30–60°C, pH range 5–9 and chloroform concentration 1 to 10%. It was revealed that all tested phages were able to adsorb to indicator culture *Pseudomonas helmanticensis* BIM B-582 D by 9-15 min (about 80% of phage particles) with an average yield of virions of 80±1.2–110±4.2 PFU/cell. The latent period lasted 20-30 min, the lysis period – 20-35 min, evidencing a fast reproduction rate of phage particles.

Summing up, the findings testify to attractive prospects of using the studied bacteriophage strains as a highly effective agents for biological control of plant bacterial diseases.

**Эффективность NO-праймирования семян в стимуляции их прорастания и повышения устойчивости пшеницы к окислительным повреждениям при обезвоживании**

Плотников А.А., Аллагулова Ч.Р., Зикрина И.И., Лубянова А.Р. Юлдашев Р.А., Авальбаев А.М.

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа

[allagulova-chulpan@rambler.ru](mailto:allagulova-chulpan@rambler.ru)

Одним из наиболее перспективных направлений современного растениеводства, которое позволит снизить зависимость величины и качества урожая от внешних факторов может стать метод праймирования семян SP (seed priming), который заключается в их предварительной обработке растворами различных активных соединений с последующим высушиванием и хранением в надлежащих условиях. В качестве праймирующих агентов могут применяться регуляторы роста растений и индукторы сигнальных молекул, к числу которых принадлежит оксида азота (NO). Он выполняет принципиально важные функции в нормально развитии растений и формировании их стрессоустойчивости. Одним из наиболее широко распространенных неблагоприятных факторов среды, существенно ограничивающим рост и продуктивность растений, и вызывающим в них окислительные повреждения, является засуха. В настоящей работе исследовали влияние 5-ч предобработки семян донором NO – нитропруссидом натрия SNP (sodium nitroprusside) в концентрации 200 мкМ на физиолого-биохимические показатели растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в норме и при воздействии обезвоживания, моделируемого присутствием в среде прорастания 5 %-го полиэтилен гликоля (ПЭГ). NO-праймирование оказало положительное влияние на процессы роста, стимулируя прорастание семян, увеличение линейных размеров, показателей сырой и сухой массы, и митотического индекса корней 4-суточных проростков. ПЭГ-индуцируемое обезвоживание заметно угнетало процессы прорастания, тогда как предобработка семян SNP способствовала смягчению негативных эффектов обезвоживания на исследуемые параметры. Важный вклад в проявление защитных свойств NO может вносить его способность снижать степень окислительных повреждений в подвергнутых стрессу проростках, о котором судили по продукции в них супероксид аниона и перекиси водорода, и активности антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы, пероксидазы и каталазы. Полученные результаты указывают на эффективность NO-праймирования семян в стимуляции их прорастания, последующего роста и в повышении устойчивости растений пшеницы к действию обезвоживания. Работа выполнена за счет средств гранта РФ № 22-24-00196.

**The effectiveness of seed priming by NO in stimulating of germination and increasing of wheat tolerance to oxidative damage during dehydration**

Plotnikov A.A., Allagulova Ch.R., Zikrina I.I., Lubyanova A.R. Yuldashev R.A., Avalbaev A.M.

Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa, Russia

[allagulova-chulpan@rambler.ru](mailto:allagulova-chulpan@rambler.ru)

One of the most promising direction in the field of crop production can be the method of pre-sowing seed priming (SP), which consists in their pretreatment with water solutions of various biologically active compounds, followed by seed drying and storage under appropriate conditions.

Plant growth regulators and inducers of signaling molecules such as nitric oxide (NO) can be used as priming agents. NO performs fundamental functions in the regulation of plant development and their tolerance to stress conditions. Drought is one of the most widespread unfavorable environmental factors in the world, which significantly limits the crop growth and productivity and causes oxidative damage in them. In this work, we studied the effects of pre-sowing seed priming for 5 h with 200 μM sodium nitroprusside (SNP), which is a donor of NO, on the physio-biochemical parameters of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) subjected to PEG-induced dehydration. NO priming had a positive effect on the wheat plants growth under normal conditions, stimulating seed germination, increasing the linear parameters of 4-day-old seedlings, as well as their fresh and dry weight, and the mitotic index of seedling roots. Dehydration induced by 5% PEG significantly inhibited seed germination and subsequent growth of wheat seedlings. NO priming significantly mitigated the negative effects of dehydration on germination and growth of wheat plants. An important contribution to protective effect of NO can be made by a decrease of oxidative damage in subjected to water stress seedlings, which was judged by the levels of superoxide anion and hydrogen peroxide production, and the activity of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase, peroxidase, and catalase. The obtained results indicate the NO-priming effectiveness in stimulating of seeds germination, subsequent growth, and in increasing of wheat plants resistance to dehydration conditions. The work was supported by the Russian Science Foundation (RSF) grant No 22-24-00196.

**Разработка системы праймеров и зондов для видовой дифференциации наиболее распространенных грибов рода *Sclerotinia***

<sup>1,2</sup>Полтораченко С.А., <sup>2,3</sup>Шварцев А.А., <sup>2</sup>Коньшева М.Л., <sup>1</sup>Соловьев А.А., <sup>4</sup>Мазурин Е.С.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, г. Москва.

<sup>2</sup>ООО «НПФ Синтол», г. Москва.

<sup>3</sup>РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва

<sup>4</sup>ООО «Сингента», г. Москва

[sofya.blinova@yandex.ru](mailto:sofya.blinova@yandex.ru)

Одними из наиболее распространенных и разрушительных фитопатогенов, способных поражать более 500 культурных и дикорастущих видов растений и существовать в широком диапазоне природных условий являются грибы рода *Sclerotinia*. Ввиду отсутствия устойчивости у большинства сельскохозяйственных культур заражение склеротиниями может приводить к полной гибели урожая, что в последствии грозит значительным экономическим потерями. В связи с указанными биологическими особенностями фитопатогена, необходимо проводить заблаговременную диагностику растительного материала на наличие грибов рода *Sclerotinia* для сдерживания и предотвращения распространения данного патогена по миру. Целью работы было провести апробацию разработанных олигонуклеотидов для видовой идентификации наиболее распространенных представителей рода *Sclerotinia*, а именно: *S. sclerotiorum*, *S. nivalis*, *S. borealis* и *S. minor*.

Проверка праймеров и зондов проводилась на 24 образцах коллекционных культур грибов, полученных от ООО «Сингента», а также на 65 образцах растений, отобранных с полей и имеющих визуальные признаки заражения. Выделение нуклеиновых кислот проводили с использованием набора реагентов ФитоСорб-П (ООО «Синтол», Россия). Подтверждение принадлежности образцов к изучаемым видам проведено с использованием метода секвенирования по Сэнгеру. По полученным данным были разработаны олигонуклеотиды на фрагмент кластера рРНК позволяющие проводить видовую дифференциацию методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Праймеры и зонды, сконструированные для диагностики, позволяют с высокой чувствительностью и специфичностью выявлять следующие виды грибов рода *Sclerotinia*: *S. sclerotiorum*, *S. nivalis*, *S. borealis* и *S. minor*. Аналитическая специфичность систем праймеров и зондов составила 100% на выборке из 57 близкородственных и сопутствующих организмов. Ложноположительные результаты на исследуемой выборке не содержащей ДНК целевых грибов выявлено не было.

Разработанная система для видовой диагностики методом ПЦР-РВ могут помочь исследовательским центрам и агрохолдингам в своевременном проведении диагностических мероприятий.

Исследования выполнены в рамках поддержки ООО «Сингента» исследований молодых ученых аграрных образовательных и научных учреждений

**Development reagents kit for species differentiation of the most common *Sclerotinia* fungi**

<sup>1,2</sup>Poltorachenko S.A., <sup>2,3</sup>Shvartsev A.A., <sup>2</sup>Konisheva M.L., <sup>1</sup>Soloviev A.A., <sup>4</sup>Mazyrin E.S.

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow

<sup>2</sup>LLC «Syntol», Moscow

<sup>3</sup>Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow

<sup>4</sup>LLC «Syngenta», Moscow

[sofya.blinova@yandex.ru](mailto:sofya.blinova@yandex.ru)

Fungi of the *Sclerotinia* genus are one of the most common and destructive phytopathogens, capable of infecting more than 500 species of cultivated and wild plants, and can exist in a wide range of environmental conditions. Infections caused by *Sclerotinia* can lead to complete crop failure and significant economic losses due to absence of plant resistance. In relation to indicated biological characteristics of the phytopathogen, it is necessary to carry out early diagnostics of plant material for the presence of *Sclerotinia*. This will help control and contain the spread of this pathogen around the world. The aim of this study was to test the developed oligonucleotides for species identification of the most common representatives of the genus *Sclerotinia*, namely: *S. sclerotiorum*, *S. nivalis*, *S. borealis*, and *S. minor*. Primers and probes were tested on 24 samples of fungal collection cultures received from Syngenta LLC, as on 65 plant samples with visual signs of infection taken (selected) from the fields. Extraction of nucleic acids was carried out with the PhytoSorb-P reagent kit (Syntol LLC, Russia). Species identification of the samples was confirmed by Sanger sequencing. Based on the obtained sequences, oligonucleotides were selected for a fragment of the rRNA gene cluster, which allow to carry out species differentiation by real-time polymerase chain reaction. Designed primers and probes for diagnostic can detect the following species of *Sclerotinia*: *S. sclerotiorum*, *S. nivalis*, *S. borealis*, and *S. minor* with high sensitivity and specificity. The analytical specificity of the reagent-kits was 100% (was tested against 57 closely related and related organisms). False-positive results are not detected. The developed system for species diagnostics by the real-time PCR method can be useful to research centers and agricultural holdings in early diagnostic studies.

The research was carried out as part of the support from Syngenta LLC for the research of young scientists of agricultural educational and scientific institutions.

### Влияние комплексного биопрепарата на активность аскорбат-пероксидазы в листьях кукурузы при действии пониженных температур

Пронин А.С., Лукаткин А.С.

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет

им. Н.П. Огарева, г. Саранск

[proninbio@gmail.com](mailto:proninbio@gmail.com)

Грибы и бактерии совместно существуют в ризосфере, между ними происходит взаимодействие, и они (выделяемые в группу PGPF и PGPB) способны влиять на рост и развитие растений. Также эти микроорганизмы способствуют повышению стрессоустойчивости растений, вероятно, через изменение антиоксидантной активности.

Цель исследования – изучить влияние комплексного биопрепарата (КБП) на активность аскорбат-пероксидазы (АРХ) в листьях кукурузы гибридов Делитоп и Обский 140 СВ при действии пониженных температур.

Для получения КБП использовали штаммы *Pseudomonas chlororaphis* B-5326 и *Saccharomyces cerevisiae* Y-4317, которые выращивали на шейкере-инкубаторе SPH-2102 (Минск, Беларусь) в течение 48 ч при температуре 28 °С и 130 RPM. Среда для совместного культивирования микроорганизмов содержала: пептон 0,5 г/л, дрожжевой экстракт 1 г/л, NaNO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>NO, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – по 0,5 г/л, сахарная меласса 10 г/л. Конечный титр клеток в КЖ составил 10<sup>9</sup> КОЕ/мл.

Предпосевную обработку семян кукурузы осуществляли культуральной жидкостью в разведении 1:200, в качестве контроля выступали обработанные водой семена. Растения выращивали в лабораторных условиях в сосудах с почвой до фазы 6-8 листьев. Антистрессовое действие КБП изучали по влиянию на активность АРХ.

Предпосевная обработка КБП семян кукурузы гибрида Делитоп при оптимальной температуре стимулировала активность АРХ на 14 и 18 % в листьях 19- и 22-дневных растений соответственно. Сразу после действия температуры 10 °С активность фермента возросла на 31 %, а температуры 3 °С – на 8% по сравнению с контрольными растениями. Спустя 3 суток после температурного стресса активность АРХ увеличилась по сравнению с контролем на 13 % (температура 10 °С) и на 4 % (температура 3 °С). У растений гибрида Обский 140 в условиях оптимальной температуры значения активности АРХ не различались в разные сроки вегетации. После воздействия температуры 10 °С активность АРХ возросла на 28 %, а температуры 3 °С – более чем в 4 раза. У 22-дневных растений, т.е. спустя 3 суток после охлаждения при 10 °С, активность фермента была выше значений контрольного варианта на 65 %; после охлаждения при 3 °С активность АРХ слегка снижалась.

Таким образом, предпосевная обработка КБП способствовала существенному повышению устойчивости растений кукурузы к стрессовому действию пониженных температур. Важная роль в процессе возрастания стрессоустойчивости принадлежит активации антиоксидантной системы, что можно проследить по повышению активности аскорбат-пероксидазы в листьях кукурузы после температурного стресса.

### Effects of complex biological preparation on ascorbate peroxidase activity in maize leaves at chilling temperatures

Pronin A.S., Lukatkin A.S.

National Research Mordovia State University, Saransk.

[proninbio@gmail.com](mailto:proninbio@gmail.com)

Fungi and bacteria coexist in the rhizosphere, interact between them, and they (separated into the PGPF and PGPB groups) are able to influence the growth and development of plants. Also, these microorganisms contribute to an increase in stress resistance of plants, probably through a change in antioxidant activity.

The aim of the study was to study the effect of a complex biological product (CBP) on the activity of ascorbate peroxidase (APX) in the leaves of maize hybrids Delitop and Obsky 140 SV under the action of low temperatures.

*Pseudomonas chlororaphis* B-5326 and *Saccharomyces cerevisiae* Y-4317 strains, which were grown on an SPH-2102 shaker-incubator (Minsk, Belarus) for 48 h at 28°C and 130 RPM, were used to obtain CBP. The medium for the co-cultivation of microorganisms contained: peptone 0.5 g/l, yeast extract 1 g/l, NaNO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>NO, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> - 0.5 g/l each, sugar molasses 10 g/l. The final titer of cells in CL was 10<sup>9</sup> CFU/ml.

Pre-sowing treatment of corn seeds was carried out with a culture liquid at a dilution of 1:200, seeds treated with water served as a control. Plants were grown under laboratory conditions in pots with soil up to the phase of 6-8 leaves. The anti-stress effect of CBP was studied by its effect on APX activity.

Pre-sowing treatment of seeds of corn hybrid Delitop with CBP at the optimum temperature stimulated APX activity by 14 and 18% in the leaves of 19- and 22-day-old plants, respectively. Immediately after exposure to a temperature of 10°C, the activity of the enzyme increased by 31%, and a temperature of 3°C - by 8% compared with control plants. Three days after the temperature stress, APX activity increased by 13% (temperature 10°C) and 4% (temperature 3°C) compared to the control. In plants of the Obskiy 140 hybrid under optimal temperature conditions, the values of APX activity did not differ at different periods of vegetation. After exposure to a temperature of 10°C, APX activity increased by 28%, and a temperature of 3°C increased by more than 4 times. In 22-day-old plants, i.e. 3 days after cooling at 10°C, the enzyme activity was higher than the values of the control variant by 65%; after cooling at 3°C, the APX activity slightly decreased.

Thus, the presowing treatment of CBP contributed to a significant increase in the resistance of corn plants to the stress effect of low temperatures. An important role in the process of increasing stress resistance belongs to the activation of the antioxidant system, which can be traced by the increase in the activity of ascorbate peroxidase in corn leaves after temperature stress.

**Влияние суспензии штамма *Pseudomonas* sp. GEOT18 на ростовые и продуктивные качества *Hordeum vulgare* L.**

<sup>1,2</sup>Рассохина И.И., <sup>1</sup>Платонов А.В.

<sup>1</sup>ФГБУН Вологодский научный центр РАН, г. Вологда

<sup>2</sup>Ярославский государственный университет имени П.Г. Демидова, г. Ярославль.

[rasskhinairina@mail.ru](mailto:rasskhinairina@mail.ru)

Многие представители рода *Pseudomonas* способны активировать мобилизацию элементов минерального питания растений, синтезировать фитогормоны, стимулировать развитие клеток, образование боковых корней, корневых волосков и др.

Цель нашего исследования – выявить влияние суспензии штамма *Pseudomonas* sp. GEOT18, изолированного из внутренних тканей стеблекорневых тубероидов генеративных особей *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó, на ростовые и продуктивные качества *Hordeum vulgare* L. сорта Суздалец.

Исследования проводили в рамках мелкоделяночного полевого опыта. Суспензию штамма получали на среде LB в условиях постоянного перемешивания при температуре 22-24 °C в течение 16-18 ч. Внесение суспензии осуществлялось дважды: предпосевное замачивание семян и опрыскивание филлосферы на стадии кущения. Оценка ростовых параметров (кустистость, количество листьев, площадь листа, сырая и сухая массы) проводилась на стадиях кущения и начала цветения, анализ структуры урожая – на стадии начала восковой спелости.

Установлено, что на стадии кущения сырая масса растений опытной группы превосходила контроль на 17 %, сухая масса – на 30 %. При этом общая листовая поверхность растения у опытных вариантов была выше контроля на 8 %. На стадии начала цветения превосходство опытных вариантов над контрольными сохраняется. К моменту созревания зерна было выявлено увеличение урожайности опытного варианта относительно контроля на 30 %. Зерновая продуктивность возрастала за счет увеличения массы отдельной зерновки на 6 %, количества зерновок в колосе на 8 %, а также продуктивной кустистости на 10 %.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии штамма *Pseudomonas* sp. GEOT18 на ростовые процессы и продуктивные качества *Hordeum vulgare* L. сорта Суздалец.

**Effect of suspension of *Pseudomonas* sp. GEOT18 strain on growth and productive qualities of *Hordeum vulgare* L.**

<sup>1,2</sup>Rassokhina I.I., <sup>1</sup>Platonov A.V.

<sup>1</sup> Vologda Research Center of the Russian Academy of Sciences, Vologda.

<sup>2</sup> P.G. Demidov Yaroslavl State University, Yaroslavl.

[rasskhinairina@mail.ru](mailto:rasskhinairina@mail.ru)

Many representatives of the genus *Pseudomonas* are able to activate the mobilization of mineral nutrition elements of plants, synthesize phytohormones, stimulate cell development, the formation of lateral roots, root hairs, etc.

The purpose of our study is to identify the effect of suspension of *Pseudomonas* sp. GEOT18 strain isolated from the internal tissues of stem tuberooids of generative *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó individuals on the growth and productive qualities of *Hordeum vulgare* L. of the Suzdalets variety.

We carried out the research within the framework of a small-scale field experiment. The strain suspension was obtained on LB medium under constant stirring conditions at a temperature of 22-24 °C for 16–18 hours. The introduction of the suspension was carried out twice: pre-sowing soaking of seeds and spraying of the phyllosphere at the tillering stage. We carried out the assessment of growth parameters (bushiness, number of leaves, leaf area, raw and dry mass) at the stages of tillering and the beginning of flowering, the analysis of the crop structure was at the stage of the beginning of wax ripeness. We have found that at the tillering stage, the raw mass of plants of the experimental group exceeded the control by 17%, the dry mass – by 30%. At the same time, the total leaf surface of the experimental plants was 8% higher than the control ones. At the stage of the beginning of flowering, the superiority of the experimental variants over the control ones remains. By the time of grain maturation, we have revealed an increase in the yield of the experimental variant relative to the control by 30%. Grain productivity increased due to an increase in the mass of a single grain by 6%, the number of grains in the ear by 8%, as well as productive bushiness by 10%.

Thus, the results obtained indicate a positive effect of the *Pseudomonas* sp. GEOT18 strain on the growth processes and productive qualities of *Hordeum vulgare* L. of the Suzdalets variety.



**Влияние метаболитов бактерий, выделенных из многолетнемерзлых пород, на морфогенез *in vitro* материала картофеля**

Ренёв Н.О., Родина Е.С., Мальчевский В.А., Субботин А.М., Петров С.А.

Тюменский научный центр СО РАН, г. Тюмень.

[solitary\\_72@mail.ru](mailto:solitary_72@mail.ru)

Одним из альтернативных путей повышения продуктивности сельскохозяйственных растений является оптимизация растительно-микробного взаимодействия.

Цель работы: изучить влияние вторичных метаболитов штаммов микроорганизмов, из многолетнемерзлых пород, на морфогенез микрорастений картофеля в условиях *in vitro*.

В работе использовали 3 штамма бактериальных культур: *Bacillus cereus* 875TS, *Achromobacter spanius* 10-50TS2 и *Bacillus cereus* 9-08-CH9. Штаммы бактерий высевали в пробирки на приготовленный стандартным методом скошенный питательный агар и культивировали в термостате 48 часа при  $t=26^{\circ}\text{C}$ . Затем производили смыв микроорганизмов из каждой пробирки 5 мл дистиллированной воды. Концентрацию микроорганизмов определяли культуральным методом. После определения количества клеток бактерий в исходной маточной суспензии плотность культур доводили до рабочей концентрации в  $1 \times 10^9$  микробных клеток в 1 мл дистиллированной воды. Затем суспензию клеток замораживали на 8 часов при  $t -15^{\circ}\text{C}$ , после чего её оттаивали при  $t +22^{\circ}\text{C}$  в течение 16 часов. Стерильный раствор метаболитов получали путём фильтрования бактериальных суспензий через фильтры фирмы «Millipore» с диаметром пор 0,22 мкм. Полученные фильтраты, содержащие метаболиты бактерий, наносили на поверхность питательной среды Мурасиге-Скуга в дозе 250 мкл. В контрольном варианте добавляли отфильтрованный смыв с поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов. Через 60 минут в эти пробирки начинали высаживать микрочеренки растений картофеля. Пробирки с посаженными растениями помещают в фитотрон с температурой  $20-22^{\circ}\text{C}$  и освещенностью 5000-8000 люкс с фотопериодом 16 часов. Длительность культивирования составила 30 сут.

Исследования проводили на микрорастениях трех сортов картофеля: Жуковский ранний, Розара и Ред Скарлетт.

Результаты проведенного эксперимента свидетельствуют о том, что при совместном выращивании микрорастений картофеля в условиях *in vitro* на питательной среде Мурасиге-Скуга с метаболитами бактерий штаммов *Bacillus cereus* 9-08-CH9 и *Achromobacter spanius* 10-50TS2 оказывают наибольший стимулирующий эффект. Вторичные метаболиты данных штаммов бактерий оказывают достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение числа междоузлий на всех этапах культивирования микрорастений всех сортов картофеля, что может способствовать ускорению тиражирования *in vitro* материала для оригинального семеноводства картофеля. Метаболиты штамма бактерий *Bacillus cereus* 875TS вызывают достоверное снижение числа междоузлий микрорастений картофеля сорта Жуковский ранний на начальных этапах культивирования.

**Effect of bacterial metabolites isolated from permafrost on *in vitro* morphogenesis of potato material**

Renev N.O., Rodina E.S., Malchevskiy V.A., Subbotin A.M., Petrov S.A.

Tyumen Scientific Centre SB RAS, Tyumen.

[solitary\\_72@mail.ru](mailto:solitary_72@mail.ru)

One of the alternative ways to increase the productivity of agricultural plants is to optimize the plant-microbe interaction.

Purpose of work: to study the effect of secondary metabolites of microbial strains, from perennially frozen rocks, on the morphogenesis of potato microplants under *in vitro* conditions.

Three strains of bacterial cultures were used: *Bacillus cereus* 875TS, *Achromobacter spanius* 10-50TS2 and *Bacillus cereus* 9-08-CH9. Bacterial strains were seeded in tubes onto standard slanted nutrient agar and cultured in an incubator for 48 hours at  $t=26^{\circ}\text{C}$ . Microorganisms were then washed out of each tube with 5 ml of distilled water. The concentration of microorganisms was determined by culture method. After determining the number of bacterial cells in the initial uterine suspension, the density of cultures was brought to a working concentration of  $1 \times 10^9$  microbial cells in 1 ml of distilled water. The cell suspension was then frozen for 8 hours at  $-15^{\circ}\text{C}$ , then thawed at  $+22^{\circ}\text{C}$  for 16 hours. Sterile solution of metabolites was obtained by filtering bacterial suspensions through Millipore filters with a pore diameter of 0.22  $\mu\text{m}$ . The obtained filtrates containing bacterial metabolites were applied to the surface of Murasige-Skug nutrient medium at a dose of 250  $\mu\text{l}$ . In the control version, filtered flush from the surface of nutrient agar for cultivation of microorganisms was added. After 60 minutes, potato micropods were planted in these test tubes. Tubes with planted plants were placed in a phytotron with a temperature of  $20-22^{\circ}\text{C}$  and illumination of 5000-8000 lux with a photoperiod of 16 hours. The duration of cultivation was 30 days.

The research was conducted on microgrowers of three potato varieties: Zhukovsky Early, Rosara and Red Scarlett.

The results of the experiment indicate that the combined cultivation of potato microgrowers in conditions of *in vitro* on nutrient medium Murasige-Skuga with metabolites of bacterial strains *Bacillus cereus* 9-08-CH9 and *Achromobacter spanius* 10-50TS2 have the greatest stimulating effect. The secondary metabolites of these bacterial strains have a significant ( $p < 0,05$ ) increase in the number of internodes at all stages of cultivation of microplants of all potato varieties, which can accelerate the replication *in vitro* material for original potato seed production. Metabolites of bacterial strain *Bacillus cereus* 875TS cause a significant decrease in the number of internodes of potato Zhukovsky early potato microplants at the initial stages of cultivation.

**Внутривидовое разнообразие чумизы (*Setaria italica* L.) как исходного материала для селекции**

Родина Т.В., Асташов А.Н., Багдалова А.З.

ФГБНУ Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы  
«Россорго», г. Саратов  
rodina008@mail.ru

Высокая продуктивность и экологическая пластичность растений рода *Setaria italica*, ценность биохимического состава зерна и надземной биомассы, устойчивость к действию биотических и абиотических стрессоров, к вредителям и болезням позволяет отнести чумизу к числу растений универсального назначения. В изменениях климатических условий за вегетационный период в последние десятилетия отмечен устойчивый тренд на потепление климата, что связано с периодами длительного отсутствия осадков и засухи. Чумиза экономно расходует почвенную влагу и обладает хорошей устойчивостью к засушливым условиям, что делает ее перспективной культурой для возделывания в засушливых условиях Нижнего Поволжья. Однако отсутствие сортов и недостаточная изученность сдерживает ареал распространения культуры.

В исследовании изучено 46 сортов образцов чумизы коллекции ВИР. При изучении сортов образцов особое внимание обращалось на оценку длины вегетационного периода – одного из основных биологических признаков, определяющих возможность возделывания культуры в конкретных природно-климатических условиях. В целом по опыту размах варьирования продолжительности вегетационного периода сортов образцов чумизы наблюдали в пределах от 115 до 130 дней. Выделены следующие группы: среднеранние, среднеспелые и позднеспелые сорта образцы. Группа позднеспелых сортов образцов с продолжительностью вегетационного периода от 121 до 130 дней, составила 71,7 % от общего количества изучаемых образцов в коллекции.

Высота растений сортов образцов чумизы варьировала от 58,0 до 140,4 см. В опыте основная часть (52,2%) образцов отнесена к группе среднерослых с высотой растений от 82,2 до 110,8 см. Группа высокорослых растений составила 39,1% сортов образцов изучаемой коллекции. Группа низкорослых растений чумизы составила 6,5%.

Статистическая оценка элементов урожайности надземной биомассы сортов образцов чумизы показала среднюю степень коэффициента вариации – 19,55%, диапазон варьирования составил – 12,55...30,91 т/га, в сухом состоянии от 5,02 до 11,95 т/га и показал минимальные значения у сорта образца к-982, а максимальные у образца к-1429.

Содержание сырого протеина в зелёной массе имеет высокую биологическую ценность. В наших исследованиях установлено, что в сухом веществе биомассы сортов образцов чумизы в фазу молочной спелости размах варьирования сырого протеина составил – 4,18...8,75%.

Проведенные исследования позволили выявить перспективный исходный материал для селекции чумизы в зоне деятельности селекцентра.

**Intraspecific diversity of chumiz (*Setaria italica* L.) as a source material for breeding**

Rodina T.V., Astashov A.N., Bagdalova A.Z.

Russian Research and Design Institute of Sorghum and Maize «Rossorgo», St. Saratov  
rodina008@mail.ru

The high productivity and ecological plasticity of plants of the genus *Setaria italica*, the value of the biochemical composition of grain and aboveground biomass, resistance to the action of biotic and abiotic stressors, to pests and diseases allows us to attribute chumiz to the number of universal plants. Changes in climatic conditions during the growing season in recent decades have shown a steady trend towards climate warming, which is associated with periods of prolonged lack of precipitation and drought. Chumiza consumes soil moisture economically and has good resistance to arid conditions, which makes it a promising crop for cultivation in the arid conditions of the Lower Volga region. However, the lack of varieties and insufficient knowledge constrains the distribution area of the culture.

In the study, 46 varieties of chumiz from the VIR collection were studied. When studying variety samples, special attention was paid to the assessment of the length of the growing season – one of the main biological signs that determine the possibility of cultivating a crop in specific natural and climatic conditions. In general, according to experience, the range of variation in the duration of the growing season of chumiz cultivars was observed in the range from 115 to 130 days. The following groups are distinguished: mid-early, mid-ripe and late-ripening varieties. A group of late-maturing cultivars with a growing season duration of 121 to 130 days made up 71.7% of the total number of studied samples in the collection.

The height of the chumiz cultivar plants varied from 58.0 to 140.4 cm. In the experiment, the main part (52.2%) of the samples were attributed to the group of medium-sized plants with plant height from 82.2 to 110.8 cm. The group of tall plants made up 39.1% of the variety samples of the studied collection. The group of low-growing plants of chumiz was 6.5%.

The statistical evaluation of the yield elements of the aboveground biomass of the chumiz variety samples showed an average degree of coefficient of variation – 19.55%, the range of variation was – 12.55...30.91 t/ha, in the dry state from 5.02 to 11.95 t/ha and showed the minimum values for the k-982 variety sample, and the maximum values for the k-1429 sample.

The content of crude protein in the green mass has a high biological value. In our studies, it was found that in the dry matter of the biomass of chumiz variety samples in the phase of milk ripeness, the range of variation of crude protein was 4.18...8.75%.

The studies carried out allowed us to identify promising source material for chumiz breeding in the area of the selection center.

**Alterations in pea (*Pisum sativum* L.) seeds transcriptomic and metabolomic profiles upon inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi, nodule bacteria and its combination**

<sup>1</sup>Romanyuk D.A., <sup>1</sup>Shtark O.Y., <sup>2</sup>Bilova T.E., <sup>3</sup>Kysil E.V., <sup>2</sup>Frolova N.V., <sup>2</sup>Cherevatskaya M.A., <sup>1</sup>Kulaeva O.A., <sup>2</sup>Silinskaya S.A., <sup>1</sup>Kichigina N.E., <sup>1</sup>Sulima A.S., <sup>1</sup>Akhtemova G.A.,  
<sup>3</sup>Frolov A.A., <sup>1</sup>Zhukov V.A.

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg.

<sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, St. Petersburg.

<sup>3</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle/Saale, Germany.

daria.a.romanyuk@gmail.com

Pea (*Pisum sativum* L.) forms mutualistic symbioses with beneficial soil microorganisms (BSM), which interaction efficiency (EIBSM, i.e. the accumulation of biomass of seeds and plants during inoculation) depends on the genotype of the plant. An earlier analysis of genotype-related differences in seed proteome responses allowed us to hypothesize that double inoculation with nodule bacteria (NB) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) leads to an extension of the seed maturation period in the high-efficient line k-8274 in comparison to the low-efficient line k-3358. Thus, our experimental scheme was based on inoculation of experimental plants with both nodule bacteria and AMF or singly, and non-inoculated plants were used as a control. Seeds were collected at the 15th, 20th, 25th and 30th days after pollination. AMF inoculation led to the flowering beginning delay and an increase in the flowering period of the k-8274 line, while an acceleration of the flowering beginning and a reduction in the period of ripening of the k-3358 line seeds was observed. Transcriptomic analysis revealed functional groups of genes associated with the response of the studied k-3358 and k-8274 lines to the inoculation with NB and AMF in seeds over time. Among the differentially expressed genes, functional groups were identified, both distinguishing and unifying the response of the studied genotypes to inoculation. The dynamics of the transcriptomic profiles changes of the compared variants at 4 time points and related biological processes were analyzed. It was revealed that, in general, in k-8274 line AMF inoculation changes the expression of many genes in the same direction as seed maturation, whereas in k-3358 line rather in the opposite direction. Primary and secondary metabolites were analyzed by gas chromatography mass spectrometry and high-performance liquid chromatography mass spectrometry, respectively. The analysis revealed inoculation-related metabolic shifts that were more pronounced in k-8274 line as compared to k-3358 line. The direction of metabolic changes associated with inoculation was different for k-8274 and k-3358 lines. This effect was more pronounced for the secondary metabolome. According to the results of the metabolomic analysis, it can be concluded that at the IV term of K-8274 and K-3358 lines seeds collection, in comparison with earlier maturation phases, amino acids are practically not detected, but sugars, some secondary compounds continue to accumulate, as well as processes of mutual conversion and synthesis of purines and pyrimidines occur. The results of our work show that inoculation of plants with nodule bacteria, AMF and their combination did not affect the completion of protein biosynthesis at this seed maturation stage. Symbiosis of plants with AMF and NB, in some cases, contributed to a change in the seeds ripening period by increasing (K-8274 line inoculation with AMF and K-3358 line double inoculation with AMF and NB) or shortening this period (K-8274 line inoculation with NB and double inoculation with AMF and NB) due to the influence on synthetic, energy processes and processes of accumulation of sugars. Of all the studied variants, the weakest effect on the primary metabolism of seeds was exerted by inoculation with AMF of K-3358 plants. Thus, these two pea genotypes responded differently to BSM inoculation both with respect to the period of seed development (in particular, seed formation and maturation) and transcriptomic and metabolic profiles changes in seeds.

The work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 20-16-00107.

**Роль Spo-системы трансдукции сигнала в регуляции экспрессии адамализин-подобной протеиназы *Bacillus pumilus***

Рудакова Н.Л., Хасанов Д.И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия  
natalialrudakova@mail.ru

Уникальная минорная секретируемая металлопротеиназа *B. pumilus* 3–19 MprBp сочетает в себе классификационные признаки двух семейств клана метцинкинов: адамализинов и астацинов. Данная металлопротеиназа является первым прокариотическим ферментом в семействе адамализинов, включающем исключительно эукариотические белки.

Функциональная роль бациллярного гомолога при крайне низком его содержании в среде остается неясной. Знание регуляторных путей, контролирующих экспрессию гена металлопротеиназы, поможет понять спектр клеточных задач, в решении которых участвует данный фермент.

Выравнивание промоторной области *mprBp* относительно канонических последовательностей для взаимодействия с регуляторными белками выявило 4 сайта связывания с фактором транскрипции Spo0A с гомологией последовательностей 86%. Регуляторный белок Spo0A играет ключевую роль в сети передачи сигнала при переходе культуры к спорообразованию. В связи с этим мы предположили, что функция металлопротеиназы может быть связана с процессом споруляции. Для дальнейшей работы ген металлопротеиназы под собственным промотором был клонирован с помощью вектора pSA1 в серию мутантных штаммов *B. subtilis* BG 2036, дефектных по регуляторным белкам споруляции:  $\Delta$ Spo0A,  $\Delta$ Spo0B,  $\Delta$ Spo0F,  $\Delta$ Spo0K,  $\Delta$ Spo0J, а также сигма-факторам  $\Delta$ SigF,  $\Delta$ SigH,  $\Delta$ SigK. У всех полученных в ходе исследования рекомбинантных штаммов уровень экспрессии гена *mprBp* соответствовал уровню контрольного штамма с полными генами соответствующих белков.

Эти данные указывают на независимость экспрессии гена *mprBp* от Spo-регуляторных белков. На этом основании мы сделали вывод, что экспрессия гена металлопротеиназы не коррелирует со спорообразованием.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-16-00138.

**The Spo-signal transduction system role in the regulation of the *Bacillus pumilus* adamalysin-like proteinase expression**

Rudakova N.L., Khasanov D.I.

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia  
natalialrudakova@mail.ru

The unique minor secreted *B. pumilus* 3–19 metalloproteinase MprBp combines the classification features of two families of the metzincin clan: adamalysins and astacins. This metalloproteinase is the first prokaryotic enzyme in the adamalysin family, which includes exclusively eukaryotic proteins.

The functional role of the bacillary homologue at its extremely low content in the medium remains unclear. Knowledge of the regulatory pathways that control the expression of the metalloproteinase gene will help to understand the range of cellular tasks in which this enzyme is involved.

Alignment of the *mprBp* promoter region relative to canonical sequences for interaction with regulatory proteins revealed 4 binding sites for the Spo0A transcription factor with 86% sequence homology. The regulatory protein Spo0A plays a key role in the signal transduction network during the culture transition to sporulation. In this regard, we hypothesized that the function of metalloproteinase may be associated with the process of sporulation. For further work, the metalloproteinase gene under its own promoter was cloned using the pSA1 vector into a series of *B. subtilis* BG 2036 mutant strains defective in sporulation regulatory proteins:  $\Delta$ Spo0A,  $\Delta$ Spo0B,  $\Delta$ Spo0F,  $\Delta$ Spo0K,  $\Delta$ Spo0J and sigma factors  $\Delta$ SigF,  $\Delta$ SigH,  $\Delta$ SigK. In all recombinant strains obtained during the study, the level of the *mprBp* gene expression corresponded to the level of the control strain with complete genes of the corresponding proteins.

These data indicate the independence of *mprBp* gene expression from Spo-regulatory proteins. On this basis, we concluded that the metalloproteinase gene expression does not correlate with sporulation.

This work was supported by the RSF grant №22-16-00138.

### Особенности регуляции транскрипционного фактора NIN, определившие его участие в контроле развития клубеньков у бобовых растений

<sup>1</sup>Рудая Е.С., <sup>1</sup>Козюлина П.Ю., <sup>1</sup>Павлова О.А., <sup>1</sup>Долгих А.В., <sup>2,3</sup>Иванова А.Н., <sup>1</sup>Долгих Е.А.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.

<sup>2</sup>Ботанический институт имени В. Л. Комарова РАН, г. Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Биологический факультет СПбГУ, г. Санкт-Петербург

[rudaya.s.e@gmail.com](mailto:rudaya.s.e@gmail.com)

Транскрипционный фактор NIN (NODULE INCEPTION) является мастер-регулятором развития симбиоза с клубеньковыми бактериями у бобовых растений. Этот регулятор вовлечен как в контроль развития инфекции в эпидермисе, так необходим и для контроля формирования специализированного органа клубенька в коре корня. Особенности регуляции морфогенеза клубенька как на ранних стадиях этого процесса, так и на более поздних остаются малоизученными. Недавно стало известно, что различные регуляторные элементы в промоторе гена *NIN* могут отвечать за активацию экспрессии этого транскрипционного регулятора в разных процессах при симбиозе. Связывание транскрипционного фактора IPD3/CYCLOPS с CYC-регуляторным боксом в промоторе, обеспечивает активацию *NIN* и его участие в контроле инфекционного процесса, напротив регулятор цитокининового ответа RR B-типа стимулирует специфичную экспрессию *NIN* через цитокинин-регулируемый элемент CE-боксы в промоторе и участие в регуляции морфогенеза. Такая дифференциальная регуляция предполагает взаимодействие транскрипционного фактора *NIN* при развитии инфекции и морфогенезе клубенька с разными ко-факторами, которые остаются неизвестными. Ранее проведенный анализ мутантов гороха *sym33-1* и *sym33-2* по гену IPD3/CYCLOPS показал, что фитогормоны цитокинины могут быть необходимы для активации транскрипционного фактора *NIN* и контроля более поздних стадий морфогенеза клубенька, связанных с дифференцировкой этого органа. С целью изучить как регулируется экспрессия гена *NIN* на этих стадиях с участием цитокининов и найти новые ко-регуляторы, нами был проведен сравнительный транскриптомный анализ клубеньков мутантов *sym33* и исходной линии гороха SGE без обработки, а также при экзогенной обработке цитокининами.

В ходе данной работы нами был выявлен стимулирующий эффект цитокининов в концентрации 10 мкМ на развитие мутантов *sym33-3*, а также количество клубеньков и степень их дифференцировки. При этом наблюдали стимуляцию экспрессии гена *NIN* у мутантов при обработке цитокининами. Проведенный биоинформатический анализ транскриптомов клубеньков мутантов гороха по гену *sym33*, обработанных цитокининами, позволил выявить новые транскрипционные факторы, которые могут являться ко-регуляторами *NIN* в контроле более поздних стадий морфогенеза клубенька.

Работа была поддержана грантом РФФИ 22-26-00279.

### Regulation of the transcription factor NIN and participation in the control of nodule development in legumes

<sup>1</sup>Rudaya E.S., <sup>1</sup>Kozyulina P.Yu., <sup>1</sup>Pavlova O.A., <sup>1</sup>Dolgikh A.V., <sup>2,3</sup>Ivanova A.N., <sup>1</sup>Dolgikh E.A.

<sup>1</sup>All-Russian Research Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg.

<sup>2</sup>V. L. Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

<sup>3</sup>Faculty of Biology, St. Petersburg State University, St. Petersburg

[rudaya.s.e@gmail.com](mailto:rudaya.s.e@gmail.com)

The transcription factor NIN (NODULE INCEPTION) is the main regulator of the development of symbiosis with nodule bacteria in leguminous plants. This regulator includes control over the development of the epidermis, which is essential for controlling the formation of a specialized organ nodule in the core. Features of the regulation of nodule morphogenesis, both at the stage of the causative agent of this process, and at later manifestations, are poorly understood. It has recently become known that various regulators in the promoter of *NIN* gene can play an important role in activating the expression of this transcription regulator in various processes during symbiosis. The transcription factor IPD3/CYCLOPS binds to the CYC-regulatory box in the promoter of *NIN*. This binding and its participation in the control of the infectious process are against the cytokinin response regulator RR B-type stimulates the specific expression of *NIN* through the cytokinin-regulated elements of the CE-box in the promoter and participation in the regulation morphogenesis. This differential regulation includes the interaction of *NIN* transcriptional factor during infection development and nodule morphogenesis with pieces of co-factors that turned out to be unknown.

Previous analysis of pea *sym33-1* and *sym33-2* mutants for the IPD3/CYCLOPS gene showed that cytokinin phytohormones may be necessary to activate transcription factor *NIN* and control later stages of nodule morphogenesis, manifested with increased heart failure. In order to find out how signs of *NIN* gene expression are observed at the stage of involving cytokinins and to find new co-regulators, we performed a comparative transcriptomic analysis of nodules of *sym33* mutants and the initial pea line SGE without treatment, as well as with exogenous treatment with cytokinins.

In the course of this work, we revealed the stimulating effect of cytokinins at a concentration of 10 μM on the development of *sym33-3* mutants, as well as the number of nodules and the degree of their differentiation. At the same time, stimulation of *NIN* gene expression in mutants is observed when processed by cytokinins. Bioinformatic analysis of transcriptomes of pea nodule mutants for the *sym33* gene, formed by cytokinins, revealed new transcription factors that can be co-regulators of *NIN* in the control of later stages of nodule morphogenesis.

The work was supported by the RSF grant 22-26-00279.

**Роль различных гормональных сигнальных путей в индукции устойчивости пшеницы к черемуховой тле *Rhopalosiphum padi* (L.)**

Румянцев С.Д., Алексеев В.Ю., Веселова С.В., Бурханова Г.Ф., Максимов И.В.  
Институт биохимии и генетики Уфимского Федерального исследовательского центра РАН, г. Уфа  
Rumyantsev-Serg@mail.ru

Черемуховая тля *Rhopalosiphum padi* (L.), одна из самых распространенных тлей-вредителей зерновых культур, уничтожающая посевы пшеницы во всем мире. Этот вид может снижать как урожайность, так и качество пшеницы, питаясь флоэмным соком, что приводит к огромному экономическому ущербу. В последнее время все большее внимание уделяется изучению механизмов индуцируемой устойчивости пшеницы к тлям, регулируемой гормональными сигнальными системами. Для обнаружения связи между редокс-статусом, показателями устойчивости растений пшеницы (антибиозом и выносливостью) к вредителю и индукцией жасмонат (ЖАК)- и салицилат (СК)-сигнальных путей у представителей трех видов растений пшеницы, *Triticum aestivum* L., *T. monococcum* L. и *T. timopheevii* Zhuk., заселенных черемуховой тлей *R. padi*, были проведены исследования с помощью физиологических, биохимических и молекулярно-генетических методов. У восприимчивого сорта Салават Юлаев (*T. aestivum*) активировалась экспрессия только ЖАК-зависимых генов, что отражало реакцию растений на повреждение. У устойчивого образца *T. timopheevii* к-58666 повышалась транскрипционная активность СК-зависимых генов, при этом тля практически не размножалась. У устойчивого образца *T. monococcum* к-39471, проявившего наибольшую выносливость, увеличивалась экспрессия как СК-, так и ЖАК-зависимых генов. У устойчивых генотипов индукция системной устойчивости проявлялась в накоплении перекиси водорода, повышении активности пероксидаз и накоплении транскриптов генов, кодирующих PR-белки-маркеры салицилатного и жасмонатного сигнальных путей (*PR-1*, *PR-2*, *PR-3*, *PR-6*, *PR-9*) и генов, кодирующих ферменты РНК-интерференции DCL (*DCL2*, *DCL4*) и AGO (*Ago1*, *Ago2*, *Ago3*). Работа выполнена в рамках гранта РФФИ № 22-76-00056.

**The role of various hormonal signaling pathways in the induction of wheat resistance to the bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* (L.)**

Rumyantsev S.D., Alekseev V.Yu., Veselova S.V., Burkhanova G.F., Maksimov I.V.  
Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Federal Research Centre of the Russian academy of sciences, Ufa  
Rumyantsev-Serg@mail.ru

Bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* (L.), one of the most common crop aphids, is a pest of wheat crops throughout the world. This species can reduce both yield and quality of wheat by feeding on phloem sap, resulting in huge economic damage. Recently, attention is being increasingly focused on the study of mechanisms that underlie inducible resistance to aphids in wheat and are regulated by hormonal signaling systems. To detect connections among the redox status, indicators of resistance (antibiosis and endurance) of wheat plants to the pest, and induction of the jasmonate (JA) and salicylate (SA) signaling pathways, we studied accessions of three species of wheat plants – *Triticum aestivum* L., *T. monococcum*, and *T. timopheevii* Zhuk.– colonized with *Rhopalosiphum padi* by physiological, biochemical, and molecular methods. In the susceptible *T. aestivum* variety Salavat Yulaev, the expression of only jasmonate-dependent genes was activated in response to plant damage. In the resistant *T. timopheevii* accession k-58666, expression of only salicylate-dependent genes was activated, while the aphid reproduction was practically absent. In the resistant *T. monococcum* accession k-39471, expression was activated in both the salicylate-dependent and jasmonate-dependent gene groups. In resistant genotypes, the induction of systemic resistance was manifested in the accumulation of hydrogen peroxide, increased activity of peroxidases, and the accumulation of transcripts of genes encoding PR-proteins markers of the salicylate and jasmonate signaling pathways (*PR-1*, *PR-2*, *PR-3*, *PR-6*, *PR-9*) and genes encoding RNA interference enzymes DCL (*DCL2*, *DCL4*) and AGO (*Ago1*, *Ago2*, *Ago3*). The work was carried out within the framework of the RSF grant no. 22-76-00056.

**Подбор оптимальной модификации питательной среды  
для клонального микроразмножения разных сортов голубики щитковой**

<sup>1,2</sup>Рыбин Д.А., <sup>1,2</sup>Брилкина А.А., <sup>1,2</sup>Агеева М.Н.

<sup>1</sup>Национальный исследовательский нижегородский университет им. Н.И. Лобачевского,  
г. Нижний Новгород

<sup>2</sup>ООО «Микофит», г. Бор

[ivan.rybin.1990@mail.ru](mailto:ivan.rybin.1990@mail.ru)

Голубика щитковая (*Vaccinium corymbosum* L.) является популярным и востребованным в садоводстве растением. С помощью метода клонального микроразмножения в условиях *in vitro* можно получить тысячи стерильных растений голубики. Компоненты питательной среды могут по-разному влиять на процессы роста и развития разных сортов голубики из-за генетических различий между ними. Одними из компонентов питательной среды, оказывающих существенное влияние на деление клеток, рост, морфологию культур, являются фитогормоны. Помимо фитогормонов также способны влиять на культуры растений и углеводы. Избыток или недостаток углеводов в питательной среде может привести к значительным физиологическим изменениям в эксплантах. Целью исследования является выявление оптимальной модификации питательной среды на показатели роста эксплантов и коэффициента размножения голубики щитковой. Использовали сорта голубики щитковой «Денис Блю», «Джерси», «Патриот». Микрочеренки голубики культивировали на 9 модификациях питательной среды WPM, а именно: 0 г/л сахарозы, 0/2/5 мг/л иП (изопентиладенин); 15 г/л сахарозы, 0/2/5 мг/л иП; 30 г/л сахарозы, 0/2/5 мг/л иП. Культивирование проводили в условиях 16/8 фотопериода (день/ночь), интенсивности освещения 80 мкМ м<sup>-2</sup> с<sup>-1</sup> и температуре 25°C 6 недель. Оценивали следующие показатели: средняя длина побега и коэффициент размножения. Наиболее оптимальными вариантами для сорта «Денис Блю» оказались среды WPM, содержащими 15 г/л сахарозы с иП или без него. Варианты с 0 г или 30 г сахарозы в сочетании с 2-иП имели более 38% мелких и витрифицированных растений. Наиболее оптимальными питательными средами для размножения голубики сорта Джерси являются варианты: WPM с 30 г/л сахарозы, а также WPM с 15 г/л сахарозы и с 5 мг/л иП. На средах без фитогормонов растения были меньше или витрифицированы. Оптимальными средами для размножения голубики сорта Патриот являются среды WPM, содержащие 30 г/л сахарозы и 2 мг/л иП, а также с 15 г/л сахарозы и 5 мг/л иП. Растения, культивируемые на питательной среде без иП, показали себя хуже других вариантов сред с фитогормонами. Таким образом для получения наиболее качественных растений голубики нужно использовать среду WPM с следующими модификациями: для сорта Денис Блю среды содержащими 15 г/л сахарозы с иП или без него; для сорта Джерси среды с 30 г/л сахарозы и WPM, а также 15 г/л сахарозы с 5 мг/л иП; для Патриота среды, содержащие 30 г/л сахарозы и 2 мг/л 2-иП, а также с 15 г/л сахарозы, 5 мг/л иП. Работа частично выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям (договор № 3993ГС1/65535).

**Selection of the optimal modification of the nutrient medium for clonal micropropagation  
of different blueberry cultivars**

<sup>1,2</sup> Rybin D.A., <sup>1,2</sup> Brillkina A.A., <sup>1,2</sup> Ageyeva M.N.

<sup>1</sup>National Research University of Nizhny Novgorod N.I. Lobachevsky,  
Nizhny Novgorod

<sup>2</sup>«Mycophyte» LLC, Bor.

[ivan.rybin.1990@mail.ru](mailto:ivan.rybin.1990@mail.ru)

The northern highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) are popular and demanded plants in horticulture. Thousands of sterile blueberry plants can be obtained using *in vitro* clonal micropropagation. The components of the nutrient medium can influence on the growth and development of different cultivars of blueberries in different ways due to genetic differences between them. The phytohormones are one of the components of the nutrient medium that have a significant impact on cell division, growth, and morphology of cultures. In addition to phytohormones, they are also capable of influencing plant cultures and carbohydrates. Excess or lack of carbohydrates in the nutrient medium can lead to significant physiological changes in explants. The purpose of the study is to identify the optimal modification of the nutrient medium for explant growth rates and the multiplication factor of blueberry plants. We used blueberry cultivars "Denis Blue", "Jersey", "Patriot". Blueberry microcuttings were cultivated on 9 modifications of the WPM nutrient medium, namely: 0 g/l sucrose, 0/2/5 mg/l iP (isopentyladenine); 15 g/l sucrose, 0/2/5 mg/l iP; 30 g/l sucrose, 0/2/5 mg/l iP. Cultivation was carried out under conditions of 16/8 photoperiod (day/night), light intensity 80 μM m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> and temperature 25°C for 6 weeks. The following indicators were evaluated: average shoot length and multiplication factor. WPM media containing 15 g/l of sucrose with or without iP turned out to be the most optimal options for the cv, Denis Blue, Variants with 0 g or 30 g of sucrose in combination with 2-iP had more than 38% of small and vitrified plants. The most optimal nutrient media for the propagation of blueberry cv. Jersey are: WPM with 30 g/l sucrose, as well as WPM with 15 g/l sucrose and 5 mg/l iP. Plants were smaller or vitrified on media without phytohormones. The optimal media for propagating of cv. Patriot of blueberry are WPM media containing 30 g/L sucrose and 2 mg/L iP, as well as 15 g/L sucrose and 5 mg/L iP. Plants cultivated on a nutrient medium without iP proved to be worse than other variants of media with phytohormones. Thus, to obtain the highest quality blueberry plants, it is necessary to use the WPM medium with the following modifications: for the cv. Denis Blue, media containing 15 g/l of sucrose with or without iP; for the cv. Jersey, media with 30 g/l sucrose and WPM, as well as 15 g/l sucrose with 5 mg/l iP; for cv. Patriot, media containing 30 g/l sucrose and 2 mg/l 2-iP, as well as c 15 g/l sucrose, 5 mg/l iP. The work was partially supported by the Innovation Promotion Fund (contract No. 3993ГС1/65535).

**Biodiversity and virulence of the causal agents of gray (speckled) snow mold of winter cereals.**

<sup>1</sup>Ryazanov E.A., <sup>1</sup>Mesherov A.R., <sup>1</sup>Gogoleva O.A., <sup>1</sup>Osipova E.V., <sup>2</sup>Ponomareva M.L.,  
<sup>2</sup>Ponomarev S.N., <sup>1</sup>Marenina E.A., <sup>1</sup>Gorshkov V.Y.

<sup>1</sup>Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of the Kazan Scientific Center  
of the Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia.

<sup>2</sup>Tatar Scientific Research Institute of Agriculture of the Kazan Scientific Center  
of the Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia.

[eg.ryazanov@gmail.com](mailto:eg.ryazanov@gmail.com)

Gray (speckled) snow mold is a dangerous disease affecting winter cereal crops. The causative agents of the disease are psychrophilic phytopathogenic basidiomycetes of the genus *Typhula*. Unlike most pathogens, fungi of the genus *Typhula* are active only in winter and infect plants at low temperatures under snow cover. The level of gray snow mold development can reach epiphytotic values leading to significant losses of winter crop yield. However, fungi of the genus *Typhula* remain one of the most poorly characterised phytopathogens. In this regard, the aim of our study was to create collection of fungi of the genus *Typhula* in Russia and performed phenotyping and genotyping of the collected isolates. Fungi were isolated from rye, wheat, and triticale plants affected by snow mold. In total, we isolated 52 strains attributed to the genus *Typhula* according to the morphology. Using the morphological characteristics of fungal colonies and microscopy observations of sclerotia (resting fungal structures) we divided the collected isolates into 2 species: *Typhula ishkariensis* (36 isolates) and *Typhula incarnata* (16 isolates). For taxonomical verification and genotypic characterization, we analyzed nucleotide sequences of two taxonomically informative genome regions: elongation factor 1 alpha (EF-1a) and internal transcribed spacer 2 (ITS2). As a result, first, we verified our taxonomical distribution of the isolates with ITS2 nucleotide sequences analysis, and second, we revealed the interspecies genotypic diversity using the EF-1a nucleotide sequences analysis. Eight sequence variants of EF-1a were identified for *Typhula ishkariensis* and ten variants for *Typhula incarnata*. We found the correlation between EF-1a nucleotide sequences and geographical distribution of *Typhula isolates*. We estimated virulence of the isolates using detached leaf (rye, wheat, and triticale) obtained from hardened and unhardened plants. Based on detached leaf assay results, we divided fungal isolates into several groups according to the degree of virulence. The virulence of individual isolates was dependent not only on the aggressiveness of the fungal strain but also on the physiological state of the plant (hardened/unhardened). This is the first study of phenotypic and genotypic diversity of *Typhula* in Russia. Currently, we are trying to find relations between nucleotide sequence variant (EF-1a or ITS2) and virulence of isolates under different experimental conditions. This study was performed within the frameworks of the government assignment for the FRC Kazan Scientific Center of RAS.



**Изоляция и идентификация штаммов бактерий, выделенных из воды и грунта уникального природного объекта - пещеры Шульган-Таш (Башкирия).**

Сазанова А.Л.<sup>1</sup>, Сафронова В.И.<sup>1</sup>, Белимов А.А.<sup>1</sup>, Гоголев Ю.В.<sup>2</sup>, Чирак Е.<sup>1</sup>, Карлов Д.С.<sup>1</sup>, Кузнецова И.Г.<sup>1</sup>, Кузьмина Л.Ю.<sup>3</sup>, Тихонович И.А.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Казанский институт биохимии и биофизики, Казань

<sup>3</sup> Уфимский институт биологии, Уфа

anna\_sazanova@mail.ru

Нами были выделены 45 штаммов микроорганизмов из различных источников в известняковой карстовой пещере Шульган-Таш (Башкортостан, Россия). Эти изоляты были идентифицированы методом секвенирования последовательностей гена 16S рРНК. В качестве праймеров для амплификации и секвенирования фрагмента гена 16S рРНК длиной 1400 пар оснований были использованы праймеры fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3') и rD1 (5'-CTTAAGGAGGTGATCCAGCC -3'). Секвенирование продуктов ПЦР проводили с использованием генетического анализатора ABI PRISM 3500xl (Applied Biosystems) в Центре коллективного пользования научным оборудованием "Геномные технологии, протеомика и клеточная биология", ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. Изоляты из пещеры Шульган-Таш принадлежат к 16 родам: *Pseudomonas*, *Massilia*, *Flavobacterium*, *Sphingomonas*, *Janibacter*, *Pseudorhodobacter*, *Polaromonas*, *Paenibacillus*, *Nocardioideis*, *Ralstonia*, *Arthrobacter*, *Aquaspirillum*, *Noviherbaspirillum*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Phyllobacterium* и *Rhizobium*. Все эти штаммы были депонированы в Российской коллекции сельскохозяйственных микроорганизмов (<http://arriam.ru/kollekciya-kul-tur1/>). На основе последовательностей гена 16S рРНК нами были построены филогенетические деревья для штаммов, принадлежащих к родам *Polaromonas*, *Flavobacterium*, *Nocardioideis*, *Massilia* и *Noviherbaspirillum*. Изучение физиологических и биохимических характеристик некоторых выделенных штаммов *Polaromonas*, *Flavobacterium*, *Noviherbaspirillum*, *Massilia* и *Nocardioideis* проводили с использованием мультисубстратной тест-системы MicroPlate GENIII BioLog (США). Изоляты П1-9 (*Noviherbaspirillum* sp.) и Э2-28-4 (*Flavobacterium* sp.) имели самый широкий спектр используемых субстратов (27 и 20 соответственно). Остальные изоляты были способны использовать не более 12 субстратов. В общей сложности шестью изолятами были усвоены 49 субстратов и химических соединений, 23 из которых были использованы только одним из этих изолятов.

**Isolation and identification of bacterial strains isolated from water and soil of a unique natural object - the Shulgantash cave (Bashkiria).**

Sazanova A.L.<sup>1</sup>, Safronova V.I.<sup>1</sup>, Belimov A.A.<sup>1</sup>, Gogolev Yu.V.<sup>2</sup>, Chirak E.<sup>1</sup>, Karlov D.S.<sup>1</sup>, Kuznetsova I.G.<sup>1</sup>, Kuzmina L.Yu.<sup>3</sup>, Tikhonovich I.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology (ARRIAM), St.-Petersburg

<sup>2</sup> Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan

<sup>3</sup> Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Center, RAS, 450054, Ufa

anna\_sazanova@mail.ru

45 strains were isolated and identified from different sources from the limestone karst cave Shulgantash (Bashkortostan, Russia). These isolates were identified using 16SrRNA gene sequences. The PCR primers fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3') and rD1 (5'-CTTAAGGAGGTGATCCAGCC -3') were used for amplification of the 1400 bp 16S rRNA (rrs) gene fragment. The direct sequencing of PCR products was performed using an ABI PRISM 3500xl genetic analyzer (Applied Biosystems) at the Core Centrum "Genomic Technologies, Proteomics and Cell Biology", ARRIAM. Isolates from Shulgantash cave belong to 16 genera: *Pseudomonas*, *Massilia*, *Flavobacterium*, *Sphingomonas*, *Janibacter*, *Pseudorhodobacter*, *Polaromonas*, *Paenibacillus*, *Nocardioideis*, *Ralstonia*, *Arthrobacter*, *Aquaspirillum*, *Noviherbaspirillum*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Phyllobacterium* and *Rhizobium*. All these strains were deposited in the Russian Collection of Agricultural Microorganisms (RCAM) (<http://www.arriam.spb.ru>). We have constructed Phylogenetic trees for the strains belonging to genera *Polaromonas*, *Flavobacterium*, *Nocardioideis*, *Massilia* and *Noviherbaspirillum* based on 16S rRNA gene sequences. The study of the physiological and biochemical characteristics some of isolated *Polaromonas*, *Flavobacterium*, *Noviherbaspirillum*, *Massilia* and *Nocardioideis* strains was carried out using the MicroPlate GENIII BioLog (USA) multisubstrate test system. The isolates P1-9 (*Noviherbaspirillum* sp.) and E2-28-4 (*Flavobacterium* sp.) had the widest range of utilized substrates (27 and 20, respectively). The remaining isolates were able to utilize not more than 12 substrates. In total, 49 substrates and chemical compounds were assimilated by six isolates and 23 of them were utilized only by one of these isolates.

**Внутривидовое разнообразие и филогения гена *nodA* клубеньковых бактерий люцерны из первичного генцентра бобовых растений**

<sup>1</sup>Саксаганская А.С., <sup>1</sup>Мунтян В.С., <sup>1</sup>Румянцева М.Л.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург.  
allasaksaganskaya@mail.ru

Формирование симбиоза между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями (ризобии) начинается с обмена сигнальными молекулами. В ответ на выделяемые корнями растений флавоноиды, ризобии синтезируют Nod-факторы. Структура последних детерминирована *nod* генами, локализованными, как правило, на симбиотических плазидах или симбиотических островах. Ген *nodA* кодирует ацилтрансферазу, фермент, присоединяющий видоспецифичный остаток жирной кислоты к остову молекулы Nod-фактора. Исследования, проведённые на штаммах разных видов клубеньковых бактерий, показали корреляцию между структурой аминокислотной последовательности NodA и общей структурой Nod-фактора ризобий. Однако, эти исследования были выполнены на единичных, как правило, референсных штаммах разных видов ризобий, тогда как штаммы одного вида ризобий могут синтезировать различный спектр Nod-факторов, различающихся по жирнокислотному остатку. Нами впервые изучен нуклеотидный полиморфизм фрагмента гена *nodA* размером 561 п.н. у 87 природных штаммов клубеньковых бактерий *Sinorhizobium meliloti*, выделенных в первичном центре разнообразия растений-хозяев, расположенном на северном Кавказе. Филогенетический анализ *nodA* показал, что около 40% последовательностей кластеризовались с последовательностью референс штамма *S. meliloti* Rm1021, тогда как более 60% изученных последовательностей формировали единый кластер с последовательностями симбионтов дикорастущих растений люцерны разных видов, произраставших на территориях стран Средиземноморья. Установлено, что последовательности из «дивергентного» кластера имели несинонимичные замены в определённых позициях ( $p < 0.05$ ). Таким образом, анализ природных штаммов *S. meliloti* из первичного центра происхождения и разнообразия бобовых растений-хозяев, расположенном на северном Кавказе, позволил нам впервые выявить определённые позиции в гене *nodA*, которые могут быть использованы как маркеры для поиска штаммов, различающихся по хозяйской специфичности. Исследование выполнено в рамках Госзадания № FGEW-2021-0006.

**Intraspecific diversity and phylogeny of the *nodA* gene of alfalfa nodule bacteria from the legume plants primary gene center**

<sup>1</sup>Saksaganskaia A.S., <sup>1</sup>Muntyan V.S., <sup>1</sup>Roumiantseva M.L.

<sup>1</sup>FSBSI All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg.  
allasaksaganskaya@mail.ru

The symbiosis between legume plants and root nodule bacteria (rhizobia) is initiated by signaling molecules exchange between macro- and microsymbionts. In response to flavonoids secreted by plant roots rhizobia are synthesized Nod factors. Molecular structure of Nod factor is determined by *nod* genes localized predominantly on symbiotic plasmids or symbiotic islands on chromosome. The *nodA* gene encodes an acyltransferase, an enzyme that attaches a species-specific fatty acid residue to the backbone of the Nod factor molecule. It was found a correlation between the structure of the NodA amino acid sequence and the overall structure of the Nod factor of rhizobia, and that was obtained by the evaluation of single reference strains of different species, while strains of the same species can synthesize Nod factors differ in fatty acid residue. We have studied the nucleotide polymorphism of the 561 bp *nodA* gene fragment in 87 *Sinorhizobium meliloti* isolated from primary center of diversity of legumes located at the NW of Caucasus. Phylogenetic analysis of *nodA* sequences showed that about of 40% of sequences clustered with sequence of the reference strain *S. meliloti* Rm1021, while more than 60% of studied sequences were grouped in a single cluster together with sequences of rhizobia symbionts of wild alfalfa plants of different species grown at the Mediterranean basin. It was found that sequences from the “divergent” cluster had nonsynonymous substitutions in certain positions ( $p < 0.05$ ). Thus, the analysis of *S. meliloti* native isolates from Caucasian primary center of diversity of cultivated plants allowed us to identify for the first time the certain positions in *nodA* sequences that may be considered as markers for screening strains differ in host specificity. The study was carried out within the framework of State Assignment No. FGEW-2021-0006.

**Получение растений-нокаутов *Physcomitrium patens* по гену TRFL2 и определение его роли в регуляции длины теломер**

<sup>1</sup>Санникова А. В., <sup>1</sup>Шарипова М. Р., <sup>1,2</sup> Шакиров Е. В., <sup>1</sup>Валеева Л. Р.

<sup>1</sup>Казанский Федеральный Университет, Казань, Россия

<sup>2</sup>Университет Маршалла, США, г. Хантингтон.

AnVSannikova@stud.kpfu.ru

Теломеры представляют собой нуклео-протеиновые комплексы на концевых участках линейных хромосом эукариотических организмов. Основная функция теломер состоит в поддержании целостности хромосомной ДНК. Эволюционные изменения в структуре и регуляции теломер имеют огромное значение для понимания их функционирования, а также молекулярных основ развития клеток и организма в целом.

Направленное изменение целевых последовательностей генома, опосредованное гомологичной рекомбинацией, широко применяется в редактировании геномов эмбриональных стволовых клеток мышей, в дрожжевых клетках и других организмах, что находит применение в исследовании функций генов и белков *in vivo*. Однако, для большинства растений характерен крайне низкий уровень гомологичной рекомбинации в вегетативных тканях (менее 1%). Редким исключением является мох *Physcomitrium patens*, демонстрирующим высокую эффективность (до 90%) естественной гомологичной рекомбинации.

Целью работы было получение растений-нокаутов по генам TRF-подобных белков *P. patens* и определение их функций в регуляции длины теломер. В геноме *P. patens* было идентифицировано 2 гена-гомолога генов TRFL *A. thaliana*. Для получения растений *P. patens* с нокаутированным геном PpTRFL2 нами была получена рекомбинантная векторная конструкция pBHRF:ΔPpTRFL, содержащая 5'-UTR и 3'-UTR области целевого гена PpTRFL, для его делеции за счет гомологичной рекомбинации. Введение рекомбинантной плазмиды проводили путем PEG-опосредованной трансформации протопластов, включавшей четыре этапа: получение протопластов *P. patens*; трансформацию протопластов; регенерацию и селекцию. В результате было получено 92 индивидуальных растения-трансформанта *P. patens*, однако нокаутирование гена TRFL2 было подтверждено лишь у двух растений (PpTRFL2.10 и PpTRFL2.19). Анализ длины теломер проводили методом TRF совместно с Саузерн-блот анализом. Расчет средней длины теломер проводили с помощью программы TeloTool. Было показано, что длина теломер растений дикого типа в среднем составляет от 1300 до 1400 п.о. В свою очередь, что для обеих линий растений-нокаутов PpTRFL2.10 и PpTRFL2.19 характерно значимое увеличение длины теломер (средняя длина – 1723 п.о. и 1520 п.о. соответственно) по сравнению с диким типом растений ( $P < 0.05$ ). Таким образом, мы предполагаем, что белок TRFL2 является негативным регулятором длины теломер в растении *P. patens*.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) и финансируется грантом РФФИ № 21-14-00147.

**Development of *Physcomitrium patens* knockout plants and determination of its role in telomere length regulation**

<sup>1</sup>Sannikova A.V., <sup>1</sup>Sharipova M.R., <sup>1,2</sup>Shakirov E.V., <sup>1</sup>Valeeva L.R.

<sup>1</sup>Kazan Federal University, Russia, Kazan.

<sup>2</sup>Department of Biological Sciences, College of Science, Marshall University, USA, Huntington

AnVSannikova@stud.kpfu.ru

Telomeres are nucleoprotein complexes at the ends of the linear chromosomes of eukaryotic organisms. The main function of telomeres is to maintain the integrity of chromosomal DNA. Evolutionary changes in the structure and regulation of telomeres are of great importance for understanding their functioning, as well as the molecular basis for the development of cells and the whole organism. Gene targeting mediated by homologous recombination is widely used in genome editing of mouse embryonic stem cells, in yeast cells, and other organisms, which finds application in studying the functions of genes and proteins *in vivo*. However, most plants are characterized by an extremely low level of homologous recombination events in vegetative tissues (less than 1%). A rare exception is the moss *Physcomitrium patens*, which demonstrates high efficiency (up to 90%) of natural homologous recombination.

The aim of the work was to obtain knockout plants for TRF-like genes in *P. patens* and to determine their functions in the regulation of telomere length. In *P. patens* genome two TRFL genes homologous of the *A. thaliana* were identified (PpTRFL2 and PpTRFL4). To obtain *P. patens* plants with a knockout of the PpTRFL2 gene, we developed a recombinant pBHRF:ΔPpTRFL plasmid containing the 5'-UTR and 3'-UTR regions of the targeting of PpTRFL gene. The introduction of the recombinant plasmid was carried out by PEG-mediated transformation of protoplasts, which included four steps: obtaining *P. patens* protoplasts; protoplast transformation; regeneration and selection. PpTRFL2 mutants were derived from the wild type *P. patens* (Reute ecotype). As a result, 92 individual *P. patens* plants were obtained; however, knocking out of the TRFL2 gene was confirmed only in two plants (PpTRFL2.10 and PpTRFL2.19).

Telomere length analysis was performed by TRF together with Southern blot analysis. The average telomere length was calculated using the TeloTool program. It has been shown that the telomere length of wild-type plants were from 1300 to 1400 bp. In turn, both knockout plant lines of PpTRFL2.10 and PpTRFL2.19 were characterized by a significant increase of telomere length (mean lengths were 1723 bp and 1520 bp, respectively) compared with the wild type plants ( $P < 0.05$ ). Thus, we suggest that the TRFL2 protein is a negative regulator of telomere length in *P. patens*.

This work was supported by grant from the Russian Science Foundation [project no. 21-14-00147] and Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program (PRIORITY-2030)

### Специфика выделения ДНК из различных органов растений *Rosa* sp.

<sup>1</sup>Сейтаджиева С.Б., <sup>1</sup>Абдурашитов С.Ф., <sup>1</sup>Невкрытая Н.В., <sup>2</sup>Городняя Е.В.

<sup>1</sup>ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»,  
г. Симферополь

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»,  
г. Симферополь

cepen@mail.ru

В ароматических растениях, к числу которых относится *Rosa* sp., содержится большое количество органических соединений, негативно влияющих на количественный и качественный выход ДНК из-за образования нерастворимых комплексов ДНК-ингибитор. Для связывания ингибирующих веществ используют дополнительные компоненты, добавляемые в буферы для экстракции ДНК. В частности, состав буфера СТАВ (цетилтриметиламмония бромид) дополняют поливинилпирролидоном, используемым во многих протоколах выделения ДНК из растений.

В литературе имеются данные о том, что эффективность выделения ДНК может различаться в зависимости от того, из какого органа растения отбирается материал для исследования. Указано, что в листьях, традиционно используемых для выделения ДНК, содержание полисахаридов, повышающих вязкость, может быть выше, чем в других частях растения. Цель исследований – оптимизировать стандартный протокол выделения ДНК из различных тканей растений *Rosa* sp. для дальнейших молекулярно-генетических исследований

В работе использовались образцы розы сорта Лань и Ватерлоо, отобранные в Ботаническом саду им. Н.В. Багрова Крымского федерального университета. Схема опыта включала: первая группа - образцы листьев и стеблей каждого сорта, измельчаемые в стандартном СТАВ-буфере; вторая группа – тот же материал, экстрагируемый в СТАВ-буфере с добавлением 2% поливинилпирролидона (ПВП).

В результате проведенного эксперимента с использованием стандартного СТАВ-буфера концентрации ДНК в большинстве случаев составляли в среднем 100 нг/мкл (90,6 – 128,2 нг/мкл). Отмечено, что содержание ДНК в стеблях ниже, чем в листьях. ДНК, выделенная с добавлением ПВП в экстрагирующий буфер, имеет концентрации больше 200 нг/мкл как для листьев, так и стеблей (209,9 – 249,3 нг/мкл). Спектрофотометрический показатель качества, выражаемый соотношением 260/280 и характеризующий очистку от белков, входил в установленный диапазон нормы (1,8 – 1,9) для листьев и для стеблей. При этом соотношение 260/230 (диапазон нормы 2,0 – 2,2), индикатор загрязнения полисахаридами и вторичными метаболитами, заметно выше у ДНК, полученной из стеблей, что подтверждает факт меньшего содержания полисахаридов в этом органе растений.

Полученные данные показывают, что для выделения ДНК из растений *Rosa* sp. предпочтительно использовать ткань стеблей, а также добавлять в СТАВ-буфер дополнительный компонент поливинилпирролидон.

Работа проведена в рамках государственного задания № FNZW-2022-0006.

### Specificity of DNA isolation from *Rosa* sp. plants various organs

<sup>1</sup>Seitadzhieva S.B., <sup>1</sup>Abdurashytov S.F., <sup>1</sup>Nevkrytaya N.V., <sup>2</sup>Gorodnyaya E.V.

<sup>1</sup>Research Institute of Agriculture of Crimea, Simferopol

<sup>2</sup>V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol

cepen@mail.ru

Aromatic plants including *Rosa* sp. contain large number of organic compounds that negatively affect quantitative and qualitative yield of DNA due to insoluble DNA-inhibitor complexes formation. Additional components added to the buffers for DNA extraction are used to bind inhibitory substances. In particular composition of the CTAB buffer (cetyltrimethylammonium bromide) is supplemented with polyvinylpyrrolidone used in many protocols for DNA isolation from plants.

In literature there is evidence that efficiency of DNA isolation may vary depending on which organ of plant is chosen for research material selection. It is indicated that in leaves traditionally used for DNA isolation, content of polysaccharides increasing viscosity may be higher than in other parts of plant. The aim of this research is to optimize the standard protocol for DNA isolation from *Rosa* sp. plants various tissues for further molecular-genetic researches.

In this work samples of Lan and Waterloo rose cultivars selected in the N. V. Bagrov Botanical Garden of the Crimean Federal University were used. The scheme of experiment included: the first group - samples of leaves and stems of each cultivar crushed in the standard CTAB buffer; the second group - the same material extracted in the CTAB buffer with addition of 2% polyvinylpyrrolidone (PVP). As a result of the research conducted using the standard CTAB buffer, DNA concentrations in most cases averaged 100 ng/μl (90.6 – 128.2 ng/μl). It was noted that DNA content in stems was lower than in leaves. DNA isolated with addition of PVP to the extraction buffer had concentrations greater than 200 ng/μl for both leaves and stems (209.9 – 249.3 ng/μl). The spectrophotometric quality indicator characterizing purification from proteins and expressed by the ratio 260/280 was within established norm range (1.8 – 1.9) for leaves and stems. At the same time the ratio 260/230 (norm range 2.0 – 2.2) which was considered to be the indicator of contamination with polysaccharides and secondary metabolites was noticeably higher in DNA obtained from stems. This confirms the fact of polysaccharides lower content in this plant organ. The data obtained show that it is preferable to use stem tissue and also add polyvinylpyrrolidone to the CTAB buffer for DNA isolation from *Rosa* sp. plants.

This work was carried out under the state task No. FNZW-2022-0006.

**Влияние штаммов бактерий рода *Bacillus* на рост и токсинопродукцию гриба  
*Fusarium graminearum* in vitro**

Сидорова Т.М., Аллаhverдян В.В., Асатунова А.М.

ФГБНУ Федеральный научный центр биологической защиты растений, г. Краснодар.  
0166505@mail.ru

Бактерии рода *Bacillus* при тщательном изучении могут заменить в контроле *Fusarium graminearum* большинство широко применяемых в настоящее время средств борьбы, таких как химические фунгициды. Есть данные о способности отдельных штаммов не только ингибировать рост и токсинопродукцию гриба, но и трансформировать микотоксины в менее токсичные или нетоксичные продукты. Бактерии могут служить источником ферментов, обеспечивающих надежную контрольную стратегию управления микотоксинами в пищевых продуктах. На основе тестов *in vitro* на подавление роста и токсинопродукции гриба бактериями-антагонистами можно выделить потенциально перспективные штаммы для биоконтроля фузариозной инфекции. В нашем эксперименте штаммы *B. velezensis* BZR 336g и *B. velezensis* BZR 517 из Биоресурсной коллекции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений» «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» продуцировали экзометаболические липопептиды природы и ингибировали рост штамма *F. graminearum* 60318 из «Государственной коллекции микроорганизмов, патогенных для растений и их вредителей» ФГБНУ ВИЗР. Изучение метаболомного профиля бактерий проводили методом тонкослойной хроматографии и биоавтографии. Обнаружено, что оба штамма продуцируют набор соединений с антигрибными свойствами, которые различаются по хроматографической подвижности, свечению в УФ366 свете и степени подавления роста гриба. При этом важно, что оба штамма способны синтезировать несколько липопептидов, что усиливает антигрибный эффект. Обнаружено, что бактерии штаммов *B. velezensis* BZR 336g и *B. velezensis* BZR 517 подавляют рост гриба *F. graminearum* 60318 при инкубации на картофельно-глюкозном агаре в двойных культурах. При совместном культивировании бактериальных штаммов и гриба *F. graminearum* 60318 на зерне пшеницы происходит не только подавление роста гриба, но и снижается содержание дезоксиниваленола. Супернатант обоих штаммов также в значительной степени снижает контаминацию зерна пшеницы дезоксиниваленолом *in vitro*. При этом содержание зеараленона в обоих опытах оставалось на уровне контроля. Изучение штаммов *in planta* позволит сделать вывод о перспективах их использовании в сельскохозяйственной практике в качестве продуцентов эффективных биофунгицидов.

Исследования выполнены согласно Государственному заданию Министерства науки и высшего образования РФ в рамках НИР по теме № FGRN-2022-0005.

**Influence of bacterial strains of the genus *Bacillus* on the growth and toxin production of the fungus  
*Fusarium graminearum* in vitro**

Sidorova T.M., Allahverdyan V.V., Asaturova A.M.

Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center for Biological Plant Protection, Krasnodar.  
0166505@mail.ru

*Bacillus* spp., if carefully studied, can replace most commonly used control agents, such as chemical fungicides, in the control of *Fusarium graminearum*. There are data on the ability of individual strains not only to inhibit the growth and toxin production of the fungus, but also to transform mycotoxins into less toxic or non-toxic products. Bacteria can serve as a source of enzymes that provide a reliable control strategy for the management of mycotoxins in foods. Potentially promising strains for the biocontrol of *Fusarium* infection can be identified based on *in vitro* tests for suppressing the growth and toxin production of the fungus by antagonist bacteria. In our experiment, strains *B. velezensis* BZR 336g and *B. velezensis* BZR 517 from the Bioresource Collection of the Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Scientific Center for Biological Plant Protection» «State Collection of Entomacariphages and Microorganisms» produced lipopeptide exometabolites and inhibited the growth of the strain *F. graminearum* 60318 from the "State Collection of Microorganisms Pathogenic to Plants and Their Pests" FGBNU VIZR. The study of the metabolomic profile of bacteria was carried out by thin-layer chromatography and bioautography. It was found that both strains produce a set of compounds with antifungal properties, which differ in chromatographic mobility, luminescence in UV366 light, and the degree of inhibition of fungal growth. It is important that both strains are able to synthesize several lipopeptides, which enhances the antifungal effect. Bacteria strains *B. velezensis* BZR 336g and *B. velezensis* BZR 517 were found to inhibit the growth of the fungus *F. graminearum* 60318 when incubated on potato-glucose agar in double cultures. The co-cultivation of bacterial strains and the fungus *F. graminearum* 60318 on wheat grain not only suppresses the growth of the fungus, but also reduces the content of deoxynivalenol. The supernatant of both strains also significantly reduces the contamination of wheat grain with deoxynivalenol *in vitro*. At the same time, the content of zearalenone in both experiments remained at the control level. The study of strains *in planta* will make it possible to draw a conclusion about the prospects for their use in agricultural practice as producers of effective biofungicides.

The research was carried out in accordance with the State task of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of research work on topic No. FGRN-2022-0005.

**Содержание флавоноидов в проростках *Avena nudisativa* выращенных в условиях хлоридного засоления после бактеризации семян штаммами бактерий из многолетнемерзлых пород**

Симонова Е.О., Субботин А.М., Нарушко М.В., Бажин А.С.  
ФГБНУ ФИЦ Тюменский научный центр СО РАН, г. Тюмень.  
mailsimonova@gmail.com

В современных климатических условиях наблюдается устойчивая тенденция деградации многолетне мерзлых дисперсных пород (ММП). При деструкции ММП, в открытые природные экосистемы вносятся длительно сохранявшиеся в мерзлоте бактерии, которые в результате адаптационного процесса приобрели разнообразные уникальные адаптационные свойства. Необходимо изучение влияния таких реликтовых бактерий на современные растительные и животные объекты. В данной работе приведены результаты исследования влияния инокуляции семян овса (*Avena nudisativa*) бактериальными культурами, выделенными из ММП. Семена овса сорта Тюменский голозерный проращивали в лабораторных условиях, в песчаном обеззараженном субстрате, с созданием абиотического стресса методом хлоридного засоления (160мМ). Предпосевную обработку семян проводили методом их замачивания в суспензиях бактериальных культур в концентрации  $10^7$ - $10^9$  КОЕ/мл. Определяли сумму флавоноидов, родственных рутину, по методике, основанной на образовании окрашенных комплексов с хлоридом алюминия. Полученные результаты выражали в процентах на сто грамм растительного сырья. В данной работе проанализировано 4 штамма бактерий, выделенных из ММП: штамм 10-50-TS2 вида *Achromobacter spanius*, штаммы 875-TS вида *Bacillus cereus*, штаммы 312-TS и 2-06-TS1 вида *Bacillus megaterium*. В качестве контрольного варианта использовались растения без бактеризации и воздействия засоления. Полученные данные выражали в процентах по отношению к контролю. Так, в растениях после бактеризации штаммом 10-50-TS2 сумма флавоноидов возросла на 36%, при обработке семян штаммом 312-TS на 331% по сравнению с контролем. При инокуляции семян штаммами 875-TS и 2-06-TS1 сумма флавоноидов снизилась на 22% и 8% соответственно. Возможно, учитывая различные механизмы, как снижение, так и высокий рост содержания количества флавоноидов связан с включением их в антиоксидантную защиту растений.

**Flavonoid content in *Avena nudisativa* seedlings grown in conditions of chloride salinization after seed bacterization with bacterial strains from permafrost**

Simonova E.O., Subbotin A.M., Narushko M.V., Bazhin A.S.  
Tyumen Scientific Center SB RAS, Tyumen.  
mailsimonova@gmail.com

In modern climatic conditions, there is a steady trend towards degradation of perennially frozen dispersed rocks (permafrost). When permafrost is degraded, bacteria that have been preserved in permafrost for a long time are introduced into open natural ecosystems, which have acquired a variety of unique adaptation properties as a result of the adaptation process. It is necessary to study the impact of such relic bacteria on modern plant and animal objects. This work presents the results of the study of the effect of inoculation of oat seeds (*Avena nudisativa*) with bacterial cultures isolated from MMPs. Oat seeds of Tyumensky goloserniy variety were germinated under laboratory conditions in sandy decontaminated substrate, creating abiotic stress by chloride salinity method (160 mM). Presowing treatment of seeds was carried out by soaking them in suspensions of bacterial cultures at a concentration of  $10^7$ - $10^9$  CFU/ml. The sum of flavonoids related to rutin was determined by the method based on the formation of stained complexes with aluminum chloride. The results were expressed in percent per one hundred grams of plant raw materials. In this work we analyzed 4 strains of bacteria isolated from MMP: strain 10-50-TS2 of *Achromobacter spanius*, strain 875-TS of *Bacillus cereus*, strain 312-TS and strain 2-06-TS1 of *Bacillus megaterium*. Plants without bacterization and salinity effects were used as a control variant. The obtained data were expressed as a percentage relative to the control. Thus, after bacterization with strain 10-50-TS2 the sum of flavonoids in the plants was increased by 36%; when seeds were treated with strain 312-TS the sum of flavonoids increased by 331% compared with the control. When seeds were inoculated with strains 875-TS and 2-06-TS1, the amount of flavonoids decreased by 22% and 8%, respectively. Perhaps, given the different mechanisms, both the decrease and the high increase in the amount of flavonoids are associated with their inclusion in the antioxidant defense of plants.

**Устойчивость почвенных штаммов *Pseudomonas* sp. к воздействию ионов тяжелых металлов.**<sup>2</sup>Симороз Е.В., <sup>1,2</sup>Чубукова О.В., <sup>2</sup>Чумакова А.К., <sup>1,2</sup>Хакимова Л.Р., <sup>1</sup>Матниязов Р.Т.<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Уфимский государственный нефтяной технический университет, г. Уфа  
5a-shk17@mail.ru

За последние десятилетия техногенное воздействие на окружающую среду привело к ухудшению качества почвы, и как следствие, к снижению урожайности растений. Одними из основных загрязняющих почву токсинов являются тяжелые металлы, такие как кадмий и никель. За последние годы территории почв, загрязненных тяжелыми металлами, а также концентрация последних в почве заметно увеличились. Растения не способны выдерживать избыток металлов, что выражается в ухудшении роста или гибели культур. Однако, существуют ризобактерии, которые способны расти в среде при повышенных концентрациях ионов тяжелых металлов за счет их биоаккумуляции или биосорбции и оказывать ростстимулирующее влияние на растения.

Целью данной работы являлось поиск штаммов *Pseudomonas* sp. способных расти при высоких концентрациях ионов кадмия и никеля. Нами были получены бактериальные изоляты из ризосферы бобовых растений Южного Урала и из почв, загрязненных тяжелыми металлами. Из них, по результатам исследования нуклеотидной последовательности генов 16S рРНК и *rpoD*, были отобраны 4 ризосферных штамма OBA 2.4.1, OBA 2.9, GOR 4.17, STA3 и из загрязненных почв 3 штамма бактерий 17 НМ, 65 НМ, 67 НМ, относящихся к роду *Pseudomonas* sp. Была исследована устойчивость данных штаммов к различным концентрациям ионов кадмия и никеля в жидких и твердых питательных средах. Наиболее устойчивыми к кадмию оказались штаммы *Pseudomonas* sp. 17 НМ, 65 НМ, 67 НМ, выделенные с загрязненной почвы, которые были способны расти при концентрации 5 мМ ионов кадмия в среде. Среди ризосферных штаммов наибольшую устойчивость к кадмию показал штамм OBA 2.4.1 *Pseudomonas* sp., который рос при максимальной концентрации 1.5 мМ. Также штаммы *Pseudomonas* sp. 17 НМ, 65 НМ, 67 НМ продемонстрировали высокую резистентность к никелю, которая проявлялась в способности роста в присутствии 8 мМ ионов никеля в среде. Все ризосферные штаммы *Pseudomonas* sp. оказались слабо устойчивыми к никелю, рост данных бактерий прекращался при концентрации 3 мМ. Таким образом, штаммы *Pseudomonas* sp. 17 НМ, 65 НМ, 67 НМ обладают высокой устойчивостью к ионам кадмия и никеля и могут представлять интерес для их использования в целях биоремедиации. В дальнейшем планируется изучить ростстимулирующие свойства исследуемых штаммов псевдомонад на различных видах растений.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России (№ АААА-А21-121011990120-7, «Евразийский карбоновый полигон» на 2022-2023 годы FEUR-2022-0001) с использованием оборудования ЦКП «Агидель» и УНУ «Кодинк» УФИЦ РАН.

**Resistance of soil strains of *Pseudomonas* sp. to the effects of heavy metal ions.**<sup>2</sup>Simoroz E.V., <sup>1,2</sup>Chubukova O.V., <sup>2</sup>Chumakova A.K., <sup>1,2</sup>Khakimova L.R., <sup>1</sup>Matniyazov R.T.<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics of the UFIC RAS, Ufa<sup>2</sup>Ufa State Petroleum Technical University, Ufa

5a-shk17@mail.ru

Over the past decades, the man-made impact on the environment has led to a deterioration in soil quality, and as a result, to a decrease in plant yields. One of the main toxins polluting the soil are heavy metals, such as cadmium and nickel. In recent years, the territories of soils contaminated with heavy metals, as well as the concentration of the latter in the soil, have increased markedly. Plants are not able to withstand an excess of metals, which is expressed in the deterioration of growth or death of crops. However, there are rhizobacteria that are able to grow in an environment with elevated concentrations of heavy metals ions due to their bioaccumulation or biosorption and have a growth-stimulating effect on plants

The purpose of this work was to search for strains of *Pseudomonas* sp. capable of growing at high concentrations of cadmium and nickel ions. We obtained bacterial isolates from the rhizosphere of leguminous plants of the Southern Urals and from soils contaminated with heavy metals. From them, according to the results of the study of the nucleotide sequence of the 16S rRNA and *rpoD* genes, 4 rhizosphere strains OBA 2.4.1, OBA 2.9, GOR 4.17, STA3 were selected and 3 bacterial strains 17 НМ, 65 НМ, 67 НМ belonging to the genus *Pseudomonas* sp. were selected from polluted soils.

The resistance of these strains to various concentrations of cadmium and nickel ions in liquid and solid nutrient media was investigated. The most resistant to cadmium were strains of *Pseudomonas* sp. 17 НМ, 65 НМ, 67 НМ isolated from contaminated soil, which were able to grow at a concentration of 5 mM cadmium ions in the medium. Among rhizospheric strains, the strain OBA 2.4.1 *Pseudomonas* sp. showed the greatest resistance to cadmium, which grew at a maximum concentration of 1.5 mM. Also, *Pseudomonas* sp. 17 НМ, 65 НМ, 67 НМ strains demonstrated high resistance to nickel, which was manifested in the ability to grow in the presence of 8 mM nickel ions in the medium. All rhizospheric strains of *Pseudomonas* sp. they turned out to be weakly resistant to nickel, the growth of these bacteria stopped at a concentration of 3 mM. Thus, *Pseudomonas* sp. 17 НМ, 65 НМ, 67 НМ strains are highly resistant to cadmium and nickel ions and may be of interest for their use for bioremediation. In the future, it is planned to study the growth-stimulating properties of the studied pseudomonas strains on various plant species.

The work was carried out within the framework of the state order of the Ministry of Education and Science of Russia (no. АААА-А21-121011990120-7, "Eurasian carbon polygon" for 2022-2023 FEUR-2022-0001) with using the instrument park of the RCCU "Agidel" and "KODINK" UFRC RAS.

**Высвобождения фосфатов из труднодоступного трикальцийфосфата штаммом *Pantoea brenneri* 3.5.2**

Сокольникова Л.В., Бульмакова Д.С., Сулейманова А.Д.  
Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, г. Казань  
[lidasok00@mail.ru](mailto:lidasok00@mail.ru)

Фосфор является одним из важнейших макроэлементов для различных организмов. Нехватка доступного для растений фосфора в почве является актуальной проблемой, решением которой может служить использование бактерий в качестве биоудобрений. Известно, что представители рода *Pantoea* обладают множественным PGP-эффектом, в том числе способны высвобождать фосфор из различных органических и неорганических источников. В предыдущей работе было выявлено, что штаммы *Pantoea brenneri* способны высвобождать фосфор из трикальцийфосфата на агаризованной среде NBRIP.

Целью работы было исследование динамики высвобождения фосфатов на среде NBRIP с  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  штаммом *Pantoea brenneri* 3.5.2.

Количественную оценку высвобожденных фосфатов штаммом *P. brenneri* 3.5.2 проводили на среде NBRIP с  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  в стерильных колбах при 30 °C и 200 об/мин в течение 5 суток. Контролем служила питательная среда без инокулята. Количество свободных фосфатов и pH среды измеряли каждые 24 часа.

Полученные результаты показали, что количество свободных фосфатов в среде выходило на плато в первые 24 часа и составляло 1253 мг/л, при этом эффективность солубилизации составляла 87%. На вторые сутки количество фосфатов снижалось и сохранялось примерно на одном уровне - 1154, 1168, 1173 и 1170 мг/л, соответственно. pH среды в первые сутки снижался с 7.0 до 2.85 и поддерживался на данном уровне в течение последующих суток: на 2, 3, 4 и 5 сутки pH среды составил 2.72, 2.94, 2.91, 2.97, соответственно.

Таким образом, штамм *P. brenneri* 3.5.2 высвобождает большое количество фосфатов из трикальцийфосфата в первые 24 часа, что коррелирует с изменением pH среды.

Работа финансирована грантом РФФ 21-76-00017.

**Tricalcium phosphate mobilization by *Pantoea brenneri* 3.5.2**

Sokolnikova L.V., Bulmakova D.S., Suleimanova A.D.  
Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan  
[lidasok00@mail.ru](mailto:lidasok00@mail.ru)

Phosphorus is one of the most important macronutrients for all living organisms. The lack of phosphorus availability for plants in the soil is an urgent problem which can be solved by bacterial biofertilizers. It is known that representatives of the *Pantoea* genus have multiple PGP-effects, including the ability to release phosphorus from various organic and inorganic sources. In previous work, it was revealed that *Pantoea brenneri* strains are able to release phosphorus from tricalcium phosphate on NBRIP agar plates.

The aim of this work was to study the dynamics of phosphate release on NBRIP with  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  medium by strain *Pantoea brenneri* 3.5.2.

Quantitative assessment of released phosphates by *P. brenneri* 3.5.2 was carried out on NBRIP with  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  medium in sterile flasks at 30 °C and 200 rpm for 5 days. The control was a nutrient medium without bacterial growth. The amount of free phosphates and the pH of the medium were measured every 24 hours.

The amount of free phosphates in the medium reached a plateau in the first 24 hours and amounted to 1253 mg/l, while the solubilization efficiency was 87%. On the second day, the amount of phosphates slightly decreased and remained approximately at the same level - 1154, 1168, 1173 and 1170 mg/l, respectively. The pH of the medium decreased from 7.0 to 2.85 on the first day and was maintained at this level during the following days: on days 2, 3, 4 and 5, the pH of the medium was 2.72, 2.94, 2.91, 2.97, respectively.

Thus, strain *P. brenneri* 3.5.2 released a sufficient amount of phosphates from unavailable tricalcium phosphate in the first 24 hours of cultivation, which correlates with the change in the pH of the medium.

This work was funded by the Russian Science Foundation grant No 21-76-00017.



**Влияние биопрепаратов на морфометрические и физиологические показатели фиторемедиантов при рекультивации нефтяного загрязнения почв**

<sup>1</sup> Сотникова Ю.М., <sup>1</sup> Григориади А.С., <sup>1,2</sup> Федяев В.В., <sup>1</sup> Ямалеева А.А., <sup>1</sup> Гарипова М.И.,  
<sup>1</sup> Зобкова Н.В., <sup>1</sup> Фархутдинов Р.Г.

<sup>1</sup> Башкирский государственный университет, г. Уфа  
<sup>2</sup> ФГБНУ Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, г. Уфа.  
frg2@mail.ru

Проведенные нами ранее исследования показали, что биопрепарат «Ленойл», при его внесении в нефтезагрязненную почву стимулирует ростовые процессы у растений ржи. Процесс стимуляции, в первую очередь, связан с уменьшением токсического действия нефтепродуктов в связи с их деградацией микроорганизмами биопрепарата «Ленойл» и применением стимулирующих биопрепарата «Агробиолог», которое приводило к активации ростовых процессов. Препарат «Агробиолог» относительно недавно разработан в лаборатории агробиологии Уфимского Института биологии УФИЦ РАН. Рост растений ржи на нефтезагрязненной почве привел к ингибированию ростовых процессов по сравнению с контрольными растениями. Применение для опрыскивания надземной части растений ржи биопрепаратом «Агробиолог» показало хороший растактивирующий эффект. Так у морфометрических показателей растений ржи, выращенных при использовании комбинации «Ленойл+Агробиолог» не было достоверных отличий от растений контрольного варианта. Сочетание двух видов обработок (корневой (семян) и внекорневой (3х кратная обработка побегов) микробиологическими препаратами позволило растениям ржи активизировать ростовые процессы. Одним из показателей наличия эффективности использования микробно-растительной ассоциации для фиторемедиации почвы, загрязненной нефтепродуктами, может являться оценка состояния некоторых компонентов антиоксидантной системы растения. Определение содержания перекиси водорода в корнях растений ржи показало, что наибольшая концентрация  $H_2O_2$  наблюдалась у вариантов с внесенной в почву нефти и биопрепарата «Ленойл» и дополнительно внесенным биопрепаратом «Агробиолог». Мы установили в варианте обработки комплексом «Ленойл+Агробиолог» был установлен самый высокий уровень каталазной активности, в 3,5 больше, чем в контроле. Нами была установлена относительно высокая активность пероксидаз у растений ржи на фоне применения биопрепаратов «Ленойл+Агробиолог». В нашем случае, учитывая позитивное протективное действие биопрепаратов на растения в условиях их роста на нефтезагрязненной почве, можно сделать предположение, что продукты обмена растений и микроорганизмов, а также снижение токсического действия нефтепродуктов на корни под действием биопрепаратов, благотворно влияет на рост растений.

**Influence of biological products on morphometric and physiological parameters of phytoremediants in the remediation of oil pollution of soils**

<sup>1</sup> Sotnikova Yu.M., <sup>1</sup> Grigoriadi A.S., <sup>1,2</sup> Fedyaev V.V., <sup>1</sup> Yamaleeva A.A., <sup>1</sup> Garipova M.I.,  
<sup>1</sup> Zobkova N.V., <sup>1</sup> Farkhutdinov R.G.

<sup>1</sup> Bashkir State University, Ufa  
<sup>2</sup> FGBNU Ufa Institute of Biology UFITs RAS, Ufa.  
frg2@mail.ru

Our earlier studies have shown that the «Lenoil» biopreparation, when applied to oil-contaminated soil, stimulates growth processes in rye plants. The stimulation process, first of all, is associated with a decrease in the toxic effect of petroleum products due to their degradation by microorganisms of the «Lenoil» biological product and the use of stimulating «Agrobiolog» biological product, which led to the activation of growth processes. The drug «Agrobiolog» was relatively recently developed in the laboratory of agrobiology of the Ufa Institute of Biology. The growth of rye plants on oil-contaminated soil led to the inhibition of growth processes compared to control plants. Application for spraying the aerial parts of rye plants with the biological product "Agrobiolog" showed a good growth-activating effect. So, the morphometric parameters of rye plants grown using the «Lenoil + Agrobiolog» combination did not have significant differences from the plants of the control variant. The combination of two types of treatments (root (seeds) and foliar (3-fold treatment of shoots) with microbiological preparations allowed rye plants to activate growth processes. plant systems. Determination of the content of hydrogen peroxide in the roots of rye plants showed that the highest concentration of  $H_2O_2$  was observed in the variants with oil added to the soil and the biopreparation «Lenoil» and the biopreparation «Agrobiolog» additionally introduced. the highest level of catalase activity was established, 3.5 more than in the control. biological preparations on plants in the conditions of their growth on oil-contaminated soil, it can be assumed that the products of the interchange of plants and microorganisms, as well as a decrease in the toxic effect of oil products on the roots under the action of biological preparations, have a beneficial effect on plant growth.

**Систематика, происхождение и биотехнологическое использование  
ацидотермофильных микроводорослей *Galdieria***

<sup>1</sup>Стадничук И.Н., <sup>2</sup>Болычевцева Ю.В.

<sup>1</sup>Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва

<sup>2</sup>ФИЦ Биотехнологии, Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, г. Москва  
[stadnichuk@mail.ru](mailto:stadnichuk@mail.ru)

Красные микроводоросли *Galdieria* являются полиэкстремофилами, обитающими в горячих серных источниках при pH 1-3, температуре, достигающей 56 °C и росте в присутствии ионов тяжелых металлов. Эти уникальные по своим свойствам фотосинтетические организмы очень рано отделились в ходе эволюции от других красных водорослей и стали благодаря параллельному переносу генов от ацидотермофильных архей и бактерий обитателями горячих серных источников, где невозможно существование никаких иных эукариотных организмов. Вследствие уникальности свойств и возможности секвенирования генома представители *Galdieria* служат перспективным биотехнологическим ресурсом, а условия культивирования и обитания избавляют их от конкуренции со стороны других групп водорослей, воздействия патогенов и поедания консументами. Способность к хемо- и фотогетеротрофии делают биопродуктивность этих водорослей сравнимой с продуктивностью одноклеточных грибов. Направлениями использования *Galdieria* являются встраивание в производство биодизельного топлива, биоремедиация агрессивных химических стоков, извлечение ценных металлов из токсичных отходов производства, изыскания получения термостойких ферментов и новых лекарственных препаратов, осуществление возможности переноса генетического материала между различными группами водорослей и к модифицируемым цветковым растениям.

**Systematics, evolutional origin and contribution in biotechnology of acidothermophilic microalgae *Galdieria***

<sup>1</sup>Stadnichuk I.N., <sup>2</sup>Bolychevtseva Yu.V.

<sup>1</sup>Timiryasev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Moscow

<sup>2</sup>Center of Biotechnology, Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow  
[stadnichuk@mail.ru](mailto:stadnichuk@mail.ru)

The red microalgae *Galdieria* are polyextremophiles that live in hot sulfur springs at pH 1-3, temperatures up to 56 °C and in the presence of heavy metals. This unique in its ecology algal group became separated from the other red algae very early, 1.4 billion years ago, due to the parallel resistance-gene transfer from acido-thermophilic archaea and bacteria. Representatives of *Galdieria* are found in very specific biotopes where no other eukaryotic organisms could exist. *Galdieria*, species, after genome sequence, serve as a promising biotechnological resource because under cultivation conditions they get rid of the interspecies competition with other algal groups, exposure to pathogens and eating by predators. The ability to chemo- and photo-heterotrophic growth makes the bioproductivity of these algae comparable to that of cultivated yeasts. Promising uses are participation in biodiesel production, bioremediation of aggressive chemical waste, extraction of rest of valuable metals from toxic industrial waters, production of heat-resistant enzymes and new medicines, as well as gene transfer between various algal groups and from algae to modified flowering plants.

**Effective RNAi-mediated silencing of the mismatch repair *MSH2* gene induces sterility of tomato plants but not an increase in meiotic recombination**<sup>1</sup>Strelnikova S.R., <sup>1,2</sup>Krinitina A.A., <sup>1</sup>Komakhin R.A.<sup>1</sup>All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow<sup>2</sup>Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University, Moscow  
recombination@iab.ac.ru

In plant breeding, the ability to manipulate meiotic recombination aids in the efficient construction of new allelic compositions of chromosomes and facilitates gene transfer from wild relatives of crop plants. The DNA mismatch repair system antagonizes meiotic recombination. In this research, a trial was conducted to evaluate transgenic tomato plants carrying an RNA interference (RNAi) construct designed to inhibit the expression of the *mismatch repair MSH2* gene. To drive the RNAi construct, we used either a pro-SmAMP2 promoter from *Stellaria media ANTIMICROBIAL PEPTIDE2* or a *Cauliflower mosaic virus* 35S promoter (CaMV35S). The results of real-time PCR showed that, with a 16 h light/8 h dark photoperiod, MSH2-RNAi tomato transgenic plants exhibited *MSH2* gene transcript contents ranging from 0 to 3% in the leaves, relative to untransformed controls. However, with this lighting mode, the MSH2-RNAi transgenic plants grew slowly, flowered poorly, and did not form seed sets. During cultivation with a 12 h light/12 h dark photoperiod, MSH2-RNAi transgenic plants exhibited *MSH2* gene transcript contents ranging from 3 to 42%, relative to untransformed controls. Under these conditions, F1 hybrid seed sets formed for most of the MSH2-RNAi transgenic plants with the RNAi construct driven by the CaMV35S promoter, and for one transformant with the RNAi construct driven by the pro-SmAMP2 promoter. Under conditions of a 12 h light/12 h dark photoperiod, most of the F1 transgenic hybrids showed *MSH2* gene transcript contents ranging from 3 to 34% and formed F2 offspring sets, which made it possible to assess the meiotic recombination frequency. We showed that the effective inhibition of *MSH2* in MSH2-RNAi tomato transgenic plants is not associated with an increase in meiotic recombination compared to the control, but it stimulates the sterility of plants. It was established that the expression of the *MSH2* gene in tomato plants is about 50 times higher with a 12 h light/12 h dark than with a 16 h light/8 h dark photoperiod. It is discussed that, in *Solanum lycopersicum* tomato plants, which are not sensitive to the day length for flowering, changing the lighting time may be a means of controlling the meiotic recombination frequency within certain limits.

**Продукция сидерофоров почвенным изолятом *Pantoea brenneri***

Судейманова А.Д., Сокольникова Л.В., Булмакова Д.С., Иткина Д.Л., Шарипова М.Р.  
Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань  
[Aliya.kzn@gmail.com](mailto:Aliya.kzn@gmail.com)

Железо является важным питательным компонентом, в почве оно находится в нерастворимой трехвалентной форме. Сидерофоры – низкомолекулярные редокс-активные соединения, которые восстанавливают трехвалентное железо до двухвалентного. Связывание железа сидерофорами приводит к ограничению роста фитопатогенных организмов. Важная роль сидерофоров в антагонистических взаимоотношениях бактерий с почвенными фитопатогенами и в стимуляции роста растений показана при инокуляции растений штаммами бактерий, продуцирующими сидерофоры. Отмечено супрессирующее действие сидерофоров на фитопатогенные организмы.

Ранее нашей научной группой из почв Республики Татарстан были выделены фитат-гидролизующие штаммы, идентифицированные молекулярно-генетическими методами анализа как *Pantoea brenneri* 3.1, 3.2, 3.5.2 и 3.6.1. В предыдущих исследованиях были показаны их множественные PGP-свойства: установлена способность к секреции комплекса гидролитических ферментов (фитазы, протеазы, целлюлазы), продукции цианидов (HCN), синтезу фитогормонов. Представляло интерес изучить способность к продукции сидерофор штаммом *P. brenneri*.

Исследовали накопление сидерофор катехолового и гидроксаматового типов в культуральной жидкости бактерий методом Арноу, основанном на образовании комплекса металла с гидроксильной группой сидерофор. Для этого культивировали штамм на жидкой среде М9 без железа и с добавлением глюкозы в качестве единственного источника углерода. Контролем служила среда с добавлением 10 мМ железа.

Максимальная продукция сидерофоров катехолового типа штаммом *P. brenneri* 3.2 наблюдалась на 24 час культивирования - она достигала 104 мМ и сохранялась на таком уровне до 72 часа роста культуры. Максимальная секреция сидерофоров гидроксаматового типа приходилась на 12 час культивирования и достигала 145 мМ. При росте бактерий на среде с добавлением железа секреции сидерофоров ни катехолового, ни гидроксаматового типов на протяжении всего времени культивирования не наблюдается.

Работа финансирована грантом РФФ 22-16-00138.

**Production of siderophores by the soil bacterial strain *Pantoea brenneri* 3.2**

Suleimanova A.D., Sokolnikova L.V., Bulmakova D.S., Itkina D.L., Sharipova M.R.  
Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan  
[lidasok00@mail.ru](mailto:lidasok00@mail.ru)

Iron is an important nutrient, mostly presented in soils as insoluble trivalent form. Siderophores are low molecular weight compounds that reduce ferric iron to ferrous iron. The binding of iron by siderophores – is a limiting factor for the growth of phytopathogenic organisms. An important role of siderophores in antagonistic interactions of bacteria with soil phytopathogens and in stimulation of plant growth has been proved by many authors. The suppressive effect of siderophores on phytopathogenic organisms was noted.

Previously, we isolated phytate-hydrolyzing strains from the soil samples of the Republic of Tatarstan, identified by MLSA-analysis as *Pantoea brenneri* strains 3.1, 3.2, 3.5.2 and 3.6.1. Previous studies have shown their multiple PGP-traits: the ability to secrete a complex of hydrolytic enzymes (phytases, proteases, cellulases), produce cyanides (HCN), and synthesize phytohormones has been established. It was of interest to study the ability of the *P. brenneri* strain to produce siderophores.

The accumulation of catechol and hydroxamate type siderophores in the culture liquid of bacteria was studied by the Arnow method based on the formation of a metal complex with the siderophore hydroxyl group. The strain was cultivated in liquid medium M9 without iron and with the addition of glucose as the sole carbon source. The medium supplemented with 10 mM iron served as a control.

The maximum production of catechol type siderophores by *P. brenneri* 3.2 was observed at 24 hours of cultivation: it reached 104 μM and remained at this level until 72 hours of culture growth. The maximum secretion of siderophores of the hydroxamate type occurred at 12 hour of cultivation and reached 145 μM. During the growth of bacteria on the medium with iron, the secretion of siderophores of neither catechol, nor hydroxamate types was observed during the entire cultivation period.

This work was funded by the Russian Science Foundation grant 22-16-00138.

**Роль симбиотической дрожжей в сдерживании развития милдью и стимуляции иммунитета винограда**

Сундырева М.А., Мишко А.Е., Луцкий Е.О.

ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», г. Краснодар  
taurim2012@yandex.ru

На виноградниках России применяется от 8 до 12 обработок химикатами от различных патогенов за сезон вегетации. Одной из существенных проблем широкого применения средств химической защиты растений является проявление резистентности патогенов. Альтернативным способом предотвращения или снижения распространения инфекций является использование биологических средств защиты растений на основе антагонистических или сенсibilизирующих микроорганизмов. Взаимодействие растения с неспециализированными патогенами способно спровоцировать иммунную реакцию, сенсibilизировать растение, однако не приведет к заболеванию, и при последующем взаимодействии со специализированным патогеном, будет обладать необходимым пулом метаболитов и защитных веществ для снижения распространения совместимого патогена. Так проявляется эффект прайминга. Целью работы было исследование реакций растений винограда при прайминге симбиотическими дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* (SC). Обработка SC показала наибольшую эффективность, и площадь листьев с симптомами милдью составила 8 % при 47 % в контроле. SC стимулировали повышение экспрессии генов MYC2, липоксигеназы (LOX), алленоксидсинтазы (AOS), связанных с синтезом и сигналингом жасмоновой кислоты, салицилат-связанного PR1, а также PR10 и стильбенсинтазы (STS), обеспечивающих защитные реакции против патогенов. Обработка SC обеспечивала снижение содержания малонового диальдегида за счет повышения активности супероксиддисмутазы (SOD) и пероксидаз (POX), повышение содержания стильбенов ресвератрола и виниферина. Заражение винограда милдью (PV) на фоне SC приводило к большей активности POX, обеспечивающей трансформацию фенольных соединений в микроботоксичные формы, снижению активности SOD, а также увеличению баланса стильбенов в сторону виниферина. Через 48 часов после заражения PV на фоне SC наблюдался более низкий уровень экспрессии защитных генов, что связано с подавлением роста патогенов SC. Применение SC, существенно снизившее поражаемость милдью, стимулировало паттерны экспрессии защитных генов и биохимических изменений аналогично PV. Биологическая эффективность SC связана, вероятнее всего, не только со стимуляцией защитных реакций, но и с выраженным антагонистическим действием дрожжей по отношению к милдью. Данный факт подтверждается повышением развития милдью при снижении концентрации клеток дрожжей, наносимых на листья винограда, а также при обработках как водными, так и спиртовыми вытяжками дрожжей.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 19-016-00210 А

**The role of symbiotic yeast in inhibiting the development of downy mildew and stimulating the grape immunity**

Sundyreva M.A., Mishko A.E., Lutskiy E.O.

Federal State Budget Scientific Institution «North Caucasian Federal Research Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking», Krasnodar

From 8 to 12 treatments with chemicals from various pathogens are used in Russian vineyards during the growing season. The resistance of pathogens is one of the significant problems of the widespread use of chemical plant protection. Biological plant protection products based on antagonistic or sensitizing microorganisms are an alternative way to prevent or reduce the spread of plant diseases. The interaction of a plant with non-specialized pathogens can provoke an immune reaction, sensitize the plant, but will not lead to disease, and upon subsequent interaction with a specialized pathogen, it will have the necessary pool of metabolites and protective substances to reduce the spread of a compatible pathogen. This is the priming effect. The aim of this work was to study the reactions of grape plants to priming by the symbiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* (SC). The SC treatment was the most effective and the leaf area with downy mildew symptoms was 8% against to 47% in the control. SC stimulated an increase in the expression of MYC2, lipoxygenase (LOX), allene oxide synthase (AOS) genes associated with the synthesis and signaling of jasmonic acid, salicylate-related PR1, as well as PR10 and stilben synthase (STS), which provide protective responses against pathogens. Treatment with SC provided a decrease in the content of malondialdehyde due to an increase in the activity of superoxide dismutase (SOD) and peroxidases (POX), an increase in the content of resveratrol and viniferin. Infection of grapes with downy mildew (PV) against the background of SC led to a higher activity of POX, which ensures the transformation of phenolic compounds into microbototoxic forms, a decrease in SOD activity, and an increase in the balance of stilbenes towards viniferin. Lower level of defence genes expression was observed at 48 hpi against the background of SC, which is associated with suppression of the pathogen growth by SC. SC treatment, which significantly reduced the spread of downy mildew, stimulated protective gene expression patterns and biochemical changes similar to PV. The biological effectiveness of SC is most likely associated not only with the stimulation of defense reactions, but also with the pronounced antagonistic effect of yeast in relation to downy mildew. This fact is confirmed by an increase in the development of downy mildew with a decrease in the concentration of yeast cells applied to grape leaves, as well as during treatments with both water and alcohol extracts of yeast.

The reported study was funded by RFBR according to the research project № 19-016-00210 А.

**Влияние изменений питательной среды, создающих слабое стрессовое воздействие, на адаптацию растений винограда к условиям *ex vitro***

Сундырева М.А.<sup>1</sup>, Ребров А.Н.<sup>2</sup>, Вялков В.В.<sup>1</sup>, Мишко А.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», г. Краснодар

<sup>2</sup> ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко»,

г. Новочеркасск

[taurim2012@yandex.ru](mailto:taurim2012@yandex.ru)

Растения в культуре *in vitro* выращиваются при высокой влажности, низкой освещенности, постоянной температуре и присутствии в среде высоких концентраций регуляторов роста и питательных веществ, что приводит к высокой чувствительности к внешним воздействиям при переводе в естественные условия. Обеднение культуральной среды или небольшое стрессовое воздействие позволяет осуществить преадаптацию перед переносом растений в почву и повысить выход саженцев. Целью работы было изучение влияния слабого солевого (10 мМ NaCl) и осмотического стресса (0.5% ПЭГ-600), а также добавления абсцизовой кислоты (АБК, 0,1 мМ) в культуральную среду на приживаемость растений, фотосинтетические показатели и процессы биосинтеза абсцизовой кислоты в культуре *in vitro* винограда. Применение ПЭГ, NaCl и АБК, в культуре *in vitro* оказывает положительное последствие на приживаемость растений и их развитие при переводе в нестерильные условия и доращивании. Выявлена сортовая специфика в отношении длительности периодов доращивания растений. Лучшими вариантами по приживаемости были варианты с ПЭГ и АБК, по развитию - лучшими вариантами чаще всего были варианты с NaCl или АБК. В вариантах с ПЭГ и АБК к моменту высадки на адаптацию изначально было меньше достаточно развитых микрорастений, что связано с блокированием ростовых процессов АБК. Физиологические реакции на изменения состава культуральной среды были сортоспецифичны. Однако ряд реакций на применение NaCl, ПЭГ и АБК был сходным. Все воздействия приводили к снижению содержания крахмала в листьях, при этом поддерживался высокий уровень экспрессии генов синтеза сахарозы, и содержание растворимых углеводов в тканях было примерно на одном уровне. Слабый осмотический стресс (ПЭГ) и солевой стресс (NaCl) воздействовали положительно на содержание пигментов посредством стимуляции экспрессии генов фотосинтетического аппарата. Также слабые стрессовые воздействия в культуре *in vitro* инициировали повышение экспрессии генов синтеза собственной абсцизовой кислоты. В комплексе физиологические реакции на примененные обработки привели к положительной динамике в приживаемости растений в нестерильных условиях, что может характеризовать данные реакции как эффективную преадаптацию.

Работа выполнена при поддержке РФФИ и Министерства образования и науки Краснодарского края, грант № 19-44-230037 p\_a

**The influence of culture medium composition creating a slight stress effect on the adaptation of grape plants to *ex vitro* conditions**

Sundyreva M.A.<sup>1</sup>, Rebrov A.N.<sup>2</sup>, Vyalkov V.V.<sup>1</sup>, Mishko A.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budget Scientific Institution «North Caucasian Federal Research Center of Horticulture, Viticulture, Winemaking», Krasnodar

<sup>2</sup> Federal State Budget Scientific Institution «All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko», Novocheerkassk

[taurim2012@yandex.ru](mailto:taurim2012@yandex.ru)

Plants in *in vitro* culture are grown under high humidity, low light, constant temperature and the presence of high concentrations of growth regulators and nutrients. This leads to a high sensitivity of plants to external influences during the transfer to natural conditions. The depletion of the culture medium or a slight stress allows pre-adaptation before transferring the plants to the soil and increase the yield of seedlings. The aim of the work was to study the effect of slight salt (10 mM NaCl), osmotic stress (0.5% PEG-600), abscisic acid (ABA, 0.1 mM) on the survival rate, photosynthetic parameters, and biosynthesis of abscisic acid during acclimatization of grape plants to natural conditions. Treatment of grapes with PEG, NaCl and ABA in *in vitro* culture has a positive aftereffect on the survival rate of plants and their development when transferred to natural conditions and growing. Varietal specificity was expressed in relation to the duration of the growing periods of grape plants. Treatment with PEG and ABA showed the best results in terms of plantlets survival. The development of grape plants was better with treatments with NaCl or ABA. PEG and ABA treatments led to a smaller number of sufficiently developed plantlets by the time of planting for adaptation, which is associated with blocking the growth processes of ABA. Physiological responses to changes in the composition of the culture medium were variety-specific. However, a number of reactions to NaCl, PEG and ABA treatments were similar. All treatments led to a decrease in the starch content in the leaves, while a high level of expression of sucrose synthesis genes was maintained, and the content of soluble carbohydrates in tissues was approximately at the same level. Slight osmotic stress (PEG) and salt stress (NaCl) had a positive effect on pigment content by stimulating photosynthetic gene expression. Slight stress initiated an increase the expression of genes related to the synthesis of own abscisic acid in *in vitro* grapes plants. Complex of physiological reactions to the applied treatments led to positive dynamics in the survival rate of grape plants in natural conditions, which can characterize these reactions as effective pre-adaptation.

The reported study was funded by RFBR and Krasnodar Region according to the research project № 19-44-230037 r-a.

**Regulation of extracellular phosphonate production – potential virulence factors of phytopathogenic pectobacteria**<sup>1,2</sup>Syromyatnikova E.D., <sup>1</sup>Parfirova O.I., <sup>3</sup>Smolobochkin A.V., <sup>1,2</sup>Gorshkov V.Y.<sup>1</sup>Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics FRC «KSC of RAS», Kazan<sup>2</sup>Kazan Federal University, Kazan<sup>3</sup>Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry FRC «KSC of RAS», Kazan

syrolen07@mail.ru

The harmful effect of phytopathogens is determined by the virulence factors they synthesize, many of which have yet to be discovered. In 2021, new virulence factors – phosphonates – were described in phytopathogenic bacteria *Pantoea ananatis*. The structure has a chemical bond between carbon and phosphorus. Phosphonates have bactericidal and herbicidal properties.

We discovered for the first time that phytopathogenic *Pectobacterium*, that causes soft rot, are also able to synthesize phosphonates. We have obtained a knockout mutant for the *fom1* gene, which presumably encodes the enzyme of phosphonate biosynthesis - phosphoenolpyruvate mutase, Fom1. This mutant had lost the ability to synthesize phosphonates. We have suggested that phosphonates act as virulence factors of pectobacteria. The production of most of them is controlled by sensors of metabolites of the host plant (for example, decomposition products of pectins) and quorum sensing.

The aim of the study was to find out the regulation of phosphonates production in *Pectobacterium atrosepticum*. To do this, we analyzed the relative expression level of the *fom1* gene in the wild type (WT). A mineral medium with sucrose as the only carbon source was used as the base medium. To assess the effect of pectins, pectin was added to the media instead of sucrose. In both versions of the media (with sucrose or pectin), we either added or did not add potato tuber extract. To evaluate the target gene expression *in planta* conditions, we isolated RNA from tobacco plants infected with the WT of pectobacteria.

When either potato extract or pectins were added to the bacterial culture medium, the expression level of the *fom1* gene increased. In the presence of both pectin and potato extract at the same time, the expression level of this gene increased even more. The maximum the *fom1* gene expression level was detected in plants infected with the wild type of pectobacteria.

To assess the effect of quorum sensing on phosphonate biosynthesis in *Pectobacterium*, we determined the relative expression level of the *fom1* gene in a mutant strain deficient for the quorum system gene (*ΔexpI*). The conditions were the same as for the WT. The expression level of the *fom1* gene in the *ΔexpI* was lower than in the WT, especially in conditions that maximally induce the expression of the target gene. To confirm that the reduced expression of the *fom1* gene really affected the production of phosphonates, we analyzed the presence of these compounds in cultures of WT and *ΔexpI*. The WT produced target compounds, while we did not detect phosphonates in the quorum-deficient mutant.

So, for the first time we found out which systems regulate the production of phosphonates as potential virulence factors of phytopathogenic pectobacteria. It may depend on the presence of certain plant metabolites (pectin) and be regulated by the quorum sensing system.

The study was supported by the Russian Science Foundation (project № 19-14-00194).

**Получение волосовидных корней *Amaranthus cruentus* L. и индукция каллусообразования**<sup>1</sup>Таипова Р.М., <sup>1,2</sup>Кулуев Б.Р.<sup>1</sup>Башкирский государственный университет, Уфа, Россия;<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра

Российской академии наук, Уфа, Россия

[taipova.ragida@yandex.ru](mailto:taipova.ragida@yandex.ru)

Амарант багряный *Amaranthus cruentus* L. является ценной кормовой и зерновой культурой. Для получения новых сортов этого растения могут быть использованы методы генетической трансформации, однако для *A. cruentus* такие технологии остаются неразработанными. Целью представленной работы было получение волосовидных корней этого вида амаранта, а также попытка индукции регенерации из этих корней трансгенных растений.

В данной работе были использованы экспланты из листовых дисков и сегментов гипокотилей амаранта, однако рост волосовидных корней амаранта индуцировался после проведения работ по инокуляции с *A. rhizogenes* только на сегментах гипокотилей. При перенесении фрагментов корней размером около 10-15 мм на среду МС без фитогормонов прослеживался их интенсивный рост с образованием боковых ответвлений, что косвенно указывало на трансгенный статус полученных нами культур корней амаранта. Для дальнейшей работы отбирались только волосовидные корни, в которых было доказано наличие гена *rolB* при помощи ПЦР-анализа. Для инициации каллуса нами были использованы следующие регуляторы роста: 6-БАП (0,2 мг/л и 0,5 мг/л) и НУК (0,2 мг/л), а также зеатин (2 мг/л) и индолилмасляная кислота (ИМК) (1 мг/л). На свету через 7 дней на волосовидных корнях образовывался каллус, причем наилучший рост каллуса был отмечен на среде МС, содержащей зеатин (2 мг/л) и ИМК (1 мг/л). Однако, при использованных нами концентрациях и сочетаниях регуляторов роста регенерации побегов амаранта из волосовидных корней не происходило.

**Obtaining hairy roots of *Amaranthus cruentus* L. and induction of callus formation**<sup>1</sup>Таипова Р.М., <sup>1,2</sup>Кулуев Б.Р.<sup>1</sup>Bashkir State University, Ufa, Russia; <sup>2</sup> Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the RAS, Ufa, Russia[taipova.ragida@yandex.ru](mailto:taipova.ragida@yandex.ru)

*Amaranthus cruentus* L. is a valuable fodder and grain crop. Methods of genetic transformation can be used to obtain new varieties of this plant, but for *A. cruentus* such technologies remain undeveloped. The purpose of the presented work was to obtain hairy roots of this species of amaranth, as well as an attempt to induce regeneration from these roots of transgenic plants.

Explants from leaf disks and hypocotyl segments were used in this work, however, the growth of hairy roots of amaranth was induced after inoculation with *A. rhizogenes* only on hypocotyl segments. When transferring fragments of roots about 10-15 mm in size to the MS medium without phytohormones, their intensive growth with the formation of lateral branches was traced, which indirectly indicated the transgenic status of the amaranth root cultures. For further work, only hairy roots were selected, in which the presence of the *rolB* gene was proved using PCR analysis. When cultivating hairy roots on MS medium with the addition of phytohormones, intense callus formation was observed. To initiate callus, we used the following growth regulators: 6-BAP (0.2 mg/l and 0.5 mg/l) and NAA (0.2 mg/l), as well as zeatin (2 mg/l) and indolylbutyric acid (1 mg/l). In the light, after 7 days, a callus formed on the hair-like roots, and the best growth of the callus was noted on the MS medium containing zeatin (2 mg/l) and indolylbutyric acid (1 mg/l). However, at the concentrations and combinations of growth regulators used by us, regeneration of amaranth shoots did not occur.



**Structure and functions of the Sv<sub>x</sub> protein - the virulence factor of the phytopathogenic bacterium  
*Pectobacterium atrosepticum***

<sup>1</sup>Tendiuk N.V., <sup>1</sup>Konnova T.A., <sup>1</sup>Osipova E.V., <sup>1</sup>Petrova O.E., <sup>2</sup>Mukhametzyanov T.A.,  
<sup>1</sup>Makshakova O.N., <sup>1,2</sup>Gorshkov V.Y.

<sup>1</sup>Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics – Subdivision of the Federal Research Center «Kazan Scientific Center of Russian Academy of Sciences», Kazan.

<sup>2</sup>Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Kazan (Volga Region) Federal University»,  
Kazan.  
natasha.tendjuk@rambler.ru

The representatives of the genus *Pectobacterium* belong to dangerous phytopathogens that cause different plant diseases such as blackleg and soft rot. To date, the functions of many pathogenic determinants of *Pectobacterium* remain unknown. The Sv<sub>x</sub> protein of *Pectobacterium atrosepticum* is one of such virulence factors. The aim of our study was to determine the structure-functional characteristics of the Sv<sub>x</sub> protein to presume its role in pathogenesis. The *in silico* analysis of the amino acid sequence of this protein revealed that the Sv<sub>x</sub> homologues are characteristic of not only of phytopathogens, but also free-living microorganisms. On the phylogenetic tree, the Sv<sub>x</sub>-like proteins of phytopathogenic microorganisms form the separate clade that may be the evidence for the possible directed evolution of the Sv<sub>x</sub>-homologs in phytopathogenic bacteria. Using the bioinformatical approaches the presence of two functional domains was predicted in the Sv<sub>x</sub> protein: the peptidase and acyltransferase-like. To verify the revealed peptidase domain, the recombinant Sv<sub>x</sub> protein was obtained as well as its mutant forms ΔE141A and ΔE167A with amino acid substitutions in the active site of peptidase domain. Indeed, the Sv<sub>x</sub> protein had peptidase activity that was increased by addition of zinc ions and inhibited in presence of EDTA. The peptidase activities of the mutant forms were lower than that of the wild type at around 3,5 times. So, our results showed that the Sv<sub>x</sub> is a zinc-dependent “gluzincin” metallopeptidase. Since the Sv<sub>x</sub> protein is secreted by *Pectobacterium* into the apoplast of the host plant and the active site of its peptidase domain is similar to the active site of the peptidase domain of O-glycopeptidase ZmpB from *Clostridium perfringens*, we proposed that plant cell wall glycoproteins can be the substrates of the Sv<sub>x</sub> protein. The docking of the Sv<sub>x</sub> protein model built by AlphaFold 2 with different ligands revealed that the most possible substrates of the Sv<sub>x</sub> protein are extensins – the structural proteins of the plant cell wall. In this way our results explain, how the Sv<sub>x</sub> protein takes part in the development of the *Pectobacterium* induced disease. The influence of the Sv<sub>x</sub> protein on the plant immune responses is currently assessed by us. This work was supported by the Russian Science Foundation (grant № 19-14-00194).

**Формирование каллуса и псевдокаллуса при клональном микроразмножении  
некоторых древесных растений**

Тимофеева С.Н., Юдакова О.И.

Саратовский национальный исследовательский государственный  
университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов

yudakovaoi@info.sgu.ru

Активация пазушных пресформированных меристем является одним из основных методов клонального микроразмножения древесных растений с использованием вегетативных почек или проростков в качестве первичных эксплантов. Нередко наряду с ростом основного побега в зоне базального среза экспланта формируется каллус (Cantos et al., 2007; Шевченко и др., 2009; Митрофанова и др., 2016 и др.). Поскольку из него *de novo* могут развиваться побеги, генетически не соответствующие исходному экспланту, рост каллуса стараются исключить или минимизировать, а адвентивные побеги не использовать при размножении ценных генотипов. Проведенное нами исследование гистологических особенностей морфогенеза в культуре проростков *Laburnum anagyroides* Medik. и апексов побегов *Prunus sibiricum* L. показало значительные отличия в анатомическом строении структуры, которая развивается в зоне базального среза экспланта. У *P. sibiricum* формируется типичный каллус. Он представляет собой неорганизованную, пролиферирующую массу недифференцированных клеток. У *L. anagyroides* новообразование в зоне среза экспланта имеет только внешнее сходство с каллусом. На самом деле это гипертрофированное основание побега, сформировавшееся благодаря пролиферативной активности его меристематических тканей (камбия и феллогена). Базальная часть проростка постепенно разрастается за счет увеличения объема как элементов проводящей системы (ксилемы и флоэмы), так и покровных тканей (феллемы и феллодермы). На проводящих пучках разросшегося основания побега возникают очаги повышенной пролиферативной активности, дающие начало вегетативным почкам, прорастающим в новые побеги. Таким образом, структура, которая образуется в зоне среза эксплантов у *L. anagyroides*, не является типичным каллусом. Для обозначения этой структуры можно предложить название «псевдокаллус». Развившиеся из него побеги также некорректно называть адвентивными, поскольку они, как и пазушные побеги, являются результатом пролиферативной активности меристем первичного экспланта. Не исключено, что феномен образования псевдокаллуса может встречаться и у других древесных растений. В связи с этим вопрос о пригодности «адвентивных» побегов для увеличения коэффициента размножения при клонировании трудноразмножаемых древесных растений можно решать только после гистологического анализа каллуса.

**Formation of callus and pseudocallus during clonal micropropagation of some woody plants**

Timofeeva S.N., Yudakova O.I.

Saratov State University, Saratov

yudakovaoi@info.sgu.ru

Activation of axillary preformed meristems is one of the main methods of the woody plants clonal micropropagation with using vegetative buds or seedlings as explants. The callus formation in the basal cut zone of the explant is often observed simultaneously with the growth of the main shoot (Cantos et al., 2007; Shevchenko et al., 2009; Mitrofanova et al., 2016; etc.). The adventitious shoots can develop *de novo* from callus. They may be genetically different from the explant due to somaclonal variability. In such cases, researchers try to prevent or minimize callusogenesis, and do not using adventitious shoots when propagating valuable genotypes. We studied the histological features of morphogenesis in seedling culture of two woody plants: *Laburnum anagyroides* Medik. and *Prunus sibiricum* L. A structure visually similar to a callus forms in the seedlings cut zone in this plants. However, the anatomical structure of the callus in *L. anagyroides* and *P. sibiricum* differs. A typical callus is formed in *P. sibiricum*. It is an unorganized, proliferating mass of undifferentiated cells. In the cut zone of *L. anagyroides* explants, structures are formed that only superficially resemble callus. In fact, this structure is a hypertrophied base of the shoot. The basal part of the seedling grows due to the proliferative activity of the cambium and phellogen. The volume of the elements of the conducting system (xylem and phloem) and integument tissues (phellem and phellogen) gradually increases. Foci of increased proliferative activity appear on the conducting bundles. They give rise to vegetative buds that germinates into new shoots. Thus, the structure that forms in the explant cut zone in *L. anagyroides* is not a typical callus. It can be called pseudocallus. Shoots that develop from pseudocallus incorrectly call adventitious, since they are the result of the proliferative activity of the primary explant meristems in the same way as axillary shoots. It is possible that the phenomenon of pseudocallus formation can also occur in other woody plants. In this regard, when cloning difficult-to-propagate woody plants, the question of the suitability of "adventive" shoots for increasing the multiplication factor can only be decided after a histological analysis of the callus.

### Стратегия создания растительно-микробных ассоциаций *in vitro* для совершенствования агробιοтехнологий

Ткаченко О.В.

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»,

г. Саратов

oktkachenko@yandex.ru

Метод культуры клеток и тканей растений *in vitro* широко применяется как при изучении физиологических процессов, так и при реализации агробιοтехнологий в области селекции и семеноводства растений. Культура соматических каллусов чаще всего используется в селекционных программах на этапе создания исходного материала, а культура органов – при мультиплицировании ценных генотипов и посадочного материала. В качестве факторов регулирования морфогенеза обычно используют химические и физические воздействия на культивируемые ткани. Биологический метод на основе живых клеток симбиотических организмов, например, эндофитных ризосферных бактерий практически не используется. В то же время, применение биотизации на основе создания активно функционирующих растительно-микробных ассоциаций является многообещающим направлением. В исследованиях отечественных и зарубежных авторов показано, что ассоциирование клеток растений с ризосферными бактериями, в том числе в культуре *in vitro*, стимулирует регенерацию, усиливает развитие побегов и особенно корней, адаптационную способность, устойчивость к патогенам и абиотическим факторам среды и, в конечном итоге, приводит к повышению продуктивности растений.

В течение ряда лет коллективом исследователей ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ и ИБФРМ ФИЦ СЦ РАН изучается влияние ризосферных рост-стимулирующих бактерий на процессы морфогенеза в культуре клеток и тканей *in vitro*.

Нами показана возможность и разработаны условия создания и активного функционирования растительно-микробных ассоциаций на основе культур соматических клеток и тканей однодольных (мягкая пшеница) и двудольных (картофель) растений с ризосферными рост-стимулирующими бактериями рода *Azospirillum* и других таксономических групп в культуре *in vitro*. Подобраны оптимальные условия инокулирования тканей растений бактериями в зависимости от их свойств. Изучено влияние как живых клеток ризосферных бактерий, так и компонентов их клеточных стенок – липополисахаридов (ЛПС). Установлены механизмы влияния микропартнеров ассоциаций на гормональный статус культивируемых клеток, экспрессию некоторых генов, синтез отдельных компонентов системной устойчивости.

Широкое разнообразие полезных микроорганизмов открывает новые возможности для выявления подходящих кандидатов, которые будут использоваться на разных стадиях культивирования клеток и тканей *in vitro* с особым вниманием к созданию консорциумов сочетаемых штаммов для обеспечения преимуществ их функциональной взаимодополняемости.

### Strategy for the creation of *in vitro* plant-microbial associations to improve agrobiotechnologies

Tkachenko O.V.

Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov

oktkachenko@yandex.ru

The method of plant cells and tissues *in vitro* culture is widely used both in the study of physiological processes and in the implementation of agrobiotechnologies in the field of plant breeding and seed production. The somatic calluses culture is most often used in breeding programs at the stage of creating the source material. The organs *in vitro* culture is used when multiplying valuable genotypes and planting material. Chemical and physical factors are usually used as factors regulating morphogenesis on tissue culture. The biological method based on living cells of symbiotic organisms, for example, endophytic rhizospheric bacteria, is practically not used in *in vitro* culture. At the same time, the application of biotization based on the creation of actively functioning plant-microbial associations is a promising direction. The studies of domestic and foreign authors have shown that the association of plant cells with rhizospheric bacteria, including *in vitro* culture, stimulates regeneration, enhances the development of shoots and especially roots, adaptive ability, resistance to pathogens and abiotic environmental factors and, ultimately, leads to an increase in plant productivity.

For a number of years, a team of researchers from the Saratov State Agrarian University and the IBFRM of the Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms (FRC Saratov Scientific Centre of RAS) has been studying the effect of rhizosphere growth-stimulating bacteria on the processes of morphogenesis in cell and tissue culture *in vitro*.

We have shown the possibility and developed conditions for the creation and active functioning of plant-microbial associations based on cultures of somatic cells and tissues of monocotyledonous (spring wheat) and dicotyledonous (potato) plants with rhizospheric growth-promotion bacteria of the genus *Azospirillum* and other taxonomic groups in *in vitro* culture. Optimal conditions for inoculation of plant tissues by bacteria were selected, depending on their properties. The influence of both living cells of rhizospheric bacteria and components of their cell walls – lipopolysaccharides (LPS) has been studied. The mechanisms of the influence of micropartners of associations on the hormonal status of cultured cells, the expression of some genes, and the synthesis of individual components of systemic resistance have been established.

A wide variety of beneficial microorganisms opens up new opportunities to identify suitable candidates that will be used at different stages of *in vitro* cell and tissue cultivation, with special attention to the creation of consortia of combined strains to ensure the benefits of their functional complementarity.

**Изучение синтеза комплекса вторичных метаболитов штамма бактерии *Bacillus velezensis* BZR 336g в зависимости от набора микроэлементов в питательной среде**

Томашевич Н.С., Аллаhverдян В.В., Сидорова Т.М., Асатурова А.М.  
ФГБНУ Федеральный научный центр биологической защиты растений, г. Краснодар  
tom-s2@yandex.ru

Целью исследования было провести сравнение профилей экзометаболитов бактерии *Bacillus velezensis* BZR 336g из биоресурсной коллекции «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» ФГБНУ ФНЦБЗР в зависимости от микроэлементов, входящих в состав питательной среды.

Культивирование штамма бактерии осуществляли на оптимизированной питательной среде (ОПС) с добавлением комплекса микроэлементов ( $\text{Cu}^{2+}$ ;  $\Gamma$ ;  $\text{Mn}^{2+}$ ;  $\text{Mo}^{6+}$ ;  $\text{B}^{3+}$ ;  $\text{Co}^{2+}$ ;  $\text{Zn}^{2+}$ ;  $\text{Fe}^{2+}$ ), ОПС с комплексом микроэлементов без марганца, ОПС с комплексом микроэлементов без цинка, ОПС с комплексом микроэлементов без кобальта.

Методом Коха (глубинным способом) определяли титр жидкой культуры *B. velezensis* BZR 336g, методом двойных культур с тест-грибом *Fusarium graminearum* BZR 4 оценивали антифунгальную активность жидкой культуры в зависимости от микроэлементов. С использованием метода восходящей тонкослойной хроматографии анализировали экзометаболиты *B. velezensis* BZR 336g, затем методом биоавтографии с тест-культурой *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR P1 по формированию зон отсутствия либо задержки роста тест-гриба судили о локализации активных компонентов.

В результате проведенного исследования установлено, что при культивировании в среде с полным набором микроэлементов штамм *B. velezensis* BZR 336g синтезировал наиболее широкий спектр биологически активных метаболитов. В этом варианте был отмечен высокий титр жидкой культуры бактерии. Отсутствие в среде цинка и марганца способствовало снижению титра жидкой культуры бактерии. Незначительная пигментация тест-культуры гриба *F. graminearum* BZR 4 в двойных культурах была отмечена в варианте без цинка. Комплекс метаболитов с невысоким антифунгальным действием штамм продуцировал при культивировании на среде без марганца.

Таким образом, можно сделать вывод о существенной роли цинка и марганца в питательной среде для проявления высокой антифунгальной активности штамма *B. velezensis* BZR 336g.

Исследования выполнены при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых - кандидатов наук № МК-1651.2021.5.

**Study of the synthesis of a complex of secondary metabolites of the bacterial strain *Bacillus velezensis* BZR 336g depending on the microelements in the medium**

Tomashевич N.S., Allakhverdyan V.V., Sidorova T.M., Asaturova A.M.  
Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Research Center of Biological Plant Protection»  
tom-s2@yandex.ru

The purpose of the study was to compare the profiles of *Bacillus velezensis* BZR 336g exometabolites depending on the microelements that make up the nutrient medium. Bacteria selected from the bioresource collection "State Collection of Entomoacariphages and Microorganisms" of the Federal Research Center of Biological Plant Protection.

The bacterial strain was cultivated on an optimized nutrient medium (ONM) with the addition of a complex of micronutrients ( $\text{Cu}^{2+}$ ;  $\Gamma$ ;  $\text{Mn}^{2+}$ ;  $\text{Mo}^{6+}$ ;  $\text{B}^{3+}$ ;  $\text{Co}^{2+}$ ;  $\text{Zn}^{2+}$ ;  $\text{Fe}^{2+}$ ), ONM with a complex of micronutrients without manganese, ONM with a complex of micronutrients without zinc, ONM with a complex of micronutrients without cobalt.

The titer of the *B. velezensis* BZR 336g liquid culture was determined by the Koch method (deep method). The antifungal activity of the liquid culture depending on microelements was evaluated by the double culture method with the *Fusarium graminearum* BZR 4 test fungus. *B. velezensis* BZR 336g exometabolites were analyzed by thin-layer chromatography. Bioautography was used to assess the localization of active components by the formation of zones of absence or growth inhibition of the test fungus *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR P1.

As a result of the study, it was found that the *B. velezensis* BZR 336g strain cultivated in a medium with a complete set of microelements synthesizes the widest range of biologically active metabolites. In this variant, a high titer of the liquid culture of the bacterium was noted. Deficiency of zinc and manganese in the medium contributed to a decrease in the titer of the liquid culture of the bacterium. Slight pigmentation of the test culture *F. graminearum* BZR 4 in double cultures was noted in the variant without zinc. A complex of metabolites with a low antifungal effect was produced by the strain during cultivation on a medium without manganese.

Thus, zinc and manganese in the nutrient medium are important for the high antifungal activity of the strain *B. velezensis* BZR 336g.

The research was supported by the President of the Russian Federation grant for state support of young Russian scientists – PhD No. MK-1651.2021.5.

**Биологические свойства психротолерантных штаммов *Phoma herbarum*, перспективных в качестве основы биогербицидов сорных растений**

Тригубович А.М., Мандрик-Литвинкович М.Н., Волоханович А.А.

Государственное научное учреждение «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси», г. Минск

trigubovich777@gmail.com

Постоянное действие низкой температуры и инсоляции в Антарктиде может приводить к формированию толерантных к жизни в экстремальных условиях штаммов, с особенностями применимыми в биотехнологии. Поиск штаммов-продуцентов биологически активных веществ является одной из актуальных задач при разработке новых биопрепаратов. Известно, что фомоподобные микромицеты способны длительное время сохранять жизнеспособность в почве или на других субстратах и продуцируют множество фитотоксичных метаболитов (макроцидин, гербарумин, антрахиноновые пигменты и др.). На образцах собранных под открытым небом в местах работы 7-ой Белорусской антарктической экспедиции (Восточная Антарктида, Земля Эндерби, оазис Гора Вечерняя) было обнаружено высокое количество грибных пропагул, среди которых доминировали грибы рода *Phoma*. Было отобрано два штамма обладающих психротолерантными свойствами, идентифицированные как *Phoma herbarum* M19 и *Phoma fimeti* M29. Для получения биомассы грибы культивировали в жидкой среде Чапека-Докса при температуре от 15 до 23°C и 140 об/мин в течение 6 сут. Максимальная продукция пигментов наблюдалась на 5-6 сутки культивирования у штамма *P. herbarum* M19 при температуре 23°C, у *P. fimeti* M29 – 15°C. Метаболиты с потенциальным гербицидным действием выделяли из мицелия, в качестве экстрагентов использовали водные растворы детергентов и органические растворители. Последовательные экстракции проводили на водяной бане при температуре 60°C. На первом этапе биомассу дезинтегрировали ультразвуком, полученные объемы экстрактов объединяли и концентрировали под вакуумом. Фитотоксическое действие культуральной жидкости и экстрактов биомассы *P. herbarum* M19 и *P. fimeti* M29 оценивали на семенах и листьях сорняков, таких как одуванчик (*Taraxacum officinale*) и золотарник (*Solidago canadensis*). В контрольных образцах доля проросших семян достигала 70–80%. Влияние экзометаболических *P. herbarum* M29 снижало всхожесть семян одуванчика на 30-40%, золотарника на 56-63% по сравнению с контролем. При обработке семян экстрактами этилацетатом из мицелия штаммов *P. herbarum* M19 и *P. fimeti* M29 всхожесть семян одуванчика и золотарника была в 7 и 2,5 раза ниже, чем у семян в контроле. Биоанализ на листьях показал, что обработка экстрактами мицелия обеспечивала появление потемнений в местах повреждения, пожелтение и увядание листьев. Наибольшее повреждение листовых пластин наблюдалось при обработке экстрактами содержащими метаболиты *P. herbarum* M19.

Полученные данные свидетельствуют о том, что как культуральная жидкость, так и экстракты метаболитов психротолерантных штаммов *Phoma* проявляют дифференцированное гербицидное действие на оба сорняка, что в перспективе может служить основой для создания биогербицидного препарата с высокой биологической эффективностью и селективным действием на сорные растения.

**Biological properties of psychrotolerant strains of *Phoma herbarum*, promising as the basis of weed bioherbicides**

Trigubovich A.M., Mandrik-Litvinkovich M.N., Volokhanovich A.A.

State Scientific Institution "Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus", Minsk

trigubovich777@gmail.com

The constant effect of low temperature and insolation in Antarctica can lead to the formation of strains tolerant to life in extreme conditions, with features applicable in biotechnology. The search for strains that produce biologically active substances is one of the urgent tasks in development of new biological products. It is known that Phoma-like micromycetes are able to remain viable for a long time in the soil or on other substrates and produce many phytotoxic metabolites (macrocidin, herbarumin, anthraquinone pigments, etc.). On samples collected in open air places where work the 7th Belarusian Antarctic Expedition (East Antarctica, Enderby Land, Mount Vechernyaya oasis), a high number of fungal propagules were found, among which dominated fungi of the genus *Phoma*. Two strains with psychrotolerant properties were selected, identified as *Phoma herbarum* M19 and *Phoma fimeti* M29. To obtain biomass, fungi were cultivated in a liquid Czapek-Dox medium at a temperature of 15-23°C and 140 rpm for 6 days. The maximum production of pigments was observed after 5-6 days of cultivation for *P. herbarum* M19 strain at a temperature of 23°C, in *P. fimeti* M29 at 15°C. Metabolites with a potential herbicidal effect were isolated from mycelium by aqueous solutions of detergents and organic solvents as extractants. Successive extractions were carried out in a water bath at 60°C. At the first stage, the biomass was disintegrated by ultrasound, the obtained volumes of extracts were combined and concerted under vacuum. The phytotoxic effect of culture liquid and biomass extracts of *P. herbarum* M19 and *P. fimeti* M29 was evaluated on seeds and leaves of weeds such as dandelion (*Taraxacum officinale*) and goldenrod (*Solidago canadensis*). In control samples, number of germinated seeds reached 70-80%. The influence of *P. herbarum* M29 exometabolites reduced the germination of dandelion seeds by 30-40%, goldenrod by 56-63% compared with the control. When seeds were treated with ethyl acetate extracts from the mycelium of *P. herbarum* M19 and *P. fimeti* M29 strains, the germination of dandelion and goldenrod seeds was 7 and 2.5 times lower than that of seeds in control. Bioanalysis on leaves showed that treatment with mycelium extracts caused the appearance of browning in the places of damage, yellowing and wilting of the leaves. The greatest damage to leaf was observed when treated with extracts containing metabolites of *P. herbarum* M19.

The data obtained indicate that both the culture liquid and extracts of metabolites of psychrotolerant *Phoma* strains exhibit a differentiated herbicidal effect on both weeds, which in future can serve as the basis for creating a bioherbicidal preparation with high biological efficiency and selective effect on weeds.

**Молекулярно-генетическая идентификация и филогенетический анализ эндофитных бактерий, изолированных из сельскохозяйственных растений**

Тугбаева А.С., Угренинов П.А., Дарказанли М., Ермошин А.А., Киселева И.С.  
ФГАОУ ВО УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург  
[anastasia.tugbaeva@urfu.ru](mailto:anastasia.tugbaeva@urfu.ru)

В настоящем исследовании была проведена идентификация 21 изолята эндофитных бактерий, выделенных из листьев пшеницы, ячменя, гороха и бобов. Геномную ДНК выделяли фенол-хлороформным методом и использовали для амплификации фрагмента гена 16S рРНК (SQK-16S024, Oxford Nanopore Technologies, Оксфорд, Великобритания). Очищенные ПЦР-продукты использовали для подготовки библиотеки (SQK-16S024, Oxford Nanopore Technologies), которую секвенировали на приборе GridION Mk1, проточная кювета R9.4 (Oxford Nanopore Technologies). Первичную обработку сиквенсов проводили в ПО MINKNOW ver. 1.11.5 и Albacore ver. 2.2.4. Таксономическую принадлежность определяли в ПО EPI2ME ver. 3.3.0 (качество прочтения > 7, длина фрагментов > 1400 п.н.) и в он-лайн ресурсе EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>). Длина прочтения составила 1572–1629 п.н. В результате анализа всех выделенных колоний были идентифицированы 8 видов бактерий с уровнем точности выше 97%: *Bacillus subtilis*, *Bacillus pacificus*, *Bacillus toyonensis*, *Buttiauxella noackiae*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas lurida*, *Leclercia adecarboxylata*, *Lactococcus raffinolactis*. У изолятов бактерий одного вида вариабельность GC-состава была невысокой. Филогенетический анализ проводили в Mega X с использованием алгоритма Maximum likelihood. Выявили 4 клады. Первая группа объединяла изоляты рода *Pseudomonas*, вторая – *Leclercia* и *Pantoea*, третья – *Bacillus* и *Lactococcus*, четвертая – *Buttiauxella* и *Pseudomonas*. Выявили особенности нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК из изолятов одного вида, выделенных из разных сельскохозяйственных растений.

Работа проведена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, проект № FEUZ-2021-0014.

**Molecular identification and phylogenetic analysis of endophytic bacteria isolated from agricultural plants**

Tugbaeva A.S., Ugreninov P.A., Darkazanli M., Ermoshin A.A., Kiseleva I.S.  
Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg  
[anastasia.tugbaeva@urfu.ru](mailto:anastasia.tugbaeva@urfu.ru)

In this work, 21 isolates of endophytic bacteria from the leaves of wheat, barley, pea, and bean were identified. Genomic DNA was extracted by the phenol-chloroform method and used to amplify the 16S rRNA gene fragment (SQK-16S024, Oxford Nanopore Technologies (ONT), Oxford, UK). Purified PCR products were used to prepare a library (SQK-16S024, ONT), which was sequenced with the GridION Mk1 using R9.4 flow cell (ONT, Oxford, UK). The primary processing of the sequences was carried out using the MINKNOW ver. 1.11.5 and Albacore ver. 2.2.4. Bacterial identification was assay using the EPI2ME ver. 3.3.0 (read quality > 7, fragment length > 1400 bp) and the EzBioCloud online resource (<https://www.ezbiocloud.net/>). The length of the reads was 1572–1629 b.p. As a result of the analysis of all isolated single colonies, 8 species were identified with an accuracy level above 97%: *Bacillus subtilis*, *Bacillus pacificus*, *Bacillus toyonensis*, *Buttiauxella noackiae*, *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas lurida*, *Leclercia adecarboxylata*, *Lactococcus raffinolactis*. In bacterial isolates of the same species, the variability of GC-content was low. Phylogenetic analysis was performed using the Mega X program using the Maximum likelihood algorithm. 4 clades have been identified. The first group included isolates of the genus *Pseudomonas*, the second – *Leclercia* and *Pantoea*, the third – *Bacillus* and *Lactococcus*, the fourth – *Buttiauxella* and *Pseudomonas*. Features of the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene of the same bacterial species isolated from different agricultural plants were revealed.

**Культуры клеток *Panax japonicus* и *Polyscias fruticosa* (Araliaceae) – продуценты тритерпеновых гликозидов**<sup>1</sup>Тюрина Т.М., <sup>1,2</sup>Кочкин Д.В., <sup>1</sup>Глаголева Е.С., <sup>2</sup>Титова М.В.<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва,<sup>2</sup>Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН, г. Москва.[tyurina.tatiana812@gmail.com](mailto:tyurina.tatiana812@gmail.com)

Культуры клеток растений имеют множество применений, среди которых одно из важнейших – биотехнологическое получение соединений растительного происхождения в короткие сроки и вне зависимости от сезона. Растения из семейства Аралиевые синтезируют большое разнообразие веществ первичного и вторичного метаболизма, благодаря чему активно используются в традиционной и современной фитотерапии. Интерес представляют тритерпеновые гликозиды, в особенности редкие гликозиды даммаранового ряда растений рода женьшень (*Panax*), которые, как считается, отвечают за ряд терапевтических свойств продуктов из этих растений. Целью работы являлась оценка качественного и количественного содержания тритерпеновых гликозидов в биомассе культур клеток и среды культивирования в культурах клеток *Panax japonicus* (С.А. Meyer) var. *repens* (2 линии) и *Polyscias fruticosa* (L.) Harms, (1 линия) в процессе их выращивания на контрольных и измененных по гормональному составу средах в двух системах культивирования – колбах и барботажных биореакторах объемом 20 литров. Определение содержания тритерпеновых гликозидов проводили методом УЭЖХ-МС. Для всех культур клеток *P. japonicus* было показано накопление сложной смеси тритерпеновых гликозидов (гинзенозиды группы протопанаксадиола (PPD) и протопанаксатриола (PPT), малонилированных производных PPD- и PPT-гинзенозидов, гликозидов олеананового ряда), содержание которых в клеточной биомассе и среде культивирования возрастало по мере роста культур до достижения фазы деградации. Преобладающими являлись гинзенозиды группы олеаноловой кислоты и группы протопанаксадиола (PPD-группа). Культуры клеток *P. fruticosa* на разных средах накапливали гликозиды только олеананового ряда в концентрациях, не превышающих 1 мг/г сухой массы. Показано, что выращивание в колбах биомассы *P. japonicus* приводит к усиленному накоплению некоторых индивидуальных гинзенозидов (Rb1, m-Rb1, Rb2, m-Rb2, Rg1, ChIVa); содержание этих соединений в биомассе из биореактора в 2-3 раза меньше. Удаление кинетина из состава питательных сред при аппаратном выращивании культуры женьшеня приводило к снижению суммарного содержания гинзенозидов и индивидуальных соединений в клеточной биомассе по мере увеличения общей продолжительности выращивания. Культура *P. japonicus* количественно синтезирует значительно больше тритерпеновых гликозидов олеаноловой кислоты, чем культура *P. fruticosa*. Таким образом, эти культуры клеток являются перспективными продуцентами тритерпеновых гликозидов.

**Cell cultures of *Panax japonicus* and *Polyscias fruticosa* (Araliaceae) – producers of triterpene glycosides**<sup>1</sup>Tyurina T.M., <sup>1,2</sup>Kochkin D.V., <sup>1</sup>Glagoleva E.S., <sup>2</sup>Titova M.V.<sup>1</sup>M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow,<sup>2</sup>K.A. Timiryazhev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow.[tyurina.tatiana812@gmail.com](mailto:tyurina.tatiana812@gmail.com)

Plant cell cultures have multiple applications, one of the most important ones is biotechnological production of plant substances within the short time period and regardless of the season. Plant species of Araliaceae plant family synthesise a wide range of substances of primary and secondary metabolism, and hence are actively used in traditional and modern phytotherapy. Triterpene glycosides are molecules of interest, especially rare dammarane glycosides of *Panax* species that are thought to be the main bioactive components of ginseng products. The aim of the study was to quantitatively and qualitatively estimate the content of triterpene glycosides in *Panax japonicus* (C.A. Meyer) var. *repens* (2 lines) and *Polyscias fruticosa* (L.) Harms (1 line) cell biomass and nutrient medium while culturing in flasks and 20-l bioreactors using medium with varying phytohormonal content. Triterpene glycoside was performed using the UPLC-MS. All tested *Panax japonicus* cell culture produced ginsenosides of diverse chemical structure including protopanaxadiols, protopanaxatriols, malonyl derivatives and oleanane glycosides which concentrations were increasing in the course of the subcultivation cycle and maximised when the culture reached a degradation stage. Protopanaxadiols and their malonyl derivatives as well as oleanane glycosides were the major groups. *P. fruticosa* cell cultures produced only oleanane glycosides in concentrations below 1 mg/g of dry weight. Cultivation in flasks resulted in accumulation of several individual ginsenosides such as Rb1, m-Rb1, Rb2, m-Rb2, Rg1, ChIVa; their levels were 2-3 times higher than in cell biomass produced in bioreactors. Removal of kinetin from the nutrient medium while subculturing *P. japonicus* cell cultures in bioreactors led to a decrease in a total content and an individual content of ginsenosides in a cell biomass. *P. japonicus* plant cell culture accumulated higher amounts of triterpene glycosides than cell culture of *P. fruticosa*.

**Оценка специфичности и симбиотической активности штаммов гуара на коровьем горохе (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**

<sup>1</sup>Ульянич П.С., <sup>1</sup>Кузнецова И.Г., <sup>1</sup>Сазанова А.Л., <sup>1</sup>Юзихин О.С., <sup>1</sup>Карлов Д.С.,  
<sup>2</sup>Вишнякова М.А., <sup>1</sup>Белимов А.А., <sup>1</sup>Сафронова В.И.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского 3, г. Санкт-Петербург.

<sup>2</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, 190000, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская 42-44, г. Санкт-Петербург.  
p.ulianich@gmail.ru

Гуар (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) является источником гуаровой камеди - комплекса полисахаридов, который используется в различных отраслях промышленности. Одной из проблем внедрения этой культуры в сельское хозяйство России является отсутствие в почвах бактерий, способных образовывать симбиоз с гуаром в почвенно-климатических условиях РФ. В коллекции ВКСМ насчитывается более 30 штаммов клубеньковых бактерий гуара. Нами был проведён вегетационный опыт, в котором близкородственное для гуара растения коровий горох (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) инокулировались микросимбионтами гуара: *Bradyrhizobium sp.* (7 штаммов), *Ensifer aridi* (2 штамма), *Ochrobactrum sp.* (1 штамм) и *Methylobacterium sp.* (1 штамм). В качестве контроля использовался эффективный штамм *Bradyrhizobium sp.* из коллекции ВКСМ. Показано, что клубеньки сформировались в основном на центральном корне, имели форму полу-сферическую форму и темно-бежевый цвет. Штаммы различались по нитрогеназной активности клубеньков, а инокулированные растения росли лучше, чем контрольные без инокуляции. Штаммы *Ochrobactrum sp.* и *Methylobacterium sp.* не образовали клубеньков. В результате изучена штаммовая специфичность образования симбиоза гуаровых ризобий с растениями *Vigna unguiculata*. Работа поддержана проектами РНФ (21-16-00084) и Минобрнауки России (соглашение №075-15-2020-920 от 16.11.2020, НЦМУ «Агротехнологии будущего»).

**Evaluation of the specificity and symbiotic activity of guar strains on cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)**

<sup>1</sup>Ulyanich P.S., <sup>1</sup>Kuznetsova I.G., <sup>1</sup>Sazanova A.L., <sup>1</sup>Yuzikhin O.S., <sup>1</sup>Karlov D.S.,  
<sup>2</sup>Vishnyakova M.A., <sup>1</sup>Belimov A.A., <sup>1</sup>Safronova V.I.

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, 196608, St. Petersburg, Pushkin, sh. Podbelskogo 3, Saint Petersburg

<sup>2</sup>FRS All-Russian Institute of Plant Genetic Resources named after V.I. N.I. Vavilov, 190000, St. Petersburg, st. Bolshaya Morskaya 42-44, Saint Petersburg  
p.ulianich@gmail.ru

Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.) is a source of guar gum, a polysaccharide complex that is used in various industries. One of the problems of introducing this crop into Russian agriculture is the absence of bacteria in soils capable of forming symbiosis with guar in the soil and climatic conditions of the Russian Federation. The VKSM collection contains more than 30 strains of guar nodule bacteria. We carried out a vegetative experiment in which cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), closely related to guar, was inoculated with guar microsymbionts: *Bradyrhizobium sp.* (7 strains), *Ensifer aridi* (2 strains), *Ochrobactrum sp.* (1 strain) and *Methylobacterium sp.* (1 strain). An effective strain of *Bradyrhizobium sp.* was used as a control from the VKSM collection. It is shown that the nodules formed mainly on the central root, had a semi-spherical shape and a dark beige color. The strains differed in the nitrogenase activity of the nodules, and the inoculated plants grew better than the controls without inoculation. Strains of *Ochrobactrum sp.* and *Methylobacterium sp.* did not form nodules. As a result, the strain specificity of the formation of symbiosis of guar rhizobia with *Vigna unguiculata* plants was studied. This work was supported by projects of the Russian Science Foundation (21-16-00084) and the Russian Ministry of Education and Science (agreement no. 075-15-2020-920 dated 11/16/2020, National Center for Agricultural Technologies of the Future).



### Перспективы использования аборигенных штаммов стрептомицетов в агроценозе сахарной свеклы

Федорова О.А., Безлер Н.В.

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара

им. А. Л. Мазлумова, Воронежская область, Рамонский район

fed-olga78@mail.ru

Актиномицеты, являясь компонентом микробного комплекса ризосферы, могут оказывать существенное влияние на фитопатогенные грибы благодаря способности продуцировать широкий спектр антибиотически активных веществ, осуществляя тем самым защитные функции по отношению к растениям. В процессе вегетации сахарной свеклы в ризосфере накапливается до 0,2% сахарозы, наличие которой способствует поддержанию и функционированию различных эколого-трофических групп микроорганизмов том числе и актиномицетов. Из ризосферы сахарной свеклы в различные фазы вегетации (в фазе смыкания междурядий, в начале периода интенсивного роста культуры и перед уборкой), произрастающей на опытном участке ВНИИСС, выделено и введено в чистую культуру методом многократных пересевов 13 штаммов актиномицетов. Изучаемые культуры согласно основным морфолого-культуральным свойствам были отнесены к роду *Streptomyces*. Проверка на антагонистическую активность в отношении основных групп возбудителей болезней сахарной свеклы *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Alternaria alternata*, *Pythium* sp. позволило отобрать 2 наиболее перспективных штамма *Streptomyces* sp.3 и *Streptomyces* sp.9, которые вносили в почву под предпосевую культивацию в виде суспензии. Результаты лабораторных и полевых опытов показали, что отобранные культуры стрептомицетов активно колонизировали корневую систему сахарной свеклы, тем самым способствуя снижению пораженности корнеедом по сравнению с контролем. Так, степень распространения этого заболевания при внесении штамма *Streptomyces* sp.3 снижалась до 6,0 %, а при внесении *Streptomyces* sp.9 - до 11,2% (в контроле – 13,8 %). Интродукция штамма *Streptomyces* sp.3 оказалась более эффективной в сдерживании данного заболевания, что, по-видимому, связано с более активным продуцированием антибиотических соединений. Определение супрессивности почвы проводили в отношении одного из токсигенного микромицета *Fusarium oxysporum*, продуцирующего микотоксины, опасные для теплокровных. Установлено, что внесение культур *Streptomyces* sp.3 и *Streptomyces* sp.9 способствует повышению способности почвы подавлять рост и развитие данного фитопатогена на 35,9 и 40,7% соответственно, тем самым способствуя ее оздоровлению. Таким образом, благодаря действию стрептомицетов на агроценоз сахарной свеклы создаются условия для элиминирования или стабилизации развития возбудителей почвенных болезней, что в дальнейшем может быть использовано при разработке систем защиты растений сахарной свеклы от основных возбудителей болезней.

### Prospects for the use of native strains of streptomycetes in sugar beet agroecosis

Fedorova O.A., Bezler N.V.

FSBSI A.L. Mazlumov, All-Russian Research Institute of Sugar Beet and Sugar, Voronezh region, Ramonsky district

fed-olga78@mail.ru

Actinomycetes, being a component of the microbial complex of the rhizosphere, can have a significant impact on phytopathogenic fungi due to the ability to produce a wide range of antibiotic active substances, thereby performing protective functions in relation to plants. In the process of sugar beet vegetation, up to 0.2% of sucrose accumulates in the rhizosphere, the presence of which contributes to the maintenance and functioning of various ecological and trophic groups of microorganisms, including actinomycetes. 13 strains of actinomycetes were isolated and introduced into pure culture from the rhizosphere of sugar beet in various phases of vegetation (in the phase of closing row spacings, at the beginning of the period of intensive growth of the crop and before harvesting) growing on the experimental plot of VNISS and introduced into pure culture by the method of multiple reseedings of 13 strains of actinomycetes. The studied cultures according to the main morphological and cultural properties were assigned to the genus *Streptomyces*. Testing for antagonistic activity against the main groups of sugar beet pathogens *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Alternaria alternata*, *Pythium* sp. made it possible to select the 2 most promising strains of *Streptomyces* sp.3 and *Streptomyces* sp.9, which were introduced into the soil for pre-seeding cultivation in the form of a suspension. The results of laboratory and field experiments showed that the selected cultures of streptomycetes actively colonized the root system of sugar beet, thereby contributing to a decrease in the infestation of the blackleg compared to the control. Thus, the spread of this disease after the introduction of the *Streptomyces* sp.3 strain decreased to 6.0%, and after the introduction of *Streptomyces* sp.9 - up to 11.2% (in the control - 13.8%). The introduction of the *Streptomyces* sp.3 strain proved to be more effective in controlling this disease, which, apparently, is associated with a more active production of antibiotic compounds. Determination of soil suppression was carried out in relation to one of the toxinogenic micromycete *Fusarium oxysporum*, which produces mycotoxins dangerous for warm-blooded animals. It has been established that the introduction of *Streptomyces* sp.3 and *Streptomyces* sp.9 cultures increases the ability of the soil to suppress the growth and development of this phytopathogen by 35.9 and 40.7%, respectively, thereby contributing to its improvement. Thus, due to the action of streptomycetes on sugar beet agroecosis, conditions are created for the elimination or stabilization of the development of pathogens of soil diseases, which can later be used in the development of systems for protecting sugar beet plants from the main pathogens.

### Влияние гуминовых веществ на рост ризосферных бактерий и растений.

Феоктистова А.В., Тимергалин М.Д., Бакаева М.Д., Четвериков С.П.

Уфимский институт биологии УФИЦ РАН, г. Уфа.

feoktistova.arisha@yandex.ru

Бактерии, стимулирующие рост растений, и гуминовые вещества (ГВ) положительно влияют на рост растений и повышают их урожайность. При этом данные о совместном применении ГВ и бактерий зачастую противоречивы и недостаточны. Известно, что ГВ могут стимулировать рост бактерий, но остается неясным, является ли этот эффект важным для стимулирования роста растений. Цель нашей работы заключалась в сравнении влияния ГВ на рост бактерий и растений, инокулированных бактериями, что никогда не проводилось в одном и том же эксперименте.

В работе использовали ГВ, полученные из бурого угля Тюльганского месторождения Оренбургской области РФ и ауксинпродуцирующий штамм бактерий *Pseudomonas plecoglossicida* 2,4-D из коллекции УИБ УФИЦ РАН. опыты проводили на мягкой яровой пшенице (*Triticum aestivum* L., сорт Кинельская). Семена стерилизовали и проращивали в течение 3 дней. Проростки пшеницы высаживали в сосуды со стерилизованным песком, чтобы предотвратить попадание нежелательных бактерий. Обработку растений путем опрыскивания проводили на следующий день 1 мл 0,1 %-го водного раствора ГВ и/или суспензией бактерий *P. plecoglossicida* 2,4-D (титр  $10^8$  КОЕ\*мл<sup>-1</sup>), выращенных в жидкой питательной среде Кинг В.

Все обработки приводили к активации роста корня – увеличивалась длина, масса корней и число боковых корней по сравнению с контролем. Стимулирующий эффект был сильнее, когда растения обрабатывали комбинацией *P. plecoglossicida* 2,4-D с ГВ, что касается побегов, то только эта комбинация увеличивала их массу и длину. Добавление гуминовых веществ в питательную среду увеличивало титр бактерий *in vitro*. Бактерии и ГВ, применяемые отдельно или в комбинации, повышали содержание эндогенных ауксинов в проростках пшеницы, в то время как наиболее сильным этот эффект был в случае их комбинации. Активация ветвления корня необходима для активного поглощения питательных веществ, которое способствует росту растений. Таким образом, более сильное воздействие *P. plecoglossicida* 2,4-D в сочетании с ГВ, вероятно, заключается в их совместном воздействии на накопление ауксинов в обработанных растениях. Поскольку рост корней становится более важным при эдафических стрессах, наши результаты могут служить ориентиром при выборе ГВ в сочетании с бактериями в качестве биостимуляторов, используемых в сельском хозяйстве в зависимости от климата.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 22-26-00147.

### Influence of humic substances on the growth of rhizospheric bacteria and plants.

Feoktistova A.V., Timergalin M.D., Bakaeva M.D., Chetverikov S.P.

Ufa Institute of Biology, Ufa Federal Research Centre, RAS, Ufa.

feoktistova.arisha@yandex.ru

Bacteria that stimulate plant growth and humic substances (HS) have a positive effect on plant growth and increase their yield. At the same time, data on the combined use of HS and bacteria are often contradictory and insufficient. It is known that HS can stimulate bacterial growth, but it remains unclear whether this effect is important for stimulating plant growth. The purpose of our work was to compare the effect of HS on the growth of bacteria and plants inoculated with bacterial strain, which has never been carried out in the same experiment.

In the work, HS obtained from brown coal from the Tyulgan deposit of the Orenburg region of the Russian Federation and an auxin-producing bacterial strain of *Pseudomonas plecoglossicida* 2,4-D from the collection of the UIB UFRC RAS were used. The experiments were carried out on bread spring wheat (*Triticum aestivum* L., Kinelskaya variety). The seeds were sterilized and germinated for 3 days. Wheat seedlings were planted in vessels with sterilized sand to prevent the ingress of unwanted bacteria. The treatment of plants by spraying was carried out the next day with 1 mL of 0.1% aqueous solution of HS and/or suspension of bacteria *P. plecoglossicida* 2,4-D (titer  $10^8$  CFU\* $mL^{-1}$ ) grown in liquid nutrient medium King B.

All treatments resulted in activation of root growth – the length, mass of roots and the number of lateral roots increased compared to the control. The stimulating effect was stronger when the plants were treated with a combination of *P. plecoglossicida* 2,4-D with HS, as for the shoots, only this combination increased their mass and length. The addition of humic substances to the nutrient medium increased the titer of bacteria *in vitro*. Bacteria and HS, used alone or in combination, increased the content of endogenous auxins in wheat seedlings, while this effect was strongest in the case of their combination. Activation of root branching is necessary for the active absorption of nutrients, which promotes plant growth. Thus, the stronger effect of *P. plecoglossicida* 2,4-D in combination with HS probably lies in their combined effect on the accumulation of auxins in treated plants. Since root growth becomes more important under edaphic stresses, our results can serve as a guideline when choosing HS in combination with bacterial strains as biostimulants used in agriculture depending on the climate.

This research was funded by the Russian Science Foundation, grant number 22-26-00147.

**Влияние штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 на растения *Pisum sativum* L. при действии солей кадмия**

<sup>1,2,3</sup>Хакимова Л.Р., <sup>1,2</sup>Чубукова О.В., <sup>2</sup>Мурясова А.Р., <sup>1,2</sup>Вершинина З.Р.

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа.

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Уфимский государственный нефтяной технический университет», г. Уфа.

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет

Минздрава России, г. Уфа.

[lili-nigmatullina@bk.ru](mailto:lili-nigmatullina@bk.ru)

Бактерии рода *Pseudomonas* обладают большим потенциалом PGPR бактерий, используемые для защиты растений от фитопатогенов, тяжелых металлов, увеличения урожайности растений и роста растений в стрессовых условиях. Целью данного исследования был анализ влияния штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 на семена растений гороха посевного (*Pisum sativum* L.) в присутствии разных концентрациях солей кадмия. У исследуемого штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 была обнаружена сидерофорная активность и ростостимулирующий эффект на семенах растений гороха сорта Кельведонское чудо. При прорастании на стерильной воде обработка бактериями привела к увеличению длины проростков гороха в среднем в 2,6 раз по сравнению с необработанными семенами.

Для проверки влияния штамма *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 на рост и развитие растений гороха, была проведена обработка семян и анализ морфометрических показателей в присутствии разных концентраций CdCl<sub>2</sub>. Так при выращивании семян гороха на чашке Петри с добавлением CdCl<sub>2</sub> в концентрации 100 мкМ после обработки псевдомонадами длина проростков увеличилась на 62 %, при 200 мкМ – на 20 %, при 300 мкМ – на 36 %, при 400 мкМ – на 51 %, при 500 мкМ – на 118 % относительно контрольных неинкулированных семян.

Таким образом, был идентифицирован новый штамм *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1, который показал себя как эффективный стимулятор роста растений гороха при кадмиевом стрессе.

Полученные данные демонстрируют возможность использования различных PGPR *Pseudomonas* spp. в агробиотехнологии в качестве ростостимулирующих агентов, которые могут способствовать улучшению роста и питания растений, что, в конечном итоге, может привести к увеличению их биомассы и продуктивности. Подобные свойства псевдомонад позволяют говорить о перспективах их применения в сельском хозяйстве, а также в экологии для использования в фиторемедиации.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России (№ АААА-А21-121011990120-7, «Евразийский карбоновый полигон» на 2022-2023 годы FEUR-2022-0001) с использованием оборудования ЦКП «Агидель» и УНУ «Кодинк» УФИЦ РАН.

**The influence of the strain *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 on *Pisum sativum* L. plants exposed to cadmium salts**

<sup>1,2,3</sup>Khakimova L.R., <sup>1,2</sup>Chubukova O.V., <sup>2</sup>Muryasova A.R., <sup>1,2</sup>Vershina Z.R.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa.

<sup>2</sup>Ufa State Petroleum Technical University, Ufa.

<sup>3</sup>Bashkir State Medical University, Ufa.

[lili-nigmatullina@bk.ru](mailto:lili-nigmatullina@bk.ru)

Bacteria *Pseudomonas* sp. have a great potential as PGPR bacteria used to protect plants from phytopathogens, heavy metals, increase plant yield and plant growth under stressful conditions. The aim of this study was to analyze the effect of *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 on seeds of pea plants (*Pisum sativum* L.) in the presence of different concentrations of cadmium salts. In the studied strain *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 was found siderophore activity and growth-stimulating effect on the seeds of pea plants variety Kelvedon miracle. During germination in sterile water, treatment with bacteria led to an increase in the length of pea seedlings by an average of 2.6 times compared to untreated seeds.

To test the effect of *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1 on the growth and development of pea plants, seed treatment and analysis of morphometric parameters were carried out in the presence of different concentrations of CdCl<sub>2</sub>. So, when growing pea seeds on a Petri dish with the addition of CdCl<sub>2</sub> at a concentration of 100 μM after treatment with *Pseudomonas* sp., the length of the seedlings increased by 62%, at 200 μM by 20%, at 300 μM by 36%, at 400 μM by 51%, at 500 μM by 118% relative to the control non-inoculated seeds.

Thus, a new strain of *Pseudomonas* sp. OBA 2.4.1, which has been shown to be an effective growth promoter of pea plants under cadmium stress.

The data obtained demonstrate the possibility of using various PGPR *Pseudomonas* spp. in agrobiotechnology as growth-promoting agents that can improve the growth and nutrition of plants, which, ultimately, can lead to an increase in their biomass and productivity. Similar properties of pseudomonads allow us to talk about the prospects for their use in agriculture, as well as in ecology for use in phytoremediation.

The work was carried out within the framework of the state order of the Ministry of Education and Science of Russia (no. АААА-А21-121011990120-7, "Eurasian carbon polygon" for 2022-2023 FEUR-2022-0001) with using the instrument park of the RCCU "Agidel" and "KODINK" UFRC RAS.

**Трансгенные растения семейства Solanaceae с прижизненной визуализацией тубулинового цитоскелета как экспериментальная модель для изучения реорганизации микротрубочек в условиях абиотического стресса**

Халилуев М.Р., Варламова Н.В., Демиденко Д.В., Захарова Е.В.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва.  
marat131084@rambler.ru

Трансгенные растения семейства Solanaceae с прижизненной визуализацией актинового и тубулинового цитоскелета являются удобной моделью в изучении роли микротрубочек и микрофиламентов в условиях стрессовых факторов абиотической и биотической природы. Кроме того, важным аспектом современной репродуктивной биологии растений является получение принципиально новых данных о структурной реорганизации цитоскелета пыльцевой трубки в процессе функционирования механизма гаметофитно-спорофитной несовместимости РНК-азного типа как наиболее сложного и наименее изученного типа самонесовместимости, а также влиянии гормональных и стрессовых факторов на строение и функционирование цитоскелета пыльцевой трубки в прогамной фазе оплодотворения. Целью исследования являлось получение трансгенных растений с прижизненной визуализацией тубулинового цитоскелета двух генотипов томата (линия ЯЛФ и сорт Рекордсмен), различающиеся по устойчивости к засолению, как экспериментальной модели для изучения реорганизации микротрубочек в условиях NaCl *in vitro*; и самосовместимого и самонесовместимого клонов петунии как экспериментальной модели для изучения роли тубулинового цитоскелета в регуляции роста мужского гаметофита в прогамной фазе оплодотворения, в том числе, в условиях избыточной генерации АФК. Получение независимых трансгенных растений осуществляли методом агробактериальной трансформации штаммом AGL0 с плазмидой pCMU-MTUBr (Addgene, № 61196), которая содержит целевую последовательность MAP4-MBD, кодирующая слитый репортерный белок mCherry для прижизненной детекции микротрубочек, а также селективный ген *nptII*, обуславливающий устойчивость к канамицину. В результате серии экспериментов по агробактериальной трансформации были получены независимые канамицин-устойчивые линии каждого генотипа томата и петунии, трансгенный статус которых подтвержден ПЦР. Флуориметрический анализ экспрессии гена *mCherry* выявил видимые различия при сравнении контрольного образца с трансгенными линиями, что указывает на наличие экспрессии репортерного гена.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ в рамках проекта № 22-24-01148.

**Transgenic Solanaceae plants with intravital visualization of the tubulin cytoskeleton as an experimental model for underlying microtubule reorganization under abiotic stress**

Khaliluev M.R., Varlamova N.V., Demidenko D.V., Zakharova E.V.

All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow.  
marat131084@rambler.ru

Transgenic Solanaceae plants with intravital imaging of the actin and tubulin cytoskeleton are a convenient model for studying the role of microtubules and microfilaments under abiotic and biotic stress factors. Additionally, an important aspect of modern plant reproductive biology is obtaining fundamentally new data on the structural reorganization of the pollen tube cytoskeleton during the RNase-based gametophytic self-incompatibility system as the most complex and least studied self-incompatibility type, as well as influence of hormonal and stress factors on the structure and functioning of the pollen tube cytoskeleton in the progamic phase. The aim of the study was to generation of transgenic plants with intravital imaging of the tubulin cytoskeleton of two tomato genotypes (line YaLF and cv. Recordsman), which differ in salinity resistance, as an experimental model for studying microtubule reorganization under NaCl *in vitro*; as well as and self-compatible and self-incompatible clones of petunia plants as an experimental model for studying the role of tubulin cytoskeleton for male gametophyte development in the progamic phase, including under excessive generation of ROS. Independent transgenic tomato and petunia plants were obtained by *Agrobacterium*-mediated transformation (AGL0 strain) with the pCMU-MTUBr plasmid (Addgene, № 61196) containing MAP4-MBD target sequence encoding mCherry fusion reporter protein for intravital imaging of microtubules, as well as *nptII* gene encodes an aminoglycoside phosphotransferase conferring resistance to kanamycin. As a result of *Agrobacterium*-mediated transformation, independent kanamycin-resistant lines of each tomato and petunia genotypes were obtained. Independent transgenic events were confirmed by PCR. Fluorescence assay of mCherry revealed visible differences between control and transgenic lines, which indicates the expression of reporter gene.

The study was financially supported by the Russian Science Foundation, grant № 22-24-01148.

**Характеристика штаммов-продуцентов *Bacillus subtilis* с редактированным геномом по отношению к экспрессии металлопротеиназы *B. pumilus***

<sup>1</sup>Хасанов Д.И., <sup>1</sup>Рудакова Н.Л.

<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия  
hasda2149@gmail.com

Учеными Казанского федерального университета было обнаружено, что природным штаммом *Bacillus pumilus* 3-19 секретируется в окружающую среду минорная протеиназа с неизвестными функциями, классифицированная в дальнейшем как цинкзависимая металлопротеиназа. Уникальность открытия состоит в том, что исследуемый фермент сочетает в себе классификационные признаки двух разных семейств металлопротеиназ клана метцинкинов – астацинов и адамализинов, состоящих преимущественно из мультидоменных белков эукариот. Идентифицированная металлопротеиназа *B. pumilus* (MprBp) представляет собой первый бактериальный фермент-гомолог эукариотических астацинов и адамализинов среди внеклеточных протеиназ бацилл.

Для изучения функций данного фермента в бактериальной клетке и поиска потенциальных сфер его применения необходимо достаточное количество чистого белка, а для этого нужна эффективная система экспрессии. В предварительных исследованиях ген металлопротеиназы *B. pumilus* (*mprBp*) был клонирован в экспрессионный вектор pGP382 под сильным конститутивным промотором гена *degQ36* ( $P_{degQ36}$ ) и трансформирован в беспротеазные штаммы *Bacillus subtilis*: BG2036; BRB08; BRB14 с 2, 9 и 11 удаленными генами внеклеточных протеаз, а также в штамм *B. subtilis* Δ6, полученный в результате делеции генов некоторых профагов природного штамма *B. subtilis* 168 с помощью системы редактирования генома CRISPR/Cas9.

Целью работы явилось сравнительное изучение экспрессии металлопротеиназы *mprBp* в CRISPR/Cas9-редактированном и протеадефицитных штаммах *B. subtilis*. Экспрессия *mprBp* в составе беспротеазных штаммов *B. subtilis* характеризуется резким ростом, демонстрируя пик, с последующим таким же резким ее падением практически до нулевых значений на поздних этапах культивирования. Также наблюдался некий градиент относительно изменения характера экспрессии и количества делетированных генов. Экспрессия *mprBp* в составе CRISPR/Cas9-редактированного штамма *B. subtilis* Δ6 в отличие от беспротеазных штаммов начинается еще на ранних этапах культивирования, демонстрируя плавное ее увеличение до значений пика, а после чего наблюдается не менее плавное ее падение по мере отмирания культуры.

В результате проделанной работы была изучена экспрессия гена *mprBp* в штаммах-продуцентах *B. subtilis* с редактированным геномом, которые могут быть использованы при наработке фермента для последующих исследований. Работа выполнена в рамках проекта РФФИ №22-16-00138.

**Characterization of genome-edited *Bacillus subtilis* producer strains with relation to the expression of *B. pumilus* metalloproteinase**

Khasanov D.I., Rudakova N.L.

Kazan (Volga region) federal university, Kazan, Russia  
hasda2149@gmail.com

Scientists at Kazan Federal University discovered that a *Bacillus pumilus* 3-19 wild type strain secretes into the environment a minor proteinase with unknown functions, further classified as a zinc-dependent metalloproteinase. The uniqueness of the discovery lies in the fact that the enzyme under study combines classification features of two different metalloproteinases families of the metzinkin clan – astacins and adamalysins, consisting mainly of multidomain eukaryotic proteins. Identified metalloproteinase of *B. pumilus* (MprBp) is the first bacterial homologue enzyme of eukaryotic astacins and adamalysins among the extracellular proteinases of bacilli.

To study the functions of this enzyme in the bacterial cell and to find potential applications for it, a sufficient amount of pure protein is needed. For example, it is important for characteristic of three-dimensional structure. This requires an efficient expression system. In preliminary studies, the *B. pumilus* metalloproteinase gene (*mprBp*) was cloned into pGP382 expression vector under the strong constitutive promoter of the *degQ36* gene ( $P_{degQ36}$ ) and transformed into protease-deficient *Bacillus subtilis* strains: BG2036; BRB08; BRB14 with 2, 9, and 11 deleted genes of extracellular proteases, and into *B. subtilis* Δ6 strain obtained by deletion of some prophage genes of the wild type *B. subtilis* 168 strain by using the CRISPR/Cas9 genome editing system.

The aim of this work was to compare the expression of *B. pumilus* metalloproteinase in CRISPR/Cas9-edited and protease-deficient strains of *B. subtilis*. Expression of *mprBp* in protease-deficient *B. subtilis* strains is characterized by a sharp increase, showing a peak, followed by an equally sharp drop to almost zero values in the later stages of cultivation. There was also a certain gradient depending on changes in the expression pattern and the number of deleted genes. Expression of *mprBp* in the CRISPR/Cas9-edited *B. subtilis* Δ6 strain, in contrast to the protease-deficient strains, begins in the early stages of cultivation, demonstrating a smooth increase up to the peak and then an equally smooth decrease as the culture dies out.

As a result of this work the expression of the *mprBp* gene in genome-edited *B. subtilis* strains was studied, which can be used in the production of the enzyme for subsequent studies.

This work was supported by the RFBR grant (Russian Foundation for Basic Research) №22-16-00138.

**Предполагаемый механизм нивелирования гербицидного стресса растений  
бактериями *Pseudomonas plecoglossicida***

Худайгулов Г.Г., Стариков С.С., Четвериков С.П.  
Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, г. Уфа  
[bio-logos@yandex.com](mailto:bio-logos@yandex.com)

Активное использование гербицидов для защиты с/х культур от сорных растений является причиной появления устойчивых к их действию сорняков. В связи с этим аграрии вынуждены превышать рекомендуемые дозы. Однако такая практика неизбежно влечет накопление ядохимикатов, как в биомассе культивируемых растений, так и в почве, нанося при этом урон микробиоте почвы и вызывая гербицидный стресс у возделываемых культур, приводя к снижению их урожайности. Таким образом, поиск микроорганизмов, способных к деструкции гербицидов как одному из способов снижения стресса культивируемых растений, является актуальной научной и практической задачей. Ранее нами был выделен и охарактеризован штамм бактерий *Pseudomonas plecoglossicida* 2,4-D, определены оптимальные параметры роста и состав питательной среды, установлена его толерантность по отношению как к хлорсодержащим (Октапон, Дикамба), так и хлор- и фторсодержащим (Флоракс) гербицидам и способность синтезировать ИУК в их присутствии.

Цель данной работы: определить возможность деструкции 2,4-D и способность использовать данное вещество в качестве единственного источника углерода бактериями *P. plecoglossicida* 2,4-D, как предполагаемый механизм нивелирования гербицидного стресса растений. Штамм выращивался на среде Раймонда следующего состава (г/л): Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – 0,1; MgSO<sub>4</sub> – 0,2; FeSO<sub>4</sub> – 0,02; CaCl<sub>2</sub> – 0,01; MnSO<sub>4</sub> – 0,02; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 3,3; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,5; NH<sub>4</sub>Cl – 3,0 и 2,4-D в концентрации 100 мг/л. Культивирование проводилось в лабораторном ферментере объемом 12 л при коэффициенте заполнения 0,5. Параметры культивирования: аэрация - 0,5 объема воздуха в 1 мин на 1 объем среды, перемешивание 180 об/мин, температура 28°C, продолжительность культивирования 72 ч. Каждые 24 часа определялась оптическая плотность КЖ методом спектрофотометрии (590 нм) и концентрация 2,4-D при помощи ВЭЖХ. После внесения инокулята коэффициент экстинкции составил - 0,044, концентрация 2,4-D – 100 мг/мл. Через 24 часа убыль субстрата составила 9%, оптическая плотность при этом увеличилась до 0,335. Через 48 и 72 часов количество субстрата уменьшилось на 44,8% и 73,6%, соответственно. При этом наблюдалось уменьшение оптической плотности до D=0,2 (48 ч) и ее величина оставалось постоянной до конца эксперимента.

Таким образом, показана способность штамма бактерий *P. plecoglossicida* 2,4-D, наряду с секрецией фитогормонов, нивелировать гербицидный стресс у культивируемых растений путем разложения оставшейся после воздействия на сорняки 2,4-D и тем самым предотвращать её поступление в с/х продукцию.

Исследование выполнено по теме № 122031000309-7 Гос. Задания Минборнауки РФ.

**Supposed mechanism of plant herbicide stress mitigation by *Pseudomonas plecoglossicida* bacteria**

Hkudaygulov G.G., Starikov S.S., Chetverikov S.P.  
Ufa Institute of Biology of the USC RAS, Ufa  
[bio-logos@yandex.com](mailto:bio-logos@yandex.com)

The active use of herbicides to protect agricultural crops from weeds is the reason for the appearance of weeds resistant to their action. In this regard, farmers are forced to overestimate the recommended doses. However, this practice inevitably leads to the accumulation of pesticides, both in the biomass of cultivated plants and in the soil, causing damage to the soil microbiota and causing herbicidal stress in cultivated crops, leading to a decrease in their yield. Thus, the search for microorganisms capable of destroying herbicides as one of the ways to reduce the stress of cultivated plants is an urgent scientific and practical task. Previously, we isolated and characterized a strain of bacteria *Pseudomonas plecoglossicida* 2,4-D, determined its optimal growth parameters and the composition of the nutrient medium, established its tolerance to both chlorine-containing (Octapone, Dicamba) and chlorine- and fluorine-containing (Florax) herbicides and the ability to synthesize IAA in their presence.

The purpose of this work is to determine the possibility of destruction of 2,4-D and the ability to use this substance as the sole carbon source by *P. plecoglossicida* 2,4-D, as a supposed mechanism for mitigating herbicidal stress of plants. The strain was grown on Raymond's medium of the following composition (g/l): Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> – 0.1; MgSO<sub>4</sub> – 0.2; FeSO<sub>4</sub> – 0.02; CaCl<sub>2</sub> – 0.01; MnSO<sub>4</sub> – 0.02; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 3.3; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1.5; NH<sub>4</sub>Cl – 3.0 and 2,4-D at a concentration of 100 mg/l. Cultivation was carried out in a laboratory fermenter with a volume of 12 liters with a filling factor of 0.5. Cultivation parameters: aeration - 0.5 volumes of air per 1 min per 1 volume of medium, stirring 180 rpm, temperature 28 ° C, cultivation duration 72 hours. The culture liquid optical density was determined every 24 hours by spectrophotometry method (590 nm) and the concentration of 2,4-D using HPLC method. After inoculation, the extinction coefficient was 0.044, the concentration of 2,4-D was 100 mg/ml. After 24 hours, the substrate loss was 9%, while the optical density increased to 0.335. After 48 and 72 hours, the amount of substrate decreased by 44.8% and 73.6%, respectively. At the same time, a decrease in the optical density to D = 0.2 (48 h) was observed and its value remained constant until the end of the experiment.

Thus, along with the secretion of phytohormones, the ability of the *P. plecoglossicida* 2,4-D bacterial strain to mitigate herbicidal stress in cultivated plants by decomposing the 2,4-D remaining after treatment of weeds and thereby prevent its entry into agricultural products is shown.

The study was carried out within the framework of the State Tasks of the Ministry of Education and Science of Russia on the topic No. 122031000309-7.

**Влияние легкой пластовой нефти на численность и биоразнообразие  
аборигенных нефтеокисляющих почвенных бактерий**

Худокормов А.А., Шаталина Е.С., Самков А.А., Волченко Н.Н., Моисеева Е.В.  
ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, г. Краснодар  
sashokas@yandex.ru

Особое внимание в современном мире уделяется процессам биологического восстановления биоразнообразия почв, загрязнённых нефтепродуктами. При разливах нефти и нефтепродуктов биорекультивация проводится не сразу, некоторое время аборигенное микробное сообщество подвергается воздействию нефтепродуктов, что может приводить к угнетению либо интенсификации тех или иных метаболических процессов. В связи с этим было решено изучить влияние небольших концентраций легкой пластовой нефти месторождения «Новое» ОАО «Приазовнефть» на численность и биоразнообразие аборигенных нефтеокисляющих штаммов микроорганизмов почв. В процессе работы для исследования в Темрюкском районе вблизи нефтегазопровода было отобрано 5 образцов почв различных типов. Содержание аборигенной нефтеокисляющей микробиоты в образцах почвы № 1 и № 3 составляло  $10^4$  КОЕ/г, в образцах почвы № 2 и № 5 –  $10^5$  КОЕ/г, в образце почвы № 4 –  $10^6$  КОЕ/г. Образец почвы № 3 содержал наибольшее биоразнообразие аборигенной нефтеокисляющей микробиоты – 9 культур, наименьшее – в образце почвы № 4 – было обнаружено 4 различных культуры нефтеокисляющих бактерий. Затем в пять образцов почв внесли 1 % стерильной легкой пластовой нефти и в течение 96 часов производили аэрацию и увлажнение, после чего оценивали биоразнообразие и количество аборигенных нефтеокисляющих микроорганизмов. Повторно исследуя образцы почвы, путем подсчета колониеобразующих единиц нефтеокисляющих микроорганизмов и оценивая их биоразнообразие на плотной минеральной среде с добавлением 1 % нефти. В образцах почв № 1, № 2 и № 5 под воздействием легкой нефти численность жизнеспособных нефтеокисляющих микроорганизмов снизилась в 10 раз, в то время как в образцах № 4 и № 6 осталась без изменений. Биоразнообразие нефтеокисляющих бактерий в образце почвы № 1, уменьшилось на 30 %, а в образце № 2 на 50 %, в то время как в остальных образцах почв отмечалось увеличение биоразнообразия: в образце почвы № 3 – на 50 %, в образце почвы № 4 – на 100 %, в образце почвы № 5 – на 40 %. Таким образом, легкая пластовая нефть вызывала существенные изменения в численности биоразнообразии почвенной микрофлоры, оказывая как токсическое, так и стимулирующее действие, что объясняется индивидуальными особенностями почвенного микробиома.

**Influence of some commercial oil-oxidizing biological preparations on biodiversity and  
oil-oxidizing activity of native soil bacteria**

Khudokormov A.A., Shatalina E.S., Samkov A.A., Volchenko N.N., Moiseeva E.V.  
Kuban State University, Krasnodar  
sashokas@yandex.ru

Special attention in the modern world is paid to the processes of biological restoration of the biodiversity of soils contaminated with petroleum products. In case of oil and petroleum product spills, biorecultivation is not carried out immediately, for some time the indigenous microbial community is exposed to petroleum products, which can lead to the suppression or intensification of certain metabolic processes. In this regard, it was decided to study the effect of small concentrations of light reservoir oil from the «Novoye» field of JSC «Priazovneft» on the abundance and biodiversity of indigenous oil-oxidizing strains of soil microorganisms. In the process of work, 5 soil samples of various types were selected for research in the Temryuk district near the oil and gas pipeline. The content of the native oil-oxidizing microbiota in soil samples № 1 and № 3 was  $10^4$  CFU/g, in soil samples № 2 and № 5 –  $10^5$  CFU/g, in soil sample № 4 –  $10^6$  CFU/g. Soil sample № 3 contained the greatest biodiversity of the native oil-oxidizing microbiota – 9 cultures, the smallest – in soil sample № 4 – 4 different cultures. Then, 1 % of sterile light reservoir oil was added to five soil samples and aeration and humidification were performed for 96 hours, after which the biodiversity and the number of native oil-oxidizing microorganisms were evaluated. Re-examining soil samples by counting colony-forming units of oil-oxidizing microorganisms and assessing their biodiversity on a dense mineral medium with the addition of 1 % oil. In soil samples № 1, № 2 and № 5, under the influence of light oil, the number of viable oil-oxidizing microorganisms decreased by 10 times, while in samples № 4 and № 6 remained unchanged. The biodiversity of oil-oxidizing bacteria in soil sample № 1 decreased by 30 %, and in sample № 2 by 50 %, while in other soil samples there was an increase in biodiversity: in soil sample № 3 – by 50 %, in soil sample № 4 – by 100 %, in soil sample № 5 – by 40 %. Thus, light reservoir oil caused significant changes in the abundance and biodiversity of the soil microflora, exerting both toxic and stimulating effects, which is explained by the individual characteristics of the soil microbiome.

**Использование некоторых микробных препаратов при биологической очистке почвы, загрязнённой легкой нефтью**

Худокормов А.А., Шаталина Е.С., Карасёва Э.В., Моисеева Е.В., Круглова М.Н.  
ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, г. Краснодар  
sashokas@yandex.ru

Биоремедиация на данный момент является наиболее быстрым, действенным, эффективным и экологически безопасным методом восстановления почв. Биоремедиация подразумевает активацию аборигенной микрофлоры, либо внесение биопрепаратов и удобрений в нефтезагрязнённую почву. Интродукция входящих в состав биопрепарата штаммов, позволяет улучшить деградативный потенциал аборигенной микрофлоры, за счет горизонтального переноса генетической информации. Стимулирующее действие биопрепаратов на разложение нефтепродуктов повышает численность бактерий, участвующих в круговороте веществ, что приводит к нормализации природного биоразнообразия микроорганизмов в почве и восстановлению её плодородия. Однако, эффективность биопрепаратов может существенно меняться в зависимости от качественного и количественного состава углеводородного загрязнителя. В связи с этим было решено проверить эффективность некоторых распространённых биопрепаратов в отношении лёгкой нефти. Исследования проводились со следующими углеводородоксилирующими биопрепаратами: «Бионэтик», «EcoSave», «Дестройл», «МД», «DOP-UNI», «Микрозим(tm) Петро Трит», «Bioxymin oil», «Multibac active». В целях сравнительной оценки углеводородоксилирующей активности представленных биопрепаратов проводили посев их растворов (однократных разведений) в среду с добавлением 1 % легкой нефти, углеводородный состав которой на 81 % был представлен фракциями C<sub>4</sub>-C<sub>19</sub>, фракции C<sub>20</sub>-C<sub>25</sub> составляли 14 %, а содержание фракций от C<sub>26</sub> и выше не превышало 5 %. Моделирование процесса биологической очистки проводили при температуре 25 °C течение 144 часов. Препарат «Bioxymin oil» показал наименьшую эффективность окисления легкой нефти и статистически значимо не отличался от контроля. Положительные результаты также показали биопрепараты «Микрозим(tm) Петро Трит» использование которого приводило к деструкции 75 % нефти и препараты «DOP-UNI», и «Дестройл» которые разрушали от 25 до 50 % нефти. Удовлетворительную нефтеоксилирующую способность продемонстрировали препараты «Multibac active» и «МД», которые за время эксперимента снизили концентрацию нефтепродуктов в среде на 25 %. Наибольшую эффективность деструкции продемонстрировали препараты «EcoSave» и «Бионэтик», внесение которых приводило к полной элиминации внесённой нефти в количестве 1 % за 144 часа. Таким образом при выборе биопрепарата для повышения эффективности биоремедиации и сокращения её сроков представляется целесообразным проведение предварительного моделирования процесса очистки в лабораторных условиях.

**The use of certain biopreparations in the biological treatment of soil contaminated with light oil**

Khudokormov A.A., Shatalina E.S., Karaseva E.V., Moiseeva E.V., Kruglova M.N.  
Kuban State University, Krasnodar  
sashokas@yandex.ru

Bioremediation is currently the fastest, most efficient, effective and environmentally friendly method of soil restoration. Bioremediation manifests the activation of native microflora, or the introduction of biopreparations and fertilizers into oil-contaminated soil. The introduction, which is part of the biopreparations of strains, improves the degradative potential of the native microflora, due to the horizontal transfer of genetic information. The stimulating effect of biopreparations on the decomposition of petroleum products has an impact on the environment, which leads to the normalization of the growth of biodiversity in the soil and an increase in its productivity. However, the effectiveness of biopreparations can vary significantly depending on the quality and composition of the hydrocarbon pollutant. In this regard, it was decided to test the detection performance of some biologicals in relation to the impact on oil. The study of the content of hydrocarbon-oxidizing biopreparations: «Bionetic», «EcoSave», «Destroyle», «MD», «DOP-UNI», «Mikrosim (tm) Petro Trit», «Bioxymin oil», «Multibac active». In the course of identifying the identified assessment of the hydrocarbon-oxidizing activity of the presented biopreparations, their solutions (single dilutions) were sown in atmospheric air with the addition of 1% softness of oil, the hydrocarbon composition of which was 81 % represented by C<sub>4</sub>-C<sub>19</sub> fractions, the proportions of C<sub>20</sub>-C<sub>25</sub> are 14 %, the content of fractions from C<sub>26</sub> and above did not exceed 5 %. Simulation of the process of biological water treatment at a temperature of 25 °C for 144 hours. «Bioxymin oil» showed less efficacy of increased metabolism, and the detection rate did not differ from the control. Positive results are also shown by the indicators of the biopreparations «Mikrozim (tm) Petro Trit» with the use of which led to the destruction of 75 % of the oil and the preparations «DOP-UNI», and «Destroyle», which make up from 25 to 50 % of the oil. Satisfactory oil-oxidizing potent presentation of the preparations «Multibac active» and «MD», which decompose samples of oil products in the environment by 25 % during the experiment. The highest destruction efficiency was demonstrated by «EcoSave» and «Bionetic» biopreparations, the introduction of which led to the complete elimination of the winning share of 1 % in 144 hours. Thus, when choosing the effectiveness of biopreparations for the study of bioremediation and reducing its duration, the proposed conduct of the proposed treatment in the laboratory.



**DFR - ключевой ген антоцианового биосинтеза у растений семейства Капустных**

Хуснутдинов Э.А., Артюхин А.Е., Михайлова Е.В.  
 Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа  
 mikhele@list.ru

Дигидрофлавонол-4-редуктаза (DFR) является ключевым ферментом антоцианового биосинтеза. Она катализирует превращение дигидрофлавонолов в лейкоантоцианидины, тогда как конкурирующий фермент - флавонол синтаза FLS - катализирует превращение дигидрофлавонолов во флавонолы. Биосинтез антоцианов хорошо изучен в декоративных растениях, таких как петунья и львиный зев. У таких видов ген *DFR* обычно представлен несколькими копиями, и в неокрашенных тканях его транскрипты отсутствуют. Перспективность исследования функций этого гена в растениях семейства Капустных обусловлена наличием всего одной его копии во многих хозяйственно-ценных видах, таких как репа, горчица и капуста. Особенности биосинтеза антоцианов во многих из них до сих пор не изучены, хотя пурпурные сорта Капустных повсеместно распространены.

Для исследования было использовано 43 сорта видов *Brassica oleracea* L., *Brassica napus* L., *Brassica juncea* L. и *Brassica rapa* L., из которых 22 были описаны производителями как антоциановые. Высокая консервативность гена *DFR* позволила подобрать универсальные праймеры для определения уровня его экспрессии во всех перечисленных видах. Содержание антоцианов было измерено спектрофотометрически.

В целом содержание антоцианов положительно коррелировало с содержанием транскриптов гена *DFR*, однако имелись значительные видовые и даже подвидовые особенности. Наиболее высокими эти показатели были у антоциановых сортов японской капусты мицуна (*Brassica rapa* ssp. *nipposinica*). Экспрессия гена *DFR* у этих образцов почти в 2 раза превышала экспрессию референсных генов. Более высокое содержание антоцианов и транскриптов гена *DFR* обнаруживалось в краснокочанной капусте и брюссельской капусте, тогда как пурпурные сорта капусты кольраби и рапса отличались меньшими значениями этих показателей. Тем не менее, транскрипты гена *DFR* присутствовали у всех растений, что свидетельствует о функциональности гена и обусловленности антоциановой окраски регуляторными механизмами, включающими разнообразные транскрипционные факторы.

Полученные данные говорят о ключевой роли гена *DFR* в биосинтезе антоцианов у Капустных, что позволяет использовать его в качестве мишени для генной инженерии и геномного редактирования.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда №20-74-10053.

**DFR is a key gene of anthocyanin biosynthesis in Brassicaceae**

Khusnutdinov E.A., Artyukhin A.E., Mikhaylova E.V.  
 Institute of biochemistry and genetics UFRC RAS, Ufa  
 mikhele@list.ru

Dihydroflavonol-4-reductase (DFR) is a key enzyme in anthocyanin biosynthesis. It catalyzes the conversion of dihydroflavonols to leucoanthocyanidins, while a competing enzyme, flavonol synthase FLS, catalyzes the conversion of dihydroflavonols to flavonols. The biosynthesis of anthocyanins has been well studied in ornamental plants such as petunia and snapdragon. In these species, the *DFR* gene is usually represented by several copies, and its transcripts are absent in unpigmented tissues. Investigation of the functions of this gene in *Brassicaceae* plants is expedient due to the presence of its single copy in many economically valuable crops, such as turnip, mustard, and cabbage. Anthocyanin biosynthesis pathway have not yet been studied in many of them, although the purple varieties of *Brassicaceae* are commercially-available worldwide.

We studied 43 varieties of *Brassica oleracea* L., *Brassica napus* L., *Brassica juncea* L. and *Brassica rapa* L., of which 22 were described by manufacturers as purple. The *DFR* gene was highly conserved among them, which made it possible to select universal primers to determine the level of its expression in all of the listed species. The content of anthocyanins was measured spectrophotometrically.

In general, the content of anthocyanins positively correlated with the content of *DFR* gene transcripts, however, there were significant differences between species and even subspecies. These indicators were the highest in purple varieties of Japanese cabbage Mitsuna (*Brassica rapa* ssp. *nipposinica*). The expression of the *DFR* gene in these samples was almost 2 times higher than the expression of reference genes. A higher content of anthocyanins and *DFR* gene transcripts was also found in purple headed cabbage and brussels sprouts, while purple varieties of kohlrabi and rapeseed had lower values of these parameters. Nevertheless, *DFR* gene transcripts were present in all plants, which indicates the functional activity of the gene and suggest that the regulation of anthocyanin biosynthesis depends on the regulatory mechanisms, including various transcription factors.

These data indicate the key role of the *DFR* gene in the biosynthesis of anthocyanins in *Brassicaceae*, which makes it a good target for genetic engineering and genome editing.

The reported study was funded by Russian Science Foundation according to the research project №20-74-10053.

**Математическое моделирование связи устойчивости картофеля к биотическому и абиотическому стрессу с активностью гидролитических ферментов и их ингибиторов, состоянием про-/антиоксидантной системы и уровнем экспрессии генов PR-белков**

<sup>1</sup>Цветков В.О., <sup>2</sup>Черепанова Е.А., <sup>2</sup>Бурханова Г.Ф., <sup>2</sup>Сорокань А.В., <sup>2</sup>Заикина Е.А.,  
<sup>1</sup>Хабидуллина В.О., <sup>1,2</sup>Яруллина Л.Г.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, г. Уфа

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа

[zv347@yandex.ru](mailto:zv347@yandex.ru)

Исследовали взаимосвязь формирования защитных реакций растений картофеля к возбудителю фитофтороза и недостатку влаги с активностью гидролитических ферментов и их ингибиторов, состоянием про-/антиоксидантной системы, содержанием пролина и уровнем экспрессии генов защитных белков. Растения, выращенные из микроклубней сорта Ранняя Роза, обрабатывали суспензией бактерий *Bacillus subtilis* и их сочетанием с салициловой и жасмоновой кислотами. Через 3 дня после обработки растения инфицировали оомицетом *P. infestans* и культивировали в условиях искусственно создаваемой почвенной засухи путем сокращения полива. Выявлена достоверная зависимость между пораженностью и активностью амилаз, содержанием ингибиторов протеаз, амилаз, целлюлаз, уровнем экспрессии гена PR-6 (ингибитор протеаз) в условиях недостатка влаги. Зависимость активности ингибиторов амилаз от пораженности является более выраженной, что может быть связано с более высокой специфичностью растительных ингибиторов к собственным ферментам, по сравнению с гидролазами патогена. В целом, уровни экспрессии генов пролинсинтазы и PR-6, а также антигидролитическая активность, проявляют наиболее выраженную связь между собой и со степенью пораженности растений. В зараженных *P. infestans* растениях в условиях нормальной влажности наблюдалась крайне высокая корреляция уровней экспрессии генов PR-1, PR-5, PR-6 и пролинсинтазы. Можно заключить, что в отсутствие абиотического стресса в ответ на заражение патогеном активируется экспрессия множества PR-генов и синтез белков, тогда как в условиях недостатка влаги в ответ на заражение патогеном активируется лишь часть этих процессов. Уровни экспрессии PR-5 и пролинсинтазы и активность ингибиторов амилаз имели сходный характер изменений при обработке бактериями и сигнальными молекулами. Усиление экспрессии гена основного антимикробного белка PR-1, а также гена PR-5 и последующее проявление активности ингибитора протеазы могут рассматриваться как общие пути реализации устойчивости растений картофеля, активирующиеся под влиянием обработки бактериями и сигнальными молекулами как при абиотическом, так и биотическом стрессе.

Работа выполнялась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-516-00005.

**Mathematical modeling of the relationship of potato resistance to biotic and abiotic stress with the activity of hydrolytic enzymes and their inhibitors, state of the pro-/antioxidant system, and the level of expression of PR-protein genes**

<sup>1</sup>Tsvetkov V.O., <sup>2</sup>Cherepanova E.A., <sup>2</sup>Burkhanova G.F., <sup>2</sup>Sorokan A.V., <sup>2</sup>Zaikina E.A.,

<sup>1</sup>Khabibullina V.O., <sup>1,2</sup>Yarullina L.G.

<sup>1</sup>Bashkir State University, Ufa

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa

[zv347@yandex.ru](mailto:zv347@yandex.ru)

The relationship between the formation of defense reactions of potato plants to late blight pathogen and lack of moisture with the activity of hydrolytic enzymes and their inhibitors, the state of the pro-/antioxidant system, the content of proline, and the level of expression of protective protein genes was studied. Plants grown from microtubers were treated with a suspension of *Bacillus subtilis* bacteria and their combination with salicylic and jasmonic acids. 3 days after treatment, the plants were infected with the oomycete *P. infestans* and cultivated under conditions of artificially created soil drought by reducing watering. A significant relationship was found between the damage degree and activity of amylases, content of proteases, amylases, cellulases inhibitors, and the level of expression of the PR-6 gene (protease inhibitor) under conditions of lack of moisture. The dependence of the activity of amylase inhibitors on damage is more pronounced, which may be due to the higher specificity of plant inhibitors to their own enzymes compared to pathogen hydrolases. In general, the expression levels of proline synthase and PR-6 genes, as well as antihydrolytic activity, show the most pronounced relationship between themselves and with the degree of plant damage. In *P. infestans*-infected plants under normal humidity conditions, an extremely high correlation was observed in the expression levels of the PR-1, PR-5, PR-6 genes and proline synthase. It can be concluded that, in the absence of abiotic stress, expression of many PR genes and protein synthesis are activated in response to infection with a pathogen, while under conditions of a lack of moisture, only a part of these processes are activated in response to infection with a pathogen. The expression levels of PR-5 and proline synthase and the activity of amylase inhibitors had a similar pattern of changes upon treatment with bacteria and signaling molecules. Increased expression of the gene of the main antimicrobial protein PR-1, as well as the PR-5 gene and the subsequent manifestation of the activity of proteases inhibitors can be considered as common ways of implementing the resistance of potato plants, which are activated under the influence of treatment with bacteria and signal molecules under both abiotic and biotic stress.

The work was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research and the Belarusian Republican Foundation for Basic Research within the framework of scientific project No. 20-516-00005.

**Биопрепараты для растений на основе бинарных бактериально-грибных культур**<sup>1</sup>Цивилева О.М., <sup>1</sup>Шатерников А.Н., <sup>1</sup>Евсеева Н.В., <sup>2</sup>Денисова А.Ю., <sup>2</sup>Ткаченко О.В.<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов,

ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», г. Саратов

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова», г. Саратов

tsivileva@ibppm.ru

Высшие грибы - ксилотрофные базидиомицеты ценны как продукты питания и источник биологически активных и лекарственных соединений, поэтому исследования возможной оптимизации их искусственного культивирования по-прежнему актуальны. Внедрение биологических способов стимуляции роста мицелия и защиты его от посторонней микрофлоры позволило бы улучшить технологию выращивания. Бактерии родов *Azospirillum*, *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, представители группы ризосферных бактерий, стимулируют рост и развитие растений посредством фиксации атмосферного азота, гормональной регуляции и других факторов. Отмечается бактерицидная и фунгицидная активность азоспирилл, псевдомонад, ризобий и др. в отношении некоторых бактерий и микроскопических грибов. В бинарных бактериально-грибных культурах вклад бактериального ассоцианта заключается в стимулировании роста базидиомицетов, усилении их защитных сил против контаминирующей микрофлоры путем изменения редокс-статуса, активности ферментов, ответственных за быстрое освоение лигноцеллюлозного субстрата грибом, усиленной биопродукции метаболитов с антибактериальными и антигрибковыми свойствами.

Метаболиты высших грибов-базидиомицетов как продуцентов разнообразных биологически активных веществ могли бы составить значительную часть природных регуляторов роста растений. Однако потенциально значительный вклад исследования макромицетов в расширение спектра и повышение эффективности использования биостимуляторов не соответствует состоянию изученности вопроса. Данные о фитостимуляторах грибного происхождения в литературе практически отсутствуют. В настоящей работе проведена оценка влияния препаратов, полученных на основе внеклеточных метаболитов съедобных и/или лекарственных высших грибов при их сокультивировании с бактериями, стимулирующими рост растений, на физиолого-морфологические параметры проростков пшеницы.

Работа частично поддержана грантом Российского научного фонда (№ 22-24-00415).

**Biopreparations for plants produced with binary bacterial-mushroom cultures**<sup>1</sup>Tsivileva O.M., <sup>1</sup>Shaternikov A.N., <sup>1</sup>Evseeva N.V., <sup>2</sup>Denisova A.Yu., <sup>2</sup>Tkachenko O.V.<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,

Saratov Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, Saratov

<sup>2</sup>Vavilov Saratov State Agrarian University, Saratov

tsivileva@ibppm.ru

Mushrooms, the macromycetes flora representatives, play significant role as food and biological subjects capable of producing a lot of physiologically active compounds. From a viewpoint of biotechnological potentialities, of interest are selected factors of biological origin that promote the growth of wild-scale cultivated basidiomycetes. Bacteria from the genera *Azospirillum*, *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* are rhizospheric microorganisms that enhance plant growth and development via nitrogen fixation, hormone production, and other factors. Worthy to mention is bactericidal and fungicidal activity of azospirilla, pseudomonads, rhizobia and others against several bacteria and lower micromycetes. In binary fungal-bacterial cultures, the bacterial associant's contribution comprises the stimulation of basidiomycetes growth, enhancement of their defensive power vs the contaminating microflora by means of changes in redox-status, the activity of enzymes responsible for fast mushroom's developing on the lignocellulose substrate, the enhanced bioproduction of metabolites with antibacterial and antifungal properties.

Commercially versatile, highly metal tolerant, with large biomass and metabolites yield easy-to-handle, mushroom cultures suit well for the production of a wide range of phytostimulating agents. The most promising applications of mycosynthesized biomaterials in agriculture include among others the development of formulations based on the fungal-bacterial co-cultures, for crop yield improvement and for control of phytopathogenic infections. In the current work, estimation of the influence of preparations derived from the extracellular metabolites of nutritional and/or medicinal mushrooms at their co-culture with the plant-growth-promoting bacteria, on the physiological and morphological parameters of wheat plants was carried out.

This work was conducted with the support of the Russian Science Foundation (grant no. 22-24-00415)

**Пектины в симбиотических клубеньках бобовых растений**Цыганова А.В., <sup>1</sup>Селиверстова Е.В., <sup>2</sup>Бревин Н., <sup>1</sup>Цыганов В.Е.<sup>1</sup> ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
г. Санкт-Петербург.<sup>2</sup>Центр Джона Иннеса, г. Норидж, Великобритания.

avtsyganova@arriam.ru

Клеточные стенки и плазматические мембраны вовлечены в обмен веществ между бобовыми растениями и ризобиями, эффективность которого достигается благодаря развитию обширной контактной поверхности между хозяином и микросимбиотом — симбиотического интерфейса. Один из основных компонентов клеточной стенки — пектин играет важную роль в становлении и функционировании растительно-микробного интерфейса в клубеньках бобовых растений. Впервые с использованием иммуноцитохимического анализа проведено всестороннее изучение различных видов пектинов в клеточных стенках азотфиксирующих клубеньков двух видов бобовых, *Pisum sativum* и *Medicago truncatula*. Функция гомогалактуронана в клубеньках определяется степенью его метилирования. Показано, что гомогалактуронан с низкой степенью метилирования участвует в повышении жесткости клеточных стенок и стенок инфекционных нитей, особенно при неэффективном взаимодействии с ризобиями. Высоко метилэтерифицированный гомогалактуронан присутствует на всех стадиях развития клубенька, что определяется изотропным ростом инфицированных клеток. Локализация рамногалактуронана I с помощью антител к его остову и галактановым и арабиановым боковым цепям продемонстрировала наличие рамногалактуронана I у обоих изученных видов. При этом выявлена видоспецифичность локализации и распределения в клубеньках низко метилэтерифицированного и связанного с Ca<sup>2+</sup> гомогалактуронана, галактановых боковых цепей рамногалактуронана I. В клубеньках обоих видов показано практически полное отсутствие ксилогалактуронана и увеличенное его содержание по сравнению с диким типом в клубеньках у мутантов *M. truncatula efd* и *ipd3*. Таким образом, развитие симбиотического клубенька сопровождается онтогенетическими и видоспецифичными модификациями симбиотического интерфейса: в клеточных стенках изменяется степень метилирования молекул гомогалактуронанов, модифицируются боковые цепи и блочный характер остова рамногалактуронана I.

Работа поддержана РФФ 16-16-00135.

**Pectins of legume symbiotic nodules**<sup>1</sup>Tsyganova A.V., <sup>1</sup>Seliverstova E.V., <sup>2</sup>Brewin N.J., <sup>1</sup>Tsyganov V.E.<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg.<sup>2</sup>John Innes Centre, Norwich, UK.

avtsyganova@arriam.ru

Cell walls and plasma membranes are involved in the metabolism between legume plants and rhizobia, the efficiency of which is achieved due to the development of a large contact surface between the host and the microsymbiont, the symbiotic interface. One of the main components of the cell wall, pectin, plays an important role in the formation and functioning of the plant-microbial interface in the legume nodules. For the first time, using immunocytochemical analysis, a comprehensive study of various types of pectins in the cell walls of nitrogen-fixing nodules of two legume species, *Pisum sativum* and *Medicago truncatula*, was carried out. The function of homogalacturonan in nodules is determined by the degree of its methylation. It has been shown that homogalacturonan with a low degree of methylation is involved in increasing the rigidity of cell walls and the walls of infection threads, especially during ineffective interaction with rhizobia. High methylesterified homogalacturonan is present at all stages of nodule development, which is determined by the isotropic growth of infected cells. Localization of rhamnogalacturonan I with antibodies to its backbone and galactan and arabinan side chains demonstrated the presence of rhamnogalacturonan I in both studied species. At the same time, species-specific localization and distribution in nodules of low methylesterified and Ca<sup>2+</sup>-bound homogalacturonan, galactan side chains of rhamnogalacturonan I was revealed. The nodules of both species showed an almost complete absence of xylogalacturonan and its increased content in the nodules of *M. truncatula efd* and *ipd3* mutants compared to the wild type. Thus, the development of a symbiotic nodule is accompanied by ontogenetic and species-specific modifications of the symbiotic interface: the degree of methylation of homogalacturonan molecules in the cell walls is changed, the side chains and the blockwise character of rhamnogalacturonan I backbone are modified.

The work was supported by RSF 16-16-10035.

**Молекулярные и клеточные ответы симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.) на действие повышенной температуры — ключевого стресс-фактора глобального изменения климата**

<sup>1,2</sup>Цыганов В.Е., <sup>1</sup>Серова Т.А., <sup>1</sup>Китаева А.Б., <sup>1</sup>Кусакин П.Г., <sup>1</sup>Горшков А.П., <sup>1</sup>Селивёрстова Е.В., <sup>1</sup>Цыганова А.В.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
г. Санкт-Петербург.

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский научный центр РАН, г. Санкт-Петербург.

[vetsyganov@arriam.ru](mailto:vetsyganov@arriam.ru)

Глобальное потепление является одним из главных вызовов, стоящих перед сельским хозяйством. Известно, что высокая температура может оказывать негативное влияние на развитие растений. Тем не менее, исследования воздействия теплового стресса на бобово-ризобияльный симбиоз очень ограничены. С использованием линии гороха SGE было показано, что под воздействием повышенной температуры (28°C) индуцируется аномальный тип старения в апикальной, а не базальной части клубенька. Воздействие повышенной температуры в течение 5 суток приводило к выраженным ультраструктурным изменениям инфицированных клеток клубеньков гороха в виде дегенеративных изменений ядер и симбиосом. Транскриптомный анализ клубеньков линии SGE, подвергавшихся действию повышенной температуры в течение 1-х, 5-ти и 9-ти суток, выявил изменения в дифференциальной экспрессии генов, связанных с действием повышенной температуры. Анализ экспрессии серии маркерных генов, ассоциированных со старением клубенька, показал максимум их экспрессии в клубеньках, подвергнутых воздействию теплового стресса в течение 9-ти суток. Для исследования физиологической обратимости морфологических изменений клубеньков после температурной обработки был осуществлен перенос растений, подвергавшихся воздействию повышенной температуры (28°C) в течение 3-х и 5-ти суток, обратно в условия оптимальной температуры (21°C). Выращивание перенесенных растений на 21°C проводилось в течение 7-ми суток. В случае снятия воздействия повышенной температуры, оказываемого на протяжении 3-х суток, наблюдалось розовое окрашивание апикальной части клубеньков, т. е. наблюдалась частичная обратимость морфологических изменений. В то же время экспозиция растений в течение 5-ти суток приводила к необратимым изменениям организации клубеньков. Таким образом, было продемонстрировано, что повышенная температура индуцирует новый тип старения симбиотического клубенька в его апикальной части.

Работа поддержана РФФ 21-16-00117.

**Molecular and cellular responses of symbiotic nodules of pea (*Pisum sativum* L.) to high temperature, a key stress factor of global climate change**

<sup>1,2</sup>Tsyganov V.E., <sup>1</sup>Serova T.A., <sup>1</sup>Kitaeva A.B., <sup>1</sup>Kusakin P.G., <sup>1</sup>Gorshkov A.P., <sup>1</sup>Seliverstova E.V., <sup>1</sup>Tsyganova A.V.

<sup>1</sup>All-Russia Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg.

<sup>2</sup>Saint-Petersburg Scientific Center RAS, St. Petersburg.

[vetsyganov@arriam.ru](mailto:vetsyganov@arriam.ru)

Global warming is one of the main challenges facing agriculture. It is known that high temperatures can have a negative impact on plant development. However, research on the effects of heat stress on legume-rhizobium symbiosis is very limited. Using the SGE pea line, it was shown that under the influence of elevated temperature (28°C) an abnormal type of senescence is induced in the apical rather than the basal part of the nodule. Exposure to elevated temperature for 5 days led to pronounced ultrastructural changes in infected pea nodule cells in the form of degenerative changes in nuclei and symbiosomes. Transcriptomic analysis of nodules of the SGE line exposed to elevated temperatures for 1, 5, and 9 days revealed changes in the differential expression of genes associated with elevated temperatures. Analysis of the expression of a series of marker genes associated with nodule senescence showed their maximum expression in nodules exposed to heat stress for 9 days. To study the physiological reversibility of morphological changes in nodules after thermal treatment, plants exposed to elevated temperatures (28°C) for 3 and 5 days were transferred back to 21°C. The transferred plants were grown at 21°C for 7 days. Removing the effect of elevated temperature after 3 days treatment manifested in pink coloration of the apical part of the nodules, i.e. partial reversibility of morphological changes was observed. At the same time, exposure of plants for 5 days led to irreversible changes in nodule organization. Thus, it was demonstrated that elevated temperature induces a new type of senescence of the symbiotic nodule in its apical part.

The work was supported by RSF (21-16-00117).

### Скрининг штаммов вируса гранулёза *C. pomonella* из БРК ФГБНУ ФНЦБЗР

Цыгичко А.А., Асатурова А.М.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Федеральный научный центр биологической защиты растений», г. Краснодар  
23612361@inbox.ru

Популяции вредителей-фитофагов в естественных условиях контролируются энтомопатогенами, в том числе бакуловирусами. Контроль численности *Cydia pomonella*, L., 1758 может осуществляться с помощью вируса гранулёза *C. pomonella*. Высокоэффективные энтомопатогенные штаммы вирусов можно использовать как биоинсектициды. При изучении свойств микроорганизмов основным этапом является скрининг. Цель работы – скрининг штаммов вируса гранулёза *C. pomonella* по критерию инсектицидной активности.

Работу проводили с использованием материально-технической базы УНУ «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения» (<https://ckp-rf.ru/usu/671367>). Объекты исследования – 22 штамма вируса гранулёза *C. pomonella* из Биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов». Суспензию на основе исследуемых штаммов получали по общепринятым методикам работы с бакуловирусами. Титр суспензий в вариантах составил не менее  $1 \times 10^7$  гранул/мл. Эталоном являлся Мадекс Твин, СК (CpGV). В качестве тест-объекта брали гусениц лабораторной популяции *Galleria mellonella*, L., 1758 3-5 возраста. Инокуляцию осуществляли поверхностным методом на питательную среду. В контроле использовали дистиллированную воду. Насекомых содержали при температуре +28-30 °C и влажности 70-80 %. Повторность опыта трехкратная, по 15 гусениц в каждой повторности. Инсектицидную активность вычисляли по формуле Хендерсона-Тилтона. Достоверность результатов по отношению к контролю вычисляли с помощью критерия Дункана (Statistica 10). Обнаружено, что наибольшей инсектицидной активностью в отношении *G. mellonella* обладают штаммы BZR GV 14, BZR GV L-1, BZR GV L-7, их эффективность на 10е сутки составила от 18,2 % до 22,7 %. Так как эксперимент был заложен в зимний период, низкую эффективность можно объяснить в том числе и сезонными факторами. Эффективность эталона Мадекс Твин, СК (CpGV) составила 4,5-7,5 % на 10е сутки. Столь низкая эффективность объясняется тем, что большая восковая моль не является насекомым-мишенью для штамма-продуцента эталона. Получены достоверные различия данных в вариантах с применением суспензий на основе штаммов BZR GV L-1 (3и и 10е сутки) и BZR GV L-7 (5е-10е сутки). В ходе эксперимента у насекомых наблюдали внешние признаки вироза (разжижение внутренних тканей и органов, изменение цвета внешних покровов), что свидетельствует о протекании патологического процесса. Исследования выполнены согласно Государственному заданию Министерства науки и высшего образования РФ в рамках НИР по теме № FGRN-2022-0005.

### Screening of strains of the *C. pomonella granulosa* virus from the DBK FSBSI FRCBPP

Tsygichko A.A., Asaturova A.M.

Federal State Budgetary Institution «Federal Scientific Center for Biological Plant Protection», Krasnodar  
23612361@inbox.ru

Populations of phytophagous pests in natural conditions are controlled by entomopathogens, including baculoviruses. The control of the number of *Cydia pomonella*, L., 1758 can be carried out with the help of the *C. pomonella granulosa* virus. Highly effective entomopathogenic virus strains can be used as bioinsecticides. When studying the properties of microorganisms, the main stage is screening. The aim of the work is screening of *C. pomonella granulosa* virus strains according to the criterion of insecticidal activity.

In this research, we used the scientific equipment «Technological line for obtaining microbiological plant protection products of a new generation» (<https://ckp-rf.ru/usu/671367/>). The objects of the study are 22 strains of *C. pomonella granulosa* virus from the bioresource collection of the Federal Research Center of Biological Plant Protection "State Collection of Entomoacariphages and Microorganisms". Suspension based on the studied strains was obtained according to generally accepted methods of working with baculoviruses. The titer of the suspensions in the variants was at least  $1 \times 10^7$  granules/ml. The standard was Madex Twin (CpGV). Caterpillars of the laboratory population of *Galleria mellonella*, L., 1758 of 3-5 years of age were taken as a test object. Inoculation was carried out by the surface method on a nutrient medium. Distilled water was used in the control. Insects were kept at a temperature of +28-30 °C and a humidity of 70-80%. The repetition of the experiment is threefold, with 15 caterpillars in each repetition. Insecticidal activity was calculated using the Henderson-Tilton formula. The reliability of the results in relation to the control was calculated using the Duncan criterion (Statistica 10). It was found that the strains BZR GV 14, BZR GV L-1, BZR GV L-7 have the greatest insecticidal activity against *G. mellonella*, their effectiveness on the 10th day ranged from 18,2% to 22,7%. Since the experiment was started in winter, the low efficiency can be explained, among other things, by seasonal factors. The effectiveness of the standard Madex Twin (CpGV) was 4,5-7,5% on day 10th. Such low efficiency is explained by the fact that the large wax moth is not a target insect for the strain-producer of the standard. Significant data differences were obtained in variants using suspensions based on strains BZR GV L-1 (3rd and 10th days) and BZR GV L-7 (5th-10th days). During the experiment, external signs of virosis were observed in insects (dilution of internal tissues and organs, discoloration of external integuments), which indicates the course of a pathological process.

The research was carried out in accordance with the State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of research on the topic No FGRN-2022-0005.

**Воздействие микробного препарата и минеральных удобрений  
на количественный состав аминокислот в зерне озимой пшеницы**

Чайковская Л.А., Овсиенко О.Л., Клименко Н.Н., Баранская М.И.

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», г.Симферополь  
ludachaika@mail.ru

При оценке качества пищевого зерна злаков важное значение занимает клейковина, белок и его аминокислотный состав: особенно незаменимые аминокислоты, которые не синтезируются в организме человека. Известно, что для повышения урожайности и качества зерна злаковых культур применяют большие дозы минеральных удобрений. Однако их внесение приводит к нежелательным эффектам, в частности загрязнению окружающей среды. В связи с этим возникает проблема частичной замены минеральных удобрений альтернативными приемами, одним из которых является применение микробных препаратов в современных технологиях культивирования растений. Цель наших исследований заключалась в исследовании влияния микробного препарата (основа бактерия *Lelliottia nimipressuralis* ССМ 32-3) и минеральных удобрений (Аммофос) на качество зерна озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): содержание клейковины, белка и аминокислот. Анализ результатов 3-летних полевых опытов показал, что наиболее высокие показатели получены при совместном использовании микробного препарата и минеральных удобрений из расчета  $P_{30}$ . Предпосевная инокуляция семян способствовала достоверному увеличению зерновой продуктивности на 31,5% по сравнению с контролем. При этом в зерне повышалось содержание белка и клейковины: до 12,5% и 28,0% против 10,8% и 21,2% в контроле соответственно. Суммарное содержание аминокислот в зерне пшеницы при совмещении инокуляции и удобрений (из расчета  $P_{30}$ ) также было наибольшим по сравнению с вариантами без инокуляции: на 52%(контроль без удобрений), 29%( $P_{30}$ ), 17%( $P_{60}$ ) и 10% ( $P_{90}$ ) соответственно.

**The effect of microbial preparation and mineral fertilizers  
on the quantitative composition of amino acids in winter wheat grain**

Chaikovskaya L.A., Ovsienko O.L., Klimenko N.N., Baranskaya M.I.

FSBSI "Research Institute of Agriculture of Crimea", Simferopol  
ludachaika@mail.ru

When assessing the quality of food grains of cereals, gluten, protein and its amino acid composition are of great importance: especially essential amino acids that are not synthesized in the human body. It is known that large doses of mineral fertilizers are used to increase the yield and quality of grain of cereals. However, their introduction leads to undesirable effects, in particular environmental pollution. In this regard, there is a problem of partial replacement of mineral fertilizers with alternative methods, one of which is the use of microbial preparations in modern plant cultivation technologies. The purpose of our research was to study the effect of a microbial preparation (the basis of the bacterium *Lelliottia nimipressuralis* CCM 32-3) and mineral fertilizers (Ammophos) on the quality of winter wheat grain (*Triticum aestivum* L.) – the content of gluten, protein and amino acids. The analysis of the results of 3-year field experiments showed that the highest indicators were obtained by the combined use of a microbial preparation and mineral fertilizers at the rate of  $P_{30}$ . Pre-sowing inoculation of seeds contributed to a significant increase in grain productivity by 31.5% compared to the control. At the same time, the content of protein and gluten in the grain increased: up to 12.5% and 28.0% against 10.8% and 21.2% in the control, respectively. The total content of amino acids in wheat grain when combining inoculation and fertilizers (based on  $P_{30}$ ) was also the highest compared to the variants without inoculation: by 52% (control without fertilizers), 29% ( $P_{30}$ ), 17% ( $P_{60}$ ) and 10% ( $P_{90}$ ), respectively.

**Эндобитные бактерии – перспективный ресурс для создания новых  
микробиологических препаратов для защиты и питания растений**  
Чеботарь В.К., Ганчева М.С., Чижевская Е.П., Пищик В.Н., Заплаткин А.Н.,  
Келейникова О.В., Баганова М.Е.

ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург  
vladchebotar@rambler.ru

Эндобиты - это микроорганизмы, которые колонизируют здоровые ткани растений, не вызывая никаких симптомов заболевания. В эндобитном взаимодействии микробы выполняют косвенную функцию по контролю вредного воздействия фитопатогенов на здоровье растений и почвы посредством синтеза многих веществ, включая иммунодепрессанты, ферменты, антибиотики, цианистый водород (HCN) и аммиак. Эндобиты усиливают рост растений за счет фиксации атмосферного азота, фосфора, калия и цинка и способствуют выработке хелатных молекул и секреции различных фитогормонов (фитостимуляция), таких как ауксины, этилен, гиббереллины и цитокины. В результате реализации проекта Научный центр мирового уровня «Агротехнологии будущего» разрабатываются технологии производства и применения линейки новых микробиологических препаратов эндобитных бактерий для питания растений в современных интенсивных агротехнологиях и органическом сельском хозяйстве. Использование эндобитных микроорганизмов позволит поставлять необходимые вещества и продукты непосредственно своим хозяевам растениям. Получены опытные образцы микробиологических препаратов, обеспечивающих питание и защиту растений. Показано, что опытные образцы микробиологических препаратов обладают ростстимулирующей активностью (разведение 1:300) – от 10 до 34% по сравнению с контролем. Изучена фунгицидная активность опытных образцов против фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani*. Показано, что опытные образцы обладали фунгицидной активностью – зоны ингибирования роста фитопатогенных грибов составляли 6-18 мм по сравнению с контролем. Результаты вегетационных опытов на салате показали эффективность трех штаммов эндобитных бактерий. Урожай растений увеличивался на 14,7-118,9%. Наибольшее увеличение биомассы растений показал вариант, обработанный штаммом W006. Данные вегетационного опыта на яровой пшенице показали эффективность трех штаммов эндобитных бактерий. Урожай зерна увеличивался на 3,5-30,9%. Наибольшее увеличение урожая зерна показал вариант, обработанный штаммом W004.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-320 от 20.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

**Endophytic bacteria are a promising resource for the development of new  
microbiological preparations for the protection and nutrition of plants**  
Chebotar V.K., Gancheva M.S., Chizhevskaya E.P., Pischik V.N., Zaplatkin A.N.,  
Keleynikova O.V., Baganova M.E.

All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg  
vladchebotar@rambler.ru

Endophytes are microorganisms that colonize healthy plant tissues without causing any symptoms of the disease. In endophytic interaction, microbes perform an indirect function to control the harmful effects of phytopathogens on plant and soil health through the synthesis of many substances, including immunosuppressants, enzymes, antibiotics, hydrogen cyanide (HCN) and ammonia. Endophytes enhance plant growth by fixing atmospheric nitrogen, phosphorus, potassium and zinc and promote the production of chelate molecules and the secretion of various phytohormones (phytostimulation), such as auxins, ethylene, gibberellins and cytokines. As a result of the implementation of the World-class Scientific Center "Agrotechnologies of the Future" project, technologies for the production and application of a line of new microbiological preparations of endophytic bacteria for plant nutrition in modern intensive agrotechnologies and organic agriculture are being developed. The use of endophytic microorganisms will allow to supply the necessary substances and products directly to hosts plants. Experimental samples of microbiological preparations providing nutrition and plant protection were obtained. It is shown that experimental samples of microbiological preparations have growth-stimulating activity (dilution 1:300) - from 10 to 34% compared with the control. The fungicidal activity of experimental samples against phytopathogenic fungi of the genera *Fusarium*, *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani* was studied. It was shown that the experimental samples had fungicidal activity - the zones of inhibition of the growth of phytopathogenic fungi were 6-18 mm compared with the control. The results of pot experiments on lettuce have shown the effectiveness of three strains of endophytic bacteria. The crop yield increased by 14.7-118.9%. The greatest increase in plant biomass was shown by the variant treated with strain W006. The data of the growing experiment on spring wheat showed the effectiveness of three strains of endophytic bacteria. Grain yield increased by 3.5-30.9%. The greatest increase in grain yield was shown by the variant treated with strain W004.

This work was made with support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in accordance with agreement No 075-15-2022-320 of April 16, 2022 on providing a grant in the form of subsidies from the Federal budget of Russian Federation. The grant was provided for state support for the creation and development of a World-class Scientific Center "Agrotechnologies for the Future".



**Бактериальный штамм для защиты сельскохозяйственных растений, чувствительных к сульфонилмочевинным препаратам, от гербицидного стресса**

Четверикова Д.А., Бакаева М.Д., Кенджиева А.А., Четвериков С.П.

Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, г. Уфа

chelab007@yandex.ru

Несоблюдение регламента применения гербицидов и специфические свойства некоторых типов почв могут приводить к длительной персистенции этих соединений в почве и негативном влиянии на последующие культуры севооборота. Биологические стимуляторы роста растений все чаще используются как один из элементов современных агротехнологий.

Цель нашего исследования: оценка влияния ростстимулирующих бактерий *Pseudomonas protegens* DA 1.2 на рост и окислительный стресс растений рапса (*Brassica napus* L.) при их выращивании в почве, загрязненной гербицидом Наномет на основе метсульфурон-метила. Бактериальный штамм *P. protegens* DA1.2 был выделен авторами и депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов как ВКМ В-3542D. Семена рапса сорта Купол высевались в грунт, взятый из пахотного слоя чернозема, который был загрязнен гербицидом Наномет в концентрациях 0,1 мг/кг (рекомендованная доза) и 0,5 мг/кг (имитация превышения рекомендованной дозы) и хранился при комнатной температуре и влажности почвы 60-80%. Половина растений обрабатывалась суспензией бактерий *P. protegens* DA1.2. Контролем служила почва без какой-либо обработки. Эксперимент проводили в сроки 3, 6, 9 и 12 месяцев выдержки почвы. На каждом сроке оценивали изменение веса растений и содержание малонового диальдегида (МДА), который определяли спектрофотометрическим методом по реакции с тиобарбитуровой кислотой. К шестому месяцу экспозиции при загрязнении 0,1 мг/кг и обработке бактериями, вес листьев вышел на уровень контрольных значений. На той же почве без бактерий растения не отличались весом от контрольных только на двенадцатый месяц эксперимента. При сочетании 0,5 мг/кг гербицида и бактерий вес растений был сопоставим с чистым контролем через год экспозиции почвы и был выше на 51,6%, чем в соответствующем варианте без бактерий. Применение бактерий *P. protegens* DA1.2 способствовало нормализации содержания МДА в листьях рапса. Добавление бактерий снижало этот показатель на 12,5-33,0% у растений, высаженных в почву с рекомендованной дозой гербицида. В случае внесения в почву 0,5 мг/кг Наномета разница между вариантами опыта с обработкой бактериями и без нее составляла 9,8-33,4%. Таким образом, *P. protegens* DA1.2. может быть использован в качестве антидота гербицида Наномет при выращивании рапса, в связи с его положительным действием на состояние растений, которое выражалось в улучшении их роста и защите от окислительного стресса.

Исследование выполнено по теме № 122031000309-7 Гос. Задания Минборнауки РФ с использованием оборудования РЦКП УФИЦ РАН «Агидель».

**Bacterial strain to protect agricultural plants sensitive to sulfonylurea preparations from herbicidal stress**

Chetverikova D.A., Bakaeva M.D., Kendjieva A.A., Chetverikov S.P.

Ufa Institute of Biology of the USC RAS, Ufa

chelab007@yandex.ru

Non-compliance with the regulations for the use of herbicides and the specific properties of certain soils can lead to long-term persistence of these compounds in the soil and a negative impact on subsequent crops. Biological plant growth stimulators are increasingly being used as one of the elements of modern agricultural technologies.

The purpose of our study was to assess the effect of growth-stimulating bacteria *Pseudomonas protegens* DA1.2 on the growth and oxidative stress of rapeseed (*Brassica napus* L.) plants when they were grown in soil contaminated with the herbicide Nanomet based on metsulfuron-methyl. The bacterial strain *P. protegens* DA 1.2 was isolated by the authors and deposited in the All-Russian Collection of Microorganisms as VKM B-3542D. Rapeseed seeds (Kupol variety) were sown in soil taken from the arable layer of chernozem, which was contaminated with the herbicide Nanomet in concentrations of 0.1 mg/kg (recommended dose) and 0.5 mg/kg (imitation of dose excess) and stored at room temperature and soil humidity of 60-80%. Half of the plants were treated with a suspension of *P. protegens* DA1.2. The control was soil without any treatment. The experiment was carried out in terms of 3, 6, 9 and 12 months of soil aging. At each term, the change in plant weight and the amount of malondialdehyde (MDA) were evaluated, which was determined by the spectrophotometric method by reaction with thiobarbituric acid. By the sixth month of exposure, with 0.1 mg/kg Nanomet and treatment with bacteria, the weight of the leaves reached the level of control values. On the same soil without bacteria, the plants did not differ in weight from the control ones only for the twelfth month of the experiment. With a combination of 0.5 mg/kg of herbicide and bacteria, the weight of plants was comparable to the net control after a year of soil exposure and was 51.6% higher than in the corresponding variant without bacteria. The use of bacteria *P. protegens* DA1.2 contributed to the normalization of the MDA amount in rapeseed leaves. The addition of bacteria reduced this indicator by 12,5-33,0% in plants planted in the soil with the recommended dose of herbicide. In the case of applying 0.5 mg/kg of Nanomet to the soil, the difference between the variants of the experiment with and without bacteria was 9,8-33,4%. Thus, *P. protegens* DA1.2. can be used as an antidote of the herbicide Nanomet in the cultivation of rapeseed, due to its positive effect on the condition of plants, which was expressed in improving their growth and protection from oxidative stress.

The study was carried out within the framework of the State Tasks of the Ministry of Education and Science of Russia on the topic No. 122031000309-7 using the equipment of the RCUC of the UFRC RAS "Agidel".

**Совместимый с гербицидами биопрепарат «АГРОБИОЛОГ» для нейтрализации стрессов растений, повышения их урожайности и качества зерна**

Четвериков С.П.

Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, г. Уфа  
che-kov@mail.ru

Перспективным направлением повышения эффективности агроэкосистем является внедрение в технологию возделывания сельскохозяйственных культур бактериальных препаратов нового типа, совместимых с гербицидами и предназначенных для повышения урожайности зерновых культур за счет смягчения стрессов, вызванных гербицидами и засушливыми периодами. Целью работы была оценка влияния биопрепарата «АГРОБИОЛОГ» на повышение продуктивности и улучшение качества урожая яровой пшеницы в условиях гербицидного стресса на фоне засухи. В основе разработки Лаборатории агробиологии УИБ УФИЦ РАН биопрепарата «АГРОБИОЛОГ» - штамм бактерий *Pseudomonas protegens* DA1.2 (VKM B-3542D), способных нивелировать пестицидный стресс. Штамм устойчив к гербицидам, обладает ростстимулирующими и антистрессовыми свойствами. Культивирование в оптимизированных условиях в ферментерах объемом 1000 л позволяет достичь титра не менее  $6,0 \cdot 10^9$  КОЕ/мл препарата. Эксперименты проводились в 2019-2021 гг. в Зауральской степной зоне (Баймакский р-н Республики Башкортостан) в условиях засухи. Объект исследования - мягкая яровая пшеница (*Triticum aestivum* L.) сорт Экада 112. Для химической прополки использовали гербициды разных химических классов: 1) Чисталан на основе 2,4-Д и дикамбы; 2) Наномет - метсульфурон-метила; 3) Октапон - 2,4-Д. Растения пшеницы опрыскивали в фазе третьего листа растворами в регламентированных концентрациях. Биопрепарат в виде суспензии добавляли в баковую смесь с гербицидом. Показано, что обработка биопрепаратом «АГРОБИОЛОГ» в баковой смеси с гербицидами растений пшеницы повышает ее урожайность с 13,9 ц/га (в контроле) на 20% без снижения качества зерна. Гербициды снижали содержание протеина (35%) и количество клейковины (10%) в зерне, внесение биопрепарата повышало эти показатели качества выше контрольного уровня (до 45 и 18 % соответственно). Индекс деформации клейковины в вариантах с биопрепаратом был в пределах 72,2-74,5 ед. ИДК, что характерно для 1 группы. Получаемое в результате обработки биопрепаратом зерно относится к 1 классу качества по ГОСТ 9353-2016, гербицидные обработки снижали его качество до 3 класса, а введение в баковую смесь бактерий повышало до 2 класса. Помимо воздействия на биохимические механизмы стресса у растений, бактерии биопрепарата «АГРОБИОЛОГ» способны к фиксации атмосферного азота, мобилизации фосфора, синтезу ауксинов и борьбе с болезнями, что обуславливает его высокий потенциал коммерциализации для нивелирования стрессов с/х растений при использовании в различных климатических зонах, в т.ч. в условиях экстремального земледелия. Исследование выполнено по теме № 122031000309-7 Гос. Задания Минобрнауки РФ.

**Compatible with herbicides biological product "AGROBIOLOG" for neutralizing plant stresses, increasing yield and grain quality**

Chetverikov S.P.

Ufa Institute of Biology of the USC RAS, Ufa  
che-kov@mail.ru

Perspective trend for improving the efficiency of agroecosystems is the introduction of a new type of bacterial products compatible with herbicides into the technology of cultivation of agricultural crops and designed to increase the yield of grain crops by mitigating stress caused by herbicides and periods of drought. The aim of the work was to assess the impact of the biological product "AGROBIOLOG" on increasing productivity and improving the quality of the spring wheat crop under herbicidal stress during background drought. The basis of the product "AGROBIOLOG" of the Laboratory of Agrobiological of the UIB of the USC RAS is a strain of *Pseudomonas protegens* DA1.2 bacteria (VKM B-3542D) capable of mitigating pesticide stress. The strain is resistant to herbicides, has growth-stimulating and anti-stress properties. Cultivation under optimized conditions in fermenters with a volume of 1000 liters makes it possible to achieve a titer of at least  $6.0 \cdot 10^9$  CFU/ml. The experiments were conducted in 2019-2021 in the Trans-Ural steppe zone (Baymasksky district of the Republic of Bashkortostan) under drought conditions. The object of the study was soft spring wheat (*Triticum aestivum* D.) grade Ekada 112. Herbicides of different chemical classes were used for chemical weeding: 1) Chistalan based on 2,4-D and dicamba; 2) Nanometh - metsulfuron-methyl; 3) Octapone - 2,4-D. Wheat plants were sprayed in the phase of the third leaf with solutions in recommended by the manufacturer concentrations. The biological product in the form of a suspension was added to the tank mixture with a herbicide. It has been shown that treatment with the biological product "AGROBIOLOG" in a tank mixture with herbicides of wheat plants increases its yield from 13.9 c/ha (in the control) by 20% without reducing the quality of grain. Herbicides reduced the protein content (35%) and the amount of gluten (10%) in the grain, the introduction of a biological product increased these quality indicators above the control level (up to 45 and 18%, respectively). The gluten deformation index in the variants of the biological product was in the range of 72.2-74.5 GDI units, which is typical for group 1. The grain obtained as a result of treatment with a biological product belongs to the 1st quality class according to GOST 9353-2016, herbicidal treatments reduced its quality to class 3, and the introduction of bacteria into the tank mixture increased it to class 2. In addition to affecting the biochemical mechanisms of stress in plants, the bacteria of the biological product "AGROBIOLOG" are capable of fixing atmospheric nitrogen, mobilizing phosphorus, synthesizing auxins and resisting diseases, which causes its high potential for commercialization to mitigate the stresses of agricultural plants when used in various climatic zones, including in conditions of extreme agriculture. The study was carried out within the framework of the State Tasks of the Ministry of Education and Science of Russia on the topic No. 122031000309-7.

**Влияние почвенных штаммов *Pseudomonas* sp. на устойчивость растений люцерны *Medicago sativa* L. к действию ионов кадмия**

<sup>1</sup>Чумакова А.К., <sup>1,2</sup>Чубукова О.В., <sup>1</sup>Симороз Е.В., <sup>1,2</sup>Масленникова Д.Р., <sup>1,2</sup>Хакимова Л.Р.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Уфимский государственный нефтяной технический университет, г. Уфа.

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа.

ankch1999@gmail.com

Тяжёлые металлы, содержащиеся в почве, способны негативно сказаться на росте растений и впоследствии нанести вред здоровью человека. Одним из решений данной проблемы является использование ростостимулирующих ризобактерий PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), обладающих способностью уменьшать вредное воздействие тяжёлых металлов на растения. Известно, что подобные микроорганизмы описаны среди бактерии *Pseudomonas* sp. В данной работе было проведено исследование влияния почвенных штаммов *Pseudomonas* sp. 2.4.1 и 17НМ на ростовые параметры и пигментный состав листьев растений люцерны посевной (*Medicago sativa* L.) при наличии 500 мкМ ионов кадмия в среде. Для этого семена, обработанные бактериями, проращивали на чашках Петри в присутствии ионов кадмия. Ростовые параметры растений измеряли на третий и седьмой день, а пигменты на седьмой день эксперимента. Присутствие бактерий на семенах люцерны посевной приводило к улучшению роста растений на кадмии, так показатели сухой биомассы растений, обработанных *Pseudomonas* sp. 2.4.1, были больше на 7 %, а *Pseudomonas* sp. НМ17 – на 9 % по сравнению с контрольными необработанными бактериями растениями на кадмии. Длина проростков, полученных из семян, обработанных штаммами *Pseudomonas* sp. 2.4.1 и *Pseudomonas* sp. НМ17 увеличилась на 15 % и 22 %, соответственно, по сравнению с контролем. Анализ системы пигментов (Хл<sub>а</sub> – хлорофилла, Хл<sub>б</sub> – хлорофилл b, Кар – каротиноиды), содержащихся в листьях исследованных растений, позволил охарактеризовать потенциальные возможности фотосинтеза. В контрольном образце содержание пигментов в листьях составляло – Хл<sub>а</sub> 0,4922 ± 0,030, Хл<sub>б</sub> 0,1846 ± 0,054, Кар 0,1309 ± 0,012, в листьях растений, полученных из семян, инокулированных бактериями *Pseudomonas* sp. 2.4.1 – Хл<sub>а</sub> 0,5516 ± 0,016, Хл<sub>б</sub> 0,1212 ± 0,047, Кар 0,1641 ± 0,016, а *Pseudomonas* sp. НМ17 – Хл<sub>а</sub> 0,9239 ± 0,048, Хл<sub>б</sub> 0,2789 ± 0,042, Кар 0,2460 ± 0,020. Увеличение содержания хлорофилла в листьях, особенно с участием *Pseudomonas* sp. НМ17, свидетельствует об обеспечении более высокого уровня фотосинтеза, что отражается в большем накоплении сухой биомассы этих растений. В обоих случаях наблюдалось повышение уровня каротиноидов на 25,36 % (*Pseudomonas* sp. 2.4.1) и 87,93% (*Pseudomonas* sp. 17НМ), что расширяет спектр поглощения сине-зелёного света и способствует стабильному протеканию фотосинтеза и повышению его эффективности. Полученные результаты свидетельствуют в пользу того, что почвенные штаммы *Pseudomonas* sp. 2.4.1 и 17НМ повышают устойчивость растений люцерны к действию ионов кадмия.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки России (№ АААА-А21-121011990120-7, «Евразийский карбоновый полигон» на 2022-2023 годы FEUR-2022-0001) с использованием оборудования ЦКП «Агидель» и УНУ «Кодинк» УФИЦ РАН.

**The effect of soil strains of *Pseudomonas* sp. on the resistance of alfalfa plants *Medicago sativa* L. to the action of cadmium ions**

<sup>1</sup>Chumakova A.K., <sup>1,2</sup>Chubukova O.V., <sup>1</sup>Simoroz E.V., <sup>1,2</sup>Maslennikova D.R., <sup>1,2</sup>Khakimova L.R.

<sup>1</sup>Ufa State Petroleum Technological University, Ufa.

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa.

ankch1999@gmail.com

Heavy metals contained in the soil can adversely affect plant growth and subsequently harm human health. One of the solutions to this problem is the use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), which have the ability to reduce the harmful effects of heavy metals on plants. Such microorganisms are known to be described among the bacterium *Pseudomonas* sp. In this work, we studied the effect of soil strains of *Pseudomonas* sp. 2.4.1 and 17 HM on growth parameters and pigment composition of leaves of alfalfa (*Medicago sativa* L.) plants in the presence of 500 µM cadmium ions in the medium. To do this, the seeds treated with bacteria were germinated on Petri dishes in the presence of cadmium ions. Plant growth parameters were measured on the third and seventh days, and pigments on the seventh day of the experiment. The presence of bacteria on the seeds of alfalfa led to an improvement in the growth of plants on cadmium, so the indicators of dry biomass of plants treated with *Pseudomonas* sp. 2.4.1 were 7% higher, and *Pseudomonas* sp. НМ17 - by 9% compared to control untreated plants on cadmium. The length of seedlings obtained from seeds treated with strains of *Pseudomonas* sp. 2.4.1 and *Pseudomonas* sp. НМ17 increased by 15% and 22%, respectively, compared to control. Analysis of the system of pigments (Chl<sub>a</sub> - chlorophyll a, Chl<sub>b</sub> - chlorophyll b, Car - carotenoids), contained in the leaves of the studied plants, made it possible to characterize the potential possibilities of photosynthesis. In the control sample, the content of pigments in the leaves was Chl<sub>a</sub> 0.4922 ± 0.030, Chl<sub>b</sub> 0.1846 ± 0.054, Car 0.1309 ± 0.012, in the leaves of plants obtained from seeds inoculated with *Pseudomonas* sp. 2.4.1 – Chl<sub>a</sub> 0.5516 ± 0.016, Chl<sub>b</sub> 0.1212 ± 0.047, Car 0.1641 ± 0.016, and *Pseudomonas* sp. НМ17 – Chl<sub>a</sub> 0.9239 ± 0.048, Chl<sub>b</sub> 0.2789 ± 0.042, Car 0.2460 ± 0.020. An increase in the content of chlorophyll in leaves, especially with the participation of *Pseudomonas* sp. НМ17 indicates a higher level of photosynthesis, which is reflected in the greater accumulation of dry biomass of these plants. In both cases, an increase in the level of carotenoids by 25.36% (*Pseudomonas* sp. 2.4.1) and 87.93% (*Pseudomonas* sp. 17 HM) was observed, which expands the absorption spectrum of blue-green light and contributes to the stable flow of photosynthesis and increase its efficiency. The results obtained indicate that the soil strains of *Pseudomonas* sp. 2.4.1 and 17 HM increase the resistance of alfalfa plants to the action of cadmium ions.

The work was carried out within the framework of the state order of the Ministry of Education and Science of Russia (no. АААА-А21-121011990120-7, "Eurasian carbon polygon" for 2022-2023 FEUR-2022-0001) with using the instrument park of the RCCU "Agidel" and "KODINK" UFRC RAS.

**Генетические основы биотехнологии получения гаплоидов у кукурузы**

Чумаков М.И.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов,

ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», г. Саратов

chumakov\_m@ibppm.ru

В докладе приведен анализ литературы по истории получения и изучения матроклинических гаплоидов (гиногенезе) у кукурузы. Гаплоидные растения у кукурузы могут получаться при различных аномалиях оплодотворения. Одним из приемов более быстрого получения гомозиготных линий у кукурузы является использование в качестве опылителей, так называемых линий-гаплоиндукторов, при опылении пыльцой которых в потомстве возникают гаплоидные растения. Приведены экспериментальные данные о генах, связанных с образованием матроклинических гаплоидов (*PLA1(mtl, nld)*, *BBM*, *CENH3*, *DMP*) у кукурузы. Рассмотрена возможная связь гиногенеза и слияния мембран гамет у кукурузы и генах, связанных с взаимодействием гамет (*HAP2/GCSI*, *GEX2*). Механизм возникновения гаплоидов у растений тесно связан с процессами оплодотворения и эмбриогенеза. Рассматриваются проблемы спонтанного и индуцированного деления яйцеклетки и центральной клетки, факторы и гены, влияющие на этот процесс. В частности, описаны факторы и гены, ответственные за дерепрессию хроматина, метилирование и активацию транскрипции ДНК.

**Genetic background for haploid-inducing maize line biotechnology**

Chumakov M.I.

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,

Saratov Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Saratov

chumakov\_m@ibppm.ru

The report provides an analysis of the literature on the history of obtaining and studying matroclinic haploids (gynogenesis) in maize. The maize haploid plants can be obtained as a result of the fertilization anomalies. One of the fast method for maize homozygous lines obtaining is using of so-called haploinductor lines as pollinators. Experimental data on genes (*PLA1(mtl, nld)*, *BBM*, *CENH3*, *DMP*) associated with the of matroclinic haploid formation are analyzed. A possible connection between gynogenesis and maize gamete membranes interactions and genes (*HAP2/GCSI*, *GEX2*) associated with gamete interactions are considered. The problems of spontaneous and induced division of the egg and the central maize cell, factors and genes affecting this process are considered. The mechanism of maize haploid-induction is closely related to the fertilization and embryogenesis processes. In particular, the factors and genes responsible for chromatin derepression, methylation and activation of DNA transcription are described.

### Особенности корневой экссудации в патосистеме ячмень–*Fusarium culmorum*

<sup>1</sup>Шапошников А.И., <sup>1</sup>Шахназарова В.Ю., <sup>1</sup>Бородина Е.В., <sup>1</sup>Лебединский М.И., <sup>1</sup>Вишневская Н.А., <sup>1</sup>Сырова Д.С., <sup>2</sup>Ковалева О.Н., <sup>1</sup>Струнникова О.К.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург  
ai-shaposhnikov@mail.ru

Гриб *Fusarium culmorum* является факультативным фитопатогеном, способным поражать широкий круг растений. Колонизируя зерновые культуры, *F. culmorum* вызывает корневую и стеблевую гнили, а также фузариоз колоса. Вред, причиняемый грибом, заключается не только в снижении урожая и ухудшении качества зерна, но и его загрязнении микотоксинами.

Растение ячменя и ризосферные микроорганизмы, в том числе фитопатогенный гриб *F. culmorum*, являются компонентами единой растительно–микробной системы. Каждый компонент этой системы способен оказывать влияние друг на друга. Растение посредством корневых экссудатов влияет на микроорганизмы, которые, в свою очередь, влияют на состав и интенсивность корневой экссудации. Недостаточная изученность механизмов взаимоотношений между растением, фитопатогенными грибами и другими ризосферными микроорганизмами и отсутствие понимания роли каждого компонента, затрудняют формирование устойчивых к болезням продуктивных растительно–микробных систем. Целью исследований была оценка влияния фитопатогенного гриба *F. culmorum* на корневую экссудацию растений ячменя.

Как показали проведенные эксперименты, гриб при росте на корневых экссудатах восприимчивого к фузариозам генотипа ячменя (в эксперименте поражалось порядка 70% растений) наиболее активно потреблял глюкозу, молочную кислоту, фенилаланин и триптофан. В составе корневых экссудатов были выявлены ароматические карбоновые кислоты (вещества с антимикробной активностью) – сиреневая, 4-гидроксифенилуксусная, *p*-кумаровая, феруловая, *t*-коричная, ванилиновая, бензойная. Две из них ингибировали рост гриба (4-гидроксифенилуксусная и сиреневая). Гриб, колонизируя корни, влиял на общее количество корневых экссудатов ячменя. Присутствие гриба в корнях приводило к снижению содержания в ризосферном растворе количества низкомолекулярных органических кислот, сахаров и аминокислот и усилению экссудации фенолоксикислот.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00341.

### Characteristics of root exudation in the barley–*Fusarium culmorum* pathosystem

<sup>1</sup>Shaposhnikov A.I., <sup>1</sup>Shakhnazarova V.Yu., <sup>1</sup>Borodina E.V., <sup>1</sup>Lebedinsky M.I., <sup>1</sup>Vishnevskaya N.A., <sup>1</sup>Syrova D.S.,  
<sup>2</sup>Kovaleva O.N., <sup>1</sup>Strunnikova O.K.

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint-Petersburg, Pushkin, Russia

<sup>2</sup>N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Saint-Petersburg, Russia  
ai-shaposhnikov@mail.ru

The fungus *Fusarium culmorum* is a facultative phytopathogen capable of infecting a wide range of plants. By colonizing crops, *F. culmorum* causes root and stem rot, as well as ear fusarium. The harm caused by the fungus is not only a decrease in yield and deterioration in the quality of grain, but also its contamination with mycotoxins.

The barley plant and rhizospheric microorganisms, including the phytopathogenic fungus *F. culmorum*, are components of a single plant–microbe system. Each component of this system is able to influence each other. The plant, through root exudation, affects microorganisms, which, in turn, affect the composition and intensity of root exudation. Insufficient knowledge of the mechanisms of relationships between the plant, phytopathogenic fungi and other rhizospheric microorganisms and the lack of understanding of the role of each component make it difficult to form disease-resistant productive plant–microbe systems. The aim of the research was to evaluate the effect of the phytopathogenic fungus *F. culmorum* on the root exudation of barley plants.

As shown by the experiments, the fungus, when growing on root exudates of the barley genotype that susceptible to fusarium diseases (about 70% of plants were diseased in the experiment), most actively consumed glucose, lactic acid, phenylalanine and tryptophan. Aromatic carboxylic acids (substances with antimicrobial activity) were identified in the of root exudates – syringic, 4-hydroxyphenylacetic, *p*-coumaric, ferulic, *t*-cinnamic, vanillic, benzoic. Two of them inhibited the growth of the fungus (4-hydroxyphenylacetic and syringic). The fungus, colonizing the roots, affected the total amount of barley root exudates. The presence of the fungus in the roots led to decrease in the content of low molecular weight organic acids, sugars and amino acids in the rhizosphere solution and an increase in the exudation of aromatic carboxylic acids.

The study was supported by a grant from the Russian Science Foundation № 22-26-00341.

**Анализ хлоропластных и ядерных генетических маркеров Кужановских лиственниц  
- растений с уникальной формой кроны**

Шарифьянова Ю.В., Артюхин А.Е., Михайлова Е.В.  
Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа  
mikhele@list.ru

Кужановские лиственницы - уникальные охраняемые деревья, произрастающие в Абзелиловском районе Республики Башкортостан и имеющие необычную шарообразную форму кроны. В 2020 году вандалы попытались уничтожить деревья, подпилив их стволы, что особенно обострило проблему их охраны. По ряду предположений, Кужановские лиственницы могут происходить из других регионов. Уже был секвенирован полный хлоропластный геном различных видов лиственниц, что предоставляет обширные возможности для филогенетического анализа. К сожалению, недостаточность данных о ядерном геноме лиственниц и отсутствие аннотации генов, которые могут быть задействованы в формировании кроны у этого вида, не позволяют эффективно проводить поиск мутаций, которые могут быть непосредственно ассоциированы с необычным фенотипом.

Для выделения ДНК использовалась молодая хвоя 10 Кужановских лиственниц, а также 5 лиственниц, произрастающих в Абзелиловском и других районах Республики Башкортостан. Для исследования были выбраны ядерные маркеры ITS1 и ITS2, а также хлоропластные маркеры *trnH-psbA*, *psbK-psbI*, *rpoC1*, *rbcL* и *atpF-atpH*. Выбранные последовательности амплифицировали и секвенировали на приборе Applied biosystems 3500.

Полученные результаты подтвердили принадлежность всех образцов к виду *Larix sibirica*. В последовательности *atpF-atpH* была обнаружена уникальная однонуклеотидная замена A/G, которая не только не была характерна для лиственниц Республики Башкортостан, но и для образцов лиственниц из базы данных NCBI. Таким образом, только Кужановские лиственницы из всех на данный момент исследованных представителей этого вида имеют такую мутацию. Секвенирование остальных маркеров не выявило никаких отличий между исследованными образцами и образцами из базы данных NCBI.

Исследование выполнено при поддержке гранта в форме субсидий в области науки из бюджета Республики Башкортостан для государственной поддержки молодых ученых – аспирантов и кандидатов наук

**Analysis of chloroplast and nuclear genetic markers of Larches of Kuzhanovo  
- plants with a unique crown**

Sharifyanova Yu.V., Artyukhin A.Y. Mikhaylova E.V.  
Institute of biochemistry and genetics UFRC RAS, Ufa  
mikhele@list.ru

Larches of Kuzhanovo are unique protected trees with an unusual spherical crown shape growing in the Abzelilovsky district of the Republic of Bashkortostan. In 2020, vandals tried to destroy the trees by sawing their trunks, which particularly exacerbated the problem of their protection. It is supposed that Larches of Kuzhanovo may originate from other regions. The complete chloroplast genome of various larch species has already been sequenced, which provides extensive opportunities for phylogenetic analysis. Unfortunately, the lack of data on the larch nuclear genome and the lack of annotation of genes that may be involved in the formation of the crown in this species do not allow an effective search for mutations that can be directly associated with an unusual phenotype.

For DNA extraction, young leaves of 10 Larches of Kuzhanovo, as well as 5 larches growing in Abzelilovsky and other regions of the Republic of Bashkortostan, were used. Nuclear markers ITS1 and ITS2, as well as chloroplast markers *trnH-psbA*, *psbK-psbI*, *rpoC1*, *rbcL*, and *atpF-atpH* were chosen for the study. Amplification products were sequenced on an Applied biosystems 3500 instrument.

The results obtained confirmed that all samples belonged to the species *Larix sibirica*. A unique single nucleotide substitution A/G was found in the *atpF-atpH* sequence, which was not observed not only in larches of the Republic of Bashkortostan, but also larch samples from the NCBI database. Thus, only the Larches of Kuzhanovo of all currently studied representatives of this species have this mutation. Sequencing of the remaining markers did not reveal any differences between the studied samples and samples from the NCBI database.

The study was supported by a grant in the form of subsidies in the field of science from the budget of the Republic of Bashkortostan for state support of young scientists - graduate students and candidates of science.

**Изменение транскрипционной активности генов системы РНК-интерференции гриба *Stagonospora nodorum* Berk в патогенной системе в условиях индуцирования фитоиммунитета**

Шейн М.Ю., Бурханова Г.Ф., Максимов И.В.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра РАН, г. Уфа  
[mikeshenoda@yandex.ru](mailto:mikeshenoda@yandex.ru)

Система РНК-интерференции – это эволюционно сформированный защитный процесс управления активностью генов организма-хозяина или генов патогена. Основными компонентами данной системы являются белки AGO и DCL. Белки DCL разрезают целевые дцРНК на более короткие фрагменты (киРНК и микроРНК). Белки AGO встраивают целевые фрагменты дцРНК в RISC и используют их в качестве клише для распознавания и последующей деградаци мРНК генов-мишеней. РНКи присутствует как у растения-хозяина, так и у патогенного гриба.

Показано, что в устойчивом сорте пшеницы, а также в условиях индуцирования иммунной системы растений пшеницы с использованием салициловой и жасмоновой кислот, возбудитель септориоза *S. nodorum* в патогенной системе накапливает транскрипты генов *SnAGO1* и *SnDCL1*, ответственные за эффективную работу своей системы РНК-интерференции, в большей степени, чем в восприимчивом. Такие условия вероятно необходимы патогену для преодоления защитной системы растений. Вместе с тем, анализ транскрипционной активности генов грибной РНКи показал, что более слабый уровень транскриптов грибных генов *SnAGO1* и *SnDCL1* в растениях, иммунизированных при совместном применении салициловой и жасмоновой кислот, регулирующих фитоиммунную систему растений, предполагает способности таких растений противодействовать системе вирулентности патогена.

Работа поддержана грантом РФФИ-Аспиранты №. 20-34-90004.

**Changes in the transcriptional activity of genes of the RNA interference system of the fungus *Stagonospora nodorum* Berk in the pathogenic system under conditions of phytoimmunity induction**

Shein M. Yu., Burkhanova G.F., Maksimov I.V.

<sup>1</sup> Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Federal Research Center of Russian Academy of Sciences, Ufa.  
[mikeshenoda@yandex.ru](mailto:mikeshenoda@yandex.ru)

The RNA interference system is an evolutionarily formed protective process of controlling the activity of host genes or pathogen genes. The main components of this system are the AGO and DCL proteins. DCL proteins dice target dsRNAs into shorter fragments (siRNAs and miRNAs). AGO proteins insert target dsRNA fragments into RISCs and use them as clichés for recognition and subsequent degradation of target gene mRNAs. RNAi is present in both the host plant and the pathogenic fungus.

It has been shown that in a resistant wheat variety, as well as under conditions of inducing the immune system of wheat plants using salicylic and jasmonic acids, the causative agent of Septoria blight *S. nodorum* in the pathogenic system accumulates transcripts of the *SnAGO1* and *SnDCL1* genes responsible for the effective operation of its RNA interference system, in to a greater extent than in the susceptible variety. Such conditions are probably necessary for the pathogen to overcome the defense system of plants. At the same time, the analysis of the transcriptional activity of the fungal RNAi genes showed that a weaker level of fungal *SnAGO1* and *SnDCL1* gene transcripts in plants immunized with the combined use of salicylic and jasmonic acids, which regulate the plant phytoimmune system, suggests the ability of such plants to counteract the pathogen virulence system.

The work was carried out within the framework of the scientific grant RFBR-postgraduate student No. 20-34-90004.

**Пангеномика *Bacillus* как перспективный инструмент для понимания экологических и функциональных особенностей бактерий этого рода**

<sup>1,2</sup>Шиков А.Е., <sup>1,2</sup>Маловичко Ю.В., <sup>1,2</sup>Нижников А.А., <sup>1,2</sup>Антонец К.С.

<sup>1</sup>Лаборатория протеомики надорганизменных систем, ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Россия, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург  
a.shikov@arriam.ru

К роду *Bacillus* относятся грамположительные спорообразующие бактерии, многие из которых являются важными для сельского хозяйства видами с инсектицидными, фунгицидными и ростостимулирующими свойствами. Эти свойства обеспечиваются широкой геномной пластичностью, что затрудняет выделение отдельных видов в составе рода *Bacillus*. По этой причине изучение отдельных таксономических видов не позволяет идентифицировать функциональные характеристики, которые определяют экологические ниши групп бактерий. Пангеномный анализ представляется более перспективным инструментом выделения групп бактерий на основании геномного родства. Было показано, что род *Bacillus* обладает открытым пангеномом, что подтверждает высокую степень геномной изменчивости. В результате анализа функциональных обогащений общих (коровых) и уникальных генов в составе пангенома нами было установлено, что первые задействованы в базовых клеточных процессах, тогда как аксессуарный компонент пангенома обеспечивает адаптивные свойства, такие как синтез антимикробных соединений, рекомбинация и приобретение чужеродной ДНК. Функциональная аннотация генов для отдельных видов также подтвердила нечёткие видовые границы. Так, гены в составе видов *B. cereus*, *B. thuringiensis* обладали схожими функциональными обогащениями, связанными с протеолитической активностью и поверхностными белками. Сопоставление данных серотипирования с геномной схожестью в пределах пангенома показало, что серологическая классификация не отражает геномное родство, поэтому полногеномная филогения является более оптимальной альтернативой. Отдельное внимание уделено проблеме эволюции инсектицидных токсинов Cry. Была выявлена интенсивная рекомбинация соответствующих генов в пределах исследуемых геномов, что приводит к обмену доменами и изменению спектра поражаемых хозяев. Таким образом, методы пангеномики, сравнительной геномики и филогенетического анализа позволяют опрелить детерминанты и эволюционные механизмы, обеспечивающие экологическую адаптивность бактерий рода *Bacillus*.

Работа выполнена при поддержке РФФ 20-76-10044.

***Bacillus*' pan-genomics is a perspective approach for revealing ecological and functional features of representatives within this genus**

<sup>1,2</sup>Shikov A.E., <sup>1,2</sup>Malovichko Y.V., <sup>1,2</sup>Nizhnikov A.A., <sup>1,2</sup>Antonets K.S.

<sup>1</sup>All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology (ARRIAM), Pushkin, St. Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia  
a.shikov@arriam.ru

*Bacillus* genus includes gram-positive spore-forming bacteria with multiple agriculturally important species possessing insecticidal, fungicidal, and growth-promoting activities. These features are determined by extensive genomic plasticity which also hampers delineating separate species within the genus. Thereby, analyzing taxonomic species *per se* does not allow revealing functional characteristics determining ecological niches of bacterial groups. The pan-genomic analysis seems to be a more promising tool for grouping bacterial lineages on the basis of their genetic similarity. It was shown that *Bacillus*' pan-genome is open which corroborates intensive genomic genetic variability. Functional analysis of core and unique genes within the pan-genome demonstrated that the core genes take part in primary cellular processes while the accessory genes maintain adaptive activities, namely, recombination, synthesis of antibiotic compounds, and foreign DNA acquisition. Functional annotation of genes attributed to separate species also corroborated ambiguous species boundaries. For example, genes within *B. cereus* and *B. thuringiensis* species demonstrated similar functional enrichments related to proteolytic activity and surface proteins. By comparing serotyping data with genomic similarity within the pan-genome it was proved that the established serological classification does not reflect the genomic relationships. Therefore, full-genome phylogeny seems to be a more adequate alternative. Particular attention is paid to the evolution of insecticidal Cry toxins determining host-specificity in the context of genomic plasticity. Analysis of genes encoding these toxins within studied genomes revealed intensive recombination leading to domain exchanges and changes in host specificity. To sum up, pan-genomics, comparative genomics, and phylogenetic approaches allow us to identify key determinants and evolutionary mechanisms maintaining ecological adaptations of *Bacillus* species.

This study was supported by the Russian Science Foundation (grant No 20-76-10044).



**Оценка рисков технологии получения суспензионной культуры шлемника байкальского**

Шмарова А.А., Пивоварова Н.С.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, г. Санкт-Петербург

[shmarova.aleksandra@pharminnotech.com](mailto:shmarova.aleksandra@pharminnotech.com)

С целью сохранения биоразнообразия флоры введение в культуру *in vitro* клеток шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi) становится перспективным. Такой подход способствует проведению необходимых исследований физиологии и биохимии растительных клеток, реализации направленной регуляции синтеза ценных вторичных метаболитов и отработки методов создания лекарственных средств без нанесения вреда окружающей среде.

Однако, технология лабораторного культивирования - вероятностный процесс, который зависит от экзогенных и эндогенных факторов (рисков). Поэтому обозначается необходимость оценки рисков при реализации данного подхода на практике для сохранения количества и качества продуцируемой биомассы.

В работе предложена методика категорирования рисков с использованием причинно-следственной диаграммы, составлена карта приемлемости вероятностных событий и разработан алгоритм оценки защищенности культуры растительных клеток как потенциального объекта исследований. Благодаря мониторингу критических точек процесса появляется возможность предотвращения нежелательных событий, а также создается основа для модернизации существующей технологии и автоматизации культивирования.

В связи с чем, риск-ориентированный подход способствует формированию платформ культур клеток редких, в том числе, исчезающих видов растений, что в конечном счете отвечает направлению сохранения и поддержания природных ресурсов без нанесения существенного вреда окружающей среде.

**Risk assessment of the Baikal skullcap suspension culture technology**

Shmarova A.A., Pivovarova N.S.

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, St. Petersburg.

[shmarova.aleksandra@pharminnotech.com](mailto:shmarova.aleksandra@pharminnotech.com)

In order to preserve the biodiversity of flora, the *in vitro* cultivation of Baikal skullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi) cells becomes promising. This approach contributes to the investigation of the physiology and biochemistry of plant cells, implementation of directed synthesis regulation of valuable secondary metabolites, and improvement of drug production methods without environmental damage. However, the laboratory cultivation technology is a probabilistic process depending on exogenous and endogenous factors (risks). Therefore, an assessment of risks in the implementation of this approach becomes essential for maintaining the quantity and quality of the produced biomass.

In this work, we proposed a methodology for categorizing risks using a cause-effect diagram, developed an acceptability map of probabilistic events, and designed an algorithm for evaluating the safety of plant cell culture as a potential research object. Monitoring of critical points in the process provides an opportunity to avoid undesirable events and creates a basis for the modernization of current technology and the automatization of cultivation.

Therefore, the risk-based approach supports the formation of cell culture platforms of rare, including endangered plant species, which eventually leads to the conservation and maintenance of natural resources without causing significant negative effects on the environment.

**Влияние препарата микробного «Биопродуктин» на основные эколого-трофические группы микроорганизмов почвы при возделывании зерновых культур**

<sup>1</sup>Шмыга Е.Ю., <sup>1</sup>Мандрик-Литвинкович М.Н., <sup>2</sup>Кожневский О.Ч.,  
<sup>2</sup>Свиридов А.В., <sup>1</sup>Коломиец Э.И.

<sup>1</sup>Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

<sup>2</sup>УО «Гродненский государственный аграрный университет», г. Гродно, Беларусь  
kozich.katyusha@mail.ru

Одной из основных задач интенсивного возделывания зерновых культур является сохранение плодородия почв. Использование биопрепаратов позволяет не только повышать урожайность злаков и защищать от фитопатогенных микроорганизмов, но и оказывать благотворное действие на плодородие и фитосанитарное состояние почвы. Целью работы являлась оценка влияния препарата микробного «Биопродуктин» на основные эколого-трофические группы микроорганизмов почвы при возделывании зерновых культур в условиях опытных и паровых делянок пахотных земель 2019-2020 гг.

Отбор почвенных образцов проводили в следующие сроки: до внесения минеральных удобрений и микробного препарата, через месяц после посева, возобновление весенней вегетации, выход в трубку, колошение озимого тритикале, после уборки урожая. Численность основных эколого-трофических групп микроорганизмов изучали путем высева на агаризованные питательные среды: группа аммонифицирующих микроорганизмов – мясо-пептонный агар, азотфиксирующих – среда Эшби, фосфатмобилизирующих – среда Муромцева и целлюлолитических – среда Гетчинсона с Na-КМЦ.

Установлено, что двукратное применение препарата микробного «Биопродуктин» (до посева и по вегетации озимого тритикале сорта Гренадо) в условиях опытных и паровых делянок пахотных земель на фоне стандартных агротехнических приемов приводило к увеличению в почве численности аммонифицирующих микроорганизмов на 11,0-13,0 %, азотфиксирующих – на 11,9-17,8 %, фосфатмобилизирующих – на 11,0-14,8 % и целлюлолитических – на 11,8-26,1 % по отношению к контролю (делянки без обработки препаратом).

**Effect of microbial preparation «Bioproductin» on major ecological-trophical group of soil microorganisms during grein crop cultivation**

<sup>1</sup>Shmyga E.Yu., <sup>1</sup>Mandryk-Litvinkovich M.N., <sup>2</sup>Kozhenevskij O.Ch.,  
<sup>2</sup>Sviridov A.V. <sup>1</sup>Kalamiyets E.I.

<sup>1</sup>Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

<sup>2</sup>Grodno State Agrarian University, Grodno, Belarus  
kozich.katyusha@mail.ru

One of the main challenges in the course of intensive grain crop cultivation is preservation of soil fertility. Application of biopreparations enables both to increase harvests of cereals, to control phytopathogenic infections and to cause a beneficial impact on fertility and phytosanitary status of soils.

Aim of this study was to assess effect of microbial preparation «Bioproductin» on major ecological-trophical groups of soil microorganisms during grain crop cultivation on arable test and fallow field plots in 2019-2020 vegetation seasons.

Soil samples were collected in the following terms: prior to supply of mineral fertilizers and microbial preparation, one month after seeding, presumption of spring vegetation, stooling stage, tillering of winter triticale, post-harvest stage. The titers of major ecologo-trophical microbial groups were estimated by inoculating on agar nutrient media: ammonifyins group – on meat-peptone agar, nitrogen-fixing group – on Ashby medium, phosphate-mobilizing group – on Muromtsev medium, cellulolytic group – on Hutchinson medium with Na-CMC.

It was found that double dosage of «Bioproductin» (before seeding and during vegetation of winter triticale, variety Grenada) applied on test and fallow field plots treated by standard agrotechnical procedures resulted in increased soil populations of ammonifyins microorganisms by 11,0-13,0 %, nitrogen-fixers species by 11,9-17,8 %, phosphate-mobilizers group by 11,0-14,8 %, cellulolytic microorganisms by 11,8-26,1 % over the control values (untreated plots).

**Arbuscular mycorrhiza as a factor affecting metabolic stress responses in pea seeds when growing plants in soil with a disturbed structure**

<sup>1</sup>Shtark O.Y., <sup>2</sup>Bilova T.E., <sup>3</sup>Kysil E.V., <sup>2</sup>Frolova N.V., <sup>2</sup>Cherevatskaya M.A., <sup>1</sup>Kulaeva O.A., <sup>1</sup>Romanyuk D.A., <sup>2</sup>Silinskaya S.A., <sup>1</sup>Kichigina N.E., <sup>1</sup>Sulima A.S., <sup>1</sup>Akhtemova G.A., <sup>3</sup>Frolov A.A., <sup>1</sup>Zhukov V.A.

<sup>1</sup>All-Russian Institute of Agricultural Microbiology, St. Petersburg

<sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, St. Petersburg

<sup>3</sup>Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle/Saale, Germany

oshtark@yandex.ru

Arbuscular mycorrhiza is a mutualistic symbiosis formed by most terrestrial plants with Glomeromycota fungi, which is capable of improving the mineral plant nutrition and protecting them from biotic and abiotic stresses. Pea (*Pisum sativum* L.) exhibits relatively low responsiveness to inoculation by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) when growing under optimal growth conditions. At the same time, the positive effect of AMF application on the pea growth and physiological parameters under various stressful conditions has been demonstrated. Metabolomics is a powerful tool for investigating a plant's physiological/biochemical status varied under different environmental conditions. The aim of this research was to study the role of mycorrhizal symbiosis in the adaptation of pea plants to soil conditions with a disturbed structure, in particular metabolomic rearrangements in pea seeds. Two types of soil conditions were used: soil with normal and disturbed structure (milled). Plants of the genotype Finale were grown without inoculation and under conditions of inoculation with *Rhizophagus irregularis*. The seeds were collected at the stage of a fully formed immature pod with green seeds. In normal soil conditions, the parameters of intraradical colonization reached high values; in soil conditions with a disturbed structure, they were significantly lower. AMF inoculation did not affect plant growth parameters under normal soil conditions, whereas with a disturbed soil structure, it caused an increase in the total plant weight and the root weight. Thus, in the studied pea genotype, the positive effect of mycorrhization was manifested only under stressful conditions, and this was not associated with an increase in the level of intraradical colonization with AMF. The analysis of primary thermostable seed metabolites (GC-MS), the analysis of secondary metabolites (reverse-phase HPLC-MS), as well as the analysis of the total content of thiobarbiturate (TBA) reactive substances (spectrophotometric method) were carried out in order to assess the physiological state of the plants. The quantitative patterns of secondary substances were not characterized by high dynamics; however, several secondary metabolites were identified showing qualitative changes in response to the analyzed factors. The results of the primary metabolites analysis demonstrate that in soil with a disturbed structure plants experience moderate stress (probably due to changes in the parameters of water metabolism), causing rearrangements in the primary metabolism of cultivated plants, including increased synthesis of gamma-aminobutyric acid, a signaling molecule capable of changing the main direction of metabolic processes in matured seeds from protein synthesis to accumulation of free amino acids, which under stress can act as osmoprotectors. This is confirmed by an increase in the level of the non-proteinogenic amino acid homoserine in these seeds, which is involved in the biosynthesis of a number of amino acids. Inoculation with AMF led to an increase in the content of ascorbate (reduced and oxidized) and the accumulation of mannitol (an important osmoprotector of plant tissues), as well as to a decrease in the level of ethanolamine and TBA-reactive substances in the seeds. This may indicate that AMF inoculation improves plant adaptation to these soil conditions (disturbed structure). Mannitol and phosphate-containing metabolites (glucose-6-phosphate, fructose-6-phosphate, mannose-1-phosphate, etc.) accumulated only in the seeds of inoculated plants and can be indicators of effective plant-fungal symbiosis. These products did not accumulate in seeds when growing the plants under conditions of the soil of normal structure, which may indicate a weakly effective or ineffective symbiosis of plants with AMF in these growing conditions.

The work was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 20-16-00107.

**Влияние почвенных фонов на содержание полифенолов в зерне ячменя сортов различного происхождения**<sup>1</sup>Шуплецова О.Н., <sup>2</sup>Товстик Е.В.<sup>1</sup>Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В.Рудницкого, г. Киров<sup>2</sup>Вятский государственный университет, г. Киров.[olga.shuplecova@mail.ru](mailto:olga.shuplecova@mail.ru)

Определяли содержание свободных и связанных полифенолов в зерне ячменя 3 сортов - регенерантов, индуцированных в процессе отбора *in vitro* каллусных культур на селективных средах с  $H^+$ ,  $Al^{3+}$  и осмотиком. Сравнивали с сортами гибридного происхождения, не проходивших клеточную селекцию. Растения до получения семян выращивали в вегетационных ёмкостях с дерново-подзолистой почвой на 4 почвенных фонах: с избыточным кадмием (10 мг/кг почвы), повышенной кислотностью ( $pH_{KCl} = 4,3$  и  $Al^{3+}$  5,2 мг/кг почвы), засухой и в отсутствии стрессоров (контроль). Содержание полифенолов в образцах существенно зависело от условий выращивания и, незначительно, от генотипа ячменя. Все сорта наиболее активно накапливали полифенолы при выращивании в условиях засухи (3,18–4,22 мг/г), и, в меньшей степени в присутствии избытка ионов кадмия в почве (2,07–3,10 мг/г) и алюминия (2,07–2,16 мг/г) с превышением контрольных условий на 2,5–14,8 %. Установлено, что большая часть полифенолов в зерне находилась в связанном состоянии, доля которых от суммарного количества в зависимости от генотипа составляла 59,4–63,7 % в контроле и 72,0–79,5 % в присутствии стрессоров. В составе свободных полифенолов выделяли фракцию флавоноидов. Одной из функций флавоноидов является участие в защите растений от окислительного стресса благодаря выраженной антиоксидантной активности. Генотипы с неодинаковой стрессоустойчивостью имеют различный уровень антиоксидантной защиты и, соответственно, испытывают различное воздействие окислительного стресса, вызванного условиями выращивания. Сорта гибридного происхождения, не проходившие отбор в каллусной культуре, характеризовались достоверным превышением контрольного уровня флавоноидов на всех стрессовых почвенных фонах. Отбор регенерантных генотипов в селективных системах *in vitro* с повышенной кислотностью и осмотиком способствовал снижению уровня флавоноидов в 1,4–1,6 раза по сравнению с контрольным фоном в зерне при выращивании растений на почвенных фонах с этими же факторами, что, вероятно, связано с низким уровнем окислительного стресса у растений-регенерантов в этих условиях.

**Influence of soil backgrounds on the content of polyphenols in barley grain of varieties of different origin**<sup>1</sup>Shupletsova O.N., <sup>2</sup>Tovstik E.V.<sup>1</sup>Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V.Rudnitsky, Kirov.<sup>2</sup>Vyatka State University, Kirov.[olga.shuplecova@mail.ru](mailto:olga.shuplecova@mail.ru)

The content of free and bound polyphenols in barley grain of 3 varieties - regenerants induced in the process of *in vitro* selection of callus cultures on selective media with  $H^+$ ,  $Al^{3+}$  and osmosis was determined. They were compared with varieties of hybrid origin that did not undergo cell selection. Before obtaining seeds, the plants were grown in pots with soddy-podzolic soil on 4 soil backgrounds: with excess cadmium (10 mg/kg of soil), high acidity ( $pH_{KCl} = 4.3$  and  $Al^{3+}$  5.2 mg/kg of soil), drought and in the absence of stressors (control). The content of polyphenols in the samples significantly depended on the growing conditions and, slightly, on the barley genotype. All varieties most actively accumulated polyphenols when grown under drought conditions (3.18–4.22 mg/g), and, to a lesser extent, in the presence of an excess of cadmium ions in the soil (2.07–3.10 mg/g) and aluminum (2.07–2.16 mg/g) exceeding the control conditions by 2.5–14.8%. It was found that most of the polyphenols in the grain were in a bound state, the proportion of which in the total amount, depending on the genotype, was 59.4–63.7% in the control and 72.0–79.5% in the presence of stressors. A fraction of flavonoids was isolated from free polyphenols. One of the functions of flavonoids is participation in the protection of plants from oxidative stress due to their pronounced antioxidant activity. Genotypes with unequal stress resistance have different levels of antioxidant protection and, accordingly, experience different effects of oxidative stress caused by growing conditions. Varieties of hybrid origin that were not selected in the callus culture were characterized by a significant excess of the control level of flavonoids on all stressful soil backgrounds. The selection of regenerated genotypes in *in vitro* selective systems with high acidity and osmoticity contributed to a decrease in the level of flavonoids by 1.4–1.6 times compared to the control background in the grain when growing plants on soil backgrounds with the same factors, which is probably due to low level of oxidative stress in regenerative plants under these conditions.

**Технология GTDB на пути построения «таксономической структуры от домена к виду»: небольшой привал в семействе *Micrococcaceae***

<sup>1</sup>Щеголев С.Ю., <sup>1,2</sup>Бурьгин Г.Л., <sup>1</sup>Соколов А.О., <sup>2</sup>Ткаченко О.В., <sup>1</sup>Дыкман Л.А.,  
<sup>1</sup>Соколов О.И., <sup>1</sup>Матора Л.Ю.

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение  
ФГБУН ФИЦ «Саратовский научный центр РАН»

<sup>2</sup>Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова  
shegolev\_s@ibppm.ru

Комплексный филогенетический анализ изолятов из суспензионной культуры *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. и стерилизованных корней картофеля (*Solanum tuberosum* L.) с применением тестов 16S рPHK, ITS1, ANI, AAI и технологии GTDB продемонстрировал их принадлежность родам *Rothia* и *Kocuria* и выявил необходимость переквалификации видовой/родовой принадлежности многих штаммов, родственных данным изолятам, в пределах семейства *Micrococcaceae*. Актуальность подобной верификации следует также из расширенной оценки систематического положения представителей данных изолятов на полногеномном уровне в пределах всей базы данных белковых структур UniProt (231 млн записей), полученной с помощью программы AAI-profiler. Последняя позволяет, в частности, выявлять и визуализировать возможные противоречия в классификации про- и эукариотов и микробную контаминацию. Полученные результаты сопоставлены с филогенетическим субдревом семейства *Micrococcaceae*, объединяющем роды *Rothia* и *Kocuria*, экстрагированным из релиза GTDB. На его примере с применением теста средней аминокислотной идентичности (AAI) установлено, что внедрение теста средней нуклеотидной идентичности (ANI) и процента ортологичных областей (AF) в технологию GTDB, обеспечивающее количественную идентификацию объектов на уровне вида для бактериальных и архейных геномов, не решает в полной мере задачу построения «таксономической структуры от домена к виду» в связи с выявленными нами количественно противоречиями в предписаниях штаммов (метагеномных объектов) в использованном релизе GTDB на уровне рода. Таким образом, следующим шагом в решении этой задачи могло бы стать внедрение в технологию GTDB также и теста AAI. Критерий ANI > 95% применялся для установления видовой принадлежности культивируемых штаммов и метагеномных объектов согласно их внутри- и межвидовой кластеризации по геномным последовательностям и возможной роли гомологичной рекомбинации ДНК (внутривидового горизонтального переноса генов) в поддержании эволюционной целостности бактериальных видов. Авторами также установлена целесообразность использования ряда однокопийных белков рибосомы, как альтернативы 16S рPHK и полногеномным тестам при невозможности восстановления полных геномов в таксономических метагеномных исследованиях.

**GTDB technology on the way to creating a “domain-to-species taxonomic framework”: a short rest with the family *Micrococcaceae***

<sup>1</sup>Shchyogolev S.Yu., <sup>1,2</sup>Burygin G.L., <sup>1</sup>Sokolov A.O., <sup>2</sup>Tkachenko O.V., <sup>1</sup>Dykman L.A.,  
<sup>1</sup>Sokolov O.I., <sup>1</sup>Matora L.Yu.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Saratov Scientific Centre of the Russian Academy  
of Sciences

<sup>2</sup>Saratov State Vavilov Agrarian University  
shegolev\_s@ibppm.ru

A comprehensive phylogenetic analysis of isolates from a suspension culture of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. and sterilized roots of potato (*Solanum tuberosum* L.) was performed with the use of 16S rRNA, ITS1, ANI, AAI tests and of GTDB technology. The isolates were shown to belong to the genera *Rothia* and *Kocuria*, and the need to verify the species/generic assignment of many strains related to the isolates within the family *Micrococcaceae* was revealed. The relevance of such verification follows also from the extended assessment of the systematics status of whole-genome representatives of these isolates that was obtained with the AAI-profiler within the entire UniProt protein database (231 million entries). In particular, AAI-profiler allows one to identify and visualize microbial contamination and possible contradictions in the classification of pro- and eukaryotes. The results obtained were compared with the phylogenetic subtree of the family *Micrococcaceae* comprising the genera *Rothia* and *Kocuria* extracted from the GTDB release. Introducing the average nucleotide identity (ANI) and the percentage of orthologous regions (AF) tests into the GTDB technology provides quantitative identification of objects among bacterial and archaeal genomes at the species level. However, applying the average amino acid identity test (AAI), we have demonstrated in that comparison that only use of ANI and AF tests does not allow one to solve the problem of building a “domain-to-species taxonomic framework” to the full. This is due to the contradictions we have quantitatively revealed in the classification of strains (metagenomic objects) in the used GTDB release at the genus level. Thus, the next step in solving this problem could be the introduction of the AAI test additionally into the GTDB technology. When discussing the applying the ANI > 95% criterion to establishing the species identity of cultivated strains and metagenomic objects. It has previously demonstrated that intra- and interspecific clustering of genomic sequences of the strains and the objects, and the possible role of homologous DNA recombination (intraspecific horizontal gene transfer) in maintaining the evolutionary integrity of bacterial species was also noted by them. They established the feasibility of using some single-copy ribosome proteins as an alternative to 16S rRNA and whole-genome tests when it is impossible to restore whole genomes in taxonomic metagenomic studies.

**Site-directed mutagenesis of kafirin genes to improve the nutritious value of sorghum grain using CRISPR/Cas technology**

<sup>1</sup>Elkonin L.A., <sup>2</sup>Gerashchenkov G.A., <sup>1</sup>Borisenko N.V., <sup>1</sup>Kenzhegulov O.A.,  
<sup>1</sup>Sarsenova S.Kh., <sup>2</sup>Rozhnova N.A., <sup>1</sup>Panin V.M.

<sup>1</sup>Federal Centre of Agriculture Research of the South-East Region, Saratov

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa

[elkonin@gmail.com](mailto:elkonin@gmail.com)

Site-directed mutagenesis by means of genetic constructs carrying the CRISPR/Cas system is one of the most effective technologies that is actively used to solve various problems of genetics and plant breeding. The aim of our research was to induce mutations in the genes that control the synthesis of sorghum storage proteins, kafirins, which are resistant to protease digestion, to improve the nutritious value of this important drought-resistant crop, a source of feed and food grain in the arid regions of the world. To induce mutations in the *k1C5* and *gKAF1* genes encoding 22 kDa  $\alpha$ - and  $\gamma$ -kafirins, respectively, using the CRISPR/Cas technology, we created a series of binary vectors, each of which contained the *cas9* endonuclease gene and genomic target motifs (23 bp sequences) that directs Cas9 to selected targets. Nucleotide sequences encoding the signal polypeptides of the kafirins responsible for their packaging into the protein bodies of endosperm cells were chosen as targets. The design of the gRNAs was conducted using the online tools CRISPROR and CHOPCHOP. Two most suitable targets were chosen for  $\alpha$ -kafirin- and two for  $\gamma$ -kafirin-encoding genes (*k1C5* and *gKAF1*, respectively). pSH121 (NCBI: txid2338066) containing maize codon-optimized *cas9* gene under control of the maize UBI 1 promoter (kindly provided by Dr. J. Kumlehn, Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany) was used as the basic vector for the introduction of target-specific sequences of kafirin-encoding genes. Then, each newly constructed vector was integrated into the B479p7oUZm-LH binary vector capable of replication in agrobacteria. The correct assembly of the vectors was confirmed by restriction analysis and Sanger sequencing. The resulting recombinant vectors were introduced into the agrobacterial strain AGL0 by electroporation. Four strains were created: with p1C and p2C vectors for editing *k1C5* gene, and with p3C and p4C vectors for editing the *gKAF1* gene. With these strains, we carried out experiments on *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of immature embryos of grain sorghum cv. Avans. As a result of the experiments, transgenic plants carrying the *cas9* gene were obtained. Among the regenerants obtained with the AGL0/p2C strain, the plants were identified in which the kernels had a modified endosperm texture with a disturbed development of the vitreous endosperm, as well as the plants with a reduced grain size. SDS-electrophoresis of kernel proteins revealed a number of mutants with a significantly higher level of kafirin digestibility (up to 87%) compared to the original cv. Avans (60%). DNA sequencing of the *k1C5* gene sequence, encoding the signal polypeptide of 22 kDa  $\alpha$ -kafirin, in one of the mutants with improved digestibility of kafirins from T<sub>1</sub> generation (#2C-2.1.1-No. 2), obtained with using the p2C vector, revealed the presence of a deletion of the third nucleotide of the target, which may have led to a frameshift and a change in the amino acid composition of the polypeptide. Perhaps this fact was the reason for the improved digestibility of kafirins in this mutant. Two mutants with a deletion and a substitution in the nucleotide sequence of the *gKAF1* gene, encoding the  $\gamma$ -kafirin signal polypeptide, were identified among plants obtained with using the p3C vector. Thus, based on the genome editing technology, we obtained the mutants with significantly improved digestibility of kafirins, which can be used in sorghum breeding.

**Грибы арбускулярной микоризы: биоразнообразие, механизмы эффективности и перспективы использования**

<sup>1</sup>Юрков А.П., <sup>1</sup>Крюков А.А., <sup>1</sup>Горбунова А.О., <sup>1,2</sup>Кудряшова Т.Р., <sup>2</sup>Калинина А.Е., <sup>2</sup>Филатов П.В., <sup>2</sup>Ковальчук А.И.,  
<sup>3</sup>Пузанский Р.К., <sup>3</sup>Михайлова Ю.В., <sup>3</sup>Журбенко П.М., <sup>3</sup>Родионов А.В., <sup>4</sup>Шишова М.Ф.

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, г. Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, г. Санкт-Петербург

<sup>4</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

[yurkovandrey@yandex.ru](mailto:yurkovandrey@yandex.ru)

Исследование механизмов, контролирующих развитие эффективной арбускулярной микоризы (АМ), является одной из актуальных проблем биологии. Изучение АМ со стороны микосимбионта показало, что АМ-грибы широко представлены в природных нарушенных и ненарушенных экосистемах Тебердинского национального парка и его сопредельных территорий. Анализ более 10 млн. последовательностей регионов ITS1 и ITS2 показал, что наибольшим разнообразием видов АМ-грибов обладают экосистемы речных долин.

С другой стороны, в модельной тест-системе проведен анализ влияния инокуляции тестовым штаммом RCAM00320 АМ-гриба *Rhizophagus irregularis* на транскриптом (методом MACE) и метаболом (методом ГХ-МС) листьев растений сильно отзывчивой модельной линии MIS-1 *Medicago lupulina* в условиях низкого уровня доступного фосфора в субстрате. По результатам исследования выявлены ключевые гены, задействованные в развитии эффективного АМ-симбиоза. Идентифицированы более 300 метаболитов, показана центральная роль углеводных и карбоксилатно-аминокислотных кластеров метаболитов в формировании эффективной АМ.

Ведется создание первой в России коллекции АМ-грибов, охарактеризованных по признакам симбиотической эффективности и активности. Оцениваются перспективы использования новых коллекционных штаммов в качестве действующего начала биопрепаратов для усиления роста растений.

Работа поддержана грантами: РФФИ-МК 19-29-05275, РФФИ-а 20-016-00245 и РФФ 22-16-00064, а также выполнена в рамках развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего» (Соглашение № 075-15-2022-320 от 20.04.2022 Министерства науки и высшего образования РФ.2022) и государственного задания № FGEW-2021-0004 (№ государственной регистрации 121040800300-9) ФГБНУ ВНИИСХМ. Работа выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.

**Arbuscular mycorrhizal fungi: the biodiversity, the mechanisms of the efficiency and prospects for use**

<sup>1</sup>Yurkov A.P., <sup>1</sup>Kryukov A.A., <sup>1</sup>Gorbunova A.O., <sup>1,2</sup>Kudryashova T.R., <sup>2</sup>Kalinina A.A., <sup>2</sup>Filatov P.V., <sup>2</sup>Kovalchuk A.I.,  
<sup>3</sup>Puzanskiy R.K., <sup>3</sup>Mikhaylova Yu.V., <sup>3</sup>Zhurbenko P.M., <sup>3</sup>Rodionov A.V., <sup>4</sup>Shishova M.F.

<sup>1</sup>All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint Petersburg

<sup>2</sup>Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg

<sup>3</sup>Komarov Botanical Institute, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg

<sup>4</sup>Saint Petersburg State University, Saint Petersburg

[yurkovandrey@yandex.ru](mailto:yurkovandrey@yandex.ru)

The research of the mechanisms controlling the development of effective arbuscular mycorrhiza (AM) is one of the urgent problems of biology. The study of AM by the mycosymbiont showed AM fungi are widely represented in the natural disturbed and undisturbed ecosystems of the Teberdinsky National Park and its adjacent territories. The analysis of more than 10 million reads for the ITS1 and ITS2 regions showed the ecosystems of river valleys have the greatest diversity of AM fungal species.

On the other hand, in the model test system the effect of inoculation with RCAM00320 test strain of *Rhizophagus irregularis* AM fungus on the transcriptome (by MACE method) and metabolome (by GC-MS method) of plant leaves of the highly responsive *Medicago lupulina* model MIS-1 line under conditions of low available phosphorus in the substrate was analyzed. According to the results of the study, key genes involved in the development of effective AM symbiosis were identified. More than 300 metabolites were identified and the central importance of the carbohydrate and carboxylate-amino acid clusters was demonstrated.

The creation of the first collection of AM fungi in Russia, characterized by signs of symbiotic efficiency and activity, is underway. The prospects of using new collected strains as an active substance of biological preparations to enhance the plant growth are evaluated.

The work was supported by grants: RFBR 19-29-05275 MK, RFBR 20-016-00245 A, RSF 22-16-00064, and was also carried out as part of the creation and development of the world-class scientific center, “Agrotechnologies for the Future” (Agreement No. 075-15-2022-320 dated 04/20/2022 of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation) and state assignment No. FGEW-2021-0004 (state registration No. 121040800300-9) for ARRIAM. The work was carried out using the equipment of the Center for Collective Use, “Genomic Technologies, Proteomics and Cell Biology” at ARRIAM.

**Влияние эндофитных бактерий рода *Bacillus* и сигнальных молекул на изменение протеома *Solanum tuberosum* при стрессе**

<sup>1,2</sup>Яруллина Л.Г., <sup>2</sup>Цветков В.О., <sup>2</sup>Хабидуллина В.О., <sup>1</sup>Черепанова Е.А., <sup>1</sup>Бурханова Г.Ф.

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Башкирский государственный университет, г. Уфа

yarullina@bk.ru

Основой биобезопасных препаратов для защиты растений от биотических и абиотических стрессов являются стимулирующие рост растений бактерии (СРРБ). В этом отношении особенно привлекательны высокоэффективные бактерии рода *Bacillus*, способные длительное время сохранять жизнеспособность. Защитное действие биопрепаратов можно повысить путем комбинации их с различными сигнальными молекулами, элиситорами и иммуномодуляторами. Исследовали влияние бактерий *Bacillus subtilis* штамм 26Д в сочетании с салициловой (СК) и жасмоновой (ЖК) кислотами на изменение протеома листьев картофеля при инфицировании *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary и засухе. Растения, выращенные из микроклубней сорта Ранняя Роза, опрыскивали суспензией *B. subtilis* ( $10^8$  клеток / мл) и смесью бактерий с СК ( $10^{-6}$  М), ЖК ( $10^{-7}$  М), СК + ЖК. Через 3 дня после обработки растения инфицировали *P. infestans* ( $10^5$  спор /мл) и культивировали в условиях искусственно создаваемой почвенной засухи путем сокращения полива. При достижении влажности почвы  $40 \pm 5\%$  от полной влагоемкости, растения фиксировали в жидком азоте для выделения белков, анализа их методами двумерного электрофореза и масс-спектрометрии. Выявлено снижение степени развития *P. infestans* на листьях картофеля при обработке *B. subtilis* в сочетании с СК и ЖК. В протеоме листьев обнаружены различия в присутствии 14 белков в диапазоне pI от 4 до 9 с молекулярными массами от 30 до 125 кДа. Наиболее существенные изменения в спектре растительных белков при засухе выявлены в здоровых растениях, обработанных *B. subtilis*, и в инфицированных – в варианте сочетания *B. subtilis* с ЖК. Качественные и количественные изменения наблюдались для белков, вовлеченных в процессы дыхания и реакции СВЧ, катаболизма, синтеза вторичных метаболитов, защитных белков, оказывающие влияние на устойчивость растений к абиотическому и биотическому стрессу. Показано, что содержание ряда белков регулируется действием бактерий, сигнальных молекул, патогеном *P. infestans* или сочетанием перечисленных факторов. Выявленная множественность возможных путей регуляции их синтеза открывает перспективы для разработки эффективных и экологически-безопасных подходов к комплексной защите культурных растений от абиотических и биотических стрессов. Работа выполнялась при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-516-00005, с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Протеом человека» (ИБМХ).

**Influence of endophytic bacteria of the genus *Bacillus* and signaling molecules on changes in the *Solanum tuberosum* proteome under stress**

<sup>1,2</sup>Yarullina L.G., <sup>2</sup>Tsvetkov V.O., <sup>2</sup>Khabibullina V.O., <sup>1</sup>Cherepanova E.A., <sup>1</sup>Burkhanova G.F.

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa

<sup>2</sup>Bashkir State University, Ufa

yarullina@bk.ru

The basis of biosafe preparations for protecting plants from biotic and abiotic stresses are plant growth promoting bacteria (PGPB). In this regard, highly effective bacteria of the genus *Bacillus*, which are able to maintain viability for a long time, are of interest. The protective effect of biopreparations can be increased by combining them with various signaling molecules, elicitors and immunomodulators. The effect of *Bacillus subtilis* strain 26D bacteria in combination with salicylic (SA) and jasmonic (JA) acids on changes in the proteome of potato leaves during infection with *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary and drought was studied. Plants grown from microtubers of the Early Rose variety were sprayed with a suspension of *B. subtilis* ( $10^8$  cells/ml) and a mixture of bacteria with SA ( $10^{-6}$  M), JA ( $10^{-7}$  M), SA + JA. 3 days after treatment, the plants were infected with *P. infestans* ( $10^5$  spores/ml) and cultivated under conditions of artificial soil drought by reducing watering. When the soil moisture reached  $40 \pm 5\%$  of the total water capacity, the plants were fixed in liquid nitrogen to isolate proteins and analyze them by two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. A decrease in the degree of development of *P. infestans* on potato leaves was revealed after treatment with *B. subtilis* in combination with SA and JA. In the leaf proteome, differences were found in the presence of 14 proteins in the pI range from 4 to 9 with molecular weights from 30 to 125 kDa. The most significant changes in the spectrum of plant proteins during drought were found in healthy plants treated with *B. subtilis*, and in infected plants in the combination of *B. subtilis* with JA. Qualitative and quantitative changes were observed for proteins involved in the processes of respiration and HSR, catabolism, synthesis of secondary metabolites, protective proteins that affect plant resistance to abiotic and biotic stress. It has been shown that the content of a number of proteins is regulated by the action of bacteria, signaling molecules, the pathogen *P. infestans*, or a combination of these factors. The revealed multiplicity of possible ways of regulation of their synthesis opens up prospects for development of effective and environmentally safe approaches to the complex protection of cultivated plants from abiotic and biotic stresses. The work was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research and the Belarusian Republican Foundation for Basic Research within the framework of scientific project No. 20-516-00005, using the equipment of the Center for Collective Use "Human Proteome" (IBMC).



**Микробиологический препарат с фунгицидными и ростостимулирующими свойствами на основе растительного сырья**

<sup>1</sup>Яценко Е.С., <sup>1</sup>Лейтес Е.А., <sup>1</sup>Петухов В.А., <sup>2</sup>Петухов А.А., <sup>2</sup>Халывин И.А.,  
<sup>2</sup>Халывина А.И., <sup>1</sup>Ермакова А.В.

<sup>1</sup>Алтайский государственный университет, г. Барнаул

<sup>2</sup>Алтайский центр ФГБУ ЦНМВЛ, г. Барнаул

mlprx@mail.ru

Развитие технологий производства биологических препаратов для сельского хозяйства должно сопровождаться сокращением негативного влияния на окружающую среду. В производстве микробиологических препаратов наметилась тенденция к уменьшению содержания химических веществ в качестве основных компонентов. Также одним из условий экологического подхода является то, что штаммы микроорганизмов, используемые в производстве, должны быть устойчивы к мутагенному воздействию факторов среды и не нарушать микроценозы плодородных почв. С этой точки зрения использование растительного сырья является перспективным направлением развития биотехнологического процесса. Экстракты растений содержат достаточное количество необходимых микроорганизмам солей, используемых бактериями и грибами в процессе обмена веществ, и это дает возможность минимизировать включение в питательные среды неорганических и органических солей, снижая влияние препаратов на окружающую среду.

Цель работы – разработать микробиологический препарат с фунгицидными и ростостимулирующими свойствами на основе растительного сырья. Препарат, обладающий вышеперечисленными свойствами, и состоящий из двух жидких компонентов, получен нами на основе штаммов *Pseudomonas fluorescens* AP-33 и *Bacillus subtilis* 26 D. В состав препарата, помимо бактерий, входят следующие ингредиенты: меласса, горох шлифованный, мука мясокостная, аминокислоты, экстракты растительного сырья, вода дистиллированная до 1 л. Титр *Pseudomonas fluorescens* AP-33  $5 \cdot 10^9$  КОЕ/мл сохраняется на протяжении двух месяцев, затем снижается. Титр *Bacillus subtilis* 26 D  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/мл сохраняется без изменений в течении четырехмесячного периода исследования. Первый компонент - на основе *Pseudomonas fluorescens* AP-33 рекомендуется использовать для обработки почвы перед посадкой семян, обработки корней рассады и почвы перед высадкой в открытый грунт, а второй, на основе *Bacillus subtilis* 26 D, для опрыскивания побегов рассады при пересадке в открытый грунт. В процессе испытаний, которые проводились на томатах сорта «Сашка», выявлено, что все растения, обработанные препаратом, не подверглись заболеваниям и в среднем на 15 см выше, чем в контрольной группе. Цветение и образование плодов при этом началось на 7-10 дней раньше, ягоды по размеру и весу на 20% больше по сравнению с контрольной партией. Применение разработанного препарата перспективно, поскольку он состоит практически только из ингредиентов природного происхождения и исключает негативное воздействие на окружающую среду.

**Microbiological preparation with fungicidal and growth-promoting properties based on vegetable raw materials**

<sup>1</sup>Yatsenko E.S., <sup>1</sup>Leites E.A., <sup>1</sup>Petukhov V.A., <sup>2</sup>Petukhov A.A., <sup>2</sup>Khalyavin I.A.,  
<sup>2</sup>Khalyavina A.I., <sup>1</sup>Ermakova A.V.

<sup>1</sup>Altai State University, Barnaul

<sup>2</sup>Altai Center of the Federal State Budgetary Institution TsNMVL, Barnaul

mlprx@mail.ru

The development of technologies for the production of biological preparations for agriculture should be accompanied by a reduction in the negative impact on the environment. In the production of microbiological preparations, there has been a trend towards a decrease in the content of chemicals as the main components. Also, one of the conditions of the ecological approach is that the strains of microorganisms used in production must be resistant to the mutagenic effects of environmental factors and not disturb the microcosmoses of fertile soils. From this point of view, the use of plant materials is a promising direction in the development of the biotechnological process. Plant extracts contain a sufficient amount of salts necessary for microorganisms, used by bacteria and fungi in the process of metabolism, and this makes it possible to minimize the inclusion of inorganic and organic salts in nutrient media, reducing the impact of drugs on the environment.

The purpose of the work is to develop a microbiological preparation with fungicidal and growth-promoting properties based on plant materials. A preparation with the above properties, and consisting of two liquid components, was obtained by us on the basis of *Pseudomonas fluorescens* AP-33 and *Bacillus subtilis* 26 D strains. In addition to bacteria, the composition of the preparation includes the following ingredients: molasses, polished peas, meat and bone meal, amino acids, extracts of plant materials, distilled water up to 1 liter. The titer of *Pseudomonas fluorescens* AP-33  $5 \cdot 10^9$  CFU/ml is maintained for two months, then decreases. The titer of *Bacillus subtilis* 26 D  $1 \cdot 10^9$  CFU/ml remains unchanged during the four-month study period. The first component, based on *Pseudomonas fluorescens* AP-33, is recommended for soil treatment before planting seeds, seedling roots and soil treatment before planting in open ground, and the second, based on *Bacillus subtilis* 26 D, for spraying seedling shoots when transplanting into open ground. During the tests, which were carried out on tomatoes of the "Sashka" variety, it was revealed that all plants treated with the drug did not undergo diseases and were on average 15 cm higher than in the control group. At the same time, flowering and fruit formation began 7-10 days earlier, the berries are 20% larger in size and weight compared to the control batch.

The use of the developed drug is promising, since it consists almost exclusively of ingredients of natural origin and eliminates the negative impact on the environment.