

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной
Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук

На правах рукописи

Ананьев Алексей Александрович

**АССОЦИИРОВАННЫЕ С *VITIS AMURENSIS* RUPR.
МИКРООРГАНИЗМЫ, КАК СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТЕНИЙ**

1.5.6. – Биотехнология (биологические науки)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
к.б.н. Алейнова Ольга Артуровна

ВЛАДИВОСТОК – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	8
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1 Классификация микроорганизмов, ассоциированных с растением	16
1.2 Особенности колонизации растений эндофитными микроорганизмами.....	18
1.3 Эндофитные бактерии, стимулирующие рост растений.....	20
1.4 Прямые механизмы стимулирования роста растений микроорганизмами	21
1.4.1 Повышение доступности минерального питания.....	21
1.4.2 Синтез и регуляция фитогормонов, стимулирующих рост растений	25
1.5 Косвенные механизмы стимулирования роста растений микроорганизмами.....	30
1.5.1 Устойчивость растений к абиотическим стрессовым факторам, опосредованная эндофитными бактериями	30
1.5.2 Устойчивость растений к биотическим стрессовым факторам, опосредованная эндофитными бактериями	31
1.6 Экономическая ценность винограда и его эндофитный микробиом.....	33
1.7 Виноград амурский потенциальный источник ценных эндофитных бактерий	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	37
2.1 Сбор растительного материала и выделение изолятов	37
2.2 Скрининг изолятов на ростостимулирующие свойства.....	38
2.3 Оценка способности штаммов к колонизации растений	40
2.3.1 Инокуляция <i>A. thaliana</i> штаммами из <i>V. amurensis</i>	40

2.3.2 Выделение ДНК, метабаркодирование и биоинформатический анализ	41
2.4 Оценка влияния штаммов на морфометрические показатели растений	44
2.5 Секвенирование и анализ полных геномов штаммов	45
2.6 Высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией	48
2.7 Статистическая обработка данных.....	50
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	51
3.1 Выделение и изучение рост-стимулирующих свойств эндофитных бактерий <i>V. amurensis</i>	51
3.2 Оценка способности штаммов эндофитных бактерий <i>V. amurensis</i> к колонизации растений и влиянию на естественный микробиом.	54
3.3 Оценка ростостимулирующих свойств штаммов эндофитных бактерий <i>V. amurensis</i>	60
3.3.1 Морфометрические показатели модельного растения <i>A. thaliana</i> после инокуляции эндофитными штаммами <i>V. amurensis</i>	60
3.3.2 Морфометрические показатели <i>O. sativa</i> после инокуляции эндофитными штаммами <i>V. amurensis</i>	63
3.4 Характеристика штамма <i>Gordonia</i> sp. P6PL2.....	66
3.4.1 Филогенетическая идентификация штамма <i>Gordonia</i> sp. P6PL2....	66
3.4.2 Особенности генома <i>G. aichiensis</i> P6PL2 и сравнение генетических характеристик	67
3.4.3 Гены <i>G. aichiensis</i> P6PL2, ассоциированные со стимуляцией роста растений	74
3.4.4 Фенотипическое проявление свойств <i>G. aichiensis</i> P6PL2, способствующее стимуляции роста растений	76
3.5 Характеристика штамм <i>Pseudomonas</i> sp. RA62c-B2	77

3.5.1 Филогенетическая идентификация штамм <i>Pseudomonas</i> sp. RA62с-В2	77
3.5.2 Особенности генома <i>P. marginalis</i> RA62с-В2 и сравнение его генетических характеристик	79
3.5.3 Гены <i>P. marginalis</i> RA62с-В2, ассоциированные со стимуляцией роста растений	84
3.5.4 Фенотипическое проявление свойств <i>P. marginalis</i> RA62с-В2, способствующее стимуляции роста растений	86
3.6 Характеристика штамма <i>Pantoea</i> sp. P7SCH-B5.....	88
3.6.1 Филогенетическая идентификация штамма <i>Pantoea</i> sp. P7SCH-B588	
3.6.2 Особенности генома <i>P. agglomerans</i> P7SCH-B5 и сравнение генетических характеристик	89
3.6.3 Гены <i>P. agglomerans</i> P7SCH-B5, ассоциированные со стимуляцией роста растений	95
3.6.4 Фенотипическое проявление свойств <i>P. agglomerans</i> P7SCH-B5, способствующее стимуляции роста растений	96
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	98
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	106
ВЫВОДЫ.....	107
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	109

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АБК – абсцисовая кислота

АПХ – аскорбатпероксидазы

АФК – активные формы кислорода

АЦПК – 1-аминоциклопропан-1-карбоновая кислота

БАВ – биологически активные вещества

БСРР – бактерии стимулирующие рост растений

ВПС – высокопроизводительное секвенирование

ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-детекцией

ГА – гиббереллины

ГАСР – гены, ассоциированные со стимуляцией роста растений

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖК – жасмоновая кислота

ИСУ – индуцированная системная устойчивость

ИУК – индолилуксусная кислота

КАТ – каталаза

КДА – картофельно-декстрозный агар

КДБ – картофельно-декстрозный бульон

ЛОС – летучие органические соединения

ЛПС – липополисахариды

ПАВ – поверхностно-активные вещества

ПОД – пероксидаза

ПЦР-РВ – ПЦР с детекцией результатов в реальном времени

СК – салициловая кислота

СОД – супероксид-дисмутаза

СПУ – системная приобретённая устойчивость

ЦК – цитокинины

ЦТАБ – цетилтриметиламмоний бромид

ЭБСРР – эндофитные бактерий стимулирующие рост растений

ЭПС – экзополисахариды

ЭТ – этилен

ANI – средняя идентичность нуклеотидов

ANOVA – односторонний дисперсионный анализ

ASV – вариант последовательности ампликона

CDS – кодирующая последовательность

dDDH – ДНК-ДНК-гибридизация

IAAld – индол-3-ацетоальдегид

IAM – индол-3-ацетамид

IAN – индол-3-ацетонитрил

IPyA – индол-3-пируват

PR-белки – белки, связанные с патогенезом

SAM – S-аденозилметионин

TAM – триптамин

TSO – окисления боковой цепи триптофана

ПЦР – полимеразная цепная реакция

MS – среда Мурасиге-Скуга

LB – среда Лурия-Бертани

R2A – агар Райзонера рецептура 2A

R2B – бульон Райзонера рецептура 2A

BLAST – базовый инструмент локального поиска по выравниванию

ITS – внутренний транскрибируемый спейсер

KEGG – Киотская энциклопедия генов и геномов

GO – генная онтология

COG – группы ортоголичных генов

MS/MS – тандемная масс-спектрометрия

PERMANOVA – многомерный дисперсионный анализ

Fe – железо

N – азот

P – фосфор

K – калий

S – сера

РCoA – анализ главных координат

OAT – инструмент для расчета средней идентичности нуклеотидных последовательностей ортологов

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Использование органических и неорганических удобрений, а также пестицидов в современном сельском хозяйстве сопровождается выраженным негативным воздействием на окружающую среду (Gnanaprakasam, Vanisree, 2022; Rashmi *et al.*, 2020). В условиях устойчивого роста численности населения ожидается, что к 2050 г. потребность в сельскохозяйственной продукции возрастёт на 60-110 %, что приведёт к увеличению объёмов применения агрохимикатов (Molotoks *et al.*, 2018). Поэтому особую актуальность приобретают альтернативные подходы, направленные на повышение продуктивности сельскохозяйственных культур, основанные на использовании полезных микроорганизмов (Kumari *et al.*, 2023; Aziz, Masmoudi, 2025; Hamdan, Tan, 2025).

Растения в природных и агроэкологических системах взаимодействуют с разнообразными сообществами микроорганизмов, среди них бактерии, грибы, вирусы, а также археи. Хотя ассоциированный микробиом растений включает представителей разных таксономических групп, в данной работе мы сконцентрировались именно на бактериях, поскольку бактерии являются более удобной группой для дальнейшей разработки биопрепаратов и демонстрируют широкий спектр механизмов стимулирования роста растений (Glick, 2012; Tufail *et al.*, 2022; Khan *et al.*, 2023).

Бактерии, которые вступают в ассоциированные взаимодействия с растением и положительно влияют на его рост и развитие, объединяют в группу бактерий, стимулирующих рост растений (БСРР) (Kumari *et al.*, 2023). Данные микроорганизмы представляют значительный интерес для сельскохозяйственной практики, поскольку способны оказывать как прямое, так и опосредованное положительное влияние на растение (Gunjal, Glick, 2024). Прямые эффекты БСРР реализуются за счёт синтеза или деградации фитогормонов, включая ауксины, цитокинины и этилен, а также за счёт повышения биодоступности элементов минерального питания, в том числе

азота, фосфора, калия и серы (Glick, 2012; Poria *et al.*, 2022; Orozco-Mosqueda, Santoyo, Glick, 2023).

Наряду с этим БСРР также обладают рядом косвенных механизмов, обуславливающих их ростостимулирующее действие. Одним из таких механизмов является снижение негативного влияния стрессовых факторов. Показано, что бактерии способны ослаблять последствия абиотических стрессовых факторов, таких как засуха, засоление почв, токсическое воздействие тяжёлых металлов и окислительный стресс (Ajmal *et al.*, 2022; Safdarian *et al.*, 2020; Joshi *et al.*, 2023; Mahreen *et al.*, 2023; Peng *et al.*, 2023; Bouremani *et al.*, 2024). Дополнительно микроорганизмы могут участвовать в ремедиации загрязнённых почв за счёт деградации углеводов (Tara *et al.*, 2014). Существенное значение имеет и их способность повышать устойчивость растений к биотическим стрессам, это достигается как посредством синтеза фунгицидных и антибактериальных соединений, так и путём индукции системной устойчивости растений (Compant *et al.*, 2005b; Jacob *et al.*, 2020; Munif, Putri, Mutaqin, 2020; Ranjan *et al.*, 2023).

Таким образом, БСРР рассматриваются как перспективная альтернатива традиционным агрохимическим подходам, поскольку обеспечивает комплексное воздействие, сочетающее стимуляцию роста и защиту растений.

В настоящее время рынок биопрепаратов, основанных на микроорганизмах, показывает устойчивый рост в Северной Америке, Европе, Азиатско-Тихоокеанском регионе, Латинской Америке, на ближнем Востоке и в Африке (Basu *et al.*, 2021). Параллельно расширяется спектр коммерческих биопрепаратов, создаваемых на основе различных микроорганизмов и их консорциумов, предназначенных для применения на сельскохозяйственных культурах различных групп. Среди них широкое распространение получили препараты на основе азотфиксирующих бактерий, такие как Азотовит («ДельтаБио», Новомосковск, Россия), AZOTER («Azoter», Дьёр, Венгрия), Bio Gold Bio Gold («Bio Power Lanka»,

Коломбо, Шри-Ланка) и TwinN («Mapleton Agri Biotec», Мэплтон, Австралия), а также препараты, содержащие бактерии, обладающие способностью к растворению фосфатов и калия, например Фосфатовит («ДельтаБио», Новомосковск, Россия), CataPult («Bio-Tech Organics», Вирджиния, Австралия), Symbion van Plus («T Stanes and Company LTD», Тамилнад, Индия) и др. (Шайхутдинов и др. 2013; Artyszak, Gozdowski, 2020; Basu *et al.*, 2021; Reed, Glick, 2023).

Особый научный интерес в контексте выделения БСРР представляют дикорастущие растения, поскольку в естественных условиях они подвергаются постоянному воздействию комплекса биотических и абиотических стрессоров. Можно предположить, что микробиом данных растений участвует в устойчивости к неблагоприятным факторам окружающей среды, способствуя их адаптации, экологической пластичности и выживанию. В этом отношении *Vitis amurensis* Rupr., дикорастущий амурский виноград, является особенно ценным объектом исследования. Данный вид является аборигенным для Восточной Азии и отличается исключительной холодоустойчивостью до -40 °С. При этом *V. amurensis* произрастает в экстремальных экологических условиях: на малоплодородных, каменистых почвах склонов и обрывов, где доступность питательных веществ существенно ограничена (Wu *et al.*, 2010). Кроме того, *V. amurensis* характеризуется устойчивостью к ряду опасных заболеваний винограда, включая мучнистую росу, белую гниль и антракноз (Liu, Li, 2013). Совокупность жёстких абиотических и биотических стрессовых факторов, создаёт селективное давление, способствующее формированию уникального состава ассоциированного микробиома. Предполагается, что микроорганизмы, стабильно колонизирующие растение в таких условиях, обладают комплексом адаптивных свойств, в частности, способностью к ростостимуляции и биоконтролю, что делает *V. amurensis* перспективным источником микроорганизмов, обладающих значимыми ростостимулирующими свойствами.

Степень разработанности темы. На сегодняшний день довольно хорошо изучены таксономическая структура и состав бактериального сообщества винограда *V. amurensis* (Aleynova, Nityagovsky, Kiselev, 2021; Aleynova *et al.*, 2022a, 2023a, 2023b), но функциональная характеристика бактериальных изолятов в отношении стимуляции роста растений, остаётся слабо изученной. Из винограда *V. amurensis* выделен и охарактеризован штамм *Bacillus velezensis* AMR25, обладающий антагонистической активностью в отношении *Erwinia billingiae*, *Alternaria tenuissima*, *Botrytis cynerea*, *Fusarium avenacea* (Anan'ev *et al.*, 2024). Дополнительно, получены данные *in silico* о потенциальных микроорганизмах-антагонистах *V. amurensis*, которые гипотетически способны сдерживать рост широко-распространенного патогена винограда *Plasmopara viticola* (Nityagovsky *et al.*, 2024).

В связи с этим исследование эндофитных бактерий амурского винограда с использованием комплекса современных подходов, включающих молекулярно-генетический анализ, биохимические испытания и тестирования на растениях, являются актуальным и перспективным. Данный подход позволит не только расширить представления о функциях *V. amurensis*, но и выявить потенциальные штаммы, пригодные для разработки биопрепаратов сельскохозяйственного назначения.

Цель и задачи исследования. Цель работы – изучить эндофитные бактерии, ассоциированные с *V. amurensis* и оценить их ростостимулирующий потенциал в качестве основы для разработки сельскохозяйственных биопрепаратов.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Отобрать изоляты бактерий *V. amurensis*, проявляющих ростостимулирующий потенциал по признакам повышения биодоступности калия, фосфора, серы, азота и биосинтеза индолил-3-уксусной кислоты (ИУК).

2. Оценить способность выделенных изолятов бактерий *V. amurensis* к колонизации модельного растения *Arabidopsis thaliana* и их влияние на его морфометрические показатели.

3. Изучить влияние инокуляции изолятов бактерий *V. amurensis* на морфометрические показатели сельскохозяйственного растения *Oryza sativa*.

4. Определить генетические детерминанты и биологически активные соединения выбранных бактериальных изолятов *V. amurensis*, обуславливающих ростостимулирующий эффект растений.

Научная новизна. Впервые охарактеризована способность эндофитных бактерий, выделенных из *V. amurensis*, произрастающего на Дальнем Востоке России, к повышению биодоступности элементов питания и синтезу фитогормонов. Впервые из *V. amurensis* были выделены и проанализированы с использованием методов современной генетики и биохимии штаммы *Gordonia aichiensis* P6PL2, *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 и *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5, которые достоверно увеличивают рост риса. Впервые установлена способность к синтезу цитокининов у бактерии рода *Gordonia*.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные результаты могут лечь в основу разработки биопрепаратов, для стимуляции роста промышленно важных растений, что в целом будет способствовать развитию высокопроизводительного и экологически безопасного сельского и лесного хозяйства. Кроме того, материалы диссертационной работы могут быть использованы при проведении теоретических и практических занятий в вузах на биологических и сельскохозяйственных факультетах.

Методология и методы диссертационного исследования. В процессе исследования использовались как классические, так и инновационные методы биотехнологий, биохимии, микробиологии и молекулярной биологии. Выделение и секвенирование по Сэнгеру культивируемых изолятов бактерий, ассоциированных с *Vitis amurensis*, были выполнены как описано (Aleynova *et al.*, 2022a). Оценка микробиологической активности

изолятов была выполнена с использованием дифференциально-диагностических сред. Оценка стимулирующего действия на рост растений *Arabidopsis thaliana* и *Oryza sativa* проводили как описано (Anan'ev *et al.*, 2025; Aleynova *et al.*, 2026b). Первичную таксономическую идентификацию до рода проводили с помощью секвенирования по Сэнгеру. Высокопроизводительное секвенирование метагенома *A. thaliana* выполняли по технологии Illumina. Биоинформатический анализ полученных данных проводили как описано ранее (Aleynova *et al.*, 2022a, 2022b; Nityagovsky *et al.*, 2024). Выделение ДНК и проведение количественного ПЦР РВ проводили согласно методике (Aleynova *et al.*, 2026a). Высокопроизводительное секвенирование геномов *G. aichiensis* P6PL2, *P. marginalis* RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCH-B5 проводили по технологиям MiSeq Illumina и Oxford Nanopore. Геномный анализ проводился с помощью SPAdes (Prjibelski *et al.*, 2020), Unicycler (Wick *et al.*, 2017), Prokka (Seemann, 2014), RAST (Brettin *et al.*, 2015), mobileOG-db (Brown *et al.*, 2022), tRNAscan-SE (Lagesen *et al.*, 2007), RNAmmer (Chan *et al.*, 2021), OrthoVenn3 (Sun *et al.*, 2023) и PGPT-Pred PlaBase (Patz *et al.*, 2021). Для анализа содержания вторичных метаболитов была проведена ВЭЖХ с УФ и масс-спектрометрией высокого разрешения (Anan'ev *et al.*, 2025). Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью спаренного критерия Стьюдента, одностороннего дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим тестом Тьюки, теста суммы рангов Уилкоксона, теста PERMANOVA, коэффициента корреляции Пирсона и алгоритма DESeq2 (Love, Huber, Anders, 2014). Для всех тестов был выбран уровень значимости 0.05 как минимальное значение статистической разницы во всех экспериментах. Для анализа с помощью DESeq2 значение скорректированного $p < 0.01$ считалось статистически значимым.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Бактериальное сообщество дикорастущего винограда *V. amurensis* включает бактерии, способные стимулировать рост растений.

2. Отдельные эндофитные бактерии *V. amurensis* способны колонизировать растения других видов и изменять состав их бактериома.

3. Некоторые штаммы выделенные из *V. amurensis*, оказывают ростостимулирующий эффект как на модельное растение *A. thaliana*, так и на сельскохозяйственную культуру *O. sativa*.

4. Ростостимулирующий эффект бактериальных штаммов винограда *G. aichiensis* P6PL2, *P. marginalis* RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCh-B5 обусловлен молекулярно-генетическими детерминантами, а именно наличием генов биосинтеза фитогормонов – ауксинов и цитокининов, а также мобилизации P, K и метаболизма N.

Степень достоверности результатов. Достоверность полученных результатов обеспечена применением апробированных методик, их взаимодополнением, статистической обработкой данных и воспроизводимостью экспериментов. Все результаты соответствуют записям в рабочих журналах и исследовательским протоколам. Результаты, положения и выводы подкреплены экспериментальными данными, представленными в виде рисунков и таблиц.

Апробация работы. Результаты работы представлены на Всероссийской научной молодёжной конференции «Геномика и биотехнология микроорганизмов», 19–23 сентября 2022 г., г. Владивосток; VI Всероссийской научной конференции с международным участием «Устойчивость растений и микроорганизмов к неблагоприятным факторам среды», 3–7 июля 2023 г., г. Иркутск и пос. Большое Голоустное; Всероссийской научной школе-конференции молодых учёных и студентов «Генетические технологии в исследованиях природных соединений», 3–7 октября 2023 г., г. Владивосток; 15-ой Международной школе молодых учёных «Системная биология и биоинформатика», 25–30 ноября 2024 г., г. Новосибирск.

Личный вклад автора. Личный вклад автора охватывает все этапы выполнения диссертационного исследования и включает сбор материала,

планирование экспериментов, обработку и анализ данных, обсуждение и интерпретацию результатов, подготовку научных публикаций и представление результатов на конференциях. Рукопись диссертации была написана автором самостоятельно.

Публикации. Материалы диссертации изложены в 10 публикациях, из них 3 статьи в журналах из перечня ВАК.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 4 глав (Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и Обсуждение результатов), заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 144 страницах, иллюстрирована 32 рисунками и содержит 13 таблиц. Список литературы насчитывает 311 иностранных наименований и одно отечественное.

Благодарности.

Автор искренне благодарит научного руководителя к.б.н. Алейнову О.А. за всестороннюю помощь и поддержку на всех этапах работы. Автор признателен д.б.н. Киселеву К.В. за помощь в подготовке диссертации. Также автор выражает глубокую признательность всем сотрудникам лаборатории биотехнологии ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН за поддержку на всех этапах работы. Данная работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 124012200181-4) и при финансовой поддержке грантов Российского научного фонда (№ 22-74-10001 и 22-74-10001-П).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Классификация микроорганизмов, ассоциированных с растением

Современные представления о растительно-микробных взаимодействиях рассматривают растение как сложную биологическую систему, которая функционирует в тесной взаимосвязи с ассоциированными микроорганизмами. Совокупность микроорганизмов, обитающих на поверхности и внутри тканей растений, формирует фитобиом, включающий бактерии, грибы, археи и вирусы (Snoeijsbos *et al.*, 2019; Anal *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2020). Представители фитобиома образуют с растением-хозяином разнообразные по характеру и степени интеграции ассоциации, оказывая влияние на рост, развитие и адаптивные возможности растения (Singh *et al.*, 2020). В структуре растительного микробиома обычно выделяют две основные ниши: эписферу и эндосферу (Dastogeer *et al.*, 2020; Compant *et al.*, 2021).

Эписфера представляет собой внешнюю поверхность растений, населённую микроорганизмами. Эписферу можно разделить на ризосферу, которая представляет собой границу раздела корня и почвы, где микроорганизмы прикрепляются к поверхности корней (Bakker *et al.*, 2013; Luo, He, Chen, 2024) и филосферу, представляющую собой поверхность надземных органов растений, прежде всего листьев и стеблей (De Mandal, Jeon, 2023). Микроорганизмы ризосферы выполняют ряд важных экологических и физиологических функций, таких как фиксация азота, растворение труднорастворимых соединений фосфора, синтез фитогормонов и сидеофоров, а также подавление почвенных фитопатогенов (Gómez Expósito *et al.*, 2017; Saeed *et al.*, 2021; Pantigoso, Newberger, Vivanco, 2022). Микроорганизмы филосферы чаще всего рассматриваются в качестве агентов биологического контроля, способных подавлять развитие различных фитопатогенов (Ma *et al.*, 2013; De Mandal, Jeon, 2023; Zhang *et al.*, 2023).

Эндосфера – это внутренняя часть тканей растений, включая клетки и межклеточное пространство, населённое микроорганизмами, в том числе патогенными (Compant *et al.*, 2021; Goodwin, 2022). Эндофиты – это микроорганизмы, которые обитают в тканях живых растений, не оказывая негативного влияния на рост и развитие растений. Обычно к эндофитам относятся грибы и бактерии, реже – водоросли и вирусы (Nair, Padmavathy, 2014; Kuźniar *et al.*, 2025). Стоит отметить, что термин «эндофитизм» акцентирует внимание на месте обитания микроорганизма, а не на характере взаимодействия или выполняемых им функциях (Sena *et al.*, 2024). Внутренние ткани растения, включая корни, листья, стебли, семена и другие части растений обеспечивают эндофитам стабильные условия с точки зрения влажности, pH, доступности питательных веществ и отсутствия конкуренции со стороны большого числа микроорганизмов (Tripathi *et al.*, 2022). Функции эндофитов могут быть разнообразными и зависят от конкретного вида и условий взаимодействия. Некоторые эндофитные микроорганизмы проявляют условно-патогенный характер: в симбиотических отношениях с подходящим хозяином в благоприятных условиях они функционируют как мутуалисты или симбионты, способствуя росту и стрессоустойчивости растения. Однако при смене хозяина, ослаблении иммунитета растения или в неблагоприятных экологических условиях (например, засуха, загрязнение, температурный стресс) эти же микроорганизмы могут переключаться на патогенный или сапротрофный режим жизнедеятельности, используя растительные ткани в качестве источника питательных веществ (Jha *et al.*, 2023; Sena *et al.*, 2024).

С таксономической точки зрения эндофитные бактерии представлены 16 филумами, включающих свыше 200 родов (Golinska *et al.*, 2015). Однако большая часть относится к 3 филумам: Firmicutes, Actinobacteria и Proteobacteria. Таксономический состав бактериального сообщества эндосферы имеет более чем в два раза меньшую относительную численность

представителей филумов: Bacteroidetes, Acidobacteria, Planctomycetes, Chloroflexi и Verrucomicrobia, чем в эписфере (Zarraonaindia *et al.*, 2015; Coleman-Derr *et al.*, 2016; Souza de *et al.*, 2016; Fonseca-García *et al.*, 2016; Hamonts *et al.*, 2018).

Экологически бактериальные эндофиты разделяют на облигатные и факультативные. Эндофиты, зависящие от метаболитов растений, передаются с помощью вертикального переноса и определяются, как облигатные. Факультативные эндофиты представляют собой свободно живущие бактерии, которые на определённой стадии своего жизненного цикла населяют растения (Eid *et al.*, 2021). Помимо этого, в зависимости от специфичности по отношению к хозяину, выделяют узкоспециализированные эндофиты, населяющие конкретный род или вид растения и неспецифичные, населяющие разные рода растений (Hardoim *et al.*, 2015).

1.2 Особенности колонизации растений эндофитными микроорганизмами

Эндофитные и патогенные бактерии обладают сходным набором для функциональных возможностей, необходимых для колонизации растения. К ним относятся способность выживать в ризосфере, подвижность для активного перемещения к растению, механизмы, обеспечивающие проникновение внутрь тканей растения и последующее распространение по растению, а также механизмы подавления или обхода защитных реакций растения. Степень успешной колонизации зависит от ряда факторов: особенностей растительных тканей, генотипа растения, видовой принадлежности микроорганизма, а также комплекса биотических и абиотических условий окружающей среды (Kandel, Joubert, Doty, 2017; Liu *et al.*, 2017; He *et al.*, 2022).

Наиболее распространённым очагом колонизации является почва, поскольку она обладает огромным разнообразием микроорганизмов, богата

питательными элементами и влагой, необходимых для поддержания жизнеспособности бактерий, а также обеспечивает физический контакт с корневой системой растения (Bulgarelli *et al.*, 2012; Hardoim *et al.*, 2015; Ahmad *et al.*, 2025). Растения выделяют корневые экссудаты, включают органические кислоты, эфиры, аминокислоты, пептиды и углеводы участвующие в хемотаксическом привлечении бактериальных эндофитов (Ray *et al.*, 2019; Sorty *et al.*, 2025). Было показано, что оксалаты участвуют в привлечении бактериального штамма *Burkholderia phytofirmans* PsJN (Kost *et al.*, 2014). В исследовании использовался мутантный штамм PsJN, не способный к разложению оксалатов, через 3 дня после инокуляции люпина и кукурузы численность мутантного штамма была значительно ниже бактерий дикого типа. Помимо этого, было показано, что добавление лимонной кислоты и глицина усиливает колонизацию *Bacillus velezensis* LG14-3 корней банана (Yang *et al.*, 2015). В другом исследовании учёные обнаружили, что соединения бетоницин, глицин-бетаин, тригонеллин, холин и стахидрин усиливают хемотаксис *Sinorhizobium meliloti* MV II-1 к семенам люцерны. При этом холин демонстрировал способность повышать хемотаксис даже при низких концентрациях (Webb *et al.*, 2017).

Считается, что первым этапом процесса колонизации является адгезия бактерий к поверхности корня (Kandel, Joubert, Doty, 2017). В данном процессе участвуют несколько бактериальных структур, включая фимбрии, жгутики, а также метаболиты, такие как экзополисахариды (ЭПС) и липополисахариды (ЛПС) (Eid *et al.*, 2021). Было показано, что структуры и вещества, участвующие в адгезии, являются видоспецифичными для бактерий. Так мутантный штамм *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pal5, не способный к синтезу ЭПС, имел низкий уровень адгезии с рисом (Silva *et al.*, 2020). В то же время, исследования на мутантном по ЭПС штамме – *Herbaspirillum seropedicae* SmR1, продемонстрировали, что данному виду не требуется ЭПС для колонизации риса (Balsanelli *et al.*, 2014), а необходим ЛПС для колонизации растений (Balsanelli *et al.*, 2010).

Следующим этапом колонизации является проникновение бактерии в эндосферу через кончик корня, повреждённый участок корня, либо путём активного проникновения с использованием ферментов, разрушающих клеточную стенку, таких как целлюлаза, эндоглюканаза и пектиназа (Reinhold-Hurek *et al.*, 2006; Santoyo *et al.*, 2016). После проникновения большая часть эндофитов колонизирует межклеточное пространство растений, включая листья, корни, стебли, цветки и семена (Compant *et al.*, 2005a; Mitter *et al.*, 2017; Kuźniar *et al.*, 2020).

Другим потенциальным источником эндофитов является филлосфера. Однако ультрафиолетовое излучение, дефицит питательных веществ и влаги, а также резкие перепады температур значительно снижают эффективность колонизации через надземные органы растений (Spence, Bais, 2013; Muneer *et al.*, 2024). Только адаптированные бактерии способны проникать внутрь растения, используя устьица, гидатоды или механические повреждения эпидермиса (Compant, Clément, Sessitsch, 2010). Например, штамм *Methylobacterium extorquens* DSM13060 способен колонизировать верхушки побегов *Pinus sylvestris* L. (Koskimäki *et al.*, 2015). Другой пример, штамм *Streptomyces mutabilis* IA1, обладающий антагонистической активностью против *Fusarium culmorum*, колонизировал зерновку мягкой пшеницы *T. aestivum*, проникая через околоплодник до эндокарпа (Toumatia *et al.*, 2016).

1.3 Эндофитные бактерии, стимулирующие рост растений

С точки зрения сельскохозяйственной биотехнологии, наибольший интерес представляют эндофитные бактерии, стимулирующие рост растений (ЭБСРР). Они способны стимулировать рост растений за счёт повышения биодоступности основных питательных элементов – азот, калий, фосфор (N, K, P), продукции фитогормонов, а также снижая воздействие абиотических и биотических стрессовых факторов, таких как засуха, солевой стресс и воздействие патогенных организмов (Santoyo *et al.*, 2016; Morales-Cedeño *et al.*, 2021). Бактериальные эндофиты обладают преимуществом над эпифитными микроорганизмами, так как формируют более устойчивую связь

с растением-хозяином и поддерживают постоянный контакт с клетками, васкулярной системой и метаболитами, что позволяет эффективнее влиять на рост растения (Morales-Cedeño *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2024).

Прямые доказательства активности эндофитных бактерий, в стимуляции роста растений были получены на клевере и картофеле в севообороте, обработка эндофитными бактериями приводила к увеличению побегов на 63 %, масса побегов на 66 % и масса корней на 55 % (Sturz, Christie, Matheson, 1998). Эндофитные бактерии выделенные из *Haloxylon ammodendron* и *Halostachys caspica* повышали всхожесть, увеличивали биомассу, синтез хлорофила пшеницы, смягчали воздействие солевого стресса *Triticum aestivum* (He *et al.*, 2026).

1.4 Прямые механизмы стимулирования роста растений микроорганизмами

Эндофитные бактерии, стимулирующие рост растений, способны оказывать положительное влияние на рост и развитие растения-хозяина за счёт прямых механизмов воздействия, способствуя улучшению минерального питания, а также синтезируя фитогормоны и другие биологически активные вещества (БАВ), что стимулирует рост растения, как в нормальных условиях, так и при воздействии стрессовых факторов (Ma *et al.*, 2016).

1.4.1 Повышение доступности минерального питания

Одним из наиболее изученным механизмом стимулирования роста растений является повышение биодоступности элементов минерального питания, такими как N, P, K и железо (Fe). Во многих сельскохозяйственных почвах наблюдается недостаток одного или нескольких питательных элементов, что приводит к снижению темпов роста и развития растения (Glick, 2012).

ЭБСРР способны повышать доступность N для растения-хозяина за счёт активности фермента нитрогеназы (Puri, Padda, Chanway, 2017).

Нитрогеназа кодируется *nif* генами, которые обычно организованы в кластер размером около от 20-24 кб. и включают несколько оперонов, кодирующих белки, участвующие в формировании железо-молибденового кофактора, переносе электронов и регуляции экспрессии генов, необходимых для синтеза и функционирования данного фермента (Debbarma *et al.*, 2023).

К числу наиболее изученных азотофиксирующих ЭБСР относятся представители родов *Acetobacter*, *Azospillum*, *Burkholderia*, *Gluconacetobacter*, *Herbaspilillum* и *Klebsiella* (Chaudhary *et al.*, 2022). Например, *Acetobacter* sp. и *Azoarcus* sp., выделенные из *Saccharum officinarum* и *Leptochloa fusca* соответственно, способны фиксировать атмосферный N в количестве до 150 кг на 1 га в год, что свидетельствует о значительном вкладе эндофитных азотофиксирующих бактерий в азотное питание растений (Gupta *et al.*, 2012).

Показано, что азотофиксирующие ЭБСРР могут быть более эффективными в обеспечении растений N по сравнению с ризосферными микроорганизмами (Gupta, Panwar, Jha, 2013; Hurek, Reinhold-Hurek, 2003). Это связано с тем, что при успешной колонизации растений эндофиты отказываются внутри тканей растения, где парциальное давление кислорода ниже, чем во внешней среде, что создаёт более благоприятные условия для функционирования кислород-чувствительного фермента нитрогеназы (Cocking, 2003). Однако ЭБСРР менее эффективны в фиксации N, чем представители рода *Rhizobium* ассоциированных с корневыми клубеньками (Afzal *et al.*, 2019).

Фосфор – ещё один из важных элементов минерального питания растений, играющий ключевую роль в ферментативных реакциях и ряде физиологических процессах (Ahemad, 2015). Несмотря на то, что P может присутствовать в почве в значительных количествах, большая его часть находится в нерастворимых соединениях и, следовательно, недоступна для растений. Кроме того, около 75 % вносимого P в качестве удобрений, связывается с почвенными компонентами и становится недоступным для растений (Duarte *et al.*, 2022).

Солюбилизация фосфатов является важным механизмом, обеспечивающим превращение нерастворимых форм Р в доступные для растений соединения, например, ортофосфат. Растениям требуется значительное количество Р (около 30 мкмоль/л) для повышения продуктивности, но доступное им количество ограничено, что делает этот питательный элемент лимитирующим фактором в почве (Chaudhary *et al.*, 2022).

Эндофиты способны растворять нерастворимые фосфаты или высвобождать органические фосфаты посредством образования кислот, таких как яблочная, глюконовая, лимонная кислоты и др. (Chaudhary *et al.*, 2022). Кроме того, они могут повышать биодоступность органических фосфатов благодаря выделению кислых фосфатаз, участвующих в минерализации органических соединений Р (Khouchi *et al.*, 2022). Показано, что около 59-90 % эндофитных микроорганизмов, выделенных из растений кактусов, клубники, подсолнечника и сои, обладают способностью к солюбилизации фосфатов (Forchetti *et al.*, 2007; Puente, Li, Bashan, 2009; Mei *et al.*, 2021; Moura de *et al.*, 2022; Silvestrini *et al.*, 2023). К бактериям, которые мобилизуют Р посредством минерализации и солюбилизации, относятся представители родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Paenibacillus*, *Thiobacillus* и *Serratia* (Jahan *et al.*, 2013; Kang *et al.*, 2014). Среди эндофитных грибов встречаются представители родов *Curvularia*, *Piriformospora*, *Penicillium*, *Aspergillus* и *Trichoderma* (Chaudhary *et al.*, 2022). Штаммы *Pseudomonas fluorescens* выделенные из многолетнего травянистого растения из семейства Злаковых –*Miscanthus giganteus*, показали значительную вариативность в способности к растворению фосфатов, при этом максимальное растворение составило около 1312 мг/л. Кроме того, инокуляция растений гороха данными штаммами приводила к увеличению массы побегов и корней по сравнению с контрольными растениями (Otieno *et al.*, 2015).

Дефицит К может приводить к снижению интенсивности дыхания корней и листьев, уменьшению фотосинтетической активности и замедлению роста корневой системы (Yang *et al.*, 2021). Повышение биодоступности К микроорганизмами происходит по механизмам, сходным с мобилизацией Р и с синтезом органических кислот (Zhao *et al.*, 2024). Например, при культивировании *Priestia aryabhattay* SK1-7 с нерастворимыми источниками К, наблюдалось усиление выделения органических кислот, что способствовало растворению калий-содержащих минералов (Chen *et al.*, 2022).

Железо входит в состав многих железосодержащих белков, контролирующих важные физиологические процессы, такие как транспирация и дыхание (Ma *et al.*, 2016). В почве Fe чаще всего присутствует в форме труднорастворимого трёхвалентного железа (Fe^{3+}), образующего карбонаты, гидроксиды, оксиды и фосфаты, что значительно ограничивает его доступность для растений (Rajkumar *et al.*, 2010). Эндوفитные бактерии способны повышать доступность Fe за счёт синтеза сидерофоров, низкомолекулярных хелатирующих соединений, обладающих высокой аффинностью к ионам Fe^{3+} (Ma *et al.*, 2016). Сидерофоры связывают нерастворимые формы Fe и переводят их в доступные комплексы, которые могут усваиваться растениями посредством хелатной деградации (Rajkumar, Ae, Freitas, 2009).

Показано, что продукция сидерофоров ЭБСРР положительно коррелирует с показателями роста растений. Так было установлено, что синтез бактериальных сидерофоров приводил к увеличению роста побегов и корней кукурузы и томата (Marques *et al.*, 2010; Radzki *et al.*, 2013). Помимо улучшения железного питания растений, сидерофоры могут подавлять различные фитопатогенные микроорганизмы. Это связано с тем, что микроорганизмы, продуцирующие сидерофоры, активно связывают доступное железо, ограничивая его использование патогенами (Ahmad, Ahmad, Khan, 2008).

1.4.2 Синтез и регуляция фитогормонов, стимулирующих рост растений

Растительные гормоны играют ключевую роль в росте и развитии растений, регулируя морфологические и физиологические процессы, а также обеспечивая адаптацию растений к изменениям условий окружающей среды. Фитогормоны воздействуют на растения посредством регуляции экспрессии генов, что приводит к изменению метаболических и морфогенетических процессов (Sreekanth *et al.*, 2026; Thilakarathne, Liu, Zou, 2025).

Известно, что многие ЭБСРР, так же могут синтезировать или разлагать некоторые из фитогормонов, включая цитокинины, гиббереллины, салициловую кислоту, ауксины и этилен (Fadiji, Babalola, 2020; Baron, Rigobelo, 2021; Orozco-Mosqueda, Santoyo, Glick, 2023). Помимо этого, микроорганизмы способны синтезировать ряд различных биологически активных соединений, способных непосредственно стимулировать рост растений (Glick, 2012).

Индолилуксусная кислота (ИУК), является основным растительным ауксином, участвующим во многих физиологических процессах растений (Gao, Zhuang, Zhang, 2024). ИУК влияет на деление, рост и дифференциацию клеток, стимулирует прорастание семян и клубней, ускоряет развитие ксилемы и корней, контролирует процессы вегетативного роста (Saidi, Najibarat, 2021; Bibi *et al.*, 2025). Кроме того, ИУК инициирует образование боковых и придаточных корней, участвует в реакциях растений на свет и гравитацию, влияет на процессы цветения, фотосинтеза, образование пигментов и биосинтез различных метаболитов, а также повышает устойчивость растений к стрессовым факторам (Wang *et al.*, 2022; Yun *et al.*, 2023).

Реакция растений на ИУК может значительно варьироваться в зависимости от вида растения, типа ткани и стадии развития. Так, чувствительность к ауксину различается между корнями и побегами, оптимальный уровень ИУК для корней примерно в 5 раз ниже, чем роста для побегов (Glick, 2012).

Синтез ИУК микроорганизмами хорошо изучен и встречается у многих родов ЭБСРР: *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces* и *Rouxiella* (Morales-Cedeño *et al.*, 2021; Keswani *et al.*, 2022).

На сегодняшний день идентифицировано шесть основных путей биосинтеза ИУК у бактерий. К ним относят пути индол-3-ацетамида (IAM), индол-3-ацетонитрила (IAN), индол-3-пирувата (IPyA), триптамина (ТАМ), окисления боковой цепи триптофана (TSO) и индол-3-ацетоальдегидный (IAAld) путь (McClerklin *et al.*, 2018).

Производство ИУК эндофитными микроорганизмами приводит к увеличению биомассы и площади корней растений, а также к увеличению образования боковых корней (Glick, 2012; Güler, 2026). Было показано, что культуральная жидкость после выращивания ИУК-синтезирующих бактерий, выделенных из многолетнего травянистого растения семейства Орхидные – *Paphiopedilum appletonianum*, стимулировала образование боковых корней у фасоли обыкновенной *Phaseolus vulgaris* (Tsavkelova *et al.*, 2007). Кроме того, эксперименты с мутантным штаммом *Pseudomonas putida* GR12-2, имеющий дефекты в синтезе ИУК, показали, что данный штамм не способен стимулировать развитие корневой системы растений. В то же время, мутант *P. putida* GR12-2 со сверхпродукцией ИУК, вызывал формирование более коротких корней у азиатской фасоли *Vigna radiata* (Tsavkelova *et al.*, 2007). Эти результаты указывают на то, что умеренные концентрации ИУК, продуцируемой микроорганизмами, могут способствовать росту корней, а более высокие концентрации ИУК могут напротив вызывать замедление роста корней.

При этом регуляция уровня ИУК микроорганизмами осуществляется не только за счёт синтеза фитогормонов, но и посредством их модификации и деградации. Показано, что штамм *P. putida* 1290, способный как к деградации

ИУК, так и к её синтезу в присутствии триптофана, устранял негативный эффект высокой концентрации экзогенной ИУК (Leveau, Lindow, 2005). В отличие от штаммов с высокой продукцией ауксинов, использование *P. putida* 1290 в присутствии триптофана не оказало негативного влияния на развитие корневой системы (Leveau, Lindow, 2005).

Таким образом, ростостимулирующий эффект ИУК во многом определяется её концентрацией и способностью микроорганизмов поддерживать оптимальный гормональный баланс в тканях растений. При этом уровень ИУК в самом растении играет важную роль, бактериальный ИУК, как правило, стимулирует рост растений с низким уровнем эндогенного ауксина, тогда как при его избытке может оказывать ингибирующее действие (Glick, 2012).

Цитокинины (ЦК) – фитогормоны, участвующие в индукции и регуляции деления клеток, прорастания семян, апикального доминирования, удлинения корней, дифференциации ксилемы и хлоропластов, перехода к репродуктивной фазе развития, формирования цветков и плодов, старения листьев, а также в сигнальных процессах, связанных с питанием растений и их взаимодействии с патогенами (Orozco-Mosqueda, Santoyo, Glick, 2023). Способность к синтезу цитокининов представлена в меньшем числе родов по сравнению с ауксинами и включает рода *Azospirillum*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Microbacterium*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas* и *Stenotrophomonas* (Siddiqui *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2017; Gamit, Amaresan, 2023; Khan *et al.*, 2025).

Показано, что некоторые бактерии, продуценты ЦК способны стимулировать рост растений и повышать устойчивость к абиотическим стрессам растений хозяев (Chieb, Gachomo, 2023). Так инокуляция цитокинин-продуцирующих бактерий *Bacillus subtilis* IB-22 увеличила содержание ЦК в салате и улучшила рост растений в условиях засухи (Arkhipova *et al.*, 2005). Другая продуцирующая ЦК бактерия, *Azospirillum brasilense* RA17, увеличила рост и урожайность пшеницы, скорость

фотосинтеза, содержание хлорофилла и активность антиоксидантных ферментов (Zaheer *et al.*, 2022). Так же сообщалось, что ЦК синтезирующая бактерия *Pseudomonas fluorescens* G20-18 способны контролировать рост патогенных бактерий *Pseudomonas syringae* за счёт регуляции уровня абсциссовой кислоты (АБК) и повышения содержания хлорофилла (Großkinsky *et al.*, 2016).

Этилен (ЭТ) газообразный фитогормон, проявляющий разнообразную биологическую активность в широком диапазоне концентраций. Высокие уровни этилена характерны для созревающих плодов, тогда как низкие ассоциированы с прорастанием семян, дифференцировкой тканей, формированием корней и побегов, развитием боковых почек, ростом пыльцевых трубок, цветением, увяданием листьев, устойчивостью к абиотическим и биотическим стрессовым факторам (Vanderstraeten *et al.*, 2019; Althiab-Almasaud *et al.*, 2021).

Биосинтез этилена начинается с S-аденозилметионина (SAM), превращаемого АЦПК-синтетазой в 1-аминоциклопропан-1-карбоновую кислоту (АЦПК), а затем АЦПК-оксидазой в этилен. Эндогенный и экзогенный ИУК участвует в регулировании биосинтеза этилена в растении поскольку повышенный уровень ИУК увеличивает экспрессию растительных генов биосинтеза этилена. Тем самым повышая концентрацию этилена и, следовательно, к ингибированию роста растений (Glick, Penrose, Li, 1998; Cheng, Park, Glick, 2007; Poupin *et al.*, 2016). Некоторые ЭБСРР содержат АЦПК-деметилазу, расщепляющую АЦПК на α -кетобутират и аммиак. Тем самым снижая уровень АЦПК в растении и снижая ингибирование роста растений этиленом (Orozco-Mosqueda, Santoyo, Glick, 2023).

Было показано, что многие АЦКП-деградирующие бактерии повышают устойчивость растений к абиотическим стрессовым факторам. Так инокуляция *Oryza sativa* L. бактериями *Paenibacillus* sp. ANR-ACC3 и *Methylophaga* sp. AR-ACC3 привела к повышению жизнеспособности проростков риса, увеличению длины корней и coleoptilya, нормализации

уровня общего хлорофилла в условиях затопления (Bal, Adhya, 2021). В нормальных условиях инокуляция *Burkholderia* sp. 12F увеличила образование клубеньков и рост у нута *Cicer arietinum* L. (Alemneh *et al.*, 2021). Помимо этого, АЦПК может выступать в качестве хемоаттрактанта, что было показано на опытах с *Pseudomonas* sp. UW4, который сверхэкспрессировал ген, кодирующий АЦПК-деметилазу, что в свою очередь способствовало колонизации UW4 мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. (Gao *et al.*, 2020).

Гиббереллины (ГА) представляют собой большое семейство веществ, включающее около 126 соединений. Однако только четыре соединения проявляют свойства фитогормонов ГА1, ГА3, ГА4 и ГА7 (Yamaguchi, 2008). Гиббереллины участвуют в созревании плодов, преодолении стадии покоя семян, стимулируют рост стеблей, при низких концентрациях способствуют росту корневой системы (Tanimoto, 2012; Gupta, Chakrabarty, 2013; Lee *et al.*, 2015). ЭБСРР продуцируют ГА посредством ГА оперона, включающего гены *cup112*, *cup114*, *cup117* (цитохром P450-монооксигеназы), *fd* (ферредоксин), *sdr* (дегидрогеназа), *ggps* (геранилгеранилдифосфатсинтаза), *cps/ks* (дитерпеновые синтетазы) (Nett *et al.*, 2020). Показано, что в сое *Glycine max* L. эндофитные бактерии *Bradyrhizobium diazoefficiens* синтезируют ГА3, что приводит к увеличению размера клубеньков, в то время как инокуляция мутантной формы *B. diazoefficiens* по ГА-оперона приводила к формированию мелких клубеньков (Nett *et al.*, 2020).

Стоит отметить, что в настоящее время сложно точно разделить количество и состав фитогормонов в растении, синтезируемых ЭБСРР и естественное накопление фитогормонов в целевых тканях растения. Помимо синтеза фитогормонов, важную роль играет способность микроорганизмов регулировать их уровень за счёт процессов трансформации или разложения, что позволяет поддерживать оптимальный гормональный баланс, необходимый для нормального роста растений (Orozco-Mosqueda, Santoyo, Glick, 2023). Поэтому при выборе микроорганизма, продуцирующего

фитогормоны, необходимо провести широкий спектр экспериментов для изучения его влияния на конкретное растение.

1.5 Косвенные механизмы стимулирования роста растений микроорганизмами.

1.5.1 Устойчивость растений к абиотическим стрессовым факторам, опосредованная эндофитными бактериями

Эндофитные бактерии способствуют росту и развитию растений в неблагоприятных условиях используя два ключевых механизма, активация реакции растения-хозяина, направленное на снижение последствий стрессового воздействия и синтез соединений, повышающих стрессоустойчивость (Kumar *et al.*, 2025).

Модуляция и синтез фитогормонов стресса таких как АБК, жасмоновая кислота (ЖК) и салициловая кислота (СК) являются одним из ключевых способов ЭБСРР снижать воздействие абиотических стрессовых факторов (Sharma *et al.*, 2025). Было показано, что штамм *Bacillus safensis* TS3, синтезирующий АБК, способствовал формированию боковых корней у пшеницы *T. aestivum* в условии солевого стресса (Chebotar *et al.*, 2024). Другим примером является штамм *Azospirillum brasilense* Sp245, увеличивший устойчивость *A. thaliana* за счёт повышения уровня АБК (Cohen *et al.*, 2015). Помимо этого, инокуляция женьшеня *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen эндофитной бактерией *Enterobacter cloacae* PN7 снижала окислительный стресс и увеличивала экспрессию растительных генов, ответственных за синтез ЖК и АБК, а также активировала биосинтез сапонинов (Lin *et al.*, 2024a).

Синтез ЭБСРР органических осмолитов, таких как трегалоза, пролин, глицин и бетаин, обеспечивает адаптивный ответ растения на засуху и солевой стресс (Kumar *et al.*, 2025; Sen *et al.*, 2026). Показано, что в геноме *Bacillus safensis* Ni7, повышающем засухоустойчивость стручкового перца

Capsicum annuum L., были обнаружены гены синтеза *treRAB* (трегалозы), *proA_1*, *proA_2* (пролина) и *betI* (бетаина) (Juby *et al.*, 2024).

ЭБСРР так же участвуют в ослаблении окислительного стресса за счёт выработки или модуляции синтеза защитных ферментов. Например, одиночная и совместная инокуляция томата *Solanum lycopersicum* бактериями *Staphylococcus epidermidis* СК9 и *B. australimaris* СК11 увеличивала синтез антиоксидантных ферментов пероксидазы (ПОД) и каталазы (КАТ), чем обеспечивала адаптивный ответ томата к температурному и солевому стрессу (Jan *et al.*, 2025). Инокуляция *O. sativa* бактериями *Enterobacter cancerogenus* JY65 увеличила устойчивость риса к солевому стрессу за счёт активации экспрессии генов, связанных с солевым гомеостазом и активностью ПОД, КАТ, супероксид-дисмутазы (СОД) и аскорбатпероксидазы (АПХ) (Peng *et al.*, 2024).

1.5.2 Устойчивость растений к биотическим стрессовым факторам, опосредованная эндофитными бактериями

Известно, что ЭБСРР способны повышать устойчивость растения-хозяина к различным патогенам, за счёт синтеза биоцидных соединений, литических ферментов и индукции системной устойчивости растений (Kashyap *et al.*, 2023).

Эндофитные бактерии вырабатывают множество вторичных метаболитов с фунгицидной и антибактериальной активностью, подавляющие патогенные микроорганизмы. К таким метаболитам относятся алкалоиды, антибиотики, фенольные соединения, пептиды, летучие органические соединения (ЛОС) и др. (Kashyap *et al.*, 2023; Sen *et al.*, 2026). Наиболее изученными родами эндофитных бактерий обладающими свойствами биологического контроля являются род *Bacillus*, синтезирующий липопептиды, иттурицин и сурфактин (Hernández-Amador, Montesdeoca-Flores, Luis-Jorge, 2026) и *Pseudomonas*, синтезирующий 2,4-диацетилфлороглюцин, пирролнитрин и феназин (Aamir *et al.*, 2020). Было

показано, что представители рода *Pseudomonas*, синтезирующие феназины, подавляют такие патогены растений как *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum* и *Rhizoctonia solani*, за счёт генерации активных форм кислорода, нарушения электронно-транспортной цепи и повышая проницаемость мембран (Biessy, Fillion, 2018; Upadhyay, Srivastava, 2011; Wang *et al.*, 2021).

Литические ферменты, такие как хитиназы, протеазы и глюканы, разрушают клеточные стенки патогенов, эффективно подавляя их рост (Lastochkina *et al.*, 2019; Kowalska, Krzymińska, Tyburski, 2022; Rakhalaru *et al.*, 2025). Так несколько штаммов *Bacillus*, включая *B. megaterium* MB3, *B. subtilis* MB14, *B. subtilis* MB99 и *B. amyloliquefaciens* MB101, синтезирующие хитиназы, β -1,3-глюканы и протеазы, разрушали клеточную стенку *R. solani* и эффективно подавляли его рост (Solanki *et al.*, 2012). Другое исследование показало, что бактерии *P. fluorescens* AAULE41, синтезирующие несколько типов гидролитических ферментов, включающих паротеазы, целюлазы, хитиназы и липазы, подавляли рост патогена – оомицета *Phytophthora capsica*, вызывающий фитофтороз и плодовую гниль важных сельскохозяйственных культур (Admassie, Woldehawariat, Alemu, 2022).

Ключевыми системными механизмами защиты растений от патогенных микроорганизмов, являются индуцированная системная устойчивость (ИСУ, induced systemic resistance, ISR) и системная приобретённая устойчивость (СПУ, systemic acquired resistance, SAR). ИСУ активируется ЭБСРР через сигнальные пути ЭТ и ЖК, в то время как СПУ патогенами активируется по пути СК. Данные механизмы обеспечивают длительную защиту от широкого спектра разнообразных патогенов. Так СПУ контролирует устойчивость к биотрофным и гемибитрофным патогенам, а ИСУ к некротрофам (Sen *et al.*, 2026).

В ходе запуска ИСУ эндофитными бактериями, наблюдается повышенная устойчивость растений к патогенам по сравнению с

неинокулированными бактериями, за счёт активного отложения каллозы, активации генов PR-белков, синтеза АФК и фитоалексинов (Abbas *et al.*, 2024). Например, инокуляция изолятом REB01 индуцировала устойчивость риса к фитофторозу, вызываемому *R. solani*, за счёт увеличения активности PR-белков и снижения содержания малонового диальдегида (Mao, Gong, Guan, 2019). Так же инокуляция *B. velezensis* L-1, *B. megaterium* L2 и *Herbaspirillum huttiense* S7 привела к устойчивости томата против *R. solani* за счёт активации антиоксидантной системы, PR-белков и синтеза фенольных соединений (Abbas *et al.*, 2024).

Функциональные геномные подходы, такие как РНК-секвенирование, свидетельствуют о том, что ЭБСРР способны изменять транскрипционную активность защитных генов растения-хозяина, тем самым усиливая их устойчивость к заболеваниям (Pieterse *et al.*, 2012). В частности, эксперименты с транскрипционным профилированием показали, что воздействие микосубтилином из *Bacillus* sp. BS-Z15 индуцирует ИСУ у *A. thaliana* за счёт активации MAP-киназного сигнального пути и биосинтеза фитоалексинов, помимо этого наблюдалось повышение профиля транскриптов защитных белков PR1 и PDF1.2 (Pieterse *et al.*, 2012). Аналогично, результаты РНК-секвенирования показали, что инокуляция *B. cereus* NJ01 приводит к изменению в профиле транскриптов в листьях растения-хозяина, особенно, затрагивающие гены, связанные с метаболизмом АБК (*EDS1/PAD4-WRKY18*) участвующие в устойчивости к бактериям (Wang *et al.*, 2024).

1.6 Экономическая ценность винограда и его эндофитный микробиом.

Род *Vitis* включает в себя 79 признанных видов (Atak, 2025) большинство культивируемых виноградных лоз относятся к сортам *Vitis vinifera* L. (Alston, Sambucci, 2019). Ежегодное производство винограда составляет около 75 миллионов тонн, при этом наибольшая доля производства приходится на Европу (41 %) и Азию (29 %) (Colombo *et al.*,

2019; Unusan, 2020). Около 50 % винограда используется для приготовления вина, 33 % потребляется в свежем виде, а оставшаяся часть перерабатывается в джем, сок, желе и масло виноградных косточек (Unusan, 2020).

Виноград обладает множеством полезных для здоровья свойств, включая антиоксидантные, противовоспалительные, пребиотические, кардиопротекторные, противодиабетические и противораковые (Sabra, Neticadan, Wijekoon, 2021; Wang, 2025). Например, приём экстракта виноградной косточки снижал среднее артериальное давление у мужчин, как с нормальной массой тела, так и с ожирением 75 ± 2 против 72 ± 2 мм рт. ст. и 86 ± 3 против 84 ± 3 мм рт. ст. соответственно (Dillon *et al.*, 2020). Помимо этого, липофильный проантоционидин, выделенный из винограда, вызывал остановку клеточного цикла в фазе G2/M и запускал апоптоз в линии клеток HeLa, благодаря повышению уровня АФК, так же он подавлял рост ксенотрансплантантной опухоли линии HeLa у *Danio rerio* Hamilton, что подтверждает его противоопухолевую активность против рака шейки матки (Li *et al.*, 2022).

Большинство работ, посвящённых изучению бактериома винограда, сосредоточены на *V. vinifera* (West *et al.*, 2010; Baldan *et al.*, 2014; Andreolli *et al.*, 2016). Согласно исследованиям, доминирующим классом эндофитных бактерий в *V. vinifera* является Gammaproteobacteria (West *et al.*, 2010; Salvetti *et al.*, 2016). К числу основных выделяемых родов относятся *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Pantoea* и *Curtobacterium* (Andreolli, Lampis, Vallini, 2017). В Северо-Американском регионе в бактериальном сообществе так же преобладают представители филлума Proteobacteria (Deyett, Rolshausen, 2020). На уровне рода в бактериоме сока Калифорнийского винограда на протяжении всего вегетационного периода, основными представителями были *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Bacteroides*, *Massilia*, *Acinetobacter* и *Bacillus* (Deyett, Rolshausen, 2019). Сравнительный анализ бактериома дикого и одомашненного *V. vinifera* показал, что бактериом

диких представителей значительно разнообразнее, чем у культурных форм (Campisano *et al.*, 2015). Помимо этого, штаммы выделенные из дикорастущего (*V. vinifera* subsp. *silvestris*) обладали большим потенциалом в качестве агентов биоконтроля против *Agrobacterium tumefaciens* (Asghari *et al.*, 2020).

Большая часть исследований эндофитных бактерий из *V. vinifera* посвящена выявлению среди них агентов биологического контроля. Так на сегодняшний день *P. fluorescens*, *B. subtilis*, *P. agglomerans* выделенные из *V. vinifera* были описаны как эффективные агенты биологического контроля против *Botrytis cinerea*, вызывающей серую гниль винограда (Verhagen *et al.*, 2011; Compant *et al.*, 2013; Niem *et al.*, 2019; Orozco-Mosqueda *et al.*, 2023). Помимо этого, было установлено, что представители рода *Bacillus* из *V. vinifera* были эффективны против таких болезней, как ложная мучнистая роса, корончатый галл и болезни Пирса (Deyett *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017; Baccari, Antonova, Lindow, 2019).

1.7 Виноград амурский как потенциальный источник ценных эндофитных бактерий

Дикорастущий амурский виноград *Vitis amurensis* Rupr. является основным представителем рода *Vitis* на территории Дальнего Востока России, часто произрастает на склонах холмов или оврагов на высоте от 200 до 2100 м (Xie *et al.*, 2019). Виноград *V. amurensis* характеризуется повышенной устойчивостью к таким распространённым болезням винограда, как мучнистая роса, белая гниль винограда и антракноз (Wu *et al.*, 2010; Liu, Li, 2013), помимо этого обладает высокой устойчивостью к холоду и способен выдерживать температуру до - 40 °C (Wu *et al.*, 2010). Благодаря своим свойствам часто используется для выведения устойчивых сортов.

Также этот вид содержит большое количество благоприятных для здоровья человека веществ, в частности резвератрол и его производные. Показано, что вещества, содержащиеся в экстракте стебля винограда *V.*

amurensis способны подавлять такие патогенные бактерии как *Streptococcus mutans* и *S. sanguis* (Yim *et al.*, 2010).

Исследования бактериома *V. amurensis* показали, что основные эндофиты представлены бактериями классов Gammaproteobacteria, Alphaproteobacteria, Actinobacteria, Bacilli и Bacteroidia (Aleynova *et al.*, 2023b). В число ключевых бактериальных эндофитов *V. amurensis* входят представители родов *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Erwinia*, *Gordonia*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas* (Aleynova, Nityagovsky, Kiselev, 2021). Обнаружен штамм *B. velezensis* AMR25 обладающий антагонистическими свойствами против *Erwinia billingiae*, *Alternaria tenuissima*, *Botrytis cynerea*, *Fusarium avenacea* (Ananev *et al.*, 2024). Дополнительно, получены данные *in silico* о потенциальных микроорганизмах-антагонистах *V. amurensis*, гипотетически обладающих активностью против широко-распространенного патогена винограда *P. viticola* (Nityagovsky *et al.*, 2024). Китайскими учеными был описан новый патогенный гриб *Fusarium avenaceum*, поражающий плоды *V. amurensis* (Wang *et al.*, 2015). На этом список работ, посвященных исследованию микроорганизмов, населяющих виноград *V. amurensis* исчерпывается.

Однако существует множество исследований применения ЭБСРР, выделенных из диких сородичей сельскохозяйственных растений, для повышения продуктивности и устойчивости растений к неблагоприятным факторам окружающей среды. Так, эндофитные изоляты из дикой кукурузы подавляли развитие *Fusarium graminearum* и *Sclerotinia homoeocarpa* у культурной кукурузы, а также препятствовали накоплению микотоксинов (Mousa *et al.*, 2015; Shehata *et al.*, 2016). Эндофиты, выделенные из дикого риса *Oryza meridionalis*, обладают выраженным потенциалом стимуляции роста растений и разложения фталатов (Zhang *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2022).

Поэтому изучение рост-стимулирующего потенциала бактерий, ассоциированных с дикорастущим виноградом *V. amurensis*, представляет собой интересную и практически значимую задачу.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Сбор растительного материала и выделение изолятов

Для выделения бактериальных изолятов использовались образцы визуально здоровых тканей *V. amurensis* собранных в период с июня по август 2023 г. в зоне отсутствия особо охраняемых природных территорий (ООПТ) в пригороде г. Владивосток. В общей сложности использовались 4 лианы, расположенные друг от друга на расстоянии более 1 км.

Для отбора образцов использовали секаторы и контейнеры, заранее автоклавированные в стерилизационных пакетах («Винар», Переславль-Залесский, Россия) в автоклаве ГКа-25 ПЗ (-05) («Касимовский приборный завод», Касимов, Россия при условиях температура 121 °С и давлении 1,1 атм в течение 45 минут. Образцы тканей виноградной лозы срезали стерильными секаторами (секатор заменяли после работы с каждой лианой) и помещали в индивидуальные стерильные контейнеры. Далее образцы промывали проточной водой с использованием мыла в качестве поверхностно активного вещества (ПАВ). Все дальнейшие манипуляции с образцами проводили в ламинарном боксе «Ламинар-С»-1,2 LORICA («Ламинарные системы», Миасс, Россия).

Далее взвешивали 1,5 г растительной ткани на весах (предварительно обработанных 70 %-ным раствором этанола) и поверхностно стерилизовали в 70 %-ном растворе этанола в течение 2 мин, 1 мин в 10 %-ном растворе H_2O_2 . Далее образцы пятикратно промывали в стерильной дистиллированной воде, гомогенизировали в ступке (предварительно стерилизованной при тех же условиях что и секаторы) и 100 мкл тканевого сока растирали на питательные среды R2A («PanReas», AppliChem, Дармштадт, Германия) и на картофельно-декстрозном агаре (КДА, «HiMedia», Мумбаи, Махараштра, Индия) и инкубировали в течении 24 часов при 26 °С. Далее единичные колонии высевали на отдельную чашку Петри, содержащую соответствующую питательную среду. Для проверки качества поверхностной стерилизации, 100 мкл промывочной воды растирали на чашки Петри с R2A и КДА и

инкубировали при тех же условиях. Отсутствие колоний на чашках по истечении инкубации свидетельствовало об успешной поверхностной стерилизации. В скрининг изолятов на ростостимулирующие свойства вошли колонии из образцов, успешно прошедших проверку качества поверхностной стерилизации.

2.2 Скрининг изолятов на ростостимулирующие свойства

Анализ изолятов выделенных из *V. amurensis* на способность к фиксации N осуществляли с использованием без азотной среды Эшби (10 г/л сахарозы; 0,2 г/л NaCl; 0,2 г/л KH_2PO_4 ; 0,2 г/л $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,1 г/л $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 5 г/л CaCO_3 ; 15 г/л агар; pH 7,0) (Ashby, 1907). Инкубацию изолятов на питательной среде осуществляли при 26 °C в течении 72 часов, способность изолята расти на среде Эшби оценивали как наличие способности к фиксации N. Способность изолятов к растворению неорганических соединений P оценивали с помощью среды Пиковской (0,5 г/л дрожжевой экстракт; 10 г/л сахарозы; 5 г/л $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; 0,5 г/л $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,2 г/л KCl; 0,1 г/л MgSO_4 ; 0,0001 г/л MnSO_4 ; 0,0001 г/л FeSO_4 ; 15 г/л агара; pH 7,0) (Pikovskaya, 1948). Инкубацию изолятов осуществляли при тех же условиях, образование прозрачного ореола оценивали, как наличие способности растворять соединения P. Мобилизацию K оценивали с использованием питательной среды Александровского (0,5 г/л MgSO_4 ; 0,1 г/л CaCO_3 ; 2 г/л KAlSi_3O_8 ; 5 г/л глюкозы; 0,005 г/л FeCl_3 ; 2 г/л $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; 20 г/л агара; pH 7,2) («HiMedia», Мумбаи, Махараштра, Индия), инкубацию изолятов осуществляли при 26 °C в течении 96 часов, наличие прозрачного ореола оценивали как способность мобилизовать K. Способность изолятов к окислению S оценивали с использованием тиосульфатной агаризированной питательной средой (ТСА) (5 г/л $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$; 0,1 г/л K_2HPO_4 ; 0,2 г/л NaHCO_3 ; 0,1 г/л NH_4Cl ; 15 г/л агара; pH 8,0) с добавлением бромкрезолового пурпурного в качестве индикатора (Behera *et al.*, 2014). Инкубацию осуществляли при 26

°C в течении 48 часов, изменение цвета питательной с фиолетового на жёлтый оценивали как способность к окислению S.

Для оценки способности изолятов к синтезу ИУК использовали колориметрический метод с использованием реактива Сальковского. Изоляты выращивали в 10 мл бульона Лурия-Бертани (LB) (5 г/л дрожжевого экстракта; 10 г/л триптона; 10 г/л NaCl; pH 7,0) с добавлением L-триптофана до концентрации 5 ммоль в течение 48 часов при 26 °C и 125 об/мин. После инкубации бактериальные культуры центрифугировали в течение 10 минут при 10 000 об/мин затем 2 мл супернатанта смешивали с реагентом Сальковского (1 г FeCl₃, 250 мл H₂O, 150 мл H₂SO₄) в соотношении 1:2 и инкубировали в темноте 30 минут. Появление розового окрашивания свидетельствовало о продукции ИУК.

Для дальнейших опытов отбирали изоляты обладающие не менее, чем 2-мя свойствами, обязательно включающие синтез ИУК. Отобранные изоляты определяли до рода с помощью секвенирования по Сэнгеру. Выделение ДНК из изолятов проводили с использованием метода на основе гексадецилтриметиламмонийбромид (ЦТАБ) с некоторыми модификациями (Doyle *et al.*, 1987; Kiselev, Tyunin, Karetin, 2015). Последовательности гена 16S рРНК бактерий были амплифицированы с использованием универсальных бактериальных праймеров (8F, 5'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG и 1522R, 5'AAGGAGGTGATC CARCCGCA) для получения ПЦР-продуктов размером приблизительно 1500 п.н. (Lane, 1991). Ампликоны, полученные в ходе ПЦР, очищали и секвенировали на генетическом анализаторе ABI 3130 («Applied Biosystems», Фостер-Сити, Калифорния, США), результаты анализировали с помощью программы BLAST (Camacho *et al.*, 2009). Анализ последовательностей проводили путем множественного выравнивания последовательностей с использованием программы Clustal X (Altschul *et al.*, 1990), при этом в

качестве порога для таксономической идентификации использовали идентичность последовательностей $\geq 99\%$.

2.3 Оценка способности штаммов к колонизации растений

2.3.1 Инокуляция *A. thaliana* штаммами из *V. amurensis*

В опытах для подтверждения колонизации и влияния на естественный микробиом использовались штаммы *Agrobacterium* sp. R8SCh-B12; *Curtobacterium* sp. P7SA-B3; *Gordonia* sp. P6PL2; *Pseudomonas* sp. RA62c-B2; *Sphingomonas* sp. RA62c-B5; *Xanthomonas* sp. R7SCh-B6; *Bacillus* sp. AMR25; *Pantoea* sp. P7SCH-B5; *Erwinia* sp. R8SCh-B3. В качестве объекта использовали семена *A. thaliana* экотип Columbia-0.

Для инокуляции эндофитными штаммами отдельную колонию бактерий помещали в 20 мл жидкой питательной среды R2B и картофельно декстрозный бульон (КДБ) (в зависимости от типа сред, на котором был выделен штамм). Инкубацию осуществляли в течение 24–48 ч. при 28 °C при постоянном помешивании 150 об/мин на орбитальном шейкере ES 20 («BioSan» Рига, Латвия). Бактериальную культуру осаждали при 3000 об/мин в течение 5 мин. Далее осадок растворяли до 1×10^7 клеток на мл (кл./мл), концентрацию определяли спектрофотометрически при длине волны 600 нм на спектрофотометре («SPECTROstar Nano», Ортенберг, Германия). Далее по 100 мкл суспензии каждого бактериального штамма наносили на поверхность агаризованной среды Мурасиге-Скуга (Murashige and Skoog, MS) (Murashige, Skoog, 1962), модифицированную за счёт двукратного уменьшения содержания сахарозы и макросолей.

Стерилизацию семян *A. thaliana* проводили в эксикаторе парами хлора, полученным путём добавления 3 мл концентрированной HCl к 100 мл 7 % отбеливателя Белизна («Саянскхимпласт», Саянск, Россия). Далее в асептических условиях семена высевали на чашки Петри содержащие штаммы, в качестве контроля выступали семена, посеянные на питательную среду без добавления бактериальных штаммов. После 7 дней роста на среде

MS проростки высаживали в горшки с коммерчески доступной почвой Универсальный («Фаско», Зеленоград, Россия). Почва состояла из торфяника, низинного торфа, песка, известняковой (доломитовой) муки и комплексного минерального удобрения с микроэлементами. Содержание питательных веществ, доступных растениям (мг/кг), составляло не менее: N – 350; P – 400; K – 500; pH: 6–7 (https://fasko.ru/product-category/grunt/grunt_universalnyy, дата обращения 29.05.2026 г.). Горшки с проростками помещали в камеру для контроля микроклимата Jiuro BPC500H («Fujian Jiuro Biotechnology Co.», Ltd., Фуцзянь, Фучжоу, Китай). В камере поддерживали 16/8-часовой цикл день/ночь, температура 22 °C и интенсивность света 120 мкмоль м⁻² с⁻¹. После 7 дней роста в грунте из *A. thaliana*, предварительно инокулированного исследуемыми штаммами эндофитных бактерий винограда, экстрагировали ДНК для метагеномного анализа.

2.3.2 Выделение ДНК, метабаркодирование и биоинформатический анализ

ДНК для метабаркодирования экстрагировали из двухнедельных стерильных розеток *A. thaliana* с использованием ЦТАБ-спин метода (Kiselev, Nityagovsky, Aleynova, 2023). Стерилизация осуществлялась с использованием 10 % H₂O₂ и 70 % этаноле как описано ранее (см. 2.1). Для оценки действия штаммов было выполнено два независимых эксперимента. В каждом варианте обработки и в контрольной группе ДНК экстрагировали из одного растения без видимых симптомов заболевания. Концентрацию и качество полученной ДНК определяли с помощью нанофотометра P300 (IMPLEN, Мюнхен, Германия).

Метабаркодинг выполняли в компании «СИНТОЛ» (Москва, Россия) по технологии секвенирования на платформе Illumina («Illumina», Сан-Диего, Калифорния, США). Библиотеки были созданы в соответствии с протоколом, предоставленным производителем платформы секвенирования «Подготовка

библиотеки для метагеномного секвенирования» номер 15,044,223, версия B; («Illumina», Сан-Диего, Калифорния, США). Ампликоны были проиндексированы с использованием набора Nextera® XT Index Kit («Illumina», Сан-Диего, Калифорния, США). Библиотечный пул был секвенирован на платформе Illumina MiSeq (2 × 250 парных чтений) с использованием набора реагентов MiSeq Reagent Kit v2 («Illumina», Сан-Диего, Калифорния, США) с 500-цикловыми парными чтениями.

Для подтверждения изменения относительного уровня целевых ампликонов после инокуляции *A. thaliana* исследуемыми штаммами применяли количественную ПЦР с детекцией результатов в реальном времени (ПЦР-РВ) с интеркалирующим красителем SYBR Green I и специфичными праймерами, подобранными индивидуально для каждого исследуемого штамма с помощью программы Primer-BLAST tool (Таблица 1). Эффективность праймеров, используемых для ПЦР-РВ рассчитывали в програмном обеспечении RealTime PCR версии 7.9.5.54 («НПО ДНК-Технология», Протвино, Россия) и составила 95-105 %. Уровень содержания 16S рРНК определяли методом $2^{-\Delta\Delta CT}$, принимая за единицу уровень амплификации в образцах без добавления штаммов.

Парные последовательности, полученные путём высокопроизводительного секвенирования (ВПС), были предварительно обработаны с помощью QIIME 2 (версия 2024.10.1) (Bolyen *et al.*, 2019) и DADA2 (версия 2024.10.0) (Callahan *et al.*, 2016). На этом этапе последовательности были объединены, а из массива данных секвенирования были исключены праймеры и химерные последовательности. Таксономическую идентификацию проводили с использованием алгоритма QIIME 2 BLAST+ (версия 2024.10.0) с использованием базы данных SILVA 138 для последовательностей 16S (Quast *et al.*, 2013) и UNITE для последовательностей ITS (Nilsson *et al.*, 2019).

На следующем этапе из массива данных были удалены последовательности хлоропластной и митохондриальной ДНК, а также иные последовательности, не относящиеся к бактериям и грибам. Данную фильтрацию выполняли в среде R с использованием пакетов phyloseq (версия 1.50.0) (McMurdie, Holmes, 2013).

Чтобы учесть неоднородную глубину секвенирования, образцы приводили к единой глубине выборки в 5000 прочтений на образец. При анализе альфа-разнообразия, рассчитанном по индексу Шеннона, использовали разряженные данные без дополнительной фильтрации вариантов последовательностей ампликонов (amplicon sequence variant, ASV), для сохранения вклада редких таксонов. Сравнение альфа-разнообразия между вариантами проводили с помощью дисперсионного анализа (ANOVA). Для оценки бета-разнообразия по метрике Брея-Кертиса, применяли порог относительной численности ASV более 0,01 %, для снижения влияния случайных или артефакты последовательностей. Для визуализации бета-разнообразия выполняли анализ главных координат (PCoA) на основе матрицы Брея-Кертиса. Статистическую значимость в структуре бета-разнообразия оценивали методом PERMANOVA с 999 перестановками. Все расчёты показателей разнообразия и соответствующий статистический анализ выполняли с использованием пакета microeco (версия 1.16.0) (Liu *et al.*, 2021). Визуализация полученных результатов проводилась с помощью программ microViz (версия 0.12.7) (Barnett, Arts, Penders, 2021) и tidyverse (версия 2.0.0) (Wickham *et al.*, 2019).

Таблица 1 – Праймеры используемые для ПЦР-РВ.

Название праймеров	Последовательность праймеров
Agrobacterium-F	5'GGCTAACTTCGTGCCAGCAGCC
Agrobacterium-R	5'AGTTGAGCTGCGGGATTTCACC
Bacillus-F	5'CACCAGTGGCGAAGGCGACTTTC
Bacillus-R	5'CTAAAGGGCGGAAACCCTCTAAC
Curtobacterium-F	5'TTGACGGGGGCCCCGCACAAGCG

Curtobacterium-R	5'TTACGGCATGGACTACCAGGGT
Erwinia-F	5'GTGGCTTCCGGAGCTAACGCGT
Erwinia-R	5'GGTTCTTCGCGTTGCATCGAAT
Gordonia-F	5'TCGCATGGGGATTGGTGGAAA
Gordonia-R	5'ATCACCTCTCAGGTCGGCT
Pantoea-F	5'TCTCACTATCGGATGAAACCAG
Pantoea-R	5'TTTCTCATTTCCGTGTTGCTGGT
Pseudomonas-F	5'AGCGGATGAGAGGAGCTTGCTCT
Pseudomonas-R	5'TGATAGCGCAAGGCCCGAAGGT
Sphingomonas-F	5'TTGGTTCGGAATAACAGTTGGAAAC
Sphingomonas-R	5'GATGGATTAGGATGCGCCCGA GTA
Xanthomonas-F	5'CGGGCTTCGCGCGATTGAATGA
Xanthomonas-R	5'GGCATGGCTGGATCAGGCTTGC

2.4 Оценка влияния штаммов на морфометрические показатели растений

Инокуляцию *A. thaliana* исследуемыми штаммами осуществляли как описано ранее (см 2.3.1). Для инокуляции риса визуально одинаковые семена *O. sativa* сорт Дубрава поверхностно стерилизовали с использованием этилового спирта и перекиси водорода (см 2.1). Ночные культуры штаммов P6PL2, RA62с-B2 и P7SCH-B5 центрифугировали при 3000 об/мин в течение 5 мин. Далее осадок растворяли до 3×10^8 кл./мл. Затем стерильные семена помещали в бактериальный раствор и инкубировали в течении одного часа. Семена контрольной группы подвергали тем манипуляциям, но вместо бактериального раствора использовали стерильную воду.

Инокулированные семена *A. thaliana* и *O. sativa* разделяли на две группы 7-дневные и 30-дневные растения. Проростки, проращивали на питательной среде MS для *A. thaliana* и в чашках Петри на двух слоях фильтровальной бумаги с 6 мл стерильной фильтрованной воды для *O. sativa*. Взрослые 30-дневные растения выращивали в горшках с использованием коммерческого грунта Универсальный (Фаско, Зеленоград, Россия).

Горшки с проростками помещали в камеру для контроля микроклимата Jiuro BPC500H («Fujian Jiuro Biotechnology Co.», Ltd., Фуцзянь, Фучжоу, Китай). В камере поддерживали 16/8-часовой цикл день/ночь, температура 22 °C и интенсивность света 120 мкмоль м⁻² с⁻¹ для растений *A. thaliana*, а также 25 °C с фотопериодом 16 ч света/8 ч темноты, относительной влажностью 70 % и интенсивностью света 250 ммоль м⁻² с⁻¹ для *O. sativa*. По истечении 30-ти дней проводили измерение морфометрических показателей – длину корня и стебля, сухую массу и количество листьев и диаметр розеток исключительно для *A. thaliana*.

2.5 Секвенирование и анализ полных геномов штаммов

Для полногеномного секвенирования были выбраны штаммы *Gordonia* sp. P6PL2, *Pseudomonas* sp. RA62c-B2 и *Pantoea* sp. P7SCH-B5. Выделение ДНК осуществляли с использованием метода ЦТАБ с некоторыми модификациями (Doyle *et al.*, 1987; Kiselev, Tyunin, Karetin, 2015). Концентрацию и качество полученной ДНК определяли с помощью нанофотометра P300 (IMPLEN, Мюнхен, Германия).

Секвенирование полных геномов для всех штаммов осуществляли на базе компании «ГЕНОАНАЛИТИКА» с использованием приборов MiSeq Illumina («Illumina», Сан-Диего, Калифорния, США). Помимо этого, для штамма *Gordonia* sp. P6PL2 было осуществлено секвенирование с использованием MinION («Oxford Nanopore Technologies», Oxford Science Park, Оксфорд, Великобритания) компанией «СИНТОЛ» (Москва, Россия).

Сборку геномов для штаммов *Pseudomonas* sp. RA62c-B2 и *Pantoea* sp. P7SCH-B5 осуществляли с использованием программы SPAdes (версия 4.2.0) (Prjibelski *et al.*, 2020). Для P6PL2 была произведена гибридная сборка с использованием коротких и длинных прочтений программой Unicycler (версия 0.5.0) (Wick *et al.*, 2017). Анализ полноты и чистоты полученных полногеномных последовательностей оценивали с использованием BUSCO (версия 6.1.0) (Simao *et al.*, 2015) и CheckM (версия 1.0.18) (Parks *et al.*, 2015).

Аннотацию геномов осуществляли с использованием Prokka (версия 1.14.6) (Seemann, 2014) и сервера RAST (версия 2.0) (Brettin *et al.*, 2015). Функциональная аннотация осуществлялась с помощью инструментов BlastKOALA (Kanehisa, Sato, Morishima, 2016), PANNZER2 (Törönen, Medlar, Holm, 2018) и eggno-mapper (версия 2.1.14.) (Cantalapiedra *et al.*, 2021). Поиск мобильных элементов осуществляли при помощи mobileOG-db (версия 1.1.3) (Brown *et al.*, 2022), генов тРНК и рРНК с использованием tRNAscan-SE (версия 2.0) (Lagesen *et al.*, 2007) и RNAmmer (версия 1.2) (Chan *et al.*, 2021) соответственно. Поиск генов признаков стимуляции роста растений проводили с помощью предиктора PGPT-Pred PlaBase (Patz *et al.*, 2021).

Наборы геномов для филогенетического анализа (Таблица 2) были созданы автоматически на основе типовых штаммов, представленных в GenBank NCBI с использованием алгоритма MASH (версия 2.3) (Ondov *et al.*, 2016). Филогенетический анализ осуществлялся с использованием FastME (версия 2.1.6.1) (Lefort, Desper, Gascuel, 2015) на основе Genome BLAST Distance Phylogeny GBDP (Freese *et al.*, 2026) с бутстеп поддержкой со 100 повторениями, дерево было визуализировано с помощью iTOL (версия 7) (Letunic, Bork, 2024). Средняя идентичность ортологичных нуклеотидов была определена с помощью программы Orthologous Average Nucleotide Identity Tool (OAT) (Lee *et al.*, 2016), гибридизация ДНК-ДНК (dDDH) была рассчитана с помощью GGDC (версия 3.0) (Meier-Kolthoff *et al.*, 2013).

Для сравнения генома P6PL2 были выбраны геномы четырех наиболее близких штаммов, а именно *Gordonia aichiensis* NBRC 108223 (GCF_000332975.1), *G. sputi* NBRC 100414 (GCF_000248055.1), *G. polyisoprenivorans* VH2 (GCF_000247715.1) и *G. desulfuricans* NBRC 100010 (GCF_001485495.1). Для RA62с-B2 выбраны *Pseudomonas marginalis* ICMP 3553 (GCF_003700725.1), *P. pergaminensis* 1008T (GCF_024112395.2) и *P. lurida* LMG 21995 (GCF_002563895.1) и для P7SCH-B5 выбраны *Pantoea*

agglomerans NBRC 102470 (GCF_001598475.1) и *P. pleuroti* JZB 2120015(GCF_014156615.1). Диаграмма UpSet была построена с использованием OrthoVenn3 (Sun *et al.*, 2023) для визуализации распределения уникальных кластеров использовался ggplot2 (Wilkinson, 2011).

Таблица 2 – Наборы геномов, используемых в филогенетическом анализе штаммов P6PL2, RA62с-B2 и P7SCH-B5.

Штамм	Номер GenBank NCBI
Набор геномов для штамма P6PL2	
<i>Gordonia aichiensis</i> NBRC 108223	GCF_000332975.1
<i>G. amarae</i> NBRC 15530	GCF_000241345.1
<i>G. araii</i> NBRC 100433	GCF_000241265.1
<i>G. bronchialis</i> DSM 43247	GCF_000024785.1
<i>G. desulfuricans</i> NBRC 100010	GCF_001485495.1
<i>G. effusa</i> NBRC 100432	GCF_000241305.1
<i>G. malaquae</i> NBRC 108250	GCF_000344135.1
<i>G. neofelifaecis</i> NRRL B-59395	GCF_000192435.1
<i>G. paraffinivorans</i> NBRC 108238	GCF_000344155.1
<i>G. polyisoprenivorans</i> VH2	GCF_000247715.1
<i>G. rhizosphaera</i> NBRC 16068	GCF_000298195.1
<i>G. shandongensis</i> DSM 45094	GCF_000423025.1
<i>G. sihwensis</i> NBRC 108236	GCF_000333035.1
<i>G. soli</i> NBRC 108243	GCF_000334455.1
<i>G. sputi</i> NBRC 100414	GCF_000248055.1
<i>G. terrae</i> 3612	GCF_001698225.1
Набор геномов для штамма RA62с-B2	
<i>Pseudomonas antarctica</i> LMG 22709	GCF_900103795.1
<i>P. allii</i> MAFF 301514	GCF_013392005.1
<i>P. arvensis</i> DR1PS3	GCF_054791045.1
<i>P. asgharzadehiana</i> SWRI132	GCF_019139815.1
<i>P. azotoformans</i> LMG 21611	GCF_900103345.1
<i>P. canadensis</i> 2-92	GCF_000503215.1
<i>P. cyclaminis</i> MAFF 301449T	GCF_015163715.1

<i>P. extremaustralis</i> 14-3	GCF_000242115.1
<i>P. extremorientalis</i> LMG 19695	GCF_001870465.1
<i>P. kitaguniensis</i> MAFF 212408T	GCF_009296165.1
<i>P. lurida</i> LMG 21995	GCF_002563895.1
<i>P. marginalis</i> ICMP 3553	GCF_003700725.1
<i>P. paraveronii</i> V3/K/3/5	GCF_963681945.1
<i>P. pergaminensis</i> 1008T	GCF_024112395.2
<i>P. simiae</i> CCUG 50988	GCF_900111895.1
<i>P. sivasensis</i> P7	GCF_013778505.1
<i>P. tritici</i> SWRI145	GCF_014268275.3
Набор геномов для штамма P7SCH-B5	
<i>Pantoea alvi</i> PSNIH6	GCF_002920175.1
<i>P. agglomerans</i> NBRC 102470	GCF_001598475.1
<i>P. alfalfae</i> CQ10T	GCF_019880205.1
<i>P. anthophila</i> LMG 2558	GCF_006494375.1
<i>P. brenneri</i> LMG 5343	GCF_002095305.1
<i>P. conspicua</i> LMG 24534	GCF_002095315.1
<i>P. eucalypti</i> LMG 24197	GCF_009646115.1
<i>P. hericii</i> JZB 2120024T	GCF_014155795.1
<i>P. jilinensis</i> D25	GCA_019104105.1
<i>P. pleuroti</i> JZB 2120015	GCF_014156615.1
<i>P. rara</i> WMus005	GCF_051136265.1
<i>P. vagans</i> LMG 24199	GCF_004792415.1
<i>P. varia</i> OV426	GCF_900115075.1

2.6 Высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией

Для проведения нецелевого высоко эффективного жидкостного хроматографического анализа с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС) использовали 250 мл ночной культуры штаммов P6PL2, RA62с-B2 и P7SCH-B5, которые подвергали воздействию ультразвукового гомогенизатора Sonicator Q55 («QSonica», Ньютаун, Коннектикут, США) в течении 5 мин.

Далее проводили экстракцию, используя в качестве растворителя этилацетат в соотношении 1:2 (т.е. 500 мл этилацетата добавляли к 250 мл среды), непрерывно перемешивая на нагреваемой магнитной мешалке при 40 °С в течение 1 ч. После перемешивания смесь центрифугировали при 3500 об/мин в течение пяти минут. Верхние фракции этилацетата переносили в колбу объемом 500 мл с помощью автоматической пипетки. Далее экстракт концентрировали с помощью роторного испарителя. Сухой экстракт растворяли в 1 мл метанола и очищали при помощи фильтра для твердофазной экстракции Discovery ® DSC-18 50 мг («Supelco», Bellefonte, PA, США).

Хромато-масс-спектрометрический анализ выполняли на базе центра коллективного пользования передовой масс-спектрометрии «Сколтех» (Москва, Россия). Для анализа использовали систему ВЭЖХ с двуканальным UV детектором Waters Aquity UPLC («Thermo Scientific», Уолтем, Массачусетс, США), последовательно соединенным с масс-спектрометрическим детектором Q-Exactive HF-X («Thermo Scientific», Уолтем, Массачусетс, США) с электроспрейным источником ионизации. Для масс-спектрометрического анализа были установлены следующие параметры настроек: напряжение на эмиттере 4.5 кВ, температура капилляра 320°С. Панорамное сканирование проводили в режиме измерения положительных ионов в диапазоне масс от 100 m/z до 1500 m/z , при разрешении 70,000. При тандемном сканировании разрешение устанавливали 17500 в диапазоне масс от 50 m/z до верхней границы, которая определяется автоматически исходя из массы прекурсора. Изоляцию прекурсорных ионов проводили в окне ± 1.2 m/z . Максимальное число разрешённых для изоляции ионов в режиме MS2 было установлено как не более 10. Для тандемного сканирования учитывали только ионы $z = 1+$. Максимальное время накопления для прекурсорных ионов и для фрагментных ионов составило 50 мс. Величину AGC для прекурсоров и фрагментных ионов устанавливали $1 \cdot 10^6$ и $2 \cdot 10^5$,

соответственно. Все измеренные прекурсоры динамически исключали из tandemного MS/MS анализа на 8 с. Полученные спектры были визуализированы в программе MS-DIAL (версия 4) (Tsugawa *et al.*, 2020).

2.7 Статистическая обработка данных

Сравнение альфа-разнообразия между вариантами проводили с помощью ANOVA. Статистическая проверка данных о бета-разнообразии была выполнена с использованием теста PERMANOVA (999 перестановок). Оба теста были выполнены с помощью R пакета Vegan (Oksanen *et al.*, 2020).

Данные ПЦР-РВ были получены на кДНК из двух независимых экспериментов. Для образцов кДНК каждого эксперимента было сделано 6 аналитических повторностей на каждую пробу нормализация осуществлялась по генам *Actin* и *Gapdh* в равных долях. Эффективность праймеров была в диапазоне 95-105 %. Полученные данные проверены по спаренному критерию Стьюдента.

Статистическая проверка морфометрических показателей *A. thaliana* и *O. sativa* выполнялась с помощью ANOVA с последующим тестом Тьюки, выполненными с использованием R пакета Stats (R Core Team, 2021).

Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка. Для всех тестов был выбран уровень значимости $p < 0.05$ как минимальное значение статистической разницы во всех экспериментах. Для анализа с помощью DESeq2 (Love, Huber, Anders, 2014) значение скорректированного $p < 0.01$ считалось статистически значимым.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Выделение и изучение рост-стимулирующих свойств эндофитных бактерий *V. amurensis*

Для выделения эндофитных бактерий использовали ткани визуально здоровых растений *V. amurensis*, собранных в период с июня по август 2023 г. в пригороде г. Владивостока. После поверхностной стерилизации и гомогенизации с последующим посевом на питательные среды, было выделено 104 чистых бактериальных изолята.

Анализ полученных изолятов на способность к мобилизации К, Р, S, N и синтезу ИУК показал, что 57 изолятов, которые составляли 54,8 % от общего числа, имели не менее одного из исследуемых свойств (Рисунок 1а). Наиболее часто встречалась способность у бактериальных изолятов фиксировать N, данным свойством обладали 39 изолятов. Следующим свойством была мобилизация Р, встречающаяся у 26 изолятов, и мобилизация К и S, которая встречалась у 8 и 6 изолятов соответственно. Способность к синтезу ИУК наблюдалась у 9 изолятов. Наличие комплекса всех исследуемых свойств наблюдалось лишь у 2 изолятов (Рисунок 1б).

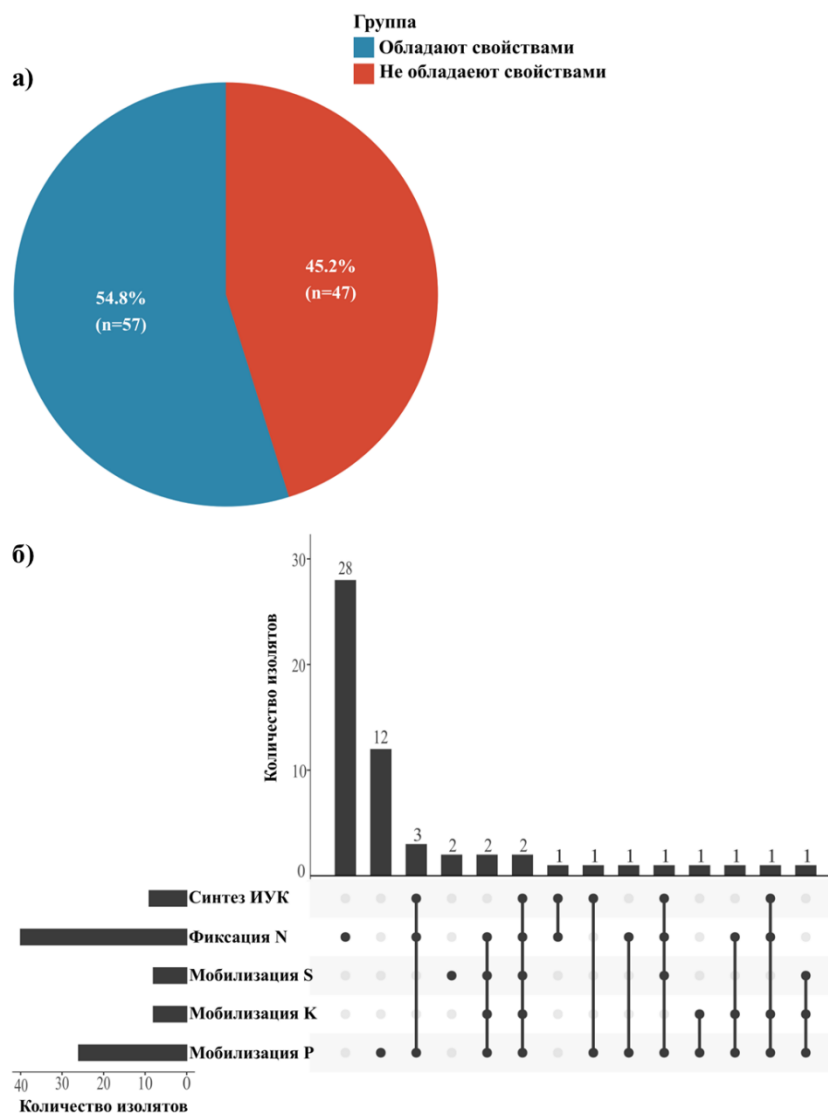


Рисунок 1 – Свойства эндофитных изолятов *Vitis amurensis*. Доля изолятов обладающих не менее одним свойством (а); график UpSet распределения числа свойств среди бактериальных изолятов (б).

Для дальнейшего исследования было решено использовать 9 изолятов, обладающих не менее чем 2 свойством, обязательно включающих синтез ИУК, представленные в Таблице 3. Данные изоляты были идентифицированы до уровня рода на основе последовательности 16S рРНК (Таблица 3).

Таблица 3 – Штаммы эндофитных бактерий *Vitis amurensis*.

Штамм	Род	Наиболее близкая последовательность (номер GenBank)	Идентичность (%)	Мобилизация Р	Мобилизация К	Мобилизация S	Азотофиксация	Синтез ИУК
AMR25	<i>Bacillus</i>	MH788975	100	+	-	-	+	+
P6PL2	<i>Gordonia</i>	X80633	100	+	-	-	+	+
P7SA-B3	<i>Curtobacterium</i>	MZ424740	100	+	+	-	+	+
P7SCH-B5	<i>Pantoea</i>	PZ204378	99,75	+	+	+	+	+
R7SCh-B6	<i>Xanthomonas</i>	MZ424744	99,13	-	-	-	+	+
R8SCh-B12	<i>Agrobacterium</i>	MZ424738	99,17	+	-	+	+	+
R8SCh-B3	<i>Erwinia</i>	MZ424741	100	+	-	-	+	+
RA62c-B2	<i>Pseudomonas</i>	MZ424743	99,98	+	+	+	+	+
RA62c-B5	<i>Sphingomonas</i>	PX909750	99	+	-	-	-	+

3.2 Оценка способности штаммов эндофитных бактерий *V. amurensis* к колонизации растений и влиянию на естественный микробиом.

Для оценки способности к колонизации, исследуемые штаммы были распределены на чашки Петри, содержащие питательную среду $\frac{1}{2}$ MS, куда затем помещались стерильные семена *A. thaliana*. После семи дней выращивания на среде MS проростки пересадили в горшки с почвой и культивировали в течение двух недель.

Выделению ДНК предшествовала поверхностная стерилизация надземных частей растений: путём последовательной обработки 10 %-ным раствором перекиси водорода, 70 %-ным раствором этилового спирта и пятикратное промывание в стерильной дистиллированной воде. Эффективность стерилизации была подтверждена посевом промывочной воды на агаризованную среду R2A и PDA, при этом роста бактерий или грибов обнаружено не было.

В результате ВПС, после фильтрации от низкокачественных прочтений, было получено от 51.715 до 63.061 прочтений на образец (Таблица 4). Далее была проведена таксономическая идентификация с использованием алгоритма QIIME 2 BLAST+, используя базу данных SILVA для последовательностей 16S и базу данных UNITE для последовательностей ITS. Так же для подтверждения данных метабаркодирования был произведён анализ ПЦР-РВ для подтверждения наличия бактериальной ДНК относящийся к родам исследуемых бактериальных штаммов в пробах.

Инокуляция исследуемыми бактериальными штаммами приводила к увеличению ASV, соответствующих их роду: R8SCh-B12 (*Agrobacterium* sp.) – в 1.629 раз, P7SA-B3 (*Curtobacterium* sp.) – в 17.820 раз, P6PL2 (*Gordonia* sp.) – в 240 раз, RA62c-B2 (*Pseudomonas* sp.) – в 73 раза, RA62c-B5 (*Sphingomonas* sp.) – в 13.120 раз, R7SCh-B6 (*Xanthomonas* sp.) – в 392 раза, AMR25 (*Bacillus* sp.) – в 164 раза (Рисунок 2а). Инокуляция P7SCH-B5 (*Pantoea* sp.) и R8SCh-B3 (*Erwinia* sp.) не приводила к изменению числа ASV в исследуемых образцах (Рисунок 2а). Результаты ПЦР-РВ подтвердили, что инокуляция исследуемыми бактериальными

штаммами увеличивала содержание ампликонов 16S соответствующих родов, за исключением *Sphingomonas* sp. P7SCH-B5 и *Erwinia* sp. R8SCH-B3 (Рисунок 2б).

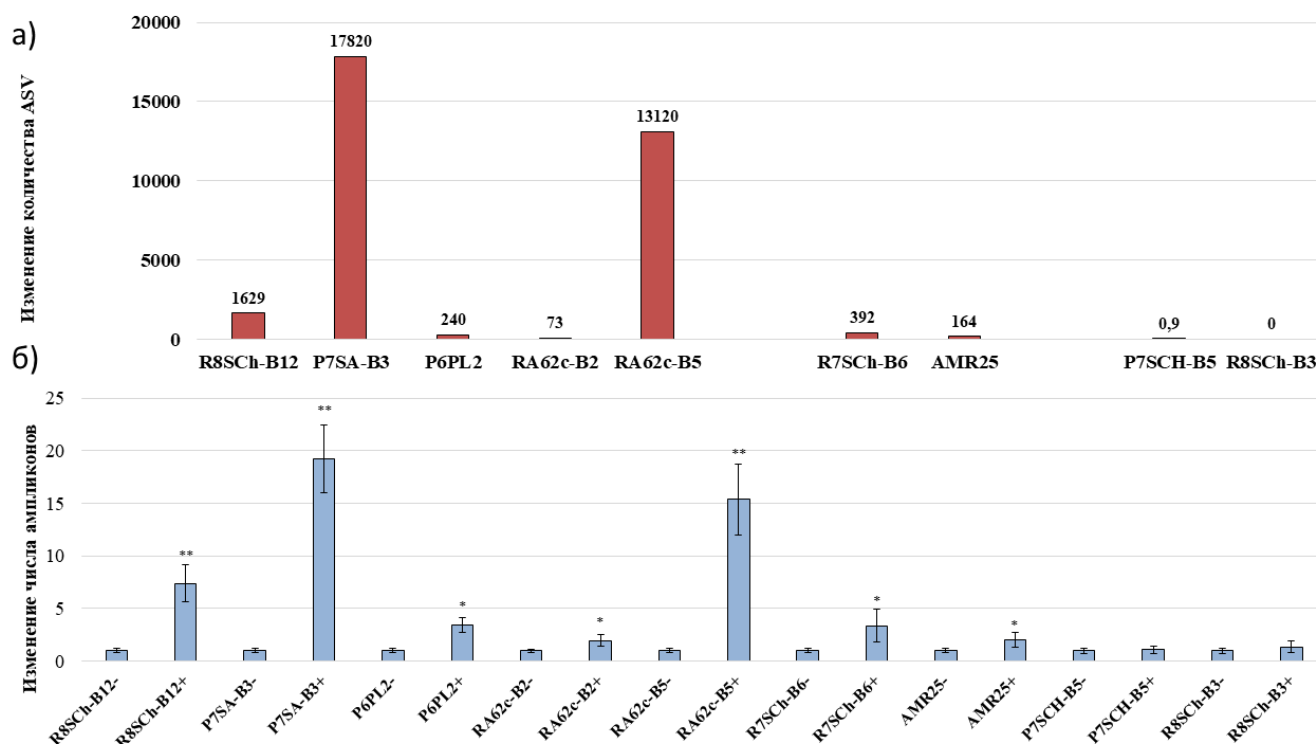


Рисунок 2 – Изменение количества ASV (а) и числа ампликонов ПЦР-РВ (б)

бактериальных штаммов в 2-недельных растениях *Arabidopsis thaliana* после инокуляции отдельными бактериальными штаммами: R8SCH-B12 – *Agrobacterium* sp., P7SA-B3 – *Curtobacterium* sp., P6PL2 – *Gordonia* sp., RA62c-B2 – *Pseudomonas* sp., RA62c-B5 *Sphingomonas* sp., R7SCH-B6 – *Xanthomonas* sp., AMR25 – *Bacillus* sp., P7SCH-B5 – *Pantoea* sp., R8SCH-B3 *Erwinia* sp. «-» – код штамма при отсутствии инокуляции (контроль); «+» – код штамма у обработанных бактериальными штаммами растений.

Таблица 4 – Количество ASV 16S и ITS в образцах растений *Arabidopsis thaliana* после инокуляции бактериальными штаммами *Vitis amurensis*.

Бактериальный штамм	16S			ITS		
	Среднее значение необработанных прочтений	Среднее значение отфильтрованных прочтений	Среднее ASVs	Среднее значение необработанных прочтений	Среднее значение отфильтрованных прочтений	Среднее ASVs
Контроль	63.445	56.749	573	48.985	45.416	103
R8SCh-B12	70.736	63.061	407	52.610	49.294	68
P7SA-B3	59.200	52.837	395	42.762	39.952	93
P6PL2	62.834	55.968	448	57.702	52.665	140
RA62c-B2	60.826	53.971	464	63.717	59.295	130
RA62c-B5	58.125	51.715	423	42.884	39.777	149
R7SCh-B6	61.161	54.564	472	47.873	44.719	113
AMR25	60.407	53.992	476	45.036	41.983	122
P7SCh-B5	59.393	52.836	450	45.611	42.581	42
R8SCh-B3	66.433	59.112	528	50.954	47.033	132

Инокуляция штаммами RA62c-B2, RA62c-B5, R7SCh-B6, AMR25, P7SCh-B5 и R8SCh-B3 не привела к значительному изменению в составе бактериального фитобиома *A. thaliana*, оцениваемого по индексу альфа-разнообразия Шеннона (Рисунок 3а). В отличие от инокуляции R8SCh-B12, P7SA-B3 и P6PL2, приведшей к снижению разнообразия в бактериоме (Рисунок 3а). Анализ главных компонент (РСоА), основанный на показателе несходства Брея-Кертиса, выявил отчётливую кластеризацию бактериальных сообществ в зависимости от обработки, что так же было подтверждено тестом PERMANOVA ($R^2 = 0,73, p < 0,001$) (Рисунок 3б). Кроме того, бета-разнообразие подтвердило результаты, полученные по альфа-разнообразию, согласно которым растения, обработанные R8SCh-B12, P7SA-B3 и P6PL2, наиболее сильно отличались от контрольных растений (Рисунок 3б). Подробный анализ изменения ASV в бактериоме *A. thaliana* продемонстрировал снижение ASV семейства Rhodobacteraceae и родов *Nocardioides*, *Solimonas* и *Microbacterium* после инокуляции всеми штаммами за исключением R8SCh-B12 (Рисунок 3в).

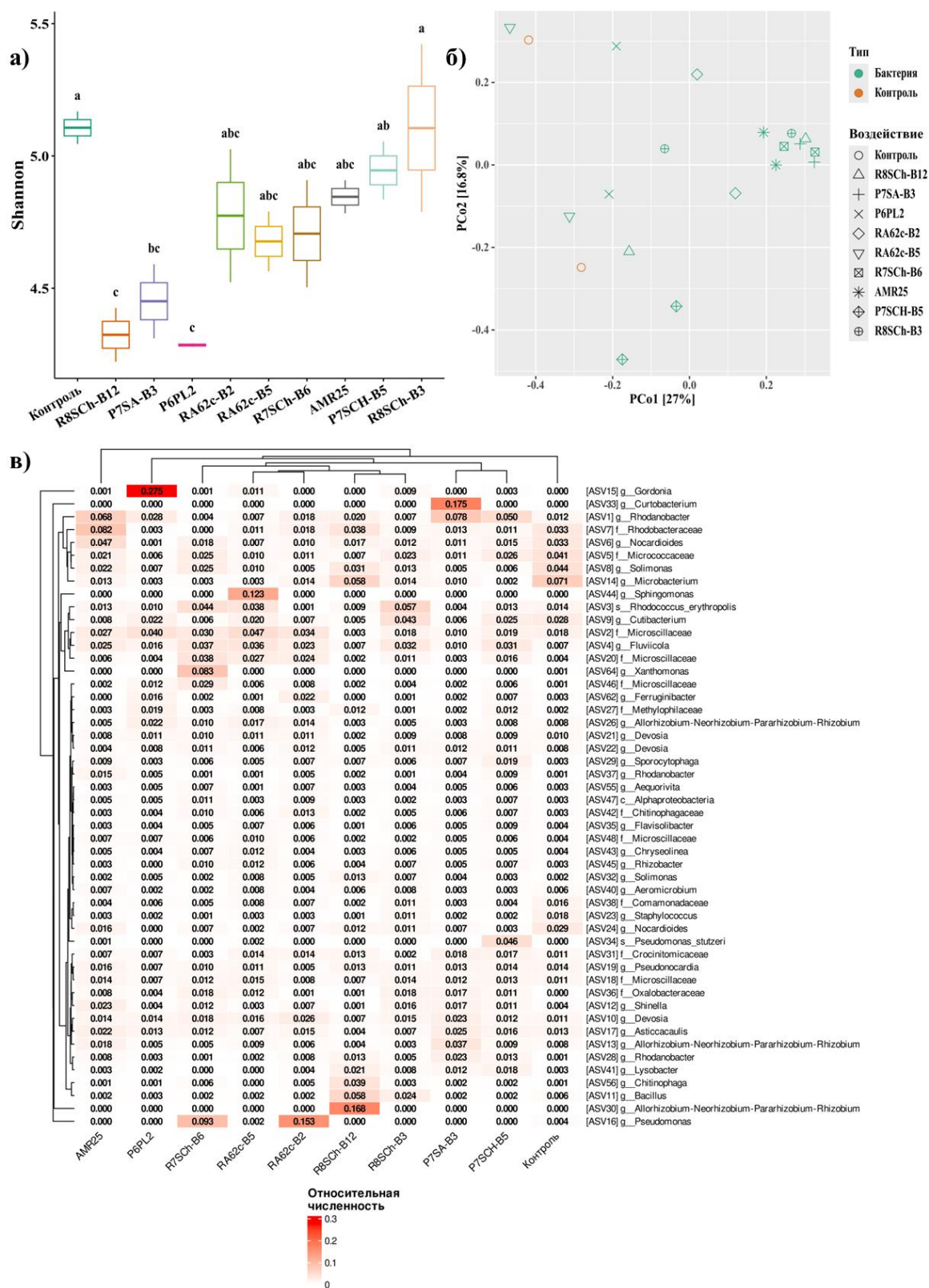


Рисунок 3 – Индексы Шеннона для эндофитных бактериальных сообществ у растений *Arabidopsis thaliana* после инокуляции бактериальными штаммами *Vitis amurensis*(a); PCoA, основанный на различии по Брью–Кертису для эндофитных бактерий после бактериальной инокуляции. Разные строчные буквы

указывают на существенные различия между индексами Шеннона. Эллипсы на графиках РСоА показывают 95 %-ные доверительные интервалы многомерного t -распределения (б); Тепловые карты, иллюстрирующие относительную численность эндофитных бактерий на уровне рода, с акцентом на значимые таксоны, выявленные с помощью ВПС у растений *A. thaliana* после инокуляции эндофитными бактериями. Показаны 50 лучших вариантов ампликонной последовательности (ASV) с наибольшим количеством (в). Инокуляци R8SCh-B12 – *Agrobacterium* sp.; P7SA-B3 – *Curtobacterium* sp.; P6PL2 – *Gordonia* sp.; RA62c-B2 – *Pseudomonas* sp.; RA62c-B5 – *Sphingomonas* sp.; R7SCh-B6 – *Xanthomonas* sp.; AMR25 – *Bacillus* sp.; P7SCH-B5 – *Pantoea* sp.; R8SCh-B3 – *Erwinia* sp.

Инокуляция исследуемыми бактериальными штаммами *V. amurensis* не оказала существенного влияния на альфа-разнообразие грибного фитобиома растений *A. thaliana* (Рисунок 4а). Однако структура бета-разнообразия сообщества грибов, значительно изменялась в зависимости от воздействия, что подтвердилось анализами РСоА и PERMANOVA ($R^2 = 0,62$, $p < 0,01$) (Рисунок 4б). При рассмотрении состава на уровне родов, инокуляция всеми исследуемыми штаммами *V. amurensis* снижала количество ASV родов *Penicillium* и *Naganishia* и увеличивала относительную представленность рода *Fusarium* (Рисунок 4в). Исключением было воздействие RA62c-B5, при котором изменений в количестве ASV родов *Penicillium* и *Fusarium* не наблюдалось (Рисунок 4в).

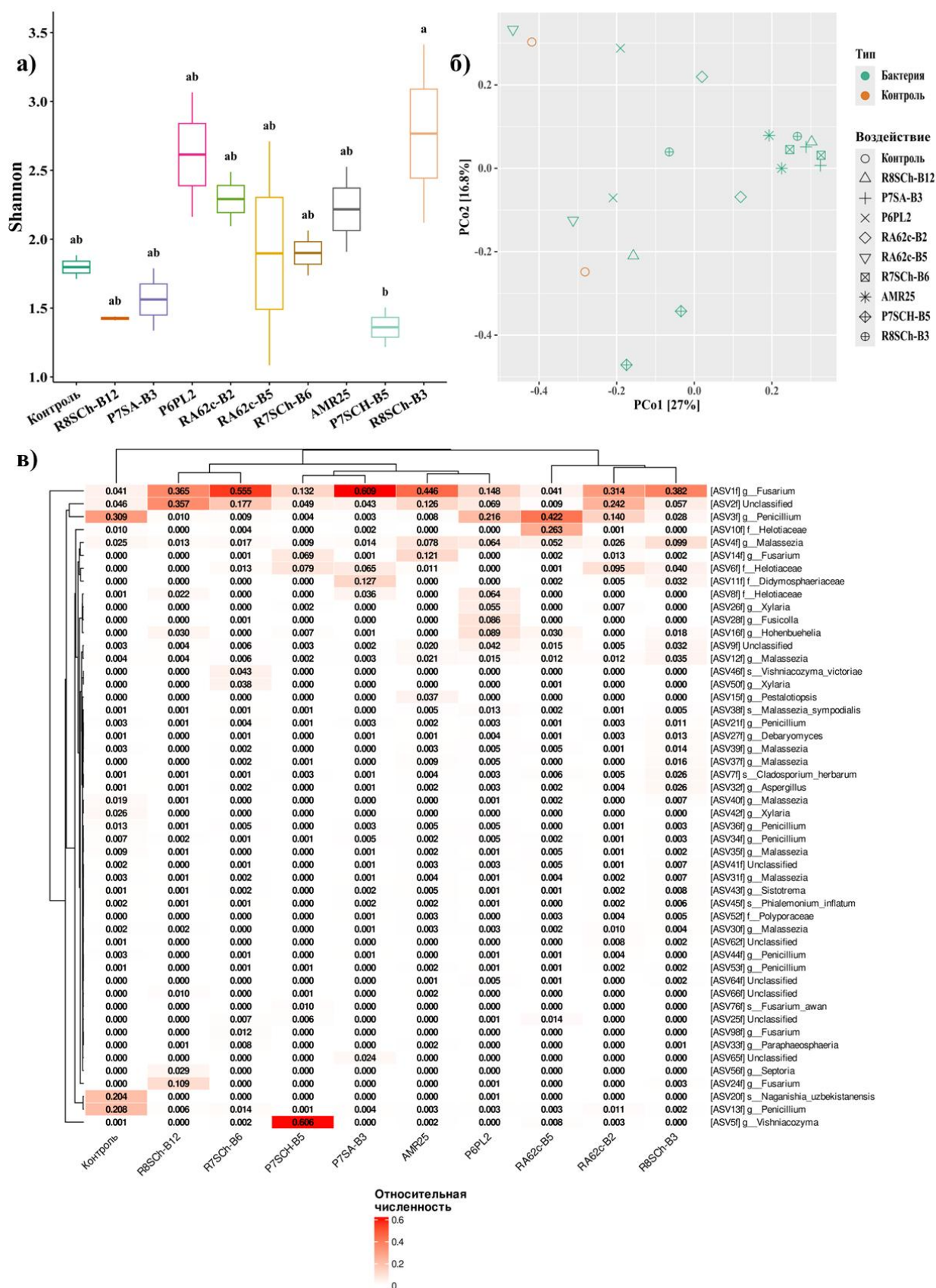


Рисунок 4 – Индексы Шеннона эндофитных грибных сообществ у растений *Arabidopsis thaliana* (а); PCoA, основанный на различии по Брэу–Кертису для

эндофитных грибов после инокуляции бактериальными штаммами *Vitis amurensis*. Разные строчные буквы указывают на существенные различия между индексами Шеннона. Многоточия на графиках РСоА показывают 95 %-ные доверительные интервалы многомерного *t*-распределения (б); тепловая карта, иллюстрирующая относительную численность эндофитных грибов на уровне рода, с акцентом на значимые таксоны, выявленные с помощью ВПС у растений *A. thaliana* после инокуляции эндофитными бактериями. Показаны 50 наиболее представленных таксонов (в). Инокулянты R8SCh-B12 – *Agrobacterium* sp.; P7SA-B3 – *Curtobacterium* sp.; P6PL2 – *Gordonia* sp.; RA62c-B2 – *Pseudomonas* sp.; RA62c-B5 – *Sphingomonas* sp.; R7SCh-B6 – *Xanthomonas* sp.; AMR25 – *Bacillus* sp.; P7SCH-B5 – *Pantoea* sp.; R8SCh-B3 – *Erwinia* sp.

3.3 Оценка ростостимулирующих свойств штаммов эндофитных бактерий *V. amurensis*

3.3.1 Морфометрические показатели модельного растения *A. thaliana* после инокуляции эндофитными штаммами *V. amurensis*.

Для оценки ростостимулирующего потенциала исследуемые бактериальные штаммы, были распределены на чашки Петри, содержащие ½ питательной среды MS, куда затем были помещены стерильные семена *A. thaliana*. После 7-дневной инокуляции каждым бактериальным штаммом, 10 проростков измеряли, 120 проростков высаживали в коммерчески доступный нестерильный грунт и далее выращивали в климатической камере в течении 30-ти дней. Всего было выполнено 10 таких экспериментов.

На начальном этапе развития было отмечено, что у инокулированных бактериями семян *A. thaliana* наблюдалось замедленное развитие корневой системы относительно контрольной группы, у которой развитие корня начиналось на 2-3 день после посева семян на питательную среду. В случае инокулированных бактериями семян, появление корня наблюдалось на 4-6 день после обработки. Длина гипокотилия у обработанных бактериями 7-дневных проростков была

меньше в 1,1–2,9 раза, а длина корня снижалась в 8–9 раз по сравнению с контрольными растениями (Рисунок 5).

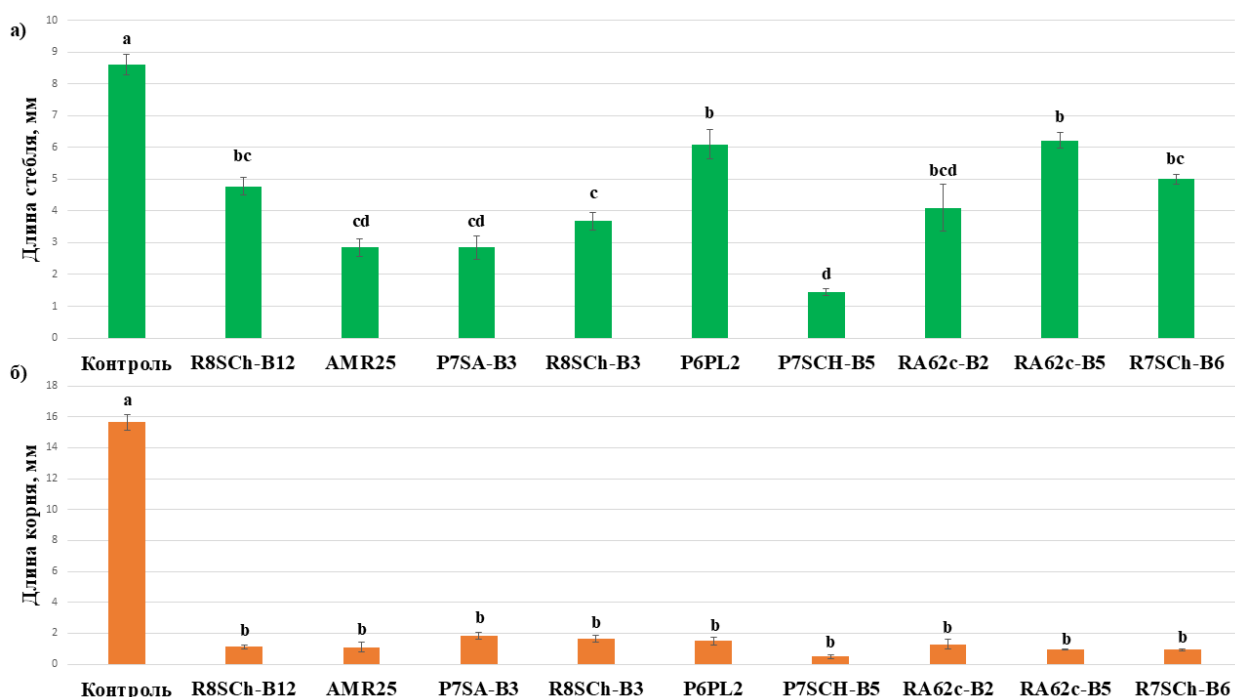


Рисунок 5 – Длина стебля (а) и корня (б) 7-дневных растений *Arabidopsis thaliana*, после обработки эндофитными бактериями. Контроль – не инокулированные растения *A. thaliana*. R8SCh-B12 – *Agrobacterium* sp.; P7SA-B3 – *Curtobacterium* sp.; P6PL2 – *Gordonia* sp.; RA62c-B2 – *Pseudomonas* sp.; RA62c-B5 – *Sphingomonas* sp.; R7SCh-B6 – *Xanthomonas* sp.; AMR25 – *Bacillus* sp; P7SCH-B5 – *Pantoea* sp.; R8SCh-B3 – *Erwinia* sp. Данные представлены как среднее значение $\pm$ средняя ошибка эксперимента из 10 независимых экспериментов с двадцатью техническими повторениями. Средние значения, за которыми следует одна и та же буква, не отличались в соответствии с ANOVA с последующим тестированием Тьюки. Принятый уровень значимости составил $p < 0,05$.

Диаметр розетки 30-дневных растений *A. thaliana*, инокулированных штаммами *Gordonia* sp. P6PL2 и *Sphingomonas* sp. RA62c-B5, были в 1,2–1,4 раза больше, чем у контрольных растений (Рисунок 6а). Размер розеток растений, инокулированных остальными штаммами, был значительно меньше, чем контрольные растения (Рисунок 6а). Так же количество листьев у 30-дневных

растений *A. thaliana*, инокулированных исследуемыми штаммами, значительно было меньше по сравнению с контролем (Рисунок 6б). Однако наблюдалось увеличение накопления свежей розеток 30-дневных растений *A. thaliana*, обработанных штаммами *Gordonia* sp. P6PL2 и *Sphingomonas* sp. RA62c-B5 в 1,5–1,8 раз (Рисунок 6в).

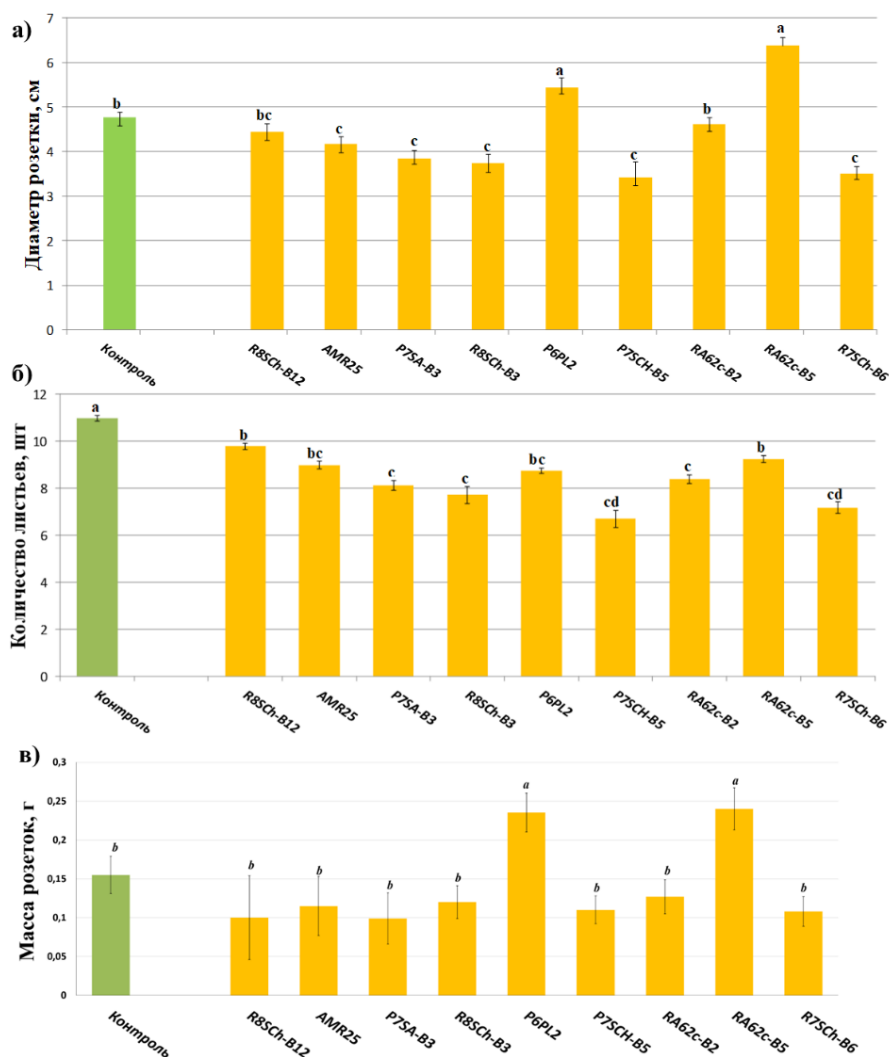


Рисунок 6 – Диаметр розеток (а), количество листьев (б) и масса розеток (в) 1-месячных растений *Arabidopsis thaliana*, растущих в горшках с почвой, после обработки эндофитными бактериями. Контроль – не инокулированные растения *A. thaliana*. R8SCh-B12 – *Agrobacterium* sp.; P7SA-B3 – *Curtobacterium* sp.; P6PL2 – *Gordonia* sp.; RA62c-B2 – *Pseudomonas* sp.; RA62c-B5 – *Sphingomonas* sp.; R7SCh-B6 – *Xanthomonas* sp.; AMR25 – *Bacillus* sp; P7SCH-B5 – *Pantoea* sp.; R8SCh-B3 – *Erwinia* sp. Данные представлены как среднее значение $\pm$ средняя ошибка.

эксперимента из 10 независимых экспериментов с двадцатью техническими повторениями. Средние значения, за которыми следует одна и та же буква, не отличались в соответствии с ANOVA с последующим тестированием Тьюки.

Принятый уровень значимости составил $p < 0,05$.

3.3.2 Морфометрические показатели *O. sativa* после инокуляции эндофитными штаммами *V. amurensis*.

Для оценки влияния эндофитов был выбран штамм *Gordonia* sp. P6PL2 поскольку было показано, что данный штамм успешно проникал в растения и позитивно влиял на рост *A. thaliana* (Рисунок 3,5,6). Помимо этого, использовались штаммы *Pseudomonas* sp. RA62с-B2 и *Pantoea* sp. P7SCH-B5, поскольку данные штаммы показали все исследуемые свойства на скрининге с использованием микробиологических сред.

Оценка морфометрических показателей *O. sativa* осуществлялась на 7 и 30 день после инокуляции. Инокуляцию семян осуществляли путём помещения стерильных семян *O. sativa* сорта Дубрава в ночные бактериальные культуры P6PL2, RA62с-B2 и P7SCH-B5, после чего 10 семян помещали на чашки Петри со смоченными бумажными дисками, 40 высаживали в коммерчески доступный грунт. Каждый эксперимент повторяли 3 раза.

На 7 день после воздействия бактериальными штаммами RA62с-B2 и P7SCH-B5 было отмечено достоверное снижение длины coleoptilia на 11,5 % и 11,7 % соответственно по сравнению с контролем (Рисунок 7а,е,ё). Длина корня достоверно увеличивалась при воздействии P6PL2 на 12,9 % и RA62с-B2 на 10 % (Рисунок 7б,д,е). Сухая масса проростков так же увеличивалась при инокуляции P6PL2 на 10,5 % и RA62с-B2 на 17,4 % (Рисунок 7в).

На 30 день после инокуляции семян риса бактериальными штаммами винограда, было отмечено увеличение длины стебля. Так воздействие *Gordonia* sp. P6PL2 увеличивало длину стебля на 7,5 %, *Pseudomonas* sp. RA62с-B2 на 24,5 % и *Pantoea* sp. P7SCH-B5 на 25,5 % (Рисунок 8а,д-ж). Длина корня достоверно была больше на 20,8 % и на 24,13 % у растений риса, обработанных P6PL2 и RA62с-B2

соответственно (Рисунок 8б,д-ж). Сухая масса стеблей так же была больше при воздействии P6PL2 на 18 %, RA62с-B2 на 44,2 % и P7SCH-B5 на 40,2 % (Рисунок 8в). Сухая масса корней была увеличена на 37 % при воздействии P6PL2, RA62с-B2 на 63,8 % и P7SCH-B5 на 50,44 % (Рисунок 8г).

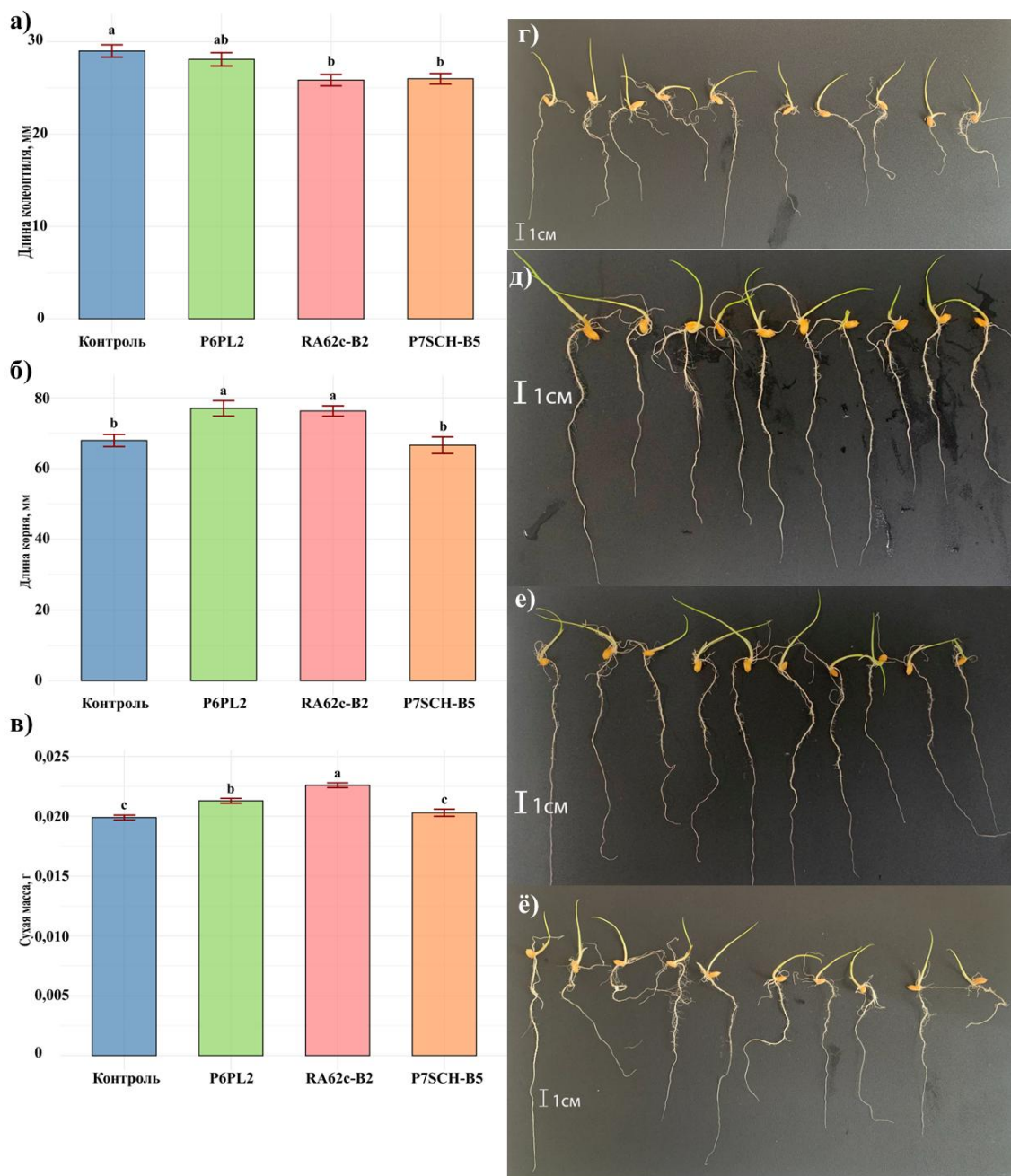


Рисунок 7 – Длина coleoptили (а), длина корня (б) и сухая масса 7-дневных проростков риса *Oryza sativa* сорт Дубрава (в), внешний вид растений риса, замоченных стерильной водой – контроль (г), растения риса, инокулированные бактериальным штаммом *Gordonia* sp. P6PL2 (д), *Pseudomonas* sp. RA62с-B2 (е), *Pantoea* sp. P7SCH-B5 (ё). Данные представлены как среднее значение $\pm$ средняя

ошибка экспериментов из трех независимых экспериментов с сорока техническими повторениями. Средние значения, за которыми следует одна и та же буква, не отличались в соответствии с ANOVA с последующим тестированием Тьюки. Принятый уровень значимости составил $p < 0,05$.

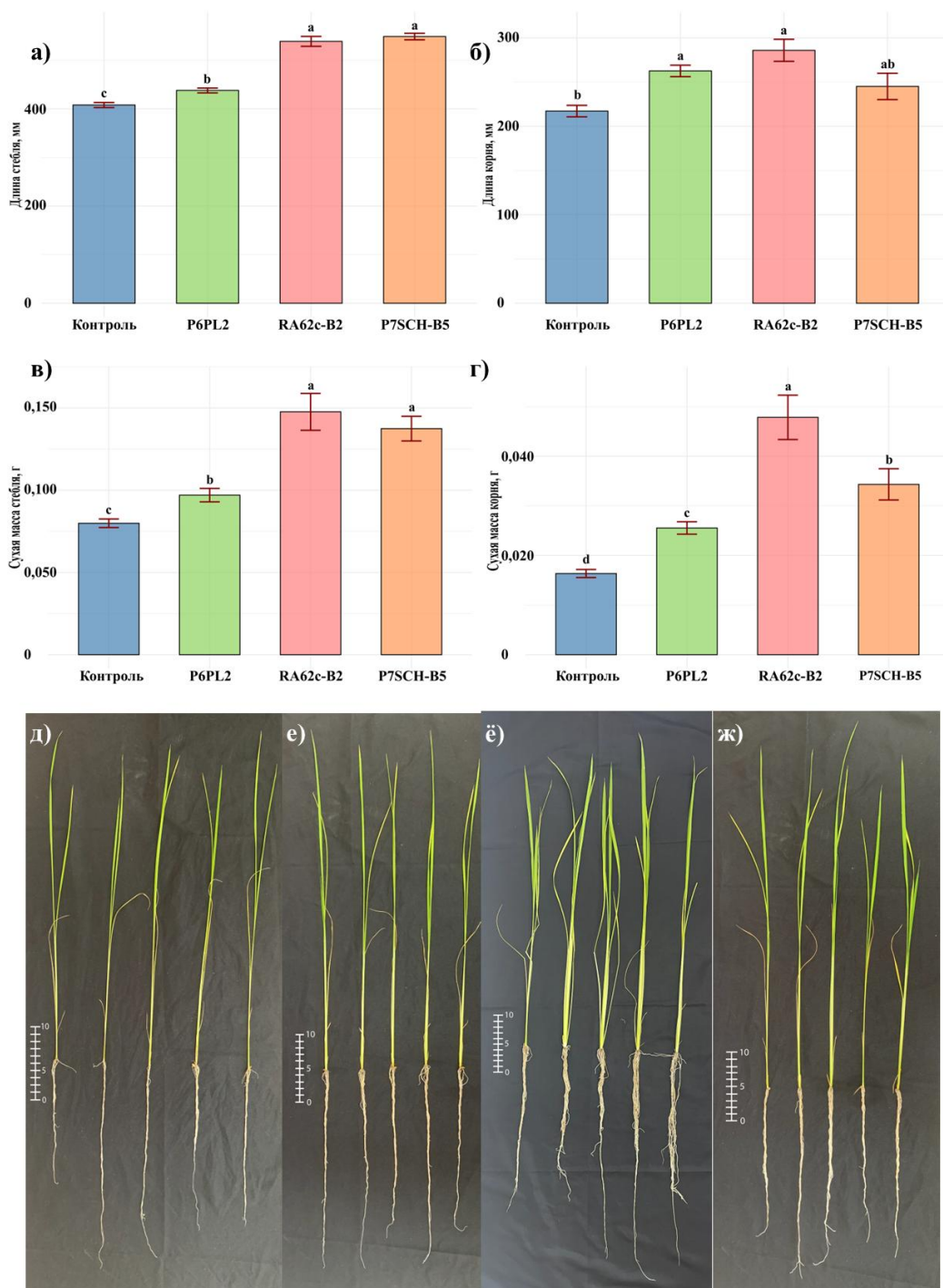


Рисунок 8 – Длина coleoptilya (а), длина корня (б) и сухая масса стебля и корня 30-дневных проростков риса *Oryza sativa* сорт Дубрава (в, г), внешний вид

растений риса, замоченных стерильной водой – контроль (д), растения риса, инокулированные бактериальным штаммом *Gordonia* sp. P6PL2 (е), *Pseudomonas* sp. RA62c-B2 (ё), *Pantoea* sp. P7SCH-B5 (ж). Данные представлены как среднее значение $\pm$ средняя ошибка экспериментов из трех независимых экспериментов с сорока техническими повторениями. Средние значения, за которыми следует одна и та же буква, не отличались в соответствии с ANOVA с последующим тестированием Тьюки. Принятый уровень значимости составил $p < 0,05$.

Таким образом, установлено, что эндофитные бактерии винограда *Gordonia* sp. P6PL2, *Pseudomonas* sp. RA62c-B2 и *Pantoea* sp. P7SCH-B5 достоверно увеличивают длину и прирост сухой биомассы растений риса.

3.4 Характеристика штамма *Gordonia* sp. P6PL2

3.4.1 Филогенетическая идентификация штамма *Gordonia* sp. P6PL2

Филогенетический анализ штамма P6PL2 выявил его наибольшее генетическое сходство со штаммом *Gordonia aichiensis* NBRC 108223 (Рисунок 9а). Анализ средней нуклеотидной идентичности (ANI) и цифровой ДНК-ДНК гибридизации (dDDH) с использованием восьми наиболее близкородственных видов, показал наибольшее сходство P6PL2 98,93 % (ANI) (Рисунок 9б) и 94,1 % (dDDH) (Таблица 5) с *G. aichiensis* NBRC 108223. На основании филогенетического анализа и показателей ANI и dDDH, превышающих пороговые значения “золотого стандарта” $> 95\%$ и $> 70\%$ соответственно, установлено, что P6PL2 принадлежит к *G. aichiensis*.

Таблица 5 – Данные сравнения бактериального эндофита *Gordonia aichiensis* P6PL2 с представителями рода *Gordonia* используя dDDH.

Штамм	dDDH (%)
<i>G. aichiensis</i> NBRC 108223	94,1
<i>G. sputi</i> NBRC 100414	26,7
<i>G. bronchialis</i> DSM 43247	21,3
<i>G. paraffinivorans</i> NBRC 108238	21,2
<i>G. desulfuricans</i> NBRC 100010	21,1
<i>G. effusa</i> NBRC 100432	21,1
<i>G. terrae</i> 3612	20,8
<i>G. amarae</i> NBRC 15530	20,7

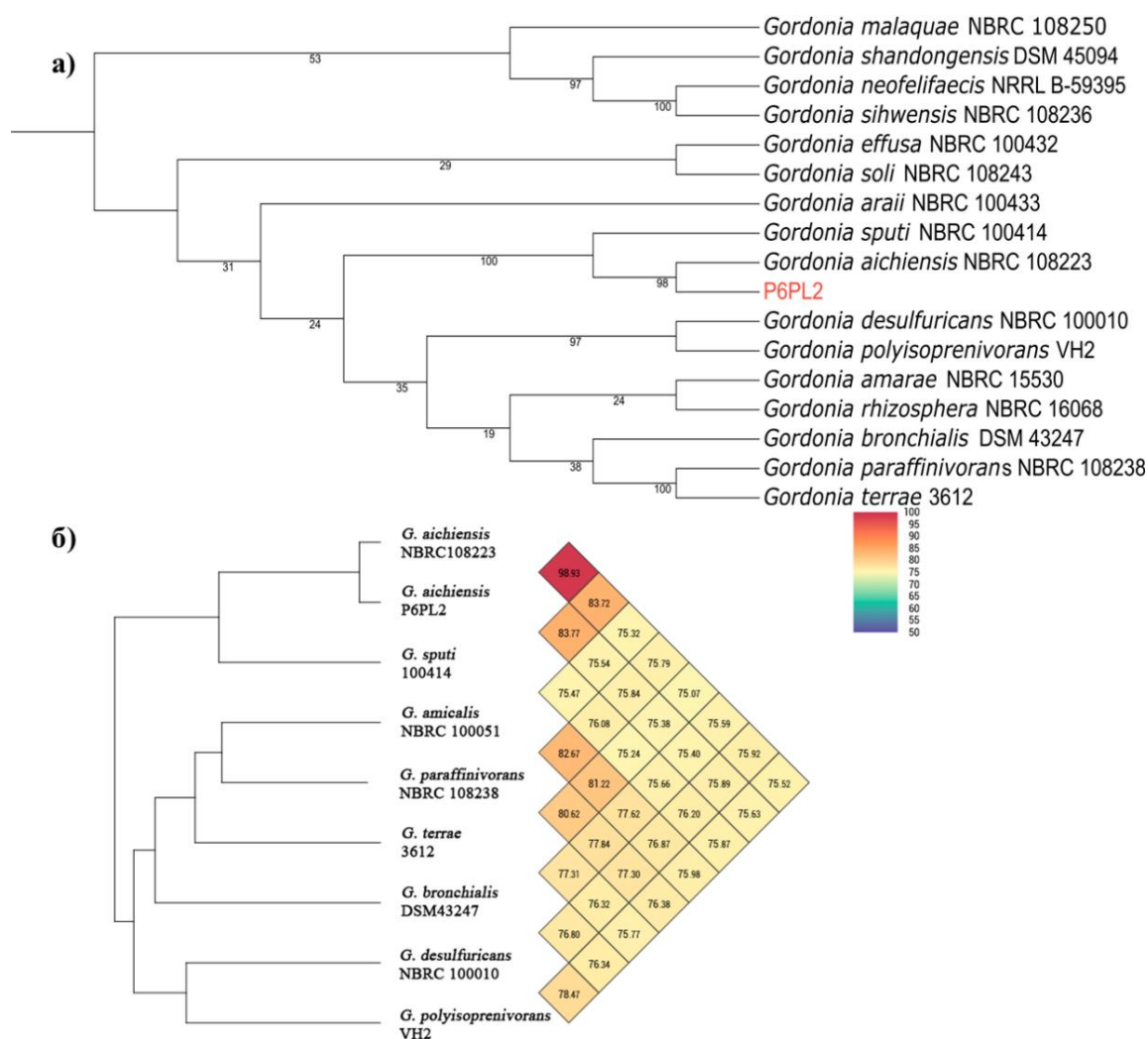


Рисунок 9 – Филогенетическое дерево, построенное на основе расстояний Genome BLAST Distance Phylogeny (GBDP) с использованием FastME 2.1.6.1 (а); анализ ортологичной средней нуклеотидной идентичности был определён с помощью инструмента Orthologous Average Nucleotide Identity Tool (б) штамма P6PL2.

3.4.2 Особенности генома *G. aichiensis* P6PL2 и сравнение генетических характеристик

Установлено, что геном *G. aichiensis* P6PL2 имеет длину 5.435.824 п.н., объединённых в 8 скаффолдов со средним содержанием ГЦ 65,1 % и содержит 5 279 белок-кодирующих последовательностей, 79 генов тРНК, 6 рРНК и 8 сайтов, кодирующих последовательности профагов (Таблица 6, Рисунок 10). Анализ

полноты и чистоты генома с использованием BUSCO и CheckM, показал, что геном P7SCH-B5 имеет 99,76 % полноту и уровень контаминации в 0,91 %.

Таблица 6 – Геномные характеристики *Gordonia aichiensis* P6PL2 и родственных представителей рода *Gordonia*.

	P6PL2	NBRC 108223	NBRC 100414	VH2	NBRC 100010
Номер доступа GeneBank	PRJNA1267753	GCF_000332975.1	GCF_000248055.1	GCF_000247715.1	GCF_001485495.1
Размер генома (п.н.)	5.435.824	5.092.029	4.952.979	5.844.299	5.428.634
Содержание Г+Ц (мол. %)	65,1	65,5	65,5	67	68
Количество скафолдов	8	78	158	2	246
Количество белок кодирующих генов	5.279	4.613	4.592	5.110	4.705
тРНК	79	48	54	57	58
рРНК	6	3	3	9	3
Количество последовательностей профагов	6	2	2	4	1

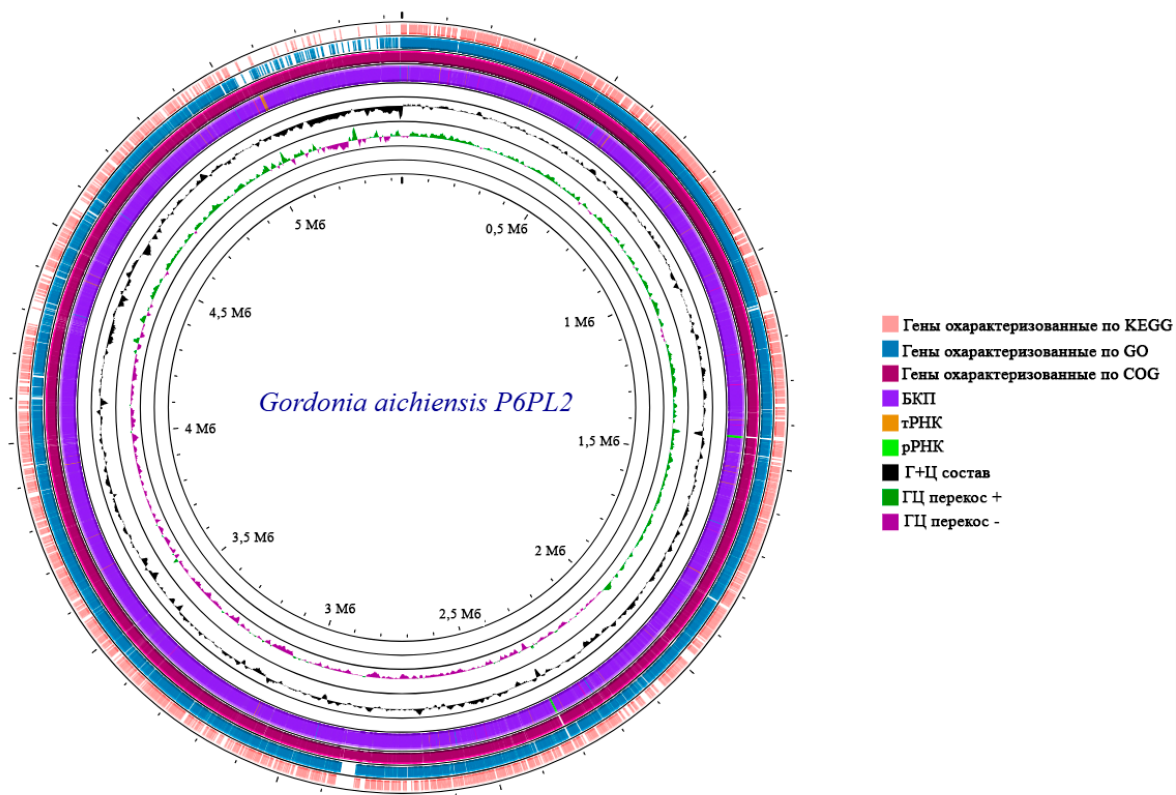


Рисунок 10 – Круговая карта хромосомы штамма *Gordonia aichiensis* P6PL2. По направлению снаружи внутрь: первое, второе и третье кольцо отражают распределение генов, охарактеризованных по номенклатурам Киотской энциклопедии генов и геномов (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG), генной онтологии (Gene ontology, GO) групп ортоголичных генов (Cluster of Orthologous Genes, COG) соответственно; четвёртое отражает распределение белок кодирующих последовательностей (БКП), предсказанных с помощью bakta; пятое кольцо гистограмма Г+Ц состава; шестое кольцо Г+Ц перекос (зелёный – Г % > Ц %, фиолетовый – Г % < Ц %); внутреннее кольцо отражает размер генома.

В ходе функционального аннотирования белок кодирующих последовательностей с использованием номенклатуры COG установлено, что 5.010 генов были отнесены к определённым функциональным группам, что составляет 94,9 % от общего числа выявленных белок кодирующих последовательностей (Рисунок 11). Значительная доля аннотированных генов 1.428 (28,5 %) была отнесена к категории неизвестная функция (Рисунок 11). Среди генов с установленной функциональной принадлежностью доминирующими категориями являются транскрипция (439 генов), транспорт и

метаболизм аминокислот (359 генов), репликация, рекомбинация и репарация ДНК (329 генов), транспорт и метаболизм липидов (317 генов), производство и преобразование энергии (296 генов) (Рисунок 11).



Рисунок 11 – Распределение генов штамма *Gordonia aichiensis* P6PL2 согласно номенклатуре групп ортологических генов (Cluster of Orthologous Genes, COG).

С использованием инструмента BlastKOALA были охарактеризованы 3.435 генов, распределённых по 277 категориям KEGG, что соответствует 65,07 % от общего числа предсказанных белок кодирующих последовательностей. Наибольшую долю в распределении категорий составили метаболические пути (846 генов), биосинтез вторичных метаболитов (401 ген), микробный метаболизм в различных средах (337 генов), ABC-транспортёры (142 гена), биосинтез кофакторов (138 генов), биосинтез аминокислот (119 генов) и углеводный обмен (115 генов) (Рисунок 12).

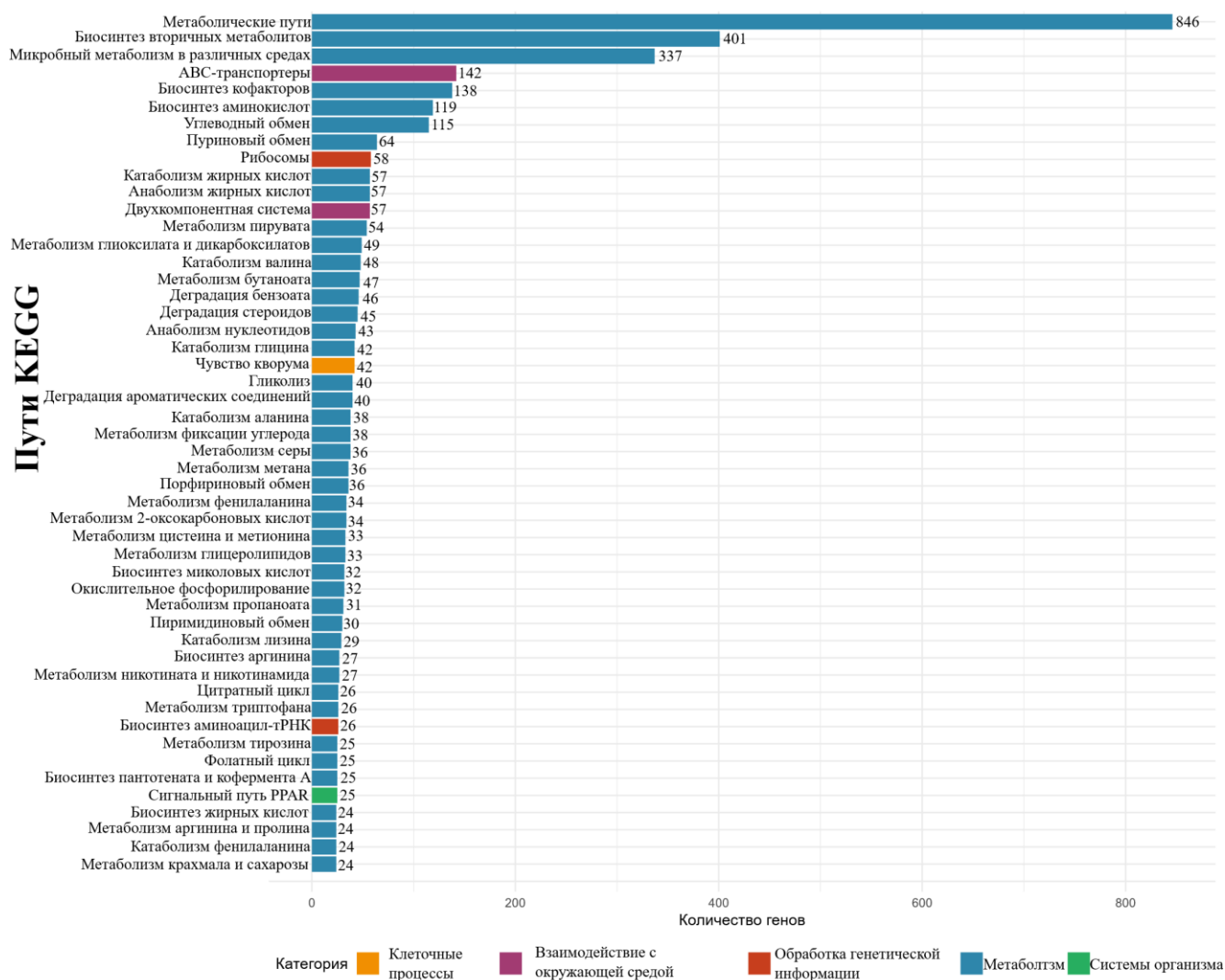


Рисунок 12 – Распределение 50 наиболее встречаемых категорий генов штамма *Gordonia aichiensis* P6PL2 согласно номенклатуре Киотской энциклопедии генов и геномов (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG).

Функциональная аннотация генов с использованием номенклатуры GO позволила охарактеризовать 4.317 генов, что составляет 82,8 % от общего числа генов. Наиболее представленным термином в подонтологии GO «биологический процесс», является транскрипция ДНК (274 гена), в подонтологии «клеточный компонент» — плазматическая мембрана (513 генов), в подонтологии «молекулярная функция» — связывание АТФ (468 генов) (Рисунок 13).

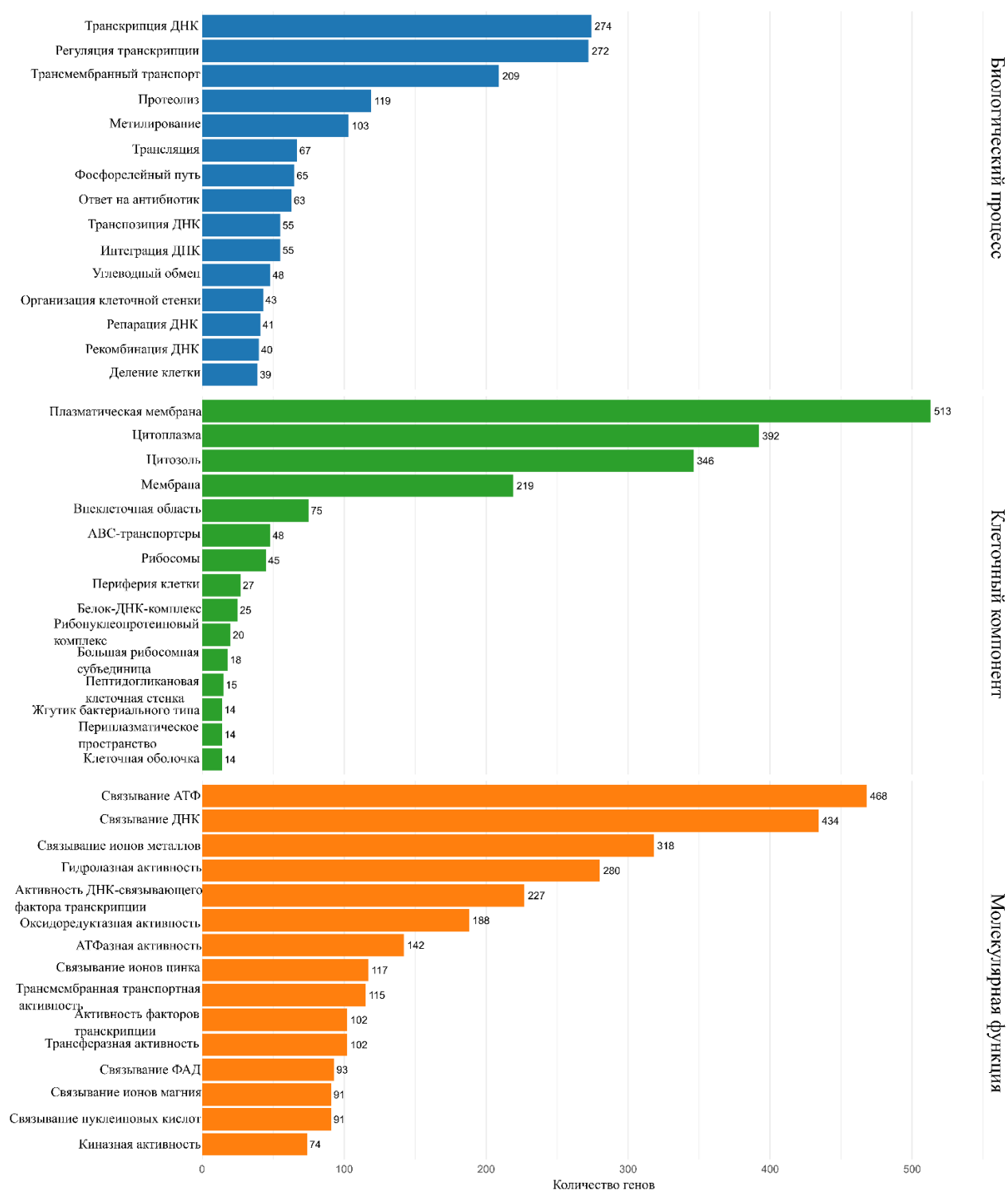


Рисунок 13 – Распределение генов штамма *Gordonia aichiensis* P6PL2 по 15 наиболее встречаемых терминам согласно подноменклатурам генной онтологии (Gene ontology, GO).

Сравнительный анализ белковых кластеров пяти штаммов рода *Gordonia* при помощи программы OrthoVen показал, что у данных штаммов имеются 2.825

общих белковых кластеров (Рисунок 14а). Наибольшее число общих кластеров у *G. aichiensis* P6PL2 было с *G. aichiensis* NBRC 108223 и составляло 3.790 кластера. Также штамм P6PL2 имел 25 уникальных белковых кластеров (Рисунок 14а). Характеристика уникальных кластеров по базе данных GO показала, что наибольшее число уникальных кластеров охарактеризовалось до биологических процессов (GO:0008150), наиболее интересным является кластеры, охарактеризованный как ответ на температурный и окислительный стресс (Рисунок 14б).

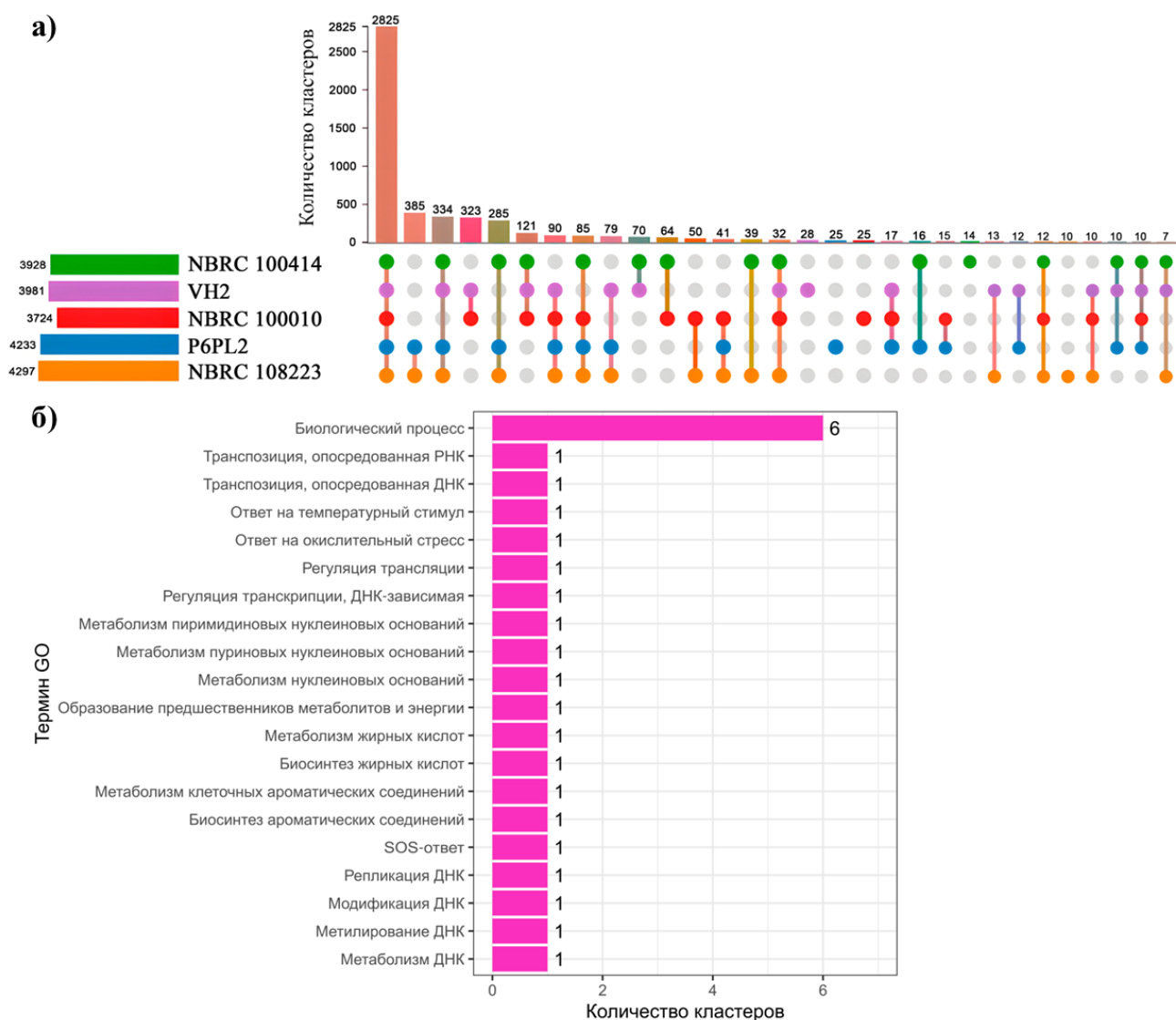


Рисунок 14 – Сравнение генома штамма *Gordonia aichiensis* P6PL2 с наиболее близкими видами рода *Gordonia*. График UpSet бактериальных штамм *G. aichiensis* P6PL2, *G. polyisoprenivorans* VH2, *G. desulfuricans* NBRC_100010, *G.*

aichiensis NBRC_108223 и *G. sputi* NBRC_100414, построенная с использованием программы OrthoVenn3 (a); классификация уникальных кластеров *G. aichiensis* P6PL2 согласно номенклатуре генной онтологии (Gene ontology, GO) (б).

3.4.3 Гены *G. aichiensis* P6PL2, ассоциированные со стимуляцией роста растений

В геноме *G. aichiensis* P6PL2 был обнаружен ряд генов, ассоциированных со стимуляцией роста растений (ГАСР). Используя PGPT-PredPlaBase было обнаружено, что 39 % ГАСР относились к прямым механизмам стимуляции и включали 13 % генов, связанных с синтезом фитогормонов, 13 % с повышением биодоступности питательных веществ, 13 % биоремедиацией. Гены, косвенно связанные со стимуляцией роста растений, составляли 60 % из всех обнаруженных с помощью PGPT-Pred, при этом 25 % были связаны с колонизацией растительных систем, 19 % с контролем биотических и абиотических стрессов, 15 % с конкурентным вытеснением и 1 % со стимуляцией иммунного ответа растений (Рисунок 15).

Особый интерес представляют гены биосинтеза фитогормонов, представленные генами биосинтеза ауксинов по IAAld пути биосинтеза (*trpABCDEs* и *aldAB*), а также биосинтеза цитокининов, включающие изопентенилтрансферазу (*ipt*), цитохром P450 (*BacCYPs*) и цитокинин рибозид-5'-монофосфат фосфорибогидролазу (*yvdD*), члена семейства Lonely Guy (LOG), который катализирует заключительный этап биосинтеза цитокининов (Таблица 7).

Так же в геноме *G. aichiensis* P6PL2 представлены гены, повышающие биодоступность питательных веществ, а именно, гены мобилизации фосфатов включающие гены биосинтеза органических кислот и гены синтеза и регулирования щелочных фосфотаз (*phoAHPSTU*, *ppa*, *ppx*, *pstA*), 44 гена, участвующих в метаболизме N, 19 генов, связанных с процессом усвоения железа и образованием сидерофоров и гемофоров, 18 генов метаболизма серы (Таблица 7). Помимо этого, было обнаружено 44 гена, участвующих в метаболизме N (Таблица 7).

Дополнительно, были обнаружены гены, участвующие в устойчивости к абиотическим стрессам. В частности, были найдены гены, ответственные за устойчивости к солевому и окислительному стрессу, а именно гены синтеза глутамата, пролина, терпеноидов и оксидоредуктаз.



Рисунок 15 – Геномная характеристика *Gordonia aichiensis* P6PL2 на основе анализа PGPT-Pred PlaBase.

Таблица 7 – Гены *Gordonia aichiensis* P6PL2, ассоциированные со стимуляцией роста растений.

Функция	Гены
Биосинтез ИУК	<i>trpABCDES</i> и <i>aldAB</i>
Биосинтез цитокининов	<i>BacCYPs</i> , <i>ipt</i> , <i>miaB</i> , <i>hflX</i> , <i>yvdD</i> и <i>dapF</i>
Биосинтез ГАМК	<i>gadAB</i> , <i>aofH</i> и <i>spuC</i>
Биосинтез спермидина	<i>speABE</i>
Биосинтез органических кислот	<i>accB</i> , <i>aceA</i> , <i>gabD</i> , <i>gloB</i> , <i>ldh</i> , <i>lldD</i> , <i>lra6</i> , <i>mdh</i> , <i>metC</i> , <i>mhpE</i> , <i>mgo</i> , <i>poxB</i> , <i>ppdK</i> , <i>prpB</i> , <i>ptsI</i> , <i>sseA</i> и <i>ybgC</i>
Метаболизм N	<i>amtB</i> , <i>anfR</i> , <i>drag</i> , <i>fixABCJL</i> , <i>gdhA</i> , <i>glnABDE</i> , <i>gltBD</i> , <i>gluABCD</i> , <i>narGHIJKL</i> , <i>nifSU</i> , <i>nirBCDA</i> , <i>norQ</i> , <i>nosX</i> , <i>nreC</i> , <i>nrfD</i> , <i>ureABCDFG</i> , <i>urtA</i> , <i>ycgI</i> и <i>yifK</i>
Мобилизация P	<i>phoAHPSTU</i> , <i>ppa</i> , <i>ppx</i> , <i>pstA</i>

Мобилизация К	<i>kdpABCDE</i> и <i>trkA</i>
Ассимиляция Fe	<i>dhbF</i> , <i>entABCEFS</i> , <i>hemABCDLN</i> , <i>hmoB</i> , <i>hmuO</i> , <i>iroC</i> , <i>pvdA</i> и <i>ymfEI</i>
Метаболизм S	<i>cysAWNKJDHSQ</i> , <i>sfnG</i> , <i>dmdBC</i> , <i>tauBCA</i> , <i>sseA</i> и <i>ssuED</i>
Устойчивость к осмотическому стрессу	<i>argBCDEHJ</i> , <i>atpABCDFG</i> , <i>dpsA</i> , <i>gdhB</i> , <i>mtnN</i> , <i>nadA</i> , <i>prdF</i> , <i>smgB</i> , <i>yobR</i> и <i>ytaB</i>
Устойчивость к окислительному стрессу	<i>dltE</i> , <i>dxs</i> , <i>gcpE</i> , <i>idsA</i> , <i>ispDEFH</i> , <i>katE</i> , <i>qor</i> и <i>sodC</i>
Биоремедиация	<i>adhP</i> , <i>badHI</i> , <i>benABCEK</i> , <i>chqB</i> , <i>dehI</i> , <i>dhaS</i> , <i>ethA</i> , <i>frmA</i> , <i>hapE</i> , <i>mdlC</i> , <i>mdo</i> , <i>mldDEF</i> , <i>pcaBCDGH</i> , <i>pcpD</i> , <i>pobA</i> , <i>xylC</i> и <i>yiaY</i>
Синтез ЛОС	<i>acuC</i> , <i>budBC</i> , <i>butA</i> , <i>ilvH</i> и <i>pdhCD</i>

3.4.4 Фенотипическое проявление свойств *G. aichiensis* P6PL2, способствующее стимуляции роста растений

Используя диагностические питательные среды, было установлено, что штамм *G. aichiensis* P6PL2 способен к росту на питательной среде Эшби (Таблица 3), что указывает на его потенциальную способность к фиксации N (Рисунок 16а). Наличие ореола вокруг колонии на среде Пиковской указывает на способность к растворению неорганических фосфатов (Рисунок 16б). Однако способность окислять S и растворять К не была подтверждена (Рисунок 16в, г). Кроме того, анализ методом ВЭЖХ-МС выявил фитогормон ИУК и её предшественник индол-3-ацетоальдегид (Рисунок 16д, е) наряду с *транс*-зеатином (Рисунок 16ё) в экстракте из бактериальной культуры *G. aichiensis* P6PL2.

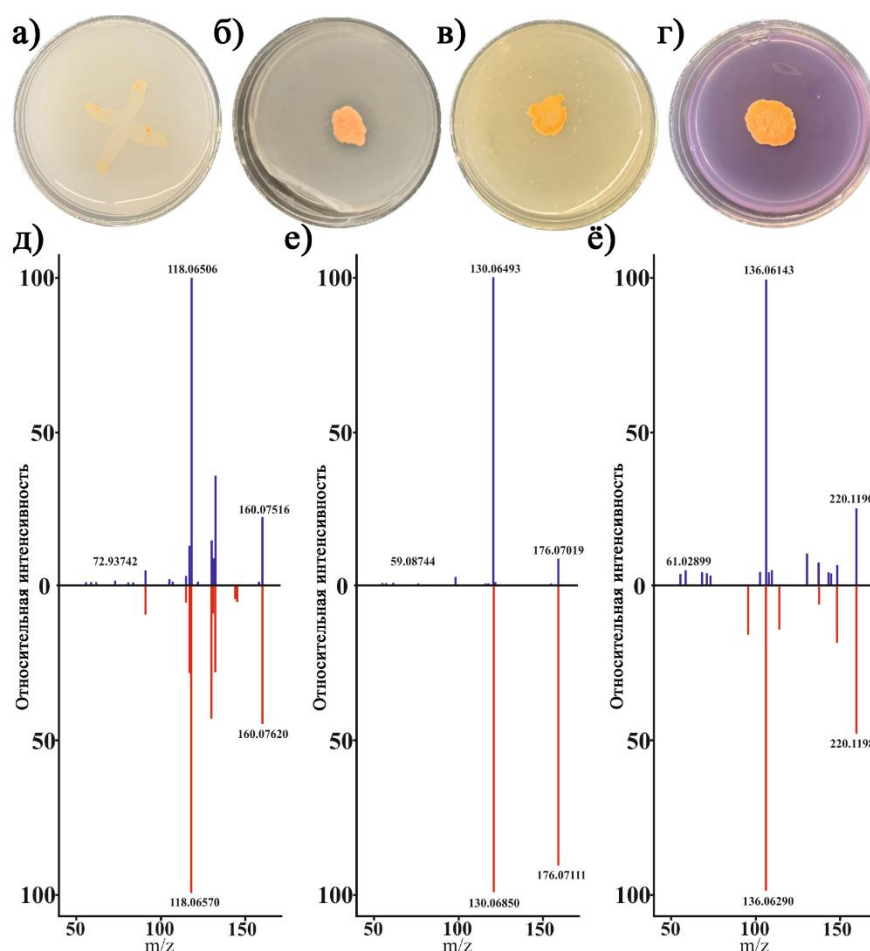


Рисунок 16 – Рост *Gordonia aichiensis* P6PL2 на диагностических средах, подтверждающий способность к фиксации N (а), мобилизации Р (б), мобилизации К (в), окисления S (г); масс-спектр индол-3-ацетоальдегида (д), масс-спектр индол-3-уксусной кислоты (е), масс-спектр *транс*-зеатина (ё). Данные масс-спектрометрии представлены в относительной интенсивности (масса/заряд). Спектры, извлечённые из экстракта обозначены синим цветом, эталонные масс спектры красным.

3.5 Характеристика штамм *Pseudomonas* sp. RA62c-B2

3.5.1 Филогенетическая идентификация штамм *Pseudomonas* sp. RA62c-B2

Филогенетический анализ показал, что штамм *Pseudomonas* sp. RA62c-B2 имеет наибольшее генетическое сходство со штаммом *Pseudomonas marginalis* ICMP3553 (Рисунок 17а). Анализ филогенетического родства (ANI) и степени дивергенции (dDDH) с использованием восьми наиболее близких видов показал, что RA62c-B2 имеет наибольшее сходство с *P. marginalis* ICMP3553: 98,3 % ANI

(Рисунок 17б) и 85,4 % dDDH (Таблица 8). На основании филогенетического анализа (Рисунок 17а) и показателей ANI и dDDH, установлено, что RA62c-B2 принадлежит к *P. marginalis*.

Таблица 8 – Сравнение бактериального эндофита *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 с представителями рода *Pseudomonas*, проведенное с использованием dDDH.

Штамм	dDDH (%)
<i>P. marginalis</i> ICMP3553	85,4
<i>P. pergaminensis</i> 1008T	42,4
<i>P. lurida</i> LMG 21995	42,1
<i>P. azotoformans</i> LMG 21611	40,5
<i>P. extremorientalis</i> LMG 19695	40,3
<i>P. allii</i> MAFF 301514	40,3
<i>P. simiae</i> CCUG 50988	39,7
<i>P. canadensis</i> 2-92	39,4

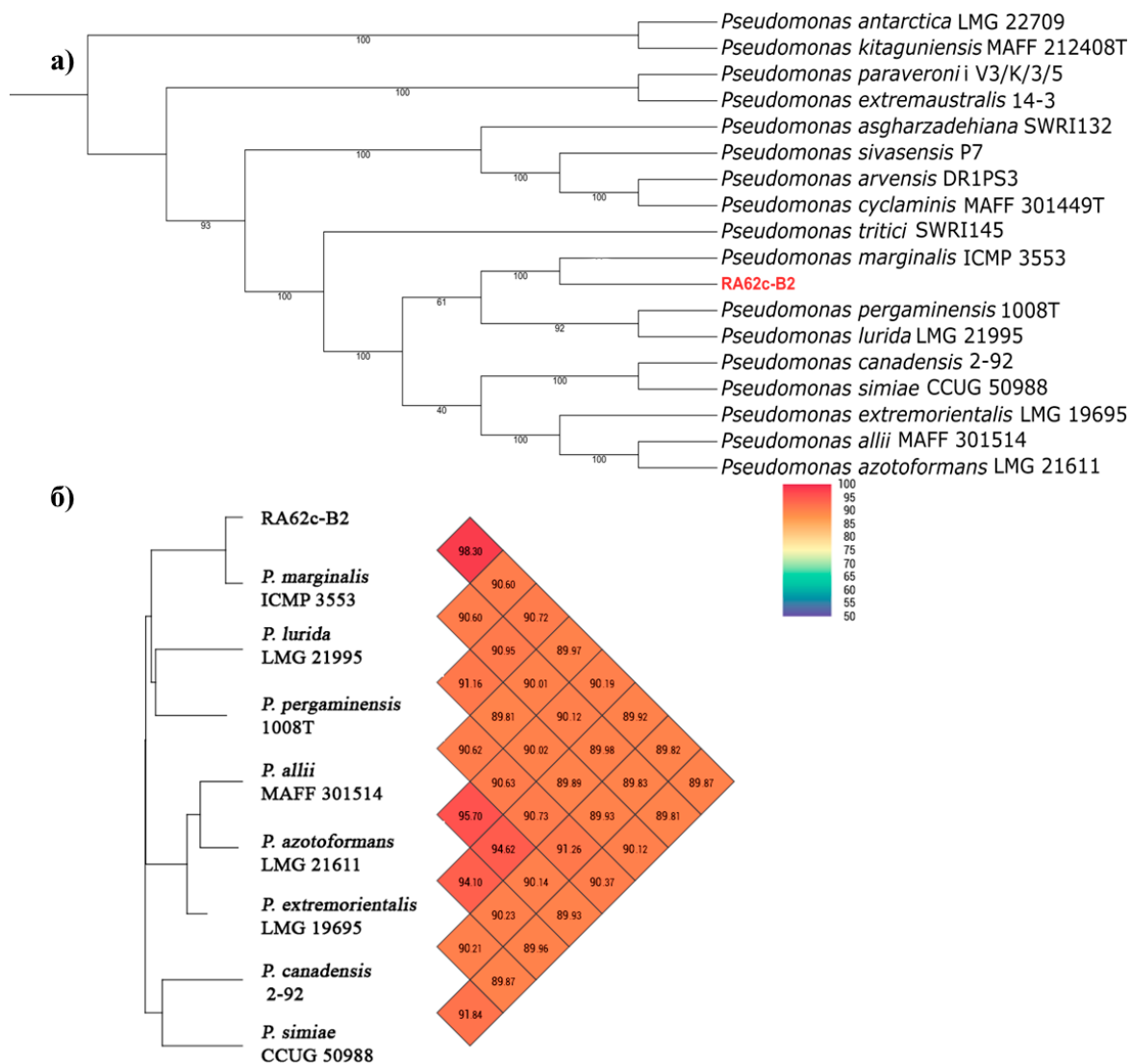


Рисунок 17 – Филогенетическое дерево, построенное на основе расстояний Genome BLAST Distance Phylogeny GBDP, с использованием FastME 2.1.6.1 (а); анализ ортологичной средней нуклеотидной идентичности штамм RA62с-B2, определённый с помощью инструмента Orthologous Average Nucleotide Identity Tool (б).

3.5.2 Особенности генома *P. marginalis* RA62с-B2 и сравнение его генетических характеристик

Геном *P. marginalis* RA62с-B2 состоит из 6.612.367 п.н., объединённых в 81 скаффолдов, со средним содержанием ГЦ 60,6 % и содержит 6545 белок-кодирующих последовательностей, 61 генов тРНК, 9 рРНК и 3 сайтов, кодирующих последовательности профагов (Таблица 9, Рисунок 18). Анализ полноты и чистоты генома показал, что геном RA62с-B2 имеет 100 % полноту и уровень контаминации в 0,43 %.

Таблица 9 – Геномные характеристики *Pseudomonas marginalis* RA62с-B2 и родственных представителей рода *Pseudomonas*.

	RA62с-B2	ICMP 3553	LMG 21995	1008T
Номер доступа GeneBank	-	GCA_0308154 55.1	GCA_00256 3895.1	GCA_024112 395.2
Размер генома (п.н.)	6.612.367	6.571.914	6.311.648	6.609.381
Содержание Г+Ц (мол. %)	60,6	60,4	60,6	60,5
Количество скаффолдов	81	200	1	1
Количество белок кодирующих генов	6.545	5.807	5.621	5.876
тРНК	61	60	60	70
рРНК	9	4	4	16
Количество последовательностей профагов	3	1	2	1

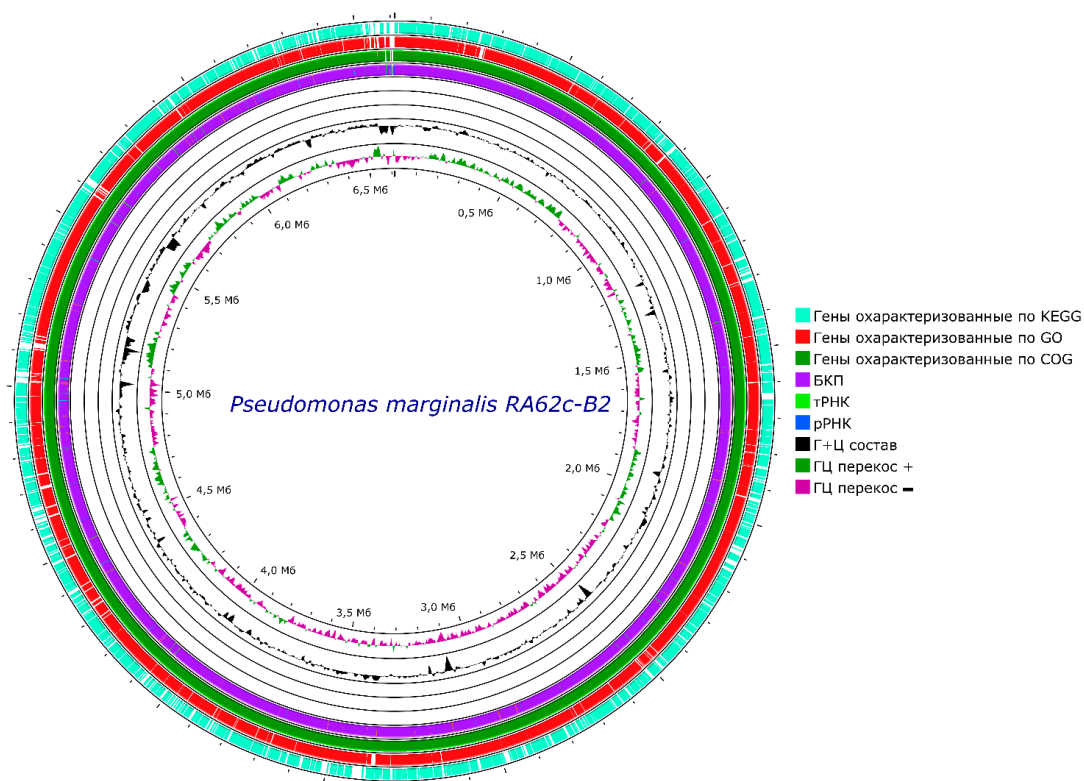


Рисунок 18 – Круговая карта хромосомы штамма *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2. По направлению снаружи внутрь: первое, второе и третье кольцо отражают распределение генов, охарактеризованных по номенклатурам Киотской энциклопедии генов и геномов (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG), генной онтологии (Gene ontology, GO) групп ортоголичных генов (Cluster of Orthologous Genes, COG) соответственно; четвёртое отражает распределение белок кодирующих последовательностей (БКП), предсказанных с помощью bakta; пятое кольцо гистограмма Г+Ц состава; шестое кольцо Г+Ц перекос (зелёный – Г % > Ц %, фиолетовый – Г % < Ц %); внутреннее кольцо отражает размер генома.

В результате функционального аннотирования генов штамма *P. marginalis* RA62c-B2 с применением номенклатуры COG охарактеризовано 6.401 ген, что составляет 97,8 % от общего числа выявленных генов (Рисунок 19). Среди аннотированных генов основную долю составляли последовательности, отнесённые к категории, неизвестная функция (1.562 гена) (Рисунок 19). В группе генов с установленной функциональной принадлежностью наибольшее число последовательностей приходилось на транспорт и метаболизм аминокислот (602

гена), транскрипцию (565 генов), транспорт и метаболизм неорганических ионов (415 генов), механизмы передачи сигналов (367 генов) и структуру и биогенез клеточной стенки (345 генов) (Рисунок 19).



Рисунок 19 – Распределение генов штамма *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 согласно номенклатуре групп ортоголичных генов (Cluster of Orthologous Genes, COG).

По результатам функционального аннотирования по номенклатуре KEGG было охарактеризовано 5.957 генов, разделённых на 256 категорий. Наиболее часто встречающимися категориями являлись метаболические пути (1.092 гена), биосинтез вторичных метаболитов (441 ген), микробный метаболизм в различных средах (367 генов), двухкомпонентная система (275 генов) и ABC-транспортёры (247 генов) (Рисунок 20).

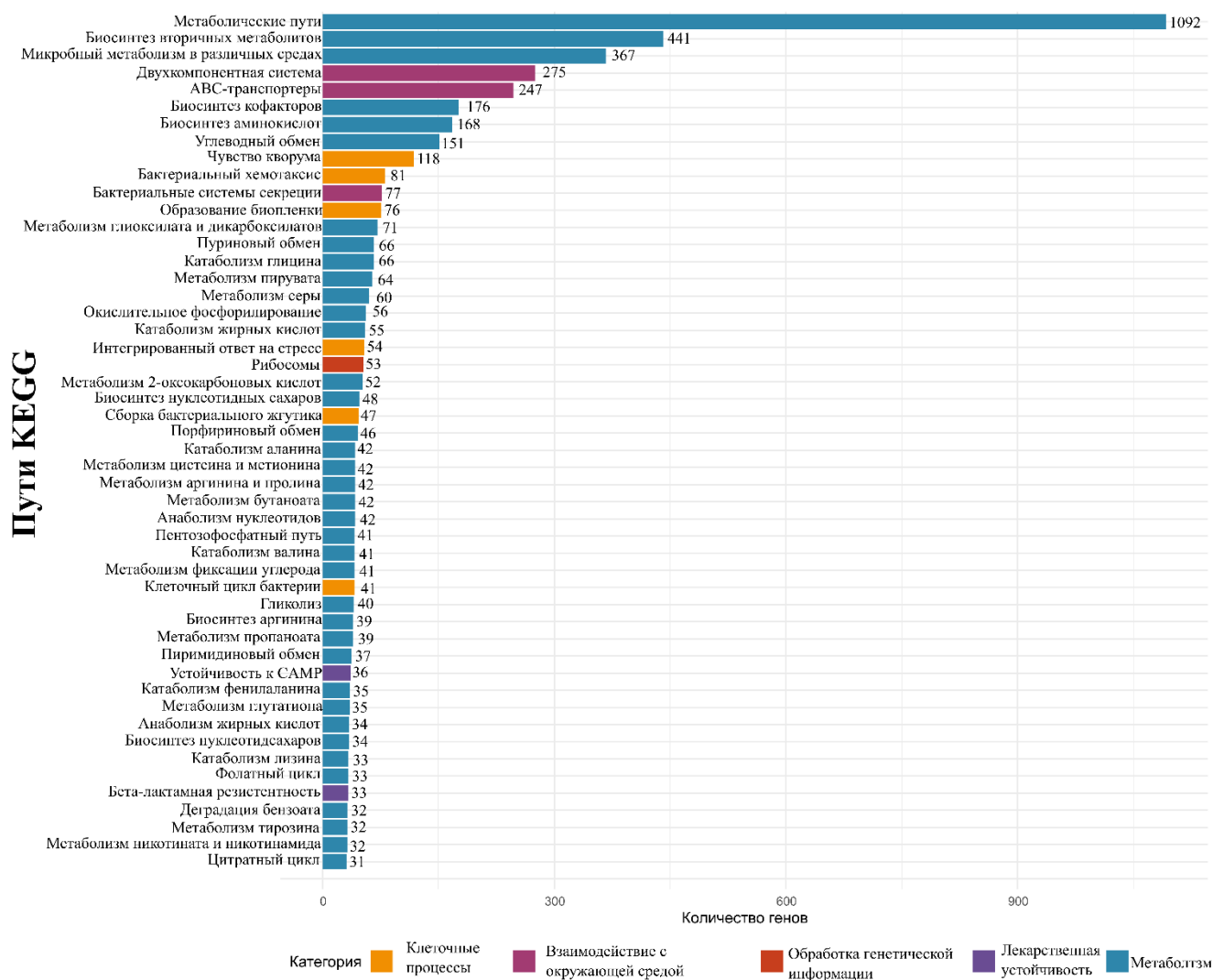


Рисунок 20 – Распределение 50 наиболее встречаемых категорий генов штамма *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 согласно номенклатуре Киотской энциклопедии генов и геномов (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG).

Функциональная аннотация генов с использованием номенклатуры GO позволила охарактеризовать 5.475 генов, что составляет 83,65 % от общего числа генов. Наиболее представленным термином в подонтологии GO «биологический процесс», является транскрипция ДНК (435 гена), в подонтологии «клеточный компонент» — плазматическая мембрана (911 генов), в подонтологии «молекулярная функция» — связывание АТФ (559 генов) (Рисунок 21).

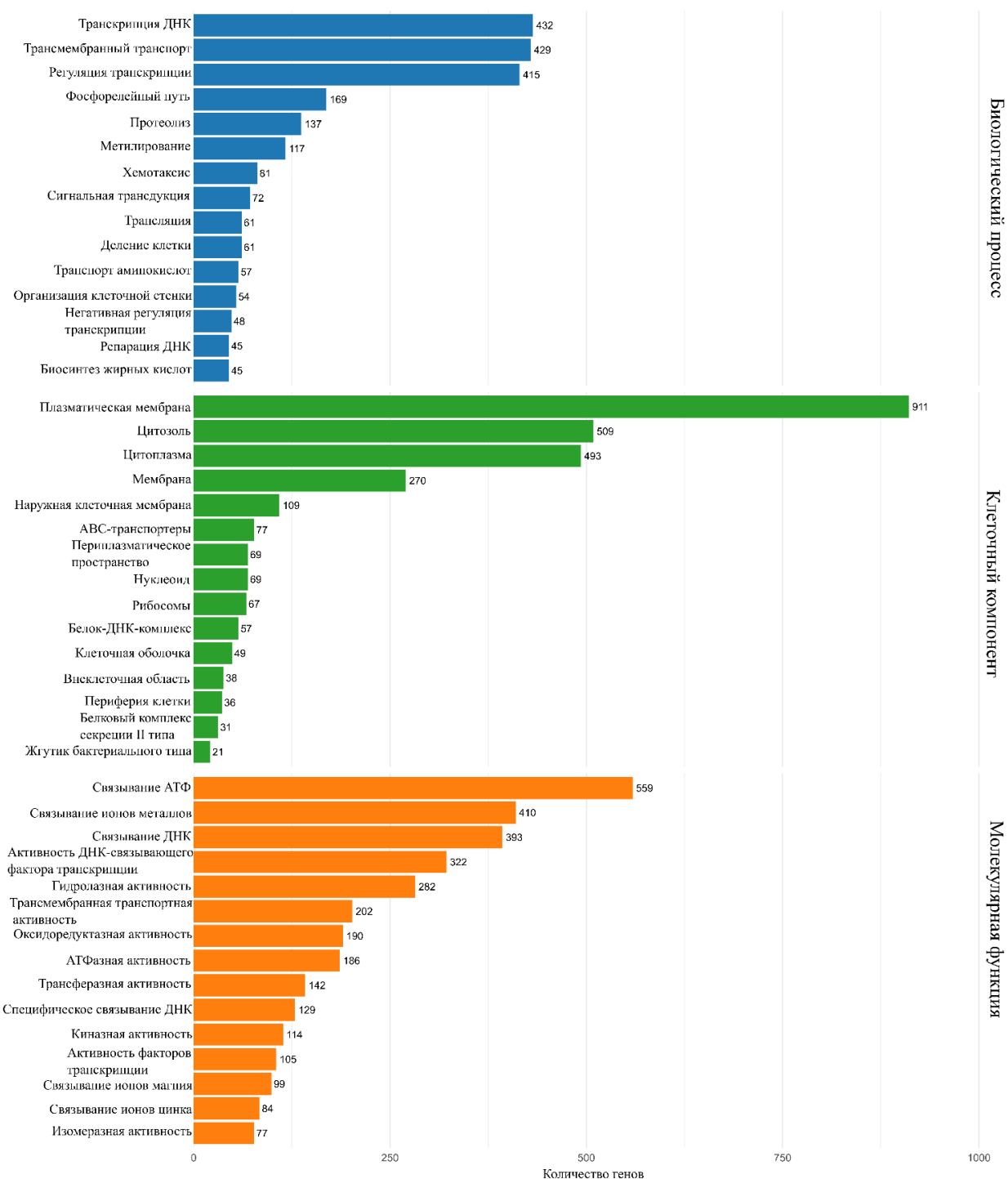


Рисунок 21 – Распределение генов штамма *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 по 15 наиболее встречаемым терминам согласно подноменклатурам генной онтологии (Gene ontology, GO).

Сравнительный анализ белковых кластеров четырёх штаммов рода *Pseudomonas* показал, что у данных штаммов имеются 4.133 общих белковых кластеров (Рисунок 22а). Наибольшее число общих кластеров у *P. marginalis*

RA62c-B2 было с *P. lurida* LMG 21995 и составляло 4.908 кластера. Также RA62c-B2 имел 10 уникальных белковых кластеров (Рисунок 22а). Характеристика уникальных кластеров по онтологии GO показала, что кластеры были распределены на репарацию ДНК, метаболические процессы и биологический процесс (GO:0008150) (Рисунок 22б).

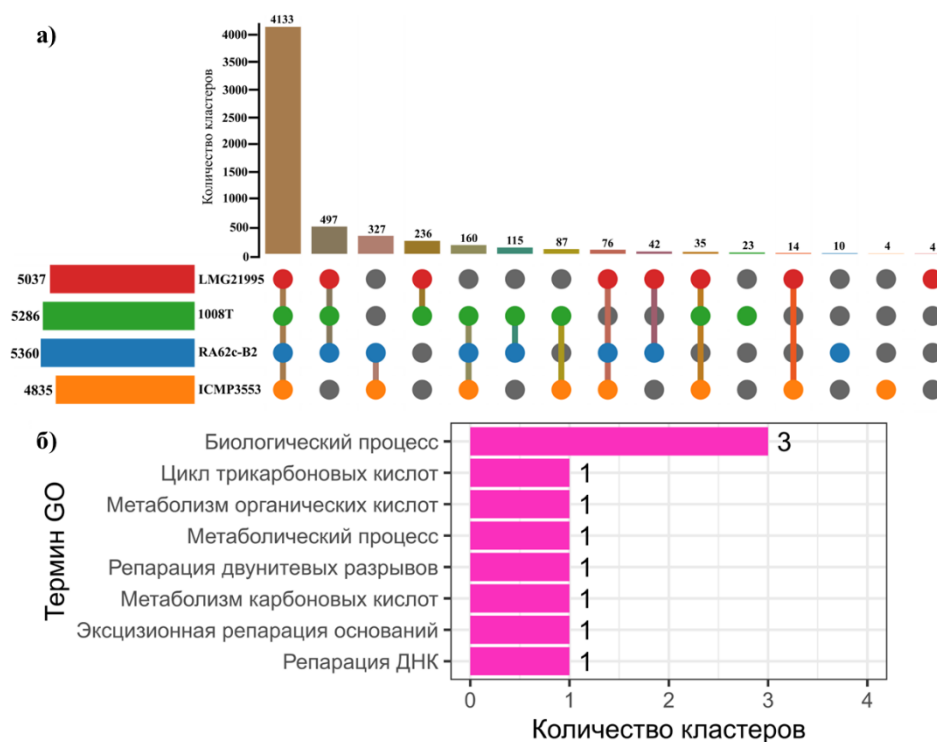


Рисунок 22 – Сравнение генома штамма *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 с наиболее близкими видами рода *Pseudomonas*. График UpSet бактериальных штаммов *P. marginalis* RA62c-B2, *P. marginalis* ICMP 3553, *P. pergaminensis* 1008T и *P. lurida* LMG 21995, построенная с использованием программы OrthoVenn3 (а); классификация уникальных кластеров *P. marginalis* RA62c-B2 согласно номенклатуре генной онтологии (Gene ontology, GO) (б).

3.5.3 Гены *P. marginalis* RA62c-B2, ассоциированные со стимуляцией роста растений

В геноме *P. marginalis* RA62c-B2 был обнаружен ряд ГАСР. Используя PGPT-Pred PlaBase, было обнаружено, что 31 % ГАСР относились к прямым механизмам стимуляции роста растений и включали 10 % генов, связанных с

синтезом фитогормонов, 13 % с повышением биодоступности питательных веществ, 8 % биоремедиацией. Гены, косвенно связанные со стимуляцией роста растений, составляли 69 % из всех обнаруженных с помощью PGPT-Pred, при этом 26% были связаны с колонизацией растительных систем, 20 % с контролем биотических и абиотических стрессов, 22 % с конкурентным вытеснением и 1 % со стимуляцией иммунного ответа растений (Рисунок 23).

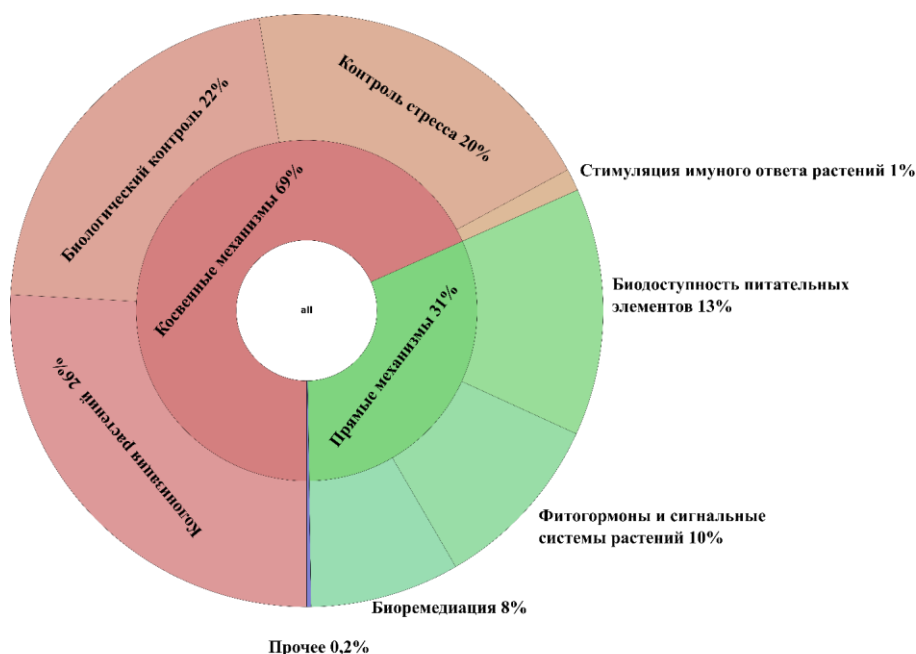


Рисунок 23 – Геномная характеристика *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 на основе анализа PGPT-Pred PlaBase.

Особенно интересными являются гены, отвечающие за биосинтез ИУК. В геноме RA62c-B2 *P. marginalis* они были представлены генами IAM пути *iaaM* (триптофан-2-моноксигеназа) и *iaaH* (индол-3-ацетил-аспарагиновая гидролаза) (Таблица 10), также были обнаружены гены биосинтеза цитокининов (*BacCYPs*, *miaAB*, *fni* и *ispDEFU*). Дополнительно были обнаружены гены, отвечающие за повышение биодоступности питательных элементов, а именно P (*phoU* и *pstABCS*), K (*kdpABCDE*, *kup*, *kefCF*, *nhaP*, *chaA*, *mrpD* и *trkAH*), S (*cysAWTPNDHJIB*, *sfnG*, *iscSRUA*, *hscAB*, *fdx*, *iscX*, *dsrEF*, *sseA* и *ssuABCDE*), Fe (*fpvA*, *fhuA*, *fpuC* и *cntO*) и N (*glnA*, *napA* и *nasD*) (Таблица 10). Так же гены биосинтеза органических кислот, таких как глюкановая кислота (*pqqABCDE* и

gcd), фумаровая кислота (*aspA* и *fumAC*), янтарная кислота (*sucCD*) (Таблица 10). Помимо этого, были обнаружены гены, способствующие устойчивости растений к осмотическому (*betABIT*, *opuAA*, *opuAB* и *prop*) и окислительному (*katBE*, *sodB*, *ahpCF*, *msrAB* и *gshAB*) стрессу, а также гены деградации ксилола (*xyLABFGHR*) и катехольного пути (*pcaGHBKRF*) (Таблица 10).

Таблица 10 – Гены ассоциированные со стимуляцией роста растений *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2.

Функция	Гены
Биосинтез ИУК	<i>iaaM</i> и <i>iaaH</i>
Биосинтез цитокининов	<i>BacCYPs</i> , <i>PpnN</i> , <i>miaAB</i> , <i>dxr</i> , <i>fni</i> и <i>ispDEFU</i>
Биосинтез органических кислот	<i>pqqABCDE</i> , <i>gcd</i> , <i>aspA</i> , <i>fumAC</i> , <i>sucCD</i> и <i>pta</i>
Метаболизм N	<i>glnA</i> , <i>napA</i> и <i>nasD</i>
Мобилизация P	<i>phoU</i> и <i>pstABCS</i>
Мобилизация K	<i>kdpABCDE</i> , <i>kup</i> , <i>kefCF</i> , <i>nhaP</i> , <i>chaA</i> , <i>mrpD</i> и <i>trkAH</i>
Ассимиляция Fe	<i>fprA</i> , <i>fhuA</i> , <i>fpuC</i> и <i>cntO</i>
Метаболизм S	<i>cysAWTPNDHJIB</i> , <i>sfnG</i> , <i>iscSRUA</i> , <i>hscAB</i> , <i>fdx</i> , <i>iscX</i> , <i>dsrEF</i> , <i>sseA</i> и <i>ssuABCDE</i>
Устойчивость к осмотическому стрессу	<i>betABIT</i> , <i>opuAA</i> , <i>opuAB</i> и <i>prop</i>
Устойчивость к окислительному стрессу	<i>katBE</i> , <i>sodB</i> , <i>ahpCF</i> , <i>msrAB</i> и <i>gshAB</i>
Биоремедиация	<i>antABC</i> , <i>pcaGHBKRF</i> , <i>hcaB</i> и <i>xyLABFGHR</i>

3.5.4 Фенотипическое проявление свойств *P. marginalis* RA62c-B2, способствующее стимуляции роста растений

Как ранее описано (Таблица 3), используя диагностические питательные среды, было установлено, что штамм *P. marginalis* RA62c-B2 способен к росту на питательной среде Эшби, что указывает на его потенциальную способность к фиксации N (Рисунок 24а), а также наличие прозрачного ореола вокруг колонии на среде Пиковской и Александровского указывает на способность к растворению

неорганических соединений фосфора и калия (Рисунок 24б,в). Наличие ореола желтого цвета указывает на способность к окислению S (Рисунок 16г). Кроме того, анализ методом ВЭЖХ-МС выявил метаболиты триптофана индол-3-ацетоальдегид и индол-3-карбоксальдегида (Рисунок 24д, е). Помимо этого, в экстракте бактериальной культуры *P. marginalis* RA62с-B2 были обнаружены два цитокинина – *транс*-зеатин и N⁶- изопентениладенин (Рисунок 24ё, ж).

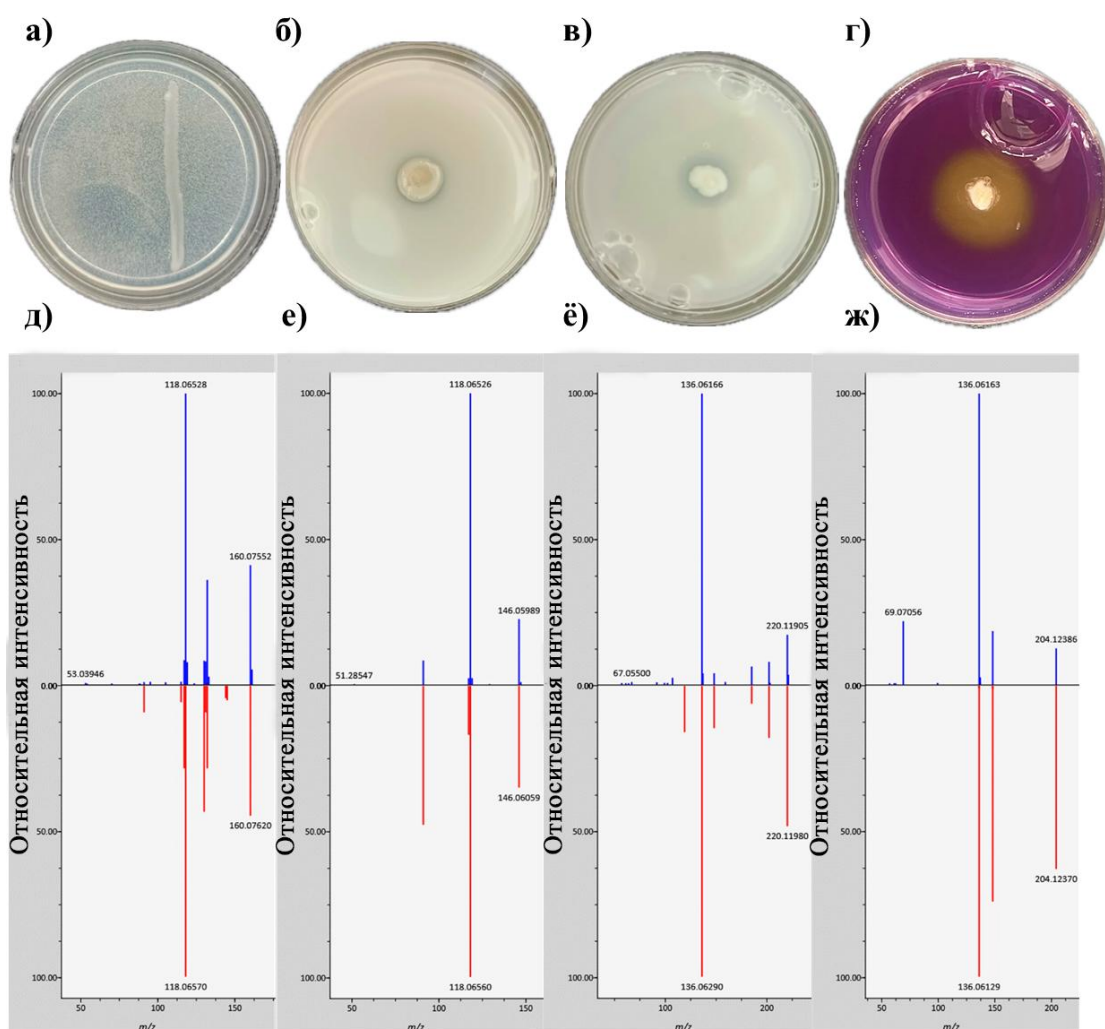


Рисунок 24 – Рост *Pseudomonas marginalis* RA62с-B2 на диагностических средах, подтверждающий способность к фиксации N (а), мобилизации Р (б), мобилизации К (в), окисления S (г); масс-спектр индол-3-ацетоальдегида (д), масс-спектр индол-3-карбоксальдегида (е), масс-спектр *транс*-зеатина (ё), масс-спектр N⁶- изопентениладенина (ж). Данные масс-спектрометрии представлены в

относительной интенсивности (масса/заряд). Спектры, извлечённые из экстракта обозначены синим цветом, эталонные масс спектры красным.

3.6 Характеристика штамма *Pantoea* sp. P7SCH-B5

3.6.1 Филогенетическая идентификация штамма *Pantoea* sp. P7SCH-B5

Филогенетический анализ штамма *Pantoea* sp. P7SCH-B5 выявил его наибольшее генетическое сходство со штаммом *Pantoea agglomerans* NBRC102470 (Рисунок 25а). Анализ, основанный на методах ANI и dDDH, с использованием шести наиболее близких видов, показал, что P7SCH-B5 имеет наибольшее сходство 98,65 % ANI, (Рисунок 25б) и 88,6 % dDDH (Таблица 11), с *P. agglomerans* NBRC 102470. На основании филогенетического анализа и показателей ANI и dDDH, установлено, что P7SCH-B5 принадлежит к *P. agglomerans*.

Таблица 11. Сравнение *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5 с представителями рода *Pantoea*, выполненное при помощи dDDH.

Штамм	dDDH (%)
<i>P. agglomerans</i> NBRC102470	88,6
<i>P. pleuroti</i> JZB2120015	79,2
<i>P. varia</i> OV426	46,7
<i>P. rara</i> WMus005	43,1
<i>P. hericii</i> JZB 2120024T	42,7
<i>P. eucalypti</i> LMG 24197	41,5

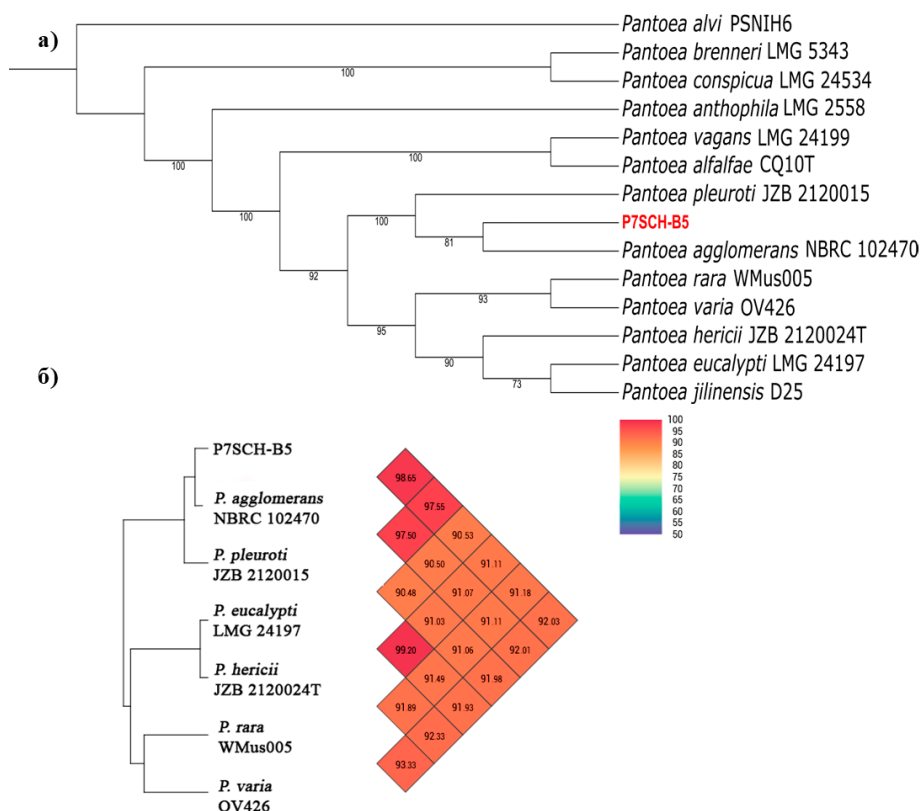


Рисунок 25 – Филогенетическое дерево, построенное на основе расстояний Genome BLAST Distance Phylogeny (GBDP) с помощью FastME 2.1.6.1 (а); анализ ортологичной средней нуклеотидной идентичности штамма P7SCH-B52, определенный с помощью инструмента Orthologous Average Nucleotide Identity Tool (б).

3.6.2 Особенности генома *P. agglomerans* P7SCH-B5 и сравнение генетических характеристик

Установлено, что геном *P. agglomerans* P7SCH-B5 имеет длину 5.011.104 п.н., объединённых в 166 скаффолдов со средним содержанием ГЦ 60,6 % и содержит 4989 белок-кодирующих последовательностей, 75 генов тРНК, 10 рРНК и 5 сайтов, кодирующих последовательности профагов (Таблица 12, Рисунок 26). Анализ полноты и чистоты генома показал, что геном P7SCH-B5 имеет 100 % полноту и уровень контаминации в 0,36 %.

Таблица 12 – Геномные характеристики *P. agglomerans* P7SCH-B5 и родственных представителей рода *Pantoea*.

	P7SCH-B5	NBRC 102470	JZB 2120015
Номер доступа GeneBank	-	GCA_001598475.1	GCA_014156615.1
Размер генома (п.н.)	5.011.104	4.652.040	4.883.800
Содержание Г+Ц (мол. %)	55,1	55	60
Количество скафолдов	166	25	37
Количество белок кодирующих генов	4.989	4.210	4.446
тРНК	75	66	65
рРНК	10	10	6
Количество последовательностей профагов	5	1	3

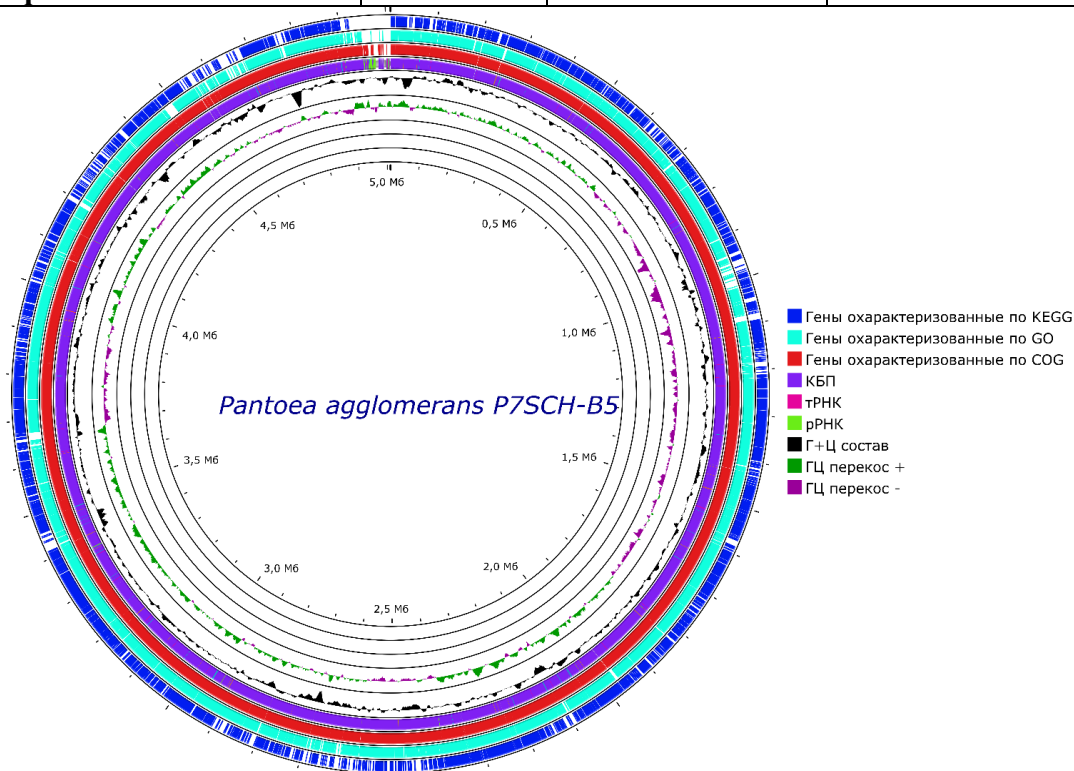


Рисунок 26 – Круговая карта хромосомы штамма *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5. По направлению снаружи внутрь: первое, второе и третье кольцо отражают распределение генов, охарактеризованных по номенклатурам Киотской энциклопедии генов и геномов (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG), генной онтологии (Gene ontology, GO), групп ортоголичных генов (Cluster of Orthologous Genes, COG) соответственно; четвёртое отражает распределение белок кодирующих последовательностей (БКП), предсказанных с помощью bakta; пятое

кольцо гистограмма Г+Ц состава; шестое кольцо Г+Ц перекос (зелёный – Г %>Ц %, фиолетовый – Г %<Ц %); внутреннее кольцо отражает размер генома.

В ходе функционального аннотирования генома штамма *P. agglomerans* P7SCH-B5 с использованием номенклатуры COG была охарактеризована большая часть выявленных генов (4.897), что соответствует 98,1 % от общего числа обнаруженных генов (Рисунок 27). Значительную долю среди аннотированных генов составили последовательности с неустановленной функцией (1.294 гена) (Рисунок 27). Среди генов с определённой функциональной принадлежностью наиболее представленными являются категории транскрипция (437 генов), транспорт и метаболизм аминокислот (391 ген), транспорт и метаболизм углеводов (362 гена) и механизмы передачи сигналов (276 генов) (Рисунок 27).



Рисунок 27 – Распределение генов штамма *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5 согласно номенклатуре групп ортоголичных генов (Cluster of Orthologous Genes, COG).

По данным аннотирования с использованием базы данных KEGG, функциональную охарактеризовано 4.156 генов, распределённых по 256 категориям. Обнаружено, что наиболее представленными категориями являются метаболические пути (875 генов), биосинтез вторичных метаболитов (377 генов), микробный метаболизм в различных средах (264 гена), ABC-транспортёры (242 гена) и двухкомпонентная система (152 гена) (Рисунок 28).

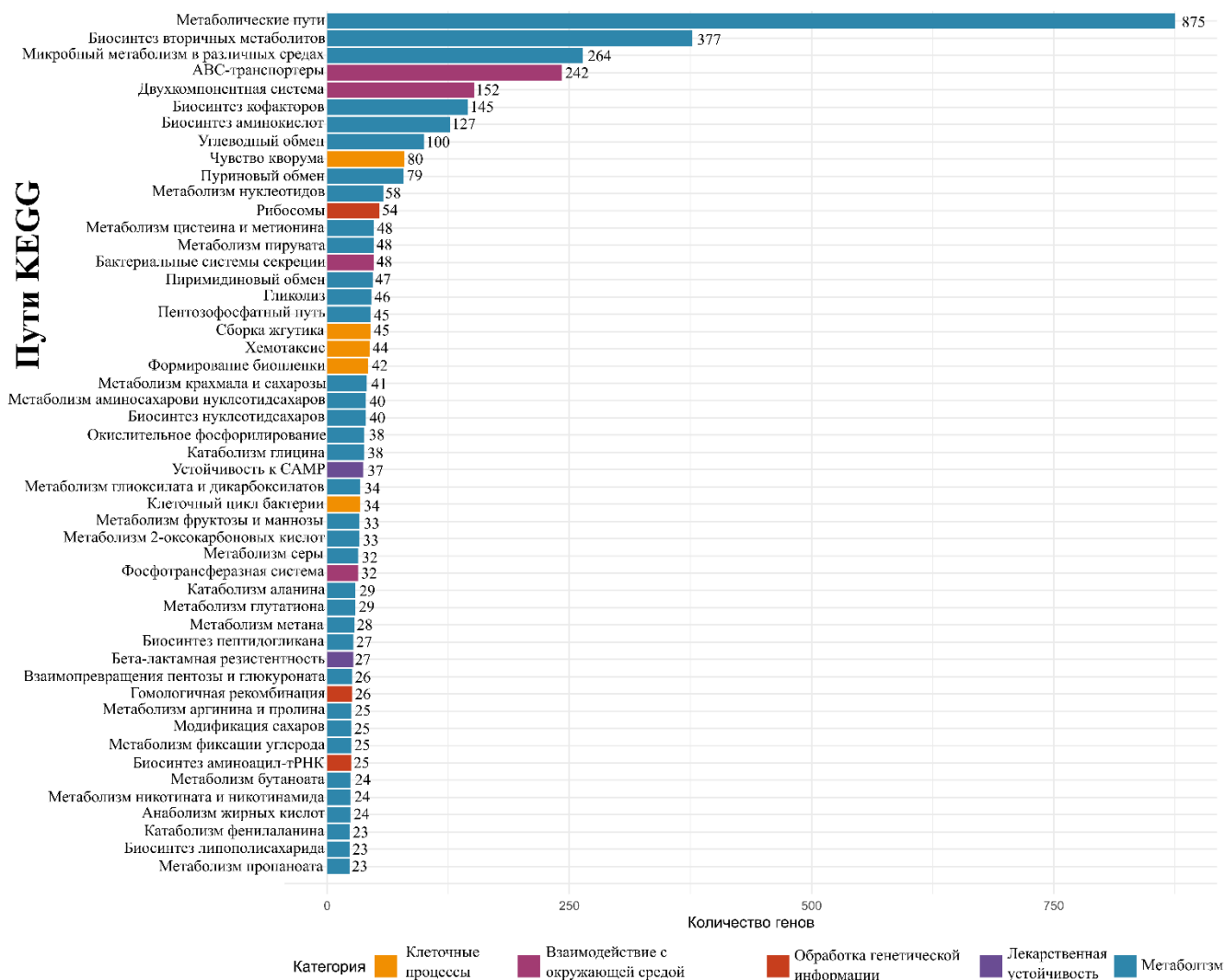


Рисунок 28 – Распределение 50 наиболее встречаемых категорий генов штамма *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5 согласно номенклатуре Киотской энциклопедии генов и геномов (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG).

Аннотирование генома *P. agglomerans* P7SCH-B5 с использованием номенклатуры GO, охарактеризовало 3.720 генов. Распределение по подноменклатурам демонстрирует, что доминирующими терминами являются

транскрипция ДНК (340 гена), плазматическая мембрана (799 генов) и связывание АТФ (466 генов) (Рисунок 29).

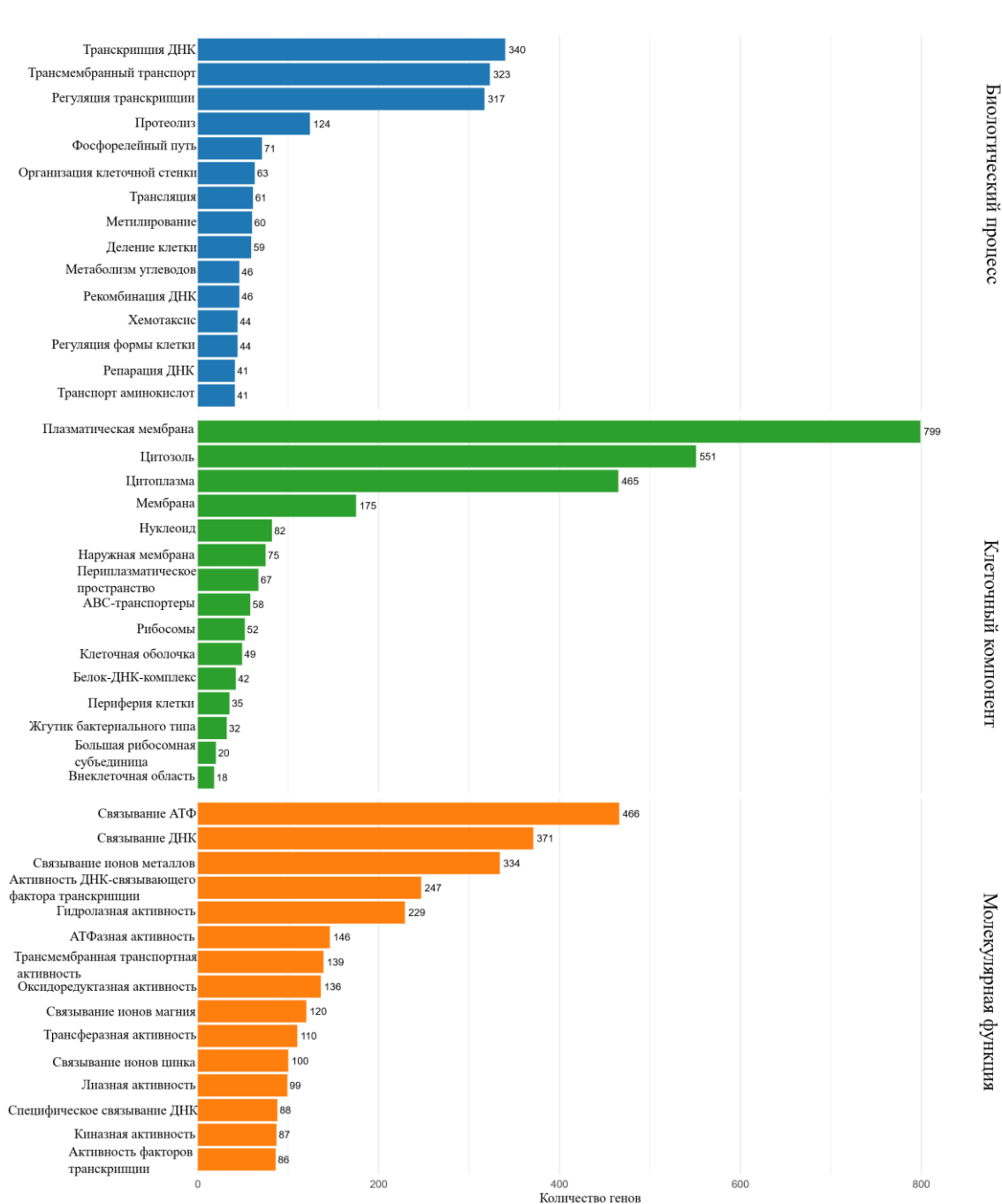


Рисунок 29 – Распределение генов штамма *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5 по 15 наиболее встречаемым терминам согласно подноменклатурам генной онтологии (Gene ontology, GO).

Сравнительный анализ белковых кластеров трёх штаммов рода *Pantoea* показал, что у данных штаммов имеются 3.808 общих белковых кластеров

(Рисунок 30а). Наибольшее число общих кластеров у *P. agglomerans* P7SCH-B5 было с *P. agglomerans* NBRC 102470 и составляло 3.959 кластера. Также P7SCH-B5 имел 50 уникальных белковых кластеров (Рисунок 30а). Характеристика уникальных кластеров по базе данных GO показала, что наибольшая часть кластеров относится к оксидоредуктазой активности и связыванию нуклеиновых кислот (Рисунок 30б).

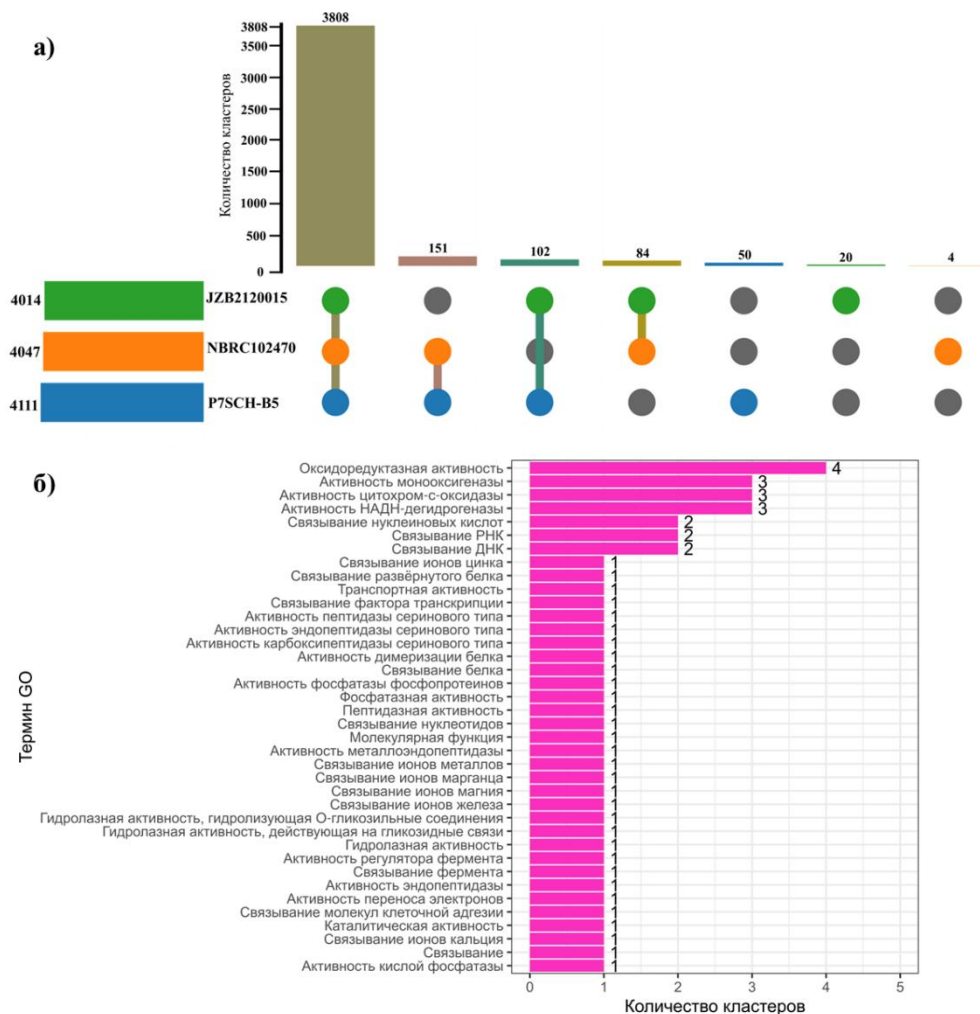


Рисунок 30 – Сравнение генома штамма *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5 с наиболее близкими видами рода *Pantoea*. График UpSet бактериальных штаммов *P. agglomerans* P7SCH-B5, *P. agglomerans* NBRC 102470 и *P. pleuroti* JZB 2120015, построенная с использованием программы OrthoVenn3 (а); классификация уникальных кластеров *P. agglomerans* P7SCH-B5 согласно номенклатуре генной онтологии (Gene ontology, GO) (б).

3.6.3 Гены *P. agglomerans* P7SCH-B5, ассоциированные со стимуляцией роста растений

В геноме *P. agglomerans* P7SCH-B5 был обнаружен ряд ГАСР. Используя PGPT-Pred PlaBase, было обнаружено, что 28 % ГАСР относились к прямым механизмам стимуляции роста растений и включали 9 % генов, связанных с синтезом фитогормонов, 12 % с повышением биодоступности питательных веществ, 7 % биоремедиацией. Гены, косвенно связанные со стимуляцией роста растений, составляли 72 % из всех обнаруженных с помощью PGPT-Pred, при этом 28 % были связаны с колонизацией растительных систем, 20 % с контролем биотических и абиотических стрессов, 23 % с конкурентным вытеснением и 1 % со стимуляцией иммунного ответа растений (Рисунок 31).



Рисунок 31 – Геномная характеристика на основе анализа PGPT-Pred. В результате анализа PGPT-Pred PlaBase в геноме *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5.

Выявлено, что геном P7SCH-B5 содержит гены двух путей биосинтеза ИУК, а именно IAM (*iaaH*) и IPyA (*ipdC*). Дополнительно гены повышения биодоступности питательных элементов, устойчивости к осмотическому и окислительному стрессу, а также гены биоремедиации (Таблица 13).

Таблица 13 – Гены *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5, ассоциированные со стимуляцией роста растений.

Функция	Гены
Биосинтез ИУК	<i>aroFGH</i> , <i>ipdC</i> и <i>iaaH</i>
Биосинтез цитокининов	<i>BacCYPs</i> , <i>miaAB</i> , <i>dxr</i> , <i>ipt</i> , <i>ispDE</i>
Биосинтез органических кислот	<i>pqqABCDE</i> , <i>gcd</i> , <i>pta</i> , <i>ackA</i> , <i>pflB</i> , <i>aspA</i> , <i>fumAC</i> и <i>sucCD</i>
Метаболизм N	<i>glnA</i> , <i>gltDEK</i> и <i>narAGHIJ</i>
Мобилизация P	<i>phoBR</i> и <i>pstABC</i>
Мобилизация K	<i>kdpABCDE</i> , <i>kup</i> , <i>trkAH</i> , <i>kefCF</i> , <i>nhaP</i> , <i>cvrA</i> и <i>chaA</i>
Ассимиляция Fe	<i>fepABCDG</i> , <i>fhuABCDE</i> и <i>entABCEF</i>
Метаболизм S	<i>cysAPTWDNCHIKME</i> , <i>msuD</i> , <i>sfnG</i> , <i>tauABD</i> , <i>tusABCDE</i> и <i>ssuABCDE</i>
Устойчивость к осмотическому стрессу	<i>betABIT</i> , <i>proVWX</i> и <i>otsAB</i>
Устойчивость к окислительному стрессу	<i>ahpCF</i> , <i>katEG</i> , <i>trxAB</i> и <i>sodAC</i>
Биоремедиация	<i>atzEF</i> , <i>hcaBDR</i> и <i>xylABFGHR</i>

3.6.4 Фенотипическое проявление свойств *P. agglomerans* P7SCH-B5, способствующее стимуляции роста растений

Используя диагностические питательные среды, было установлено, что штамм *P. agglomerans* P7SCH-B5 способен к росту на питательной среде Эшби (Таблица 3), что указывает на его потенциальную способность к фиксации N (Рисунок 32а). Наличие прозрачного ореола вокруг колонии на среде Пиковской и Александровского указывает на способность P7SCH-B5 к растворению неорганических соединений P и K (Рисунок 32 б, в). Наличие ореола желтого цвета указывает на способность к окислению S (Рисунок 20г). Кроме того, анализ экстракта *P. agglomerans* P7SCH-B5 методом ВЭЖХ-МС выявил метаболиты триптофана индол-3-ацетоальдегид и индол-3-карбоновую кислоту (Рисунок 32 д, е), а также цитокинин – N⁶- изопентениладенин (Рисунок 32 ё).

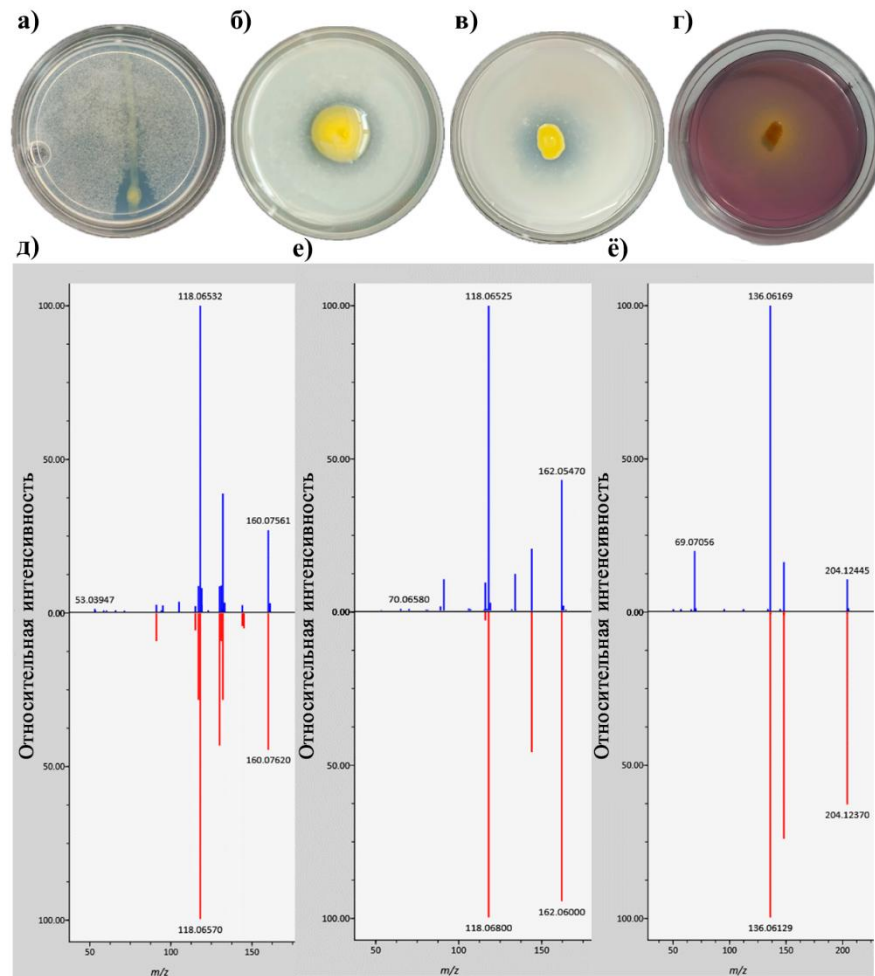


Рисунок 32 – Рост *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5 на диагностических средах, подтверждающий способность к фиксации N (а), мобилизации Р (б), мобилизации К (в), окислению S (г); масс-спектр индол-3-ацетоальдегида (д), масс-спектр индол-3-карбоновой кислоты (е), масс-спектр N⁶-изопентениладенина (ё). Данные масс-спектрометрии представлены в относительной интенсивности (масса/заряд). Спектры, извлечённые из экстракта обозначены синим цветом, эталонные масс спектры красным.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение бактериального сообщества *V. amurensis* представляет особый интерес, поскольку данный вид обладает уникальными адаптивными свойствами, включая исключительную холодоустойчивость позволяющую переносить температуры до - 40 °С, а также устойчивость к ряду опасных заболеваний винограда, таких как мучнистая роса, белая гниль и антракноз (Wu *et al.*, 2010; Liu, Li, 2013). Эти особенности делают *V. amurensis* ценным объектом для поиска и изучения полезных микроорганизмов.

Относительно недавно появились данные о таксономической структуре и составе бактериального сообщества *V. amurensis* (Aleynova, Nityagovsky, Kiselev, 2021; Aleynova *et al.*, 2022a, 2023a, 2023b), а также данные о влиянии эндофитных бактерий на синтез стильбенов в культурах клеток *V. amurensis* (Aleynova *et al.*, 2021). Помимо этого, описан штамм *Bacillus velezensis* AMR25, обладающий антагонистической активностью против ряда фитопатогенов (Ananov *et al.*, 2024). В ходе данной работы были дополнены данные о свойствах штамма, показано, что AMR25 потенциально способен увеличивать биодоступность питательных элементов таких как N и P, а также синтезировать ИУК (Таблица 3).

В ходе исследования из тканей визуально здоровых лиан *V. amurensis* было выделено 104 эндофитных бактериальных изолята. Скрининг на наличие ключевых механизмов, ассоциированных с ростостимулирующими свойствами, такими как фиксация N, мобилизация P и K, окисление S и синтез ИУК выявил ряд перспективных бактериальных изолятов (Рисунок 1).

Наиболее часто встречающейся способностью среди выделенных изолятов оказалась фиксация атмосферного N₂, хотя для окончательного подтверждения требуется анализ активности нитрогеназы и наличие *nif*-оперона (Sepp *et al.*, 2023; Shi *et al.*, 2023). Частота встречаемости азотофиксирующих бактерий среди изолятов, выделенных из *V. amurensis*, находится в диапазоне, сопоставимом с показателями ранее описанными для других дикорастущих видов растений и составляет около 30–50 % от общего числа изолятов (Mukherjee *et al.*, 2017; Tian *et al.*, 2023; Fei *et al.*, 2025). Высокая доля изолятов, потенциально способных к

фиксации атмосферного N_2 , может отражать адаптацию *V. amurensis* к произрастанию на склонах холмов и вдоль оврагов, где почвы часто характеризуются низким содержанием доступного N (Chen, Ching, 1924). Способность к солюбилизации неорганических фосфатов была выявлена у 25 % изолятов (Рисунок 1б), что является более низким показателем чем в других исследованиях, где такую активность проявляли около 59-90 % эндофитных микроорганизмов, выделенных из растений кактусов, клубники, подсолнечника и сои (Forchetti *et al.*, 2007; Puente, Li, Bashan, 2009; Mei *et al.*, 2021; Moura de *et al.*, 2022; Silvestrini *et al.*, 2023). Способность к мобилизации калия встречалась реже около 8 % от общего числа (Рисунок 1б). Более низкая частота встречаемости калий мобилизующих бактерий по сравнению с фосфат-солюбилизирующими является общей закономерностью для растений (Ahmad *et al.*, 2016; Gao, Xu, Uwiringiyimana, 2025). Способность к окислению серы, обычно описывается для свободно живущих хемолитотрофных бактерий, каких как *Acidithiobacillus* (Wang *et al.*, 2019; Ibáñez *et al.*, 2023). Полученные нами данные расширяют представления о распространённости этого свойства среди эндофитных бактерий.

Способность к синтезу ИУК была выявлена у 9 бактериальных изолятов *V. amurensis* (Рисунок 1б), частота встречаемости продуцентов ауксинов варьируется в широком диапазоне в зависимости от условий выделения, состава питательной среды и метода детекции (Khianngam *et al.*, 2023; Devi *et al.*, 2025; Meza *et al.*, 2025). Низкая частота встречаемости продуцентов ауксинов может объясняться выбранными условиями выделения эндофитных бактерий. Тем не менее, важно отметить, что выявленные продуценты ауксинов принадлежат к родам, ранее охарактеризованным как продуценты ауксинов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Curtobacterium*, *Xanthomonas*, *Gordonia* и *Sphingomonas* (Kutáček, Rovenská, 1991; Iqbal, Hasnain, 2013; Ahmad *et al.*, 2014; Kayasth, Kumar, Gera, 2014; Mayer, Dörr de Quadros, Fulthorpe, 2019; Wagi, Ahmed, 2019; Luziatelli *et al.*, 2020; Batista *et al.*, 2021; Park *et al.*, 2021; Schillaci *et al.*, 2022; Mazoyon *et al.*, 2023; Melini *et al.*, 2023; Rangel *et al.*, 2025).

Другим из ключевых фактором, определяющих эффективность применения микроорганизмов в качестве стимуляторов роста, является их способность к колонизации растения-хозяина. Способность к колонизации штаммов оценивалась с помощью метабаркодирования V3-V4 региона 16S рРНК и количественным ПЦР-РВ на модельном растении *A. thaliana*. Из 9 исследуемых штаммов 7 успешно колонизировали растения, о чём свидетельствует значительное увеличение числа ASV, соответствующих родам бактериальных штаммов (Рисунок 2). Важно отметить, что *G. aichiensis* P6PL2 так же продемонстрировал способность к колонизации (увеличение числа ASV в 240 раз) (Рисунок 2). Насколько нам известно, это одно из первых сообщений о эффективной колонизации *A. thaliana* представителем рода *Gordonia*. Ранее сообщалось что *G. terrae* KMP456-M40 колонизировала корни риса (Soldan *et al.*, 2019).

Интереса заслуживает тот факт, что штаммы *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5 и *Erwinia* sp. R8SCH-B3 не смогли колонизировать *A. thaliana* (Рисунок 2,3в). Известно, что *P. agglomerans* широко распространена как эндофит многих растений, включая рис, пшеницу, цитрусовые и др. (Feng *et al.*, 2003; Andreote *et al.*, 2008; Quesne *et al.*, 2012; Cherif-Silini *et al.*, 2019). Однако колонизация *A. thaliana* этим видом может быть ограничена, что может быть обусловлена генотипом исследуемого растения (Müller *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2017). Что касается *Erwinia* sp. R8SCH-B3, многие представители данного рода являются фитопатогенами (Eastgate, 2000; Piqué *et al.*, 2015; Ramachandran, Manaf, Zakaria, 2015; Tao *et al.*, 2023) и их способность к колонизации растений может быть ограничена механизмами иммунитета растений.

Инокуляция штаммами *Agrobacterium* sp. R8SCH-B12, *Curtobacterium* sp. P7SA-B3 и *G. aichiensis* P6PL2 привела к значительному снижению альфа-разнообразия микробиома *A. thaliana* (Рисунок 3,4). В микробиоме *A. thaliana* инокуляция бактериальными штаммами приводила к снижению ASV родов *Penicillium* и *Naganishia* и увеличению относительной представленности рода *Fusarium* (Рисунок 4в). Поскольку представители рода *Fusarium* часто являются

фитопатогенами (Arie, 2019; Вессари, Нео, Liu, 2022; Stępień, 2023), увеличение их численности может быть нежелательным эффектом, требующим дальнейшего изучения. Однако отсутствие видимых симптомов заболевания, позволяет предположить, что увеличение численности *Fusarium* не достигало патогенного уровня.

Важно отметить, что способность к колонизации растений не всегда коррелирует с положительным влиянием на его рост. Так на начальном этапе развития все исследуемые штаммы вызывали замедление роста гипокотилия и корня *A. thaliana*. Длина гипокотилия уменьшалась в 1,1 - 2,9 раза, а длина корня в 8-9 раз по сравнению с контрольными растениями (Рисунок 5). Однако после пересадки проростков в горшки к 30-дню развития у растений, инокулированных *G. aichiensis* P6PL2 и *Sphingomonas* sp. RA62c-B5, диаметр розетки *A. thaliana* увеличивался в 1,2-1,4 раза, а свежая и сухая биомасса увеличивалась в 1,5-1,8 раз выше, чем у контроля (Рисунок 5). Подобное явление можно объяснить высокой бактериальной нагрузкой, которую растение воспринимает как стрессовый фактор, что приводит к активации защитных реакций и временному торможению роста (Wang, Wang, 2014; Liu et al., 2025). Также некоторые ауксин-продуцирующие бактерии могут ингибировать развитие корней за счёт высокой продукции ИУК (Glick, 2012).

В отличие от *A. thaliana*, инокуляция *O. sativa* штаммами *G. aichiensis* P6PL2, *P. marginalis* RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCH-B5 не вызывала значительного замедления роста на начальных этапах. На 7-й день после инокуляции *G. aichiensis* P6PL2 привела к увеличению длины коря на 12,9 %, а *P. marginalis* RA62c-B2 на 10 % (Рисунок 7в). К 30-му дню положительный эффект усилился: длина стебля увеличивалась на 7,5-25,5 %, длина корня на 12,9 %-24,1 %, сухая масса стебля на 18-44,2 %, сухая масса корня на 37-63,8 % (Рисунок 8). Наиболее выраженный эффект показал штамм *P. marginalis* RA62c-B2, увеличивающий сухую массу корней на 63,8 % и сухую массу стеблей на 44,2 % (Рисунок 8в, г). Полученные результаты сопоставимы с данными, полученными с

использование других эндофитных бактерий (Tu *et al.*, 2024; Alghamdi *et al.*, 2025) и превосходят некоторые почвенные бактерии (Wang *et al.*, 2025).

Различия в морфометрических показателях *A. thaliana* и *O. sativa* на инокуляцию бактериальными штаммами *V. amurensis* могут быть связаны с несколькими факторами. Во-первых, принадлежность к разным семействам, а именно *A. thaliana* относится к крестоцветным с принципиально иной физиологией и механизмом иммунитета по сравнению со злаками (Hudson *et al.*, 2024). Во-вторых – это условия инокуляции семян и проращивания проростков: культивирование семян *A. thaliana* на питательной среде MS совместно с бактериальными штаммами *V. amurensis*, вероятно, усиливало стресс от бактериальной нагрузки.

Исследование полных геномов *G. aichiensis* P6PL2, *P. marginalis* RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCH-B5 показало наличие множества генов, отвечающих за их ростостимулирующий потенциал. Для каждого штамма была собрана и аннотирована геномная последовательность, а также проведён филогенетический анализ, дополненный данными о ANI и dDDH, что позволило точно определить их таксономическое положение (Рисунок 9, 17, 25).

Геномные последовательности штаммов содержали гены биосинтеза фитогормонов, в том числе ауксинов у *G. aichiensis* P6PL2 (*trpABCDE* и *aldAB*), *P. marginalis* RA62c-B2 (*iaaM* и *iaaH*) и *P. agglomerans* P7SCH-B5 (*aroFGH*, *ipdC* и *iaaH*) (Таблица 7,10,13). Это хорошо согласуется с результатами первичного скрининга (Таблица 3). Однако данные ВЭЖХ-МС подтвердили наличие ауксина только у *G. aichiensis* P6PL2, а также его предшественника индол-3-ацетоальдегида (Рисунок 16д, е), что указывает на реализацию биосинтеза ИУК по IAAlc пути (McClerklin *et al.*, 2018). Положительный результат синтеза ИУК, полученный при первичном скрининге (Таблица 3), может быть обусловлен присутствием у *P. marginalis* RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCH-B5 других продуктов метаболизма триптофана (Рисунок 24, 32), а также недостаточной специфичностью метода Сальковского для определения наличия ауксинов (Guardado-Fierros *et al.*, 2024). Способность к синтезу ауксинов ранее была

показана у многих бактериальных родов, включая *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rahnella* и др. (García-Tabares *et al.*, 1987; Molina *et al.*, 2018; Karmakar *et al.*, 2021; Chang *et al.*, 2024). В то же время сведения о продукции ауксинов представителями рода *Gordonia* крайне ограничены и единственным известным сообщением является описание *Gordonia* sp. JPA2, обладающего способностью синтезировать ИУК и стимулировать рост просо *Cenchrus americanus* (Kayasth, Kumar, Gera, 2014).

Кроме того, геномы исследуемых штаммов бактерий содержали гены, ответственные за биосинтез цитокининов – *G. aichiensis* P6PL2 содержал гены *ipt*, *BacCYPs*, *miaB*, *hflX*, *yvdD* и *dapF*, *P. marginalis* RA62c-B2 – гены *BacCYPs*, *PpnN*, *miaAB*, *dxr*, *ipt*, *fni* и *ispDEFU* и *P. agglomerans* P7SCH-B5 – гены *BacCYPs*, *miaAB*, *dxr*, *ipt*, *ispDE* (Таблица 7,10,13). Способность к биосинтезу цитокининов бактериальными штаммами *V. amurensis* была подтверждена результатами ВЭЖХ-МС: экстракты *G. aichiensis* P6PL2 и *P. marginalis* RA62c-B2 содержали *транс*-зеатина и *P. marginalis* RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCH-B5 содержали N⁶- изопентениладенин (Рисунок 16, 24, 32). Предположительно, биосинтез цитокининов у всех штаммов осуществляется по пути *de novo* из свободных нуклеотидов, поскольку выявленные наборы генов у исследуемых штаммов недостаточны для синтеза через распад тРНК (Таблица 7,10,13) (Frébortová, Frébort, 2021). Это подтверждается наличием всех исследуемых штаммов генов изопентенилтрансферазы (*ipt*) и цитохрома P450 (*BacCYPs*) (Таблица 7,10,13). Однако гены семейства LOG, отвечающие за финальный этап биосинтеза цитокининов, были обнаружены только у штаммов *G. aichiensis* P6PL2 (*yvdD*) и *P. marginalis* RA62c-B2 (*PpnN*) (Таблица 7,10). Несмотря на отсутствие данного гена у *P. agglomerans* P7SCH-B5, наличие цитокинина в культуральном экстракте указывает на способность данного штамма к синтезу цитокининов (Рисунок 24). Способность синтезировать цитокинины ранее описана у представителей родов *Pseudomonas* и *Pantoea* (Großkinsky *et al.*, 2016; Frébortová, Frébort, 2021), тогда как для рода *Gordonia* настоящее исследование является первым сообщением о синтезе цитокининов.

В геноме всех штаммов были обнаружены гены продукции органических кислот (Таблица 7,10,13), участвующих в растворении неорганических фосфатов, что коррелирует с данными первичного скрининга (Таблица 3, Рисунок 12,16,20). Однако, способность к солюбилизации К отсутствовала у штамма *G. aichiensis* P6PL2 (Таблица 3), несмотря на то что механизмы схожи с солюбилизацией фосфатов. Наличие генов метаболизма серы, так же не коррелировали с наличием способности к её окислению, поскольку в геноме *G. aichiensis* P6PL2 обнаружено множество генов метаболизма S (Таблица 7), но способность к окислению отсутствовала (Таблица 3).

Обратный результат обнаружен с генами метаболизма N, полный *nif*-оперон не обнаружен ни у одного из исследуемых бактериальных штаммов (Таблица 7,10,13), но в ходе экспериментов у этих трех исследуемых штаммов наблюдался рост на без азотной среды Эшби (Таблица 3). Отсутствие полного *nif*-оперона при росте на среде Эшби свидетельствует о реализации альтернативных механизмов ассимиляции азота. Стоит отметить, что у штамма *G. aichiensis* P6PL2 такой механизм, вероятно, базируется на восстановлении нитрата до аммония за счёт активности нитрат- и нитритредуктаз, что подтверждается наличием гена мембранной нитрат редуктазы (*narGHIJKL*) (Таблица 7) (Zhu *et al.*).

Также представляет интерес наличие у штаммов генов, связанных с устойчивостью к окислительному (*katBE*, *sodB*, *ahpCF*, *msrAB* и *gshAB*) и осмотическому (*betABIT*, *opuAA*, *opuAB* и *prop*) стрессам, а также генов, участвующих в процессах биоремедиации (Таблица 7,10,13). Способность повышать устойчивость к абиотическим стрессовым факторам ранее была описана для представителей исследуемых родов *Pseudomonas* и *Pantoea* (Cherif-Silini *et al.*, 2019; Abulfaraj, Jalal, 2021), а для рода *Gordonia* также характерно широкое распространение свойств, связанных с биоремедиацией (Kayasth, Kumar, Gera, 2014; Silva *et al.*, 2019; Lin *et al.*, 2024b). Наличие этих генов создаёт основу для дальнейших исследований, направленных на изучение влияния бактерий *G. aichiensis* P6PL2, *P. marginalis* RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCH-B5 в

повышении устойчивости растений к неблагоприятным условиям окружающей среды.

Таким образом, исследуемые штаммы бактерий винограда *V. amurensis* могут быть основой для создания биопрепаратов для стимуляции роста растений, за счет их молекулярно-биологических особенностей. На сегодняшний день, коммерчески биопрепараты на основе *P. agglomerans* уже активно применяются в практике защиты растений, в том числе препараты на основе штаммов C9-1 и E325 известных под торговыми названиями BlightBan C9-1 и Bloomtime, данные препараты используются для повышения устойчивости растений к различным патогенам (Canada. Pest Management Regulatory Agency, 2007; U.S. Environmental Protection Agency, 2009) Однако информации о коммерчески доступных биопрепаратах, основанных на *G. aichiensis* и *P. marginalis* нами не было обнаружено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведён комплексный скрининг ростостимулирующих свойств эндофитных бактерий *V. amurensis*, выделены и охарактеризованы штаммы *G. aichiensis* P6PL2, *P. marginalis* RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCH-B5, обладающие высоким ростостимулирующим потенциалом. Используя полногеномное секвенирование и масс-спектрометрию, выявлены генетические и метаболические факторы ростостимулирующих свойств, включая гены биосинтеза ауксинов и цитокининов, мобилизации питательных элементов, устойчивости к стрессам и биоремедиации. Показано, что инокуляция риса этими штаммами приводит к значительному увеличению длины и биомассы растений.

Наиболее перспективным бактериальным штаммом для увеличения роста риса является *P. marginalis* RA62c-B2, увеличивающий сухую массу корней и стеблей на 63,8 % и 44,2 % соответственно. Полученные результаты расширяют представление о функциональном потенциале бактериального сообщества *V. amurensis* и создают научную основу для разработки новых эффективных биопрепаратов на основе бактерий винограда для устойчивого растениеводства.

ВЫВОДЫ

1. Среди 104 проанализированных бактериальных изолятов дикорастущего винограда *V. amurensis* 9 штаммов: *Agrobacterium* sp. R8SCh-B12, *Bacillus velezensis* AMR25, *Curtobacterium* sp. P7SA-B3, *Gordonia* sp. P6PL2, *Pseudomonas* sp. RA62c-B2, *Sphingomonas* sp. RA62c-B5 и *Xanthomonas* sp. R7SCh-B6, обладают не менее чем двумя ростостимулирующими детерминантами, включая биосинтез ИУК.

2. Бактериальные штаммы винограда *Agrobacterium* sp. R8SCh-B12, *Bacillus velezensis* AMR25, *Curtobacterium* sp. P7SA-B3, *Gordonia* sp. P6PL2, *Pseudomonas* sp. RA62c-B2, *Sphingomonas* sp. RA62c-B5 и *Xanthomonas* sp. R7SCh-B6 успешно колонизируют модельное растение *A. thaliana*. При этом инокуляция штаммами *Agrobacterium* sp. R8SCh-B12, *Curtobacterium* sp. P7SA-B3 и *Gordonia* sp. P6PL2 достоверно снижает альфа-разнообразие бактериального сообщества *A. thaliana*.

3. Инокуляция семян *A. thaliana* штаммами *Gordonia* sp. P6PL2 и *Sphingomonas* sp. RA62c-B5 сопровождалась наиболее выраженным ростостимулирующим эффектом, при котором биомасса 30-дневных растений увеличилась 1,5-1,8 раза. Инокуляция *O. sativa* эндофитными бактериями *Gordonia* sp. P6PL2, *Pseudomonas* sp. RA62c-B2 и *Pantoea* sp. P7SCH-B5 достоверно увеличивает длину побегов и корней, а также накопление сухой биомассы риса. Наиболее выраженный ростостимулирующий эффект выявлен у штамма *Pseudomonas* sp. RA62c-B2, увеличившего сухую массу корней и стеблей на 63,8 % и 44,2 % соответственно.

4. Молекулярно-генетический анализ позволил установить видовую принадлежность штаммов P6PL2, RA62c-B2 и P7SCH-B5 как *Gordonia aichiensis*, *Pseudomonas marginalis* и *Pantoea agglomerans* соответственно. Выявлены генетические детерминанты, ответственные за ростостимулирующее действие штаммов *G. aichiensis*. P6PL2, *P. marginalis*. RA62c-B2 и *P. agglomerans* P7SCH-B5, обусловленные наличием генов биосинтеза цитокининов и мобилизацией элементов питания, таких как P и K. Так же в геноме *G. aichiensis* P6PL2

обнаружены гены биосинтеза ИУК по IAAld пути и ассимиляции N. С помощью ВЭЖХ-МС в экстрактах подтверждена продукция ауксинов (ИУК) и цитокининов (*транс*-зеатина и N⁶-изопентениладенина).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шайхутдинов Ф. Ш. Эффективность применения бактериальных удобрений Азотовит и Бактофосфин на серых лесных почвах Республики Татарстан / Ф. Ш. Шайхутдинов, И. М. Сержанов, Ш. Ш. Шайхразиев [и др.] // Вестник Ульяновской ГСХА. – 2013. – № 3 (23). – С. 29-34.
2. Aamir M. 12 - Fungal endophytes: Classification, diversity, ecological role, and their relevance in sustainable agriculture / M. Aamir, K.K. Rai, A. Zehra [et al.] // Microbial Endpoints: Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition / A. Kumar, V.K. Singh. – Woodhead Publishing, – 2020. – P. 291-323.
3. Abbas M.M. Efficacy of endophytic bacteria as promising inducers for enhancing the immune responses in tomato plants and managing Rhizoctonia root-rot disease / M.M. Abbas, W.H. Ismael, A.Y. Mahfouz [et al.] // Scientific Reports. – 2024. – Vol. 14. – № 1. – P. 1331.
4. Abdul Aziz M. Molecular breakthroughs in modern plant breeding techniques / M. Abdul Aziz, K. Masmoudi // Horticultural Plant Journal. – 2025. – Vol. 11. – № 1. – P. 15-41.
5. Abulfaraj A.A. Use of plant growth-promoting bacteria to enhance salinity stress in soybean (*Glycine max* L.) plants / A.A. Abulfaraj, R.S. Jalal // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2021. – Vol. 28. – № 7. – P. 3823-3834.
6. Admassie M. *In Vitro* Evaluation of Extracellular Enzyme Activity and Its Biocontrol Efficacy of Bacterial Isolates from Pepper Plants for the Management of *Phytophthora capsici* / M. Admassie, Y. Woldehawariat, T. Alemu // BioMed Research International. – 2022. – Vol. 2022. – № 1. – P. 6778352.
7. Afzal I. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants / I. Afzal, Z.K. Shinwari, S. Sikandar [et al.] // Microbiological Research. – 2019. – Vol. 221. – P. 36-49.
8. Ahemad M. Phosphate-solubilizing bacteria-assisted phytoremediation of metalliferous soils: a review / M. Ahemad // 3 Biotech. – 2015. – Vol. 5. – № 2. – P. 111-121.

9. Ahmad F. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities / F. Ahmad, I. Ahmad, M.S. Khan // Microbiological Research. – 2008. – Vol. 163. – № 2. – P. 173-181.
10. Ahmad M. Effectiveness of halo-tolerant, auxin producing *Pseudomonas* and *Rhizobium* strains to improve osmotic stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.) / M. Ahmad, Z.A. Zahir, F. Nazli [et al.] // Brazilian Journal of Microbiology. – 2014. – Vol. 44. – № 4. – P. 1341-1348.
11. Ahmad M. Potassium-Solubilizing Bacteria and Their Application in Agriculture / M. Ahmad, S.M. Nadeem, M. Naveed [et al.] // Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture / eds. V.S. Meena, B.R. Maurya, J.P. Verma [et al.]. – New Delhi: Springer India, 2016. – P. 293-313.
12. Ajmal A.W. Heavy Metal–Resistant Plant Growth–Promoting *Citrobacter werkmanii* Strain WWN1 and *Enterobacter cloacae* Strain JWM6 Enhance Wheat (*Triticum aestivum* L.) Growth by Modulating Physiological Attributes and Some Key Antioxidants Under Multi-Metal Stress / A.W. Ajmal, H. Yasmin, M.N. Hassan [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2022. – Vol. 13.
13. Aleynova O.A. Ability of Different Bacteria from Grapevine to Colonize *Arabidopsis thaliana* Plants / O.A. Aleynova, A.A. Ananov, N.N. Nityagovsky [et al.] // Plants. – 2026a. – Vol. 15. – № 8. – P. 1151.
14. Aleynova O.A. Bacterial and Fungal Endophytes of Grapevine Cultivars Growing in Primorsky Krai of Russia / O.A. Aleynova, N.N. Nityagovsky, A.A. Ananov [et al.] // Horticulturae. – 2023b. – Vol. 9. – № 12. – P. 1257.
15. Aleynova O.A. Biodiversity of endophytic bacteria and fungi of wild grapes *Vitis amurensis* Rupr. / O.A. Aleynova, N.N. Nityagovsky, K.V. Kiselev // BIO Web of Conferences. – 2021. – Vol. 39. – P. 05001.
16. Aleynova O.A. Stilbene accumulation in cell cultures of *Vitis amurensis* Rupr. overexpressing *VaSTS1*, *VaSTS2*, and *VaSTS7* genes / O.A. Aleynova, V.P. Grigorchuk, A.S. Dubrovina [et al.] // Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2016. – Vol. 125. – № 2. – P. 329-339.

17. Aleynova O.A. The Biodiversity of Grapevine Bacterial Endophytes of *Vitis amurensis* Rupr. / O.A. Aleynova, N.N. Nityagovsky, A.S. Dubrovina [et al.] // Plants. – 2022a. – Vol. 11. – № 9. – P. 1128.
18. Aleynova O.A. The Diversity of Fungal Endophytes from Wild Grape *Vitis amurensis* Rupr / O.A. Aleynova, N.N. Nityagovsky, A.R. Suprun [et al.] // Plants. – 2022b. – Vol. 11. – № 21. – P. 2897.
19. Aleynova O.A. The Endophytic Microbiome of Wild Grapevines *Vitis amurensis* Rupr. and *Vitis coignetiae* Pulliat Growing in the Russian Far East / O.A. Aleynova, N.N. Nityagovsky, A.A. Ananov [et al.] // Plants. – 2023a. – Vol. 12. – № 16. – P. 2952.
20. Aleynova O.A. The Influence of the Grapevine Bacterial and Fungal Endophytes on Biomass Accumulation and Stilbene Production by the *In Vitro* Cultivated Cells of *Vitis amurensis* Rupr. / O.A. Aleynova, A.R. Suprun, N.N. Nityagovsky [et al.] // Plants. – 2021. – Vol. 10. – № 7. – P. 1276.
21. Aleynova O.A. The Influence of Wild Grapevine Endophytes on the Growth of the Model Plant *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh / O.A. Aleynova, A.A. Ananov, N.N. Nityagovsky [et al.] // Life. – 2026b. – Vol. 16. – № 4. – P. 566.
22. Alghamdi A.K. Mangrove-Derived Endophytic Bacteria Enhance Growth, Yield, and Stress Resilience in Rice / A.K. Alghamdi, A. Rawat, W. Alzayed [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 26. – № 19. – P. 9317.
23. Alston J.M. Grapes in the World Economy / J.M. Alston, O. Sambucci // The Grape Genome / eds. D. Cantu, M.A. Walker. – Cham: Springer International Publishing, 2019. – P. 1-24.
24. Althiab-Almasaud R. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid stimulates tomato pollen tube growth independently of ethylene receptors / R. Althiab-Almasaud, H. Sallanon, C. Chang [et al.] // Physiologia Plantarum. – 2021. – Vol. 173. – № 4. – P. 2291-2297.
25. Altschul S.F. Basic local alignment search tool / S.F. Altschul, W. Gish, W. Miller [et al.] // Journal of Molecular Biology. – 1990. – Vol. 215. – № 3. – P. 403-410.

26. Anal A.K.D. Plant Mycobiome: Current Research and Applications / A.K.D. Anal, S. Rai, M. Singh [et al.] // *Phytobiomes: Current Insights and Future Vistas* / eds. M.K. Solanki, P.L. Kashyap, B. Kumari. – Singapore: Springer, 2020. – P. 81-104.
27. Anan'ev A.A. Whole Genome of *Gordonia aichiensis* P6PL2 Associated with *Vitis amurensis* That Stimulates Plant Growth / A.A. Anan'ev, O.A. Aleynova, N.N. Nityagovsky [et al.] // *Horticulturae*. – 2025. – Vol. 11. – № 7. – P. 735.
28. Anan'ev A.A. Whole Genome Sequencing of *Bacillus velezensis* AMR25, an Effective Antagonist Strain against Plant Pathogens / A.A. Anan'ev, Z.V. Ogneva, N.N. Nityagovsky [et al.] // *Microorganisms*. – 2024. – Vol. 12. – № 8. – P. 1533.
29. Andreolli M. Diversity of bacterial endophytes in 3 and 15 year-old grapevines of *Vitis vinifera* cv. Corvina and their potential for plant growth promotion and phytopathogen control / M. Andreolli, S. Lampis, G. Zapparoli [et al.] // *Microbiological Research*. – 2016. – Vol. 183. – P. 42-52.
30. Andreolli M. Diversity, Distribution and Functional Role of Bacterial Endophytes in *Vitis vinifera* / M. Andreolli, S. Lampis, G. Vallini // *Endophytes: Biology and Biotechnology: Volume 1* / ed. D.K. Maheshwari. – Cham: Springer International Publishing, 2017. – P. 233-266.
31. Andreote F.D. Endophytic population of *Pantoea agglomerans* in citrus plants and development of a cloning vector for endophytes / F.D. Andreote, P.B. Rossetto, L.C.A. Souza [et al.] // *Journal of Basic Microbiology*. – 2008. – Vol. 48. – № 5. – P. 338-346.
32. Arie T. *Fusarium* diseases of cultivated plants, control, diagnosis, and molecular and genetic studies / T. Arie // *Journal of Pesticide Science*. – 2019. – Vol. 44. – № 4. – P. 275-281.
33. Arkhipova T.N. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants / T.N. Arkhipova, S.U. Veselov, A.I. Melentiev [et al.] // *Plant and Soil*. – 2005. – Vol. 272. – № 1. – P. 201-209.

34. Artyszak A. The Effect of Growth Activators and Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) on the Soil Properties, Root Yield, and Technological Quality of Sugar Beet / A. Artyszak, D. Gozdowski // *Agronomy*. – 2020. – Vol. 10. – № 9. – P. 1262.
35. Asghari S. Induction of systemic resistance to *Agrobacterium tumefaciens* by endophytic bacteria in grapevine / S. Asghari, B. Harighi, M. Ashengroph [et al.] // *Plant Pathology*. – 2020. – Vol. 69. – № 5. – P. 827-837.
36. Ashby S.F. Some Observations on the Assimilation of Atmospheric Nitrogen by a Free Living Soil Organism. —*Azotobacter Chroococcum chroococcum* of Beijerinck / S.F. Ashby // *The Journal of Agricultural Science*. – 1907. – Vol. 2. – № 1. – P. 35-51.
37. Atak A. *Vitis* species for stress tolerance/resistance / A. Atak // *Genetic Resources and Crop Evolution*. – 2025. – Vol. 72. – № 2. – P. 2425-2444.
38. Baccari C. Biological Control of Pierce's Disease of Grape by an Endophytic Bacterium / C. Baccari, E. Antonova, S. Lindow // *Phytopathology®*. – 2019. – Vol. 109. – № 2. – P. 248-256.
39. Bakker P.A.H.M. The rhizosphere revisited: root microbiomics / P.A.H.M. Bakker, R.L. Berendsen, R.F. Doornbos [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2013. – Vol. 4. – P. 165.
40. Bal H.B. Alleviation of Submergence Stress in Rice Seedlings by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria With ACC Deaminase Activity / H.B. Bal, T.K. Adhya // *Frontiers in Sustainable Food Systems*. – 2021. – Vol. 5.
41. Baldan E. Identification of culturable bacterial endophyte community isolated from tissues of *Vitis vinifera* “Glera” / E. Baldan, S. Nigris, F. Populin [et al.] // *Plant Biosystems*. – 2014. – Vol. 148. – № 3. – P. 508-516.
42. Balsanelli E. Exopolysaccharide Biosynthesis Enables Mature Biofilm Formation on Abiotic Surfaces by *Herbaspirillum seropedicae* / E. Balsanelli, V.A. de Baura, F. de O. Pedrosa [et al.] // *PLOS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – № 10. – P. e110392.

43. Balsanelli E. *Herbaspirillum seropedicae* *rfbB* and *rfbC* genes are required for maize colonization / E. Balsanelli, R.V. Serrato, V.A. De Baura [et al.] // Environmental Microbiology. – 2010. – Vol. 12. – № 8. – P. 2233-2244.
44. Barnett D.J.m. microViz: an R package for microbiome data visualization and statistics / D.J.m. Barnett, I.C.w. Arts, J. Penders // Journal of Open Source Software. – 2021. – Vol. 6. – № 63. – P. 3201.
45. Baron N.C. Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture / N.C. Baron, E.C. Rigobelo // Mycology. – 2021. – Vol. 13. – № 1. – P. 39-55.
46. Basu A. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) as Green Bioinoculants: Recent Developments, Constraints, and Prospects / A. Basu, P. Prasad, S.N. Das [et al.] // Sustainability. – 2021. – Vol. 13. – № 3. – P. 1140.
47. Batista B.D. The auxin-producing *Bacillus thuringiensis* RZ2MS9 promotes the growth and modifies the root architecture of tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Micro-Tom) / B.D. Batista, M.N. Dourado, E.F. Figueredo [et al.] // Archives of Microbiology. – 2021. – Vol. 203. – № 7. – P. 3869-3882.
48. Beccari G. Editorial: *Fusarium* pathogenesis: Infection mechanisms and disease progression in host plants / G. Beccari, G. Hao, H. Liu // Frontiers in Plant Science. – 2022. – Vol. 13.
49. Behera B.C. Isolation and Characterisation of Sulphur Oxidising Bacteria from Mangrove Soil of Mahanadi River Delta and Their Sulphur Oxidising Ability / B.C. Behera, M. Patra, S.K. Dutta [et al.] // Journal of Applied & Environmental Microbiology. – 2014. – Vol. 2. – № 1. – P. 1-5.
50. Bibi A. Indole-3-acetic acid improves growth, physiology, photosynthesis, and ion balance under cadmium stress in *Sorghum bicolor* / A. Bibi, M.S. Ullah, A. Mahmood [et al.] // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15. – № 1. – P. 33971.
51. Biessy A. Phenazines in plant-beneficial *Pseudomonas* spp.: biosynthesis, regulation, function and genomics / A. Biessy, M. Filion // Environmental Microbiology. – 2018. – Vol. 20. – № 11. – P. 3905-3917.

52. Bolyen E. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 / E. Bolyen, J.R. Rideout, M.R. Dillon [*et al.*] // *Nature Biotechnology*. – 2019. – Vol. 37. – № 8. – P. 852-857.
53. Bouremani N. Osmotolerant plant growth promoting bacteria mitigate adverse effects of drought stress on wheat growth / N. Bouremani, H. Cherif-Silini, A. Silini [*et al.*] // *AIMS Microbiology*. – 2024. – Vol. 10. – № 3. – P. 507-541.
54. Brettin T. RASTtk: A modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes / T. Brettin, J.J. Davis, T. Disz [*et al.*] // *Scientific Reports*. – 2015. – Vol. 5. – № 1. – P. 8365.
55. Brown C.L. mobileOG-db: a Manually Curated Database of Protein Families Mediating the Life Cycle of Bacterial Mobile Genetic Elements / C.L. Brown, J. Mullet, F. Hindi [*et al.*] // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2022. – Vol. 88. – № 18. – P. e00991-22.
56. Bulgarelli D. Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota / D. Bulgarelli, M. Rott, K. Schlaeppi [*et al.*] // *Nature*. – 2012. – Vol. 488. – № 7409. – P. 91-95.
57. Callahan B.J. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data / B.J. Callahan, P.J. McMurdie, M.J. Rosen [*et al.*] // *Nature Methods*. – 2016. – Vol. 13. – № 7. – P. 581-583.
58. Camacho C. BLAST+: architecture and applications / C. Camacho, G. Coulouris, V. Avagyan [*et al.*] // *BMC Bioinformatics*. – 2009. – Vol. 10. – P. 421.
59. Campisano A. Diversity in Endophyte Populations Reveals Functional and Taxonomic Diversity between Wild and Domesticated Grapevines / A. Campisano, M. Pancher, G. Puopolo [*et al.*] // *American Journal of Enology and Viticulture*. – 2015. – Vol. 66. – № 1. – P. 12-21.
60. Canada. Pest Management Regulatory Agency. *Pantoea agglomerans* strain E325: Evaluation Report ERC2007-03 / Canada. Pest Management Regulatory Agency. – Ottawa: Health Canada, 2007. – 47 p. – (Evaluation report ; ERC2007-03). –

ISBN

978-0-662-46293-4.

–

URL:

https://publications.gc.ca/collections/collection_2007/pmra-arla/H113-26-2007-3E.pdf

61. Cantalapiedra C. P. eggNOG-mapper v2: Functional Annotation, Orthology Assignments, and Domain Prediction at the Metagenomic Scale / C. P. Cantalapiedra, A. Hernández-Plaza, I. Letunic [et al.] // Molecular Biology and Evolution. – 2021. – Vol. 38. – № 12. – P. 5825-5829. – DOI: 10.1093/molbev/msab293.

62. Chan P.P. tRNAscan-SE 2.0: improved detection and functional classification of transfer RNA genes / P.P. Chan, B.Y. Lin, A.J. Mak [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2021. – Vol. 49. – № 16. – P. 9077-9096.

63. Chang W. Plant Growth-Promoting and Arsenic Accumulation Reduction Effects of Two Endophytic Bacteria Isolated from *Brassica napus* / W. Chang, X. Hou, Y. Yan [et al.] // Journal of Plant Growth Regulation. – 2024. – Vol. 43. – № 1. – P. 76-88.

64. Chaudhary P. Endophytes and their potential in biotic stress management and crop production / P. Chaudhary, U. Agri, A. Chaudhary [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2022. – Vol. 13.

65. Chebotar V.K. Phytohormone Production by the Endophyte *Bacillus safensis* TS3 Increases Plant Yield and Alleviates Salt Stress / V.K. Chebotar, A.N. Zaplatkin, E.P. Chizhevskaya [et al.] // Plants. – 2024. – Vol. 13. – № 1. – P. 75.

66. Chen Huanyong. Flora of China. Vol. v.1 (no. 1270-1470) / Chen Huanyong, Ching Ren-Chang. – 1924. – 406 p.

67. Chen Y. Whole-Genome Sequencing and Potassium-Solubilizing Mechanism of *Bacillus aryabhattai* SK1-7 / Y. Chen, H. Yang, Z. Shen [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2022. – Vol. 12.

68. Cheng Z. 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt / Z. Cheng, E. Park, B.R. Glick // Canadian Journal of Microbiology. – 2007. – Vol. 53. – № 7. – P. 912-918.

69. Cherif-Silini H. Durum Wheat Stress Tolerance Induced by Endophyte *Pantoea agglomerans* with Genes Contributing to Plant Functions and Secondary Metabolite Arsenal / H. Cherif-Silini, B. Thissera, A.C. Bouket [*et al.*] // International Journal of Molecular Sciences. – 2019. – Vol. 20. – № 16. – P. 3989.
70. Chieb M. The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses / M. Chieb, E.W. Gachomo // BMC Plant Biology. – 2023. – Vol. 23. – № 1. – P. 407.
71. Cocking E.C. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria / E.C. Cocking // Plant and Soil. – 2003. – Vol. 252. – № 1. – P. 169-175.
72. Cohen A.C. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels / A.C. Cohen, R. Bottini, M. Pontin [*et al.*] // Physiologia Plantarum. – 2015. – Vol. 153. – № 1. – P. 79-90.
73. Coleman-Derr D. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species / D. Coleman-Derr, D. Desgarnes, C. Fonseca-Garcia [*et al.*] // New Phytologist. – 2016. – Vol. 209. – № 2. – P. 798-811.
74. Colombo F. Phenolic profiles and anti-inflammatory activities of sixteen table grape (*Vitis vinifera* L.) varieties / F. Colombo, C. Di Lorenzo, L. Regazzoni [*et al.*] // Food Funct. – 2019. – Vol. 10. – № 4. – P. 1797-1807.
75. Compant S. Endophytic Colonization of *Vitis vinifera* L. by Plant Growth-Promoting Bacterium *Burkholderia* sp. Strain PsJN / S. Compant, B. Reiter, A. Sessitsch [*et al.*] // Applied and Environmental Microbiology. – 2005a. – Vol. 71. – № 4. – P. 1685-1693.
76. Compant S. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization / S. Compant, C. Clément, A. Sessitsch // Soil Biology and Biochemistry. – 2010. – Vol. 42. – № 5. – P. 669-678.
77. Compant S. The plant endosphere world – bacterial life within plants / S. Compant, M.C. Cambon, C. Vacher [*et al.*] // Environmental Microbiology. – 2021. – Vol. 23. – № 4. – P. 1812-1829.

78. Compant S. Use of beneficial bacteria and their secondary metabolites to control grapevine pathogen diseases / S. Compant, G. Brader, S. Muzammil [*et al.*] // *BioControl*. – 2013. – Vol. 58.
79. Compant S. Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects / S. Compant, B. Duffy, J. Nowak [*et al.*] // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2005b. – Vol. 71. – № 9. – P. 4951-4959.
80. Dastogeer K.M.G. Plant microbiome—an account of the factors that shape community composition and diversity / K.M.G. Dastogeer, F.H. Tumpa, A. Sultana [*et al.*] // *Current Plant Biology*. – 2020. – Vol. 23. – P. 100161.
81. De Mandal S. Phyllosphere Microbiome in Plant Health and Disease / S. De Mandal, J. Jeon // *Plants*. – 2023. – Vol. 12. – № 19. – P. 3481.
82. de Moura G.G.D. The Friend Within: Endophytic Bacteria as a Tool for Sustainability in Strawberry Crops / G.G.D. de Moura, A.V. de Barros, F. Machado [*et al.*] // *Microorganisms*. – 2022. – Vol. 10. – № 12. – P. 2341.
83. de Souza R.S.C. Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome / R.S.C. de Souza, V.K. Okura, J.S.L. Armanhi [*et al.*] // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – № 1. – P. 28774.
84. Debbarma P. Chapter 12 - Microbial consortia and their application for environmental sustainability / P. Debbarma, R. Sharma, N. Luthra [*et al.*] // *Advanced Microbial Techniques in Agriculture, Environment, and Health Management* / eds. S.C. Pandey, V. Pande, D. Sati [*et al.*]. – Academic Press, 2023. – P. 205-222.
85. Devi T.S. Optimized Production and Characterization of Auxin by *Bacillus amyloliquefaciens* (TSP11) for Plant Growth Promotion / T.S. Devi, K. Vijay, R. Mythili [*et al.*] // *Journal of Basic Microbiology*. – 2025. – Vol. 65. – № 5. – P. e70010.
86. Deyett E. Endophytic microbial assemblage in grapevine / E. Deyett, P.E. Rolshausen // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2020. – Vol. 96. – № 5. – P. fiae053.
87. Deyett E. Microbial Landscape of the Grapevine Endosphere in the Context of Pierce's Disease / E. Deyett, M.C. Roper, P. Ruegger [*et al.*] // *Phytobiomes Journal*. – 2017. – Vol. 1. – № 3. – P. 138-149.

88. Deyett E. Temporal Dynamics of the Sap Microbiome of Grapevine Under High Pierce's Disease Pressure / E. Deyett, P.E. Rolshausen // *Frontiers in Plant Science*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1246.
89. Dillon K.N. Effects of Acute Grape Seed Extract Supplementation on Hemodynamics in Normal Body Weight and Obese Males / K.N. Dillon, B. Shariffi, B. Thompson [*et al.*] // *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. – 2020. – Vol. 66. – № 5. – P. 427-431.
90. Doyle J.J. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue / J.J. Doyle, J.L. Doyle, J.A. Doyle [*et al.*] – 1987.
91. Duarte N. de F. Chapter 15 - Phosphate solubilization by microorganisms / N. de F. Duarte, C.A.O. Paiva, M.C. Pagano [*et al.*] // *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* / eds. H. Singh, A. Vaishnav. – Elsevier, 2022. – P. 257-282.
92. Eastgate J.A. *Erwinia amylovora*: the molecular basis of fireblight disease / J.A. Eastgate // *Molecular Plant Pathology*. – 2000. – Vol. 1. – № 6. – P. 325-329.
93. Eid A.M. Harnessing Bacterial Endophytes for Promotion of Plant Growth and Biotechnological Applications: An Overview / A.M. Eid, A. Fouda, M.A. Abdel-Rahman [*et al.*] // *Plants*. – 2021. – Vol. 10. – № 5. – P. 935.
94. Fadiji A.E. Elucidating Mechanisms of Endophytes Used in Plant Protection and Other Bioactivities With Multifunctional Prospects / A.E. Fadiji, O.O. Babalola // *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. – 2020. – Vol. 8.
95. Fei L. Isolation and evaluation of growth-promoting endophytic bacteria from *Zanthoxylum dissitum* Hemsl. / L. Fei, Z. Hou, Y. Wang [*et al.*] // *Physiology and Molecular Biology of Plants*. – 2025. – Vol. 31. – № 2. – P. 299-310.
96. Feng Y. *In vitro* symplasmata formation in the rice diazotrophic endophyte *Pantoea agglomerans* YS19 / Y. Feng, D. Shen, X. Dong [*et al.*] // *Plant and Soil*. – 2003. – Vol. 255. – № 2. – P. 435-444.
97. Fonseca-García C. The Cacti Microbiome: Interplay between Habitat-Filtering and Host-Specificity / C. Fonseca-García, D. Coleman-Derr, E. Garrido [*et al.*] // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – Vol. 7.

98. Forchetti G. Endophytic bacteria in sunflower (*Helianthus annuus* L.): isolation, characterization, and production of jasmonates and abscisic acid in culture medium / G. Forchetti, O. Masciarelli, S. Alemano [et al.] // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2007. – Vol. 76. – № 5. – P. 1145-1152.
99. Frébortová J. Biochemical and Structural Aspects of Cytokinin Biosynthesis and Degradation in Bacteria / J. Frébortová, I. Frébort // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9. – № 6. – P. 1314.
100. Freese H.M. TYGS and LPSN in 2025: a Global Core Biodata Resource for genome-based classification and nomenclature of prokaryotes within DSMZ Digital Diversity / H.M. Freese, J.P. Meier-Kolthoff, J. Sardà Carbasse [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2026. – Vol. 54. – № D1. – P. D884-D891.
101. Gamit H. Role of methylotrophic bacteria in managing abiotic stresses for enhancing agricultural production / H. Gamit, N. Amaresan // Pedosphere. – 2023. – Vol. 33. – № 1. – P. 49-60.
102. Gao J. Advances in Plant Auxin Biology: Synthesis, Metabolism, Signaling, Interaction with Other Hormones, and Roles under Abiotic Stress / J. Gao, S. Zhuang, W. Zhang // Plants. – 2024. – Vol. 13. – № 17. – P. 2523.
103. Gao J. Isolation of highly efficient potassium solubilizing bacteria and their effects on nutrient acquisition and growth promotion in tobacco seedlings / J. Gao, M. Xu, E. Uwiringiyimana // BMC Plant Biology. – 2025. – Vol. 25. – № 1. – P. 745.
104. Gao X. Enhancing the 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Metabolic Rate of *Pseudomonas* sp. UW4 Intensifies Chemotactic Rhizocompetence / X. Gao, T. Li, W. Liu [et al.] // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8. – № 1. – P. 71.
105. García-Tabares F. Production of 3-indoleacetic acid and 3-indolelactic acid in *Azotobacter vinelandii* cultures supplemented with tryptophan / F. García-Tabares, T. Herraiz-Tomico, F. Amat-Guerri [et al.] // Applied Microbiology and Biotechnology. – 1987. – Vol. 25. – № 6. – P. 502-506.
106. Glick B.R. A Model For the Lowering of Plant Ethylene Concentrations by Plant Growth-promoting Bacteria / B.R. Glick, D.M. Penrose, J. Li // Journal of Theoretical Biology. – 1998. – Vol. 190. – № 1. – P. 63-68.

107. Glick B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications / B.R. Glick // Scientifica. – 2012. – Vol. 2012. – P. 963401.
108. Gnanaprakasam P.D. Recurring detrimental impact of agrochemicals on the ecosystem, and a glimpse of organic farming as a possible rescue / P.D. Gnanaprakasam, A.J. Vanisree // Environmental Science and Pollution Research. – 2022. – Vol. 29. – № 50. – P. 75103-75112.
109. Golinska P. Endophytic actinobacteria of medicinal plants: diversity and bioactivity / P. Golinska, M. Wypij, G. Agarkar [et al.] // Antonie van Leeuwenhoek. – 2015. – Vol. 108. – № 2. – P. 267-289.
110. Gómez Expósito R. Current Insights into the Role of Rhizosphere Bacteria in Disease Suppressive Soils / R. Gómez Expósito, I. de Bruijn, J. Postma [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2017. – Vol. 8.
111. Goodwin P.H. The Endosphere Microbiome of Ginseng / P.H. Goodwin // Plants. – 2022. – Vol. 11. – № 3. – P. 415.
112. Großkinsky D.K. Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20-18 determines biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis* / D.K. Großkinsky, R. Tafner, M.V. Moreno [et al.] // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6. – № 1. – P. 23310.
113. Guardado-Fierros B.G. Comparative study between Salkowski reagent and chromatographic method for auxins quantification from bacterial production / B.G. Guardado-Fierros, D.A. Tuesta-Popolizio, M.A. Lorenzo-Santiago [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2024. – Vol. 15. – P. 1378079.
114. Güler M. Effects of the IAA-Producing Endophytic *Bacillus* spp. on the Growth of *Hordeum vulgare* L. / M. Güler // Microorganisms. – 2026. – Vol. 14. – № 5. – P. 1069.
115. Gunjal A.B. Plant growth-promoting bacteria (PGPB) in horticulture / A.B. Gunjal, B.R. Glick // Proceedings of the Indian National Science Academy. – 2024. – Vol. 90. – № 1. – P. 1-11.

116. Gupta G. Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria as Biofertilizer / G. Gupta, J. Panwar, M.S. Akhtar [et al.] // Sustainable Agriculture Reviews: Volume 11 / ed. E. Lichtfouse. – Dordrecht: Springer Netherlands, 2012. – P. 183-221.
117. Gupta G. Natural occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*, a dominant cultivable diazotrophic endophytic bacterium colonizing *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. / G. Gupta, J. Panwar, P.N. Jha // Applied Soil Ecology. – 2013. – Vol. 64. – P. 252-261.
118. Gupta R. Gibberellic acid in plant / R. Gupta, S.K. Chakrabarty // Plant Signaling & Behavior. – 2013. – Vol. 8. – № 9. – P. e25504.
119. Hamdan M.F. Genetic modification techniques in plant breeding: A comparative review of CRISPR/Cas and GM technologies / M.F. Hamdan, B.C. Tan // Horticultural Plant Journal. – 2025. – Vol. 11. – № 5. – P. 1807-1829.
120. Hamonts K. Field study reveals core plant microbiota and relative importance of their drivers / K. Hamonts, P. Trivedi, A. Garg [et al.] // Environmental Microbiology. – 2018. – Vol. 20. – № 1. – P. 124-140.
121. Hardoim P.R. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes / P.R. Hardoim, L.S. van Overbeek, G. Berg [et al.] // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2015. – Vol. 79. – № 3. – P. 293-320.
122. He C. Dual inoculation of dark septate endophytes and *Trichoderma viride* drives plant performance and rhizosphere microbiome adaptations of *Astragalus mongholicus* to drought / C. He, C. Liu, H. Liu [et al.] // Environmental Microbiology. – 2022. – Vol. 24. – № 1. – P. 324-340.
123. He X. Endophytic plant growth promoting bacteria from two halophytes improve wheat performance under salt stress / X. He, H. Yuan, Y. Li [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2026. – Vol. 17.
124. Hernández-Amador E. *Bacillus* as Premier Biocontrol Agents: Mechanistic Insights, Strategic Application, and Future Regulatory Landscapes in Sustainable Agriculture / E. Hernández-Amador, D.T. Montesdeoca-Flores, J.C. Luis-Jorge // Plants. – 2026. – Vol. 15. – № 3. – P. 516.

125. Hudson A. Natural variation in the pattern-triggered immunity response in plants: Investigations, implications and applications / A. Hudson, A. Mullens, S. Hind [et al.] // *Molecular Plant Pathology*. – 2024. – Vol. 25. – № 3. – P. e13445.
126. Hurek T. *Azoarcus* sp. strain BH72 as a model for nitrogen-fixing grass endophytes / T. Hurek, B. Reinhold-Hurek // *Journal of Biotechnology*. – 2003. – Vol. 106. – № 2. – P. 169-178.
127. Ibáñez A. From Genes to Bioleaching: Unraveling Sulfur Metabolism in *Acidithiobacillus* Genus / A. Ibáñez, S. Garrido-Chamorro, J.J.R. Coque [et al.] // *Genes*. – 2023. – Vol. 14. – № 9. – P. 1772.
128. Iqbal A. Auxin Producing *Pseudomonas* Strains: Biological Candidates to Modulate the Growth of *Triticum aestivum* Beneficially / A. Iqbal, S. Hasnain // *American Journal of Plant Sciences*. – 2013. – Vol. 04. – P. 1693-1700.
129. Jacob J. 4 - Endophytic bacterial strains induced systemic resistance in agriculturally important crop plants / J. Jacob, G.V. Krishnan, D. Thankappan [et al.] // *Microbial Endophytes* / eds. A. Kumar, R. E.K. – Woodhead Publishing, 2020. – P. 75-105.
130. Jahan M. Radiation absorption and use efficiency of sesame as affected by biofertilizers inoculation in a low input cropping system / M. Jahan, M. Nassiri Mahallati, M.B. Amiri [et al.] // *Industrial Crops and Products*. – 2013. – Vol. 43. – P. 606-611.
131. Jan S.S. Consortium of Endophytic *Bacillus australimaris* CK11 and *Staphylococcus epidermidis* CK9 from *Commiphora gileadensis* Mediates Tomato Resilience to Combined Salinity, Heat, and Drought Stresses / S.S. Jan, N.A. Khan, S. Asaf [et al.] // *Journal of Plant Growth Regulation*. – 2025. – Vol. 44. – № 12. – P. 6929-6952.
132. Jha P. Endophytic fungi: hidden treasure chest of antimicrobial metabolites interrelationship of endophytes and metabolites / P. Jha, T. Kaur, I. Chhabra [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2023. – Vol. 14.

133. Joshi S. Rhizospheric bacteria: the key to sustainable heavy metal detoxification strategies / S. Joshi, S. Gangola, G. Bhandari [*et al.*] // *Frontiers in Microbiology*. – 2023. – Vol. 14.
134. Juby S. Morphological, Metabolomic and Genomic Evidences on Drought Stress Protective Functioning of the Endophyte *Bacillus safensis* Ni7 / S. Juby, P. Soumya, K. Jayachandran [*et al.*] // *Current Microbiology*. – 2024. – Vol. 81. – № 7. – P. 209.
135. Kandel S.L. Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants / S.L. Kandel, P.M. Joubert, S.L. Doty // *Microorganisms*. – 2017. – Vol. 5. – № 4. – P. 77.
136. Kanehisa M. BlastKOALA and GhostKOALA: KEGG Tools for Functional Characterization of Genome and Metagenome Sequences / M. Kanehisa, Y. Sato, K. Morishima // *Journal of Molecular Biology*. – 2016. – Vol. 428. – № 4. – P. 726-731. – DOI: 10.1016/j.jmb.2015.11.006.
137. Kang S.-M. Phosphate Solubilizing *Bacillus megaterium* mj1212 Regulates Endogenous Plant Carbohydrates and Amino Acids Contents to Promote Mustard Plant Growth / S.-M. Kang, R. Radhakrishnan, Y.-H. You [*et al.*] // *Indian Journal of Microbiology*. – 2014. – Vol. 54. – № 4. – P. 427-433.
138. Karmakar J. Growth promoting properties of *Mycobacterium* and *Bacillus* on rice plants under induced drought / J. Karmakar, S. Goswami, K. Pramanik [*et al.*] // *Plant Science Today*. – 2021. – Vol. 8. – № 1. – P. 49-57.
139. Kashyap N. Biocontrol Screening of Endophytes: Applications and Limitations / N. Kashyap, S.K. Singh, N. Yadav [*et al.*] // *Plants*. – 2023. – Vol. 12. – № 13. – P. 2480.
140. Kayasth M. *Gordonia* sp.: a salt tolerant bacterial inoculant for growth promotion of pearl millet under saline soil conditions / M. Kayasth, V. Kumar, R. Gera // *3 Biotech*. – 2014. – Vol. 4. – № 5. – P. 553-557.
141. Keswani C. Biosynthesis and beneficial effects of microbial gibberellins on crops for sustainable agriculture / C. Keswani, S.P. Singh, C. García-Estrada [*et al.*] // *Journal of Applied Microbiology*. – 2022. – Vol. 132. – № 3. – P. 1597-1615.

142. Khan A. Microbial bioformulation: a microbial assisted biostimulating fertilization technique for sustainable agriculture / A. Khan, A. V. Singh, S. S. Gautam [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1270039. – DOI: 10.3389/fpls.2023.1270039.

143. Khan S.S. Chapter 1 - Rhizomicrobiome: Biodiversity and functional annotation for agricultural sustainability / S.S. Khan, B. Sharma, R. Negi [et al.] // *Rhizomicrobiome in Sustainable Agriculture and Environment* / eds. J. Singh, V. Sharma. – Academic Press, 2025. – P. 1-38.

144. Khianngam S. Identification and Optimisation of Indole-3-Acetic Acid Production of Endophytic Bacteria and Their Effects on Plant Growth / S. Khianngam, P. Meetum, P.N. Chiangmai [et al.] // *Tropical Life Sciences Research*. – 2023. – Vol. 34. – № 1. – P. 219-239.

145. Khourchi S. Phosphate solubilizing bacteria can significantly contribute to enhance P availability from polyphosphates and their use efficiency in wheat / S. Khourchi, W. Elhaisoufi, M. Loum [et al.] // *Microbiological Research*. – 2022. – Vol. 262. – P. 127094.

146. Kiselev K.V. A Method of DNA Extraction from Plants for Metagenomic Analysis Based on the Example of Grape *Vitis amurensis* Rupr. / K.V. Kiselev, N.N. Nityagovsky, O.A. Aleynova // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2023. – Vol. 59. – № 3. – P. 361-367.

147. Kiselev K.V. Salicylic acid induces alterations in the methylation pattern of the *VaSTS1*, *VaSTS2*, and *VaSTS10* genes in *Vitis amurensis* Rupr. cell cultures / K.V. Kiselev, A.P. Tyunin, Y.A. Karetnin // *Plant Cell Reports*. – 2015. – Vol. 34. – № 2. – P. 311-320.

148. Koskimäki J.J. The Intracellular Scots Pine Shoot Symbiont *Methylobacterium extorquens* DSM13060 Aggregates around the Host Nucleus and Encodes Eukaryote-Like Proteins / J.J. Koskimäki, A.M. Pirttilä, E.-L. Ihanola [et al.] // *mBio*. – 2015. – Vol. 6. – № 2. – P. 10.1128/mbio.00039-15.

149. Kost T. Oxalotrophy, a widespread trait of plant-associated *Burkholderia* species, is involved in successful root colonization of lupin and maize by *Burkholderia*

phytofirmans / T. Kost, N. Stopnisek, K. Agnoli [*et al.*] // *Frontiers in Microbiology*. – 2014. – Vol. 4. – P. 421.

150. Kowalska J. Yeasts as a Potential Biological Agent in Plant Disease Protection and Yield Improvement—A Short Review / J. Kowalska, J. Krzywińska, J. Tyburski // *Agriculture*. – 2022. – Vol. 12. – № 9. – P. 1404.

151. Kumar H. Potential application of endophytic bacteria for induction of abiotic stress tolerance in plants / H. Kumar, R. Lata, U. Khan [*et al.*] // *Symbiosis*. – 2025. – Vol. 95. – № 2. – P. 153-181.

152. Kumari E. Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) for Sustainable Agriculture: Current Prospective and Future Challenges / E. Kumari, S. Kumari, S.S. Das [*et al.*] // *AgroEnvironmental Sustainability*. – 2023. – Vol. 1. – № 3. – P. 274-285.

153. Kutáček M. Auxin synthesis in *Agrobacterium tumefaciens* and *A. tumefaciens*-transformed plant tissue / M. Kutáček, J. Rovenská // *Plant Growth Regulation*. – 1991. – Vol. 10. – № 4. – P. 313-327.

154. Kuźniar A. Endophytes as Permanent or Temporal Inhabitants of Different Ecological Niches in Sustainable Agriculture / A. Kuźniar, A. Kruczyńska, K. Włodarczyk [*et al.*] // *Applied Sciences*. – 2025. – Vol. 15. – № 3. – P. 1253.

155. Kuźniar A. New Insight into the Composition of Wheat Seed Microbiota / A. Kuźniar, K. Włodarczyk, J. Grządziel [*et al.*] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2020. – Vol. 21. – № 13. – P. 4634.

156. Lagesen K. RNAmmer: consistent and rapid annotation of ribosomal RNA genes / K. Lagesen, P. Hallin, E.A. Rødland [*et al.*] // *Nucleic Acids Research*. – 2007. – Vol. 35. – № 9. – P. 3100-3108.

157. Lane J.D. 16S/23S rRNA sequencing / J.D. Lane // *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. – 1991. – P. 125-175.

158. Lastochkina O. *Bacillus* Spp.: Efficient Biotic Strategy to Control Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables / O. Lastochkina, M. Seifikalhor, S. Aliniaiefard [*et al.*] // *Plants*. – 2019. – Vol. 8. – № 4. – P. 97.

159. Lee I. OrthoANI: An improved algorithm and software for calculating average nucleotide identity / I. Lee, Y. Ouk Kim, S.-C. Park [*et al.*] // *International*

Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2016. – Vol. 66. – № 2. – P. 1100-1103.

160. Lee K.-E. *Enterococcus faecium* LKE12 Cell-Free Extract Accelerates Host Plant Growth via Gibberellin and Indole-3-Acetic Acid Secretion / K.-E. Lee, R. Radhakrishnan, S.-M. Kang [et al.] // – 2015. – Vol. 25. – № 9. – P. 1467-1475.

161. Lefort V. FastME 2.0: A Comprehensive, Accurate, and Fast Distance-Based Phylogeny Inference Program / V. Lefort, R. Desper, O. Gascuel // Molecular Biology and Evolution. – 2015. – Vol. 32. – № 10. – P. 2798-2800.

162. Letunic I. Interactive Tree of Life (iTOL) v6: recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool / I. Letunic, P. Bork // Nucleic Acids Research. – 2024. – Vol. 52. – № W1. – P. W78-W82.

163. Leveau J.H.J. Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290 / J.H.J. Leveau, S.E. Lindow // Applied and Environmental Microbiology. – 2005. – Vol. 71. – № 5. – P. 2365-2371.

164. Li C. Lipophilic Grape Seed Proanthocyanidin Exerts Anti-Cervical Cancer Effects in HeLa Cells and a HeLa-Derived Xenograft Zebrafish Model / C. Li, L. Zhang, C. Liu [et al.] // Antioxidants. – 2022. – Vol. 11. – № 2. – P. 422.

165. Li P. Potential mechanisms of synthetic endophytic bacterial community to reduce PAHs accumulation in vegetables / P. Li, X. Zhou, T. Wei [et al.] // Environment International. – 2024. – Vol. 194. – P. 109129.

166. Lin R. Resting for viability: *Gordonia polyisoprenivorans* ZM27, a robust generalist for petroleum bioremediation under hypersaline stress / R. Lin, H. Li, H. Wu [et al.] // Environmental Pollution. – 2024b. – Vol. 360. – P. 124618.

167. Lin X. Endophytic Bacteria *Enterobacter cloacae* PN7 Promotes Biosynthesis and Accumulation of Saponins in *Panax notoginseng* / X. Lin, M. Wang, F. Xie [et al.] // Current Microbiology. – 2024a. – Vol. 82. – № 1. – P. 41.

168. Liu C. microeco: an R package for data mining in microbial community ecology / C. Liu, Y. Cui, X. Li [et al.] // FEMS Microbiology Ecology. – 2021. – Vol. 97. – № 2. – P. fiae255.

169. Liu H. Inner Plant Values: Diversity, Colonization and Benefits from Endophytic Bacteria / H. Liu, L.C. Carvalhais, M. Crawford [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – Vol. 8.
170. Liu L. Review: Research progress in amur grape, *Vitis amurensis* Rupr. / L. Liu, H. Li // *Canadian Journal of Plant Science*. – 2013. – Vol. 93. – № 4. – P. 565-575.
171. Liu L.-H. Diversity of endophytic bacteria in wild rice (*Oryza meridionalis*) and potential for promoting plant growth and degrading phthalates / L.-H. Liu, T. Yuan, J.-Y. Zhang [et al.] // *Science of The Total Environment*. – 2022. – Vol. 806. – P. 150310.
172. Liu S. Microbe-mediated stress resistance in plants: the roles played by core and stress-specific microbiota / S. Liu, J. Wu, Z. Cheng [et al.] // *Microbiome*. – 2025. – Vol. 13. – P. 111.
173. Love M. I. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 / M. I. Love, W. Huber, S. Anders // *Genome Biology*. – 2014. – Vol. 15. – P. 550. – DOI: 10.1186/s13059-014-0550-8.
174. Luo C. Rhizosphere microbiome regulation: Unlocking the potential for plant growth / C. Luo, Y. He, Y. Chen // *Current Research in Microbial Sciences*. – 2024. – Vol. 8. – P. 100322.
175. Luziatelli F. Metabolites Secreted by a Plant-Growth-Promoting *Pantoea agglomerans* Strain Improved Rooting of *Pyrus communis* L. cv Dar Gazi Cuttings / F. Luziatelli, L. Gatti, A.G. Ficca [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2020. – Vol. 11.
176. Ma A. Quorum Quenching in Culturable Phyllosphere Bacteria from Tobacco / A. Ma, D. Lv, X. Zhuang [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2013. – Vol. 14. – № 7. – P. 14607-14619.
177. Ma Y. Beneficial role of bacterial endophytes in heavy metal phytoremediation / Y. Ma, M. Rajkumar, C. Zhang [et al.] // *Journal of Environmental Management*. – 2016. – Vol. 174. – P. 14-25.
178. Mahreen N. Mitigation of water scarcity with sustained growth of Rice by plant growth promoting bacteria / N. Mahreen, S. Yasmin, M. Asif [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2023. – Vol. 14.

179. Mao J. Induced disease resistance of endophytic bacteria REB01 to bacterial blight of rice / J. Mao, M. Gong, Q. Guan // AIP Conference Proceedings. – 2019. – Vol. 2079. – № 1. – P. 020017.
180. Marques A.P.G.C. Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using *Zea mays* as indicator plant / A.P.G.C. Marques, C. Pires, H. Moreira [et al.] // Soil Biology and Biochemistry. – 2010. – Vol. 42. – № 8. – P. 1229-1235.
181. Mayer E. Plantibacter flavus, Curtobacterium herbarum, *Paenibacillus taichungensis*, and *Rhizobium selenitireducens* Endophytes Provide Host-Specific Growth Promotion of *Arabidopsis thaliana*, Basil, Lettuce, and Bok Choy Plants / E. Mayer, P. Dörr de Quadros, R. Fulthorpe // Applied and Environmental Microbiology. – 2019. – Vol. 85. – № 19. – P. e00383-19.
182. Mazoyon C. Sphingomonas sediminicola Is an Endosymbiotic Bacterium Able to Induce the Formation of Root Nodules in Pea (*Pisum sativum* L.) and to Enhance Plant Biomass Production / C. Mazoyon, B. Hirel, A. Pecourt [et al.] // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11. – № 1. – P. 199.
183. McClerklin S.A. Indole-3-acetaldehyde dehydrogenase-dependent auxin synthesis contributes to virulence of *Pseudomonas syringae* strain DC3000 / S.A. McClerklin, S.G. Lee, C.P. Harper [et al.] // PLOS Pathogens. – 2018. – Vol. 14. – № 1. – P. e1006811.
184. McMurdie P.J. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data / P.J. McMurdie, S. Holmes // PLOS ONE. – 2013. – Vol. 8. – № 4. – P. e61217.
185. Mei C. Characterization of Phosphate Solubilizing Bacterial Endophytes and Plant Growth Promotion *In Vitro* and in Greenhouse / C. Mei, R.L. Chretien, B.S. Amaradasa [et al.] // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9. – № 9. – P. 1935.
186. Meier-Kolthoff J.P. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions / J.P. Meier-Kolthoff, A.F. Auch, H.-P. Klenk [et al.] // BMC Bioinformatics. – 2013. – Vol. 14. – P. 60.

187. Melini F. Optimization of the growth conditions through response surface methodology and metabolomics for maximizing the auxin production by *Pantoea agglomerans* C1 / F. Melini, F. Luziatelli, P. Bonini [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2023. – Vol. 14.
188. Meza C. Auxin producing plant growth promoting bacteria enhance temperature stress tolerance in Chilean common bean landraces / C. Meza, F. Valenzuela, M. Yáñez [et al.] // *Scientific Reports*. – 2025. – Vol. 15. – № 1. – P. 30359.
189. Mitter B. A New Approach to Modify Plant Microbiomes and Traits by Introducing Beneficial Bacteria at Flowering into Progeny Seeds / B. Mitter, N. Pfaffenbichler, R. Flavell [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – Vol. 8.
190. Molina R. Regulation of IAA Biosynthesis in *Azospirillum brasilense* Under Environmental Stress Conditions / R. Molina, D. Rivera, V. Mora [et al.] // *Current Microbiology*. – 2018. – Vol. 75. – № 10. – P. 1408-1418.
191. Molotoks A. Global projections of future cropland expansion to 2050 and direct impacts on biodiversity and carbon storage / A. Molotoks, E. Stehfest, J. Doelman [et al.] // *Global Change Biology*. – 2018. – Vol. 24. – № 12. – P. 5895-5908.
192. Morales-Cedeño L.R. Plant growth-promoting bacterial endophytes as biocontrol agents of pre- and post-harvest diseases: Fundamentals, methods of application and future perspectives / L.R. Morales-Cedeño, M. del C. Orozco-Mosqueda, P.D. Loeza-Lara [et al.] // *Microbiological Research*. – 2021. – Vol. 242. – P. 126612.
193. Mousa W.K. Bacterial endophytes from wild maize suppress *Fusarium graminearum* in modern maize and inhibit mycotoxin accumulation / W.K. Mousa, C.R. Shearer, V. Limay-Rios [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2015. – Vol. 6.
194. Mukherjee A. Endophytic bacteria with plant growth promoting abilities from *Ophioglossum reticulatum* L. / A. Mukherjee, P. Bhattacharjee, R. Das [et al.] // *AIMS Microbiology*. – 2017. – Vol. 3. – № 3. – P. 596-612.

195. Müller H. Plant genotype-specific archaeal and bacterial endophytes but similar *Bacillus* antagonists colonize *Mediterranean olive* trees / H. Müller, C. Berg, B.B. Landa [*et al.*] // *Frontiers in Microbiology*. – 2015. – Vol. 6. – P. 138.
196. Muneer M.A. Unraveling two decades of phyllosphere endophytes: tracing research trends and insights through visualized knowledge maps, with emphasis on microbial interactions as emerging frontiers / M.A. Muneer, X. Chen, H. Wang [*et al.*] // *Stress Biology*. – 2024. – Vol. 4. – № 1. – P. 12.
197. Munif A. Induced resistance and plant growth promotion by endophytic bacteria *Bacillus* sp. AA2 against *Meloidogyne* sp. on pepper / A. Munif, D. Putri, K. Mutaqin // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – 2020. – Vol. 468. – № 1. – P. 012040.
198. Murashige T. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiologia Plantarum*. – 1962. – Vol. 15. – № 3. – P. 473-497.
199. Nair D.N. Impact of Endophytic Microorganisms on Plants, Environment and Humans / D.N. Nair, S. Padmavathy // *The Scientific World Journal*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 250693.
200. Nett R.S. Production of the plant hormone gibberellin by rhizobia increases host legume nodule size / R.S. Nett, K.S. Bender, R.J. Peters // *The ISME Journal*. – 2022. – Vol. 16. – № 7. – P. 1809-1817.
201. Nett R.S. Unraveling a Tangled Skein: Evolutionary Analysis of the Bacterial Gibberellin Biosynthetic Operon / R.S. Nett, H. Nguyen, R. Nagel [*et al.*] // *mSphere*. – 2020. – Vol. 5. – № 3. – P. 10.1128/msphere.00292-20.
202. Niem J. Draft Genome Sequences of Endophytic *Pseudomonas* spp. Isolated from Grapevine Tissue and Antagonistic to Grapevine Trunk Disease Pathogens / J. Niem, R. Billones-Baaijens, S. Savocchia [*et al.*] // *Microbiology Resource Announcements*. – 2019. – Vol. 8. – № 26.
203. Nilsson R.H. The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications / R.H. Nilsson, K.-H. Larsson,

A.F.S. Taylor [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2019. – Vol. 47. – № D1. – P. D259-D264.

204. Nityagovsky N.N. Distribution of *Plasmopara viticola* Causing Downy Mildew in Russian Far East Grapevines / N.N. Nityagovsky, A.A. Ananov, A.R. Suprun [et al.] // Horticulturae. – 2024. – Vol. 10. – № 4. – P. 326.

205. Ondov B.D. Mash: fast genome and metagenome distance estimation using MinHash / B.D. Ondov, T.J. Treangen, P. Melsted [et al.] // Genome Biology. – 2016. – Vol. 17. – № 1. – P. 132.

206. Orozco-Mosqueda M. del C. Agroecological Management of the Grey Mould Fungus *Botrytis cinerea* by Plant Growth-Promoting Bacteria / M. del C. Orozco-Mosqueda, A. Kumar, A.E. Fadji [et al.] // Plants. – 2023. – Vol. 12. – № 3. – P. 637.

207. Orozco-Mosqueda M. del C. Recent Advances in the Bacterial Phytohormone Modulation of Plant Growth / M. del C. Orozco-Mosqueda, G. Santoyo, B.R. Glick // Plants. – 2023. – Vol. 12. – № 3. – P. 606.

208. Otieno N. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates / N. Otieno, R.D. Lally, S. Kiwanuka [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2015. – Vol. 6.

209. Pantigoso H.A. The rhizosphere microbiome: Plant–microbial interactions for resource acquisition / H.A. Pantigoso, D. Newberger, J.M. Vivanco // Journal of Applied Microbiology. – 2022. – Vol. 133. – № 5. – P. 2864-2876.

210. Park S. A highly efficient auxin-producing bacterial strain and its effect on plant growth / S. Park, A.-L. Kim, Y.-K. Hong [et al.] // Journal of Genetic Engineering & Biotechnology. – 2021. – Vol. 19. – P. 179.

211. Park Y.-G. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones / Y.-G. Park, B.-G. Mun, S.-M. Kang [et al.] // PLOS ONE. – 2017. – Vol. 12. – № 3. – P. e0173203.

212. Parks D. H. CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes / D. H. Parks, M. Imelfort, C. T.

Skenneron [et al.] // Genome Research. – 2015. – Vol. 25. – № 7. – P. 1043-1055. – DOI: 10.1101/gr.186072.114.

213. Patz S. PLaBAs: A comprehensive web resource for analyzing the plant growth-promoting potential of plant-associated bacteria / S. Patz, A. Gautam, M. Becker [et al.] – bioRxiv, 2021.

214. Peng M. From salty to thriving: plant growth promoting bacteria as nature's allies in overcoming salinity stress in plants / M. Peng, Z. Jiang, F. Zhou [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2023. – Vol. 14.

215. Peng M. Genomic features of a plant growth-promoting endophytic *Enterobacter cancerogenus* JY65 dominant in microbiota of halophyte *Suaeda salsa* / M. Peng, Z. Jiang, Z. Xiang [et al.] // Plant and Soil. – 2024. – Vol. 496. – № 1. – P. 269-287.

216. Pieterse C.M.J. Hormonal Modulation of Plant Immunity / C.M.J. Pieterse, D. Van der Does, C. Zamioudis [et al.] // Annual Review of Cell and Developmental Biology. – 2012. – Vol. 28. – P. 489-521.

217. Pikovskaya R.I. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species / R.I. Pikovskaya – 1948.

218. Piqué N. Virulence Factors of *Erwinia amylovora*: A Review / N. Piqué, D. Miñana-Galbis, S. Merino [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2015. – Vol. 16. – № 6. – P. 12836-12854.

219. Poria V. Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) integrated phytotechnology: A sustainable approach for remediation of marginal lands / V. Poria, K. Dębiec-Andrzejewska, A. Fiodor [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2022. – Vol. 13.

220. Poupin M.J. A Complex Molecular Interplay of Auxin and Ethylene Signaling Pathways Is Involved in *Arabidopsis* Growth Promotion by *Burkholderia phytofirmans* PsJN / M.J. Poupin, M. Greve, V. Carmona [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2016. – Vol. 7.

221. Prjibelski A. Using SPAdes De Novo Assembler / A. Prjibelski, D. Antipov, D. Meleshko [*et al.*] // Current Protocols in Bioinformatics. – 2020. – Vol. 70. – № 1. – P. e102.
222. Puente M.E. Rock-degrading endophytic bacteria in cacti / M.E. Puente, C.Y. Li, Y. Bashan // Environmental and Experimental Botany. – 2009. – Vol. 66. – № 3. – P. 389-401.
223. Puri A. Nitrogen-Fixation by Endophytic Bacteria in Agricultural Crops: Recent Advances / A. Puri, K.P. Padda, C.P. Chanway // Nitrogen in Agriculture - Updates. – IntechOpen, 2017.
224. Quast C. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools / C. Quast, E. Pruesse, P. Yilmaz [*et al.*] // Nucleic Acids Research. – 2013. – Vol. 41. – № D1. – P. D590-D596.
225. Quecine M.C. Sugarcane Growth Promotion by the Endophytic Bacterium *Pantoea agglomerans* 33.1 / M.C. Quecine, W.L. Araújo, P.B. Rossetto [*et al.*] // Applied and Environmental Microbiology. – 2012. – Vol. 78. – № 21. – P. 7511-7518.
226. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing / R Core Team. – Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2021.
227. Radzki W. Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture / W. Radzki, F.J. Gutierrez Mañero, E. Algar [*et al.*] // Antonie van Leeuwenhoek. – 2013. – Vol. 104. – № 3. – P. 321-330.
228. Rajkumar M. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction / M. Rajkumar, N. Ae, H. Freitas // Chemosphere. – 2009. – Vol. 77. – № 2. – P. 153-160.
229. Rajkumar M. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction / M. Rajkumar, N. Ae, M.N.V. Prasad [*et al.*] // Trends in Biotechnology. – 2010. – Vol. 28. – № 3. – P. 142-149.
230. Rakhaluru P. Endophytic and Epiphytic Microorganisms as Biocontrol Agents: Mechanisms, Applications, and Metagenomic Approaches in Tomato Cultivation / P. Rakhaluru, B.M. Mampholo, T.P. Mamphogoro [*et al.*] // Molecules. – 2025. – Vol. 30. – № 18. – P. 3816.

231. Ramachandran K. Molecular characterization and pathogenicity of *Erwinia* spp. associated with pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.] and papaya (*Carica papaya* L.) / K. Ramachandran, U.A. Manaf, L. Zakaria // Journal of Plant Protection Research. – 2015. – Vol. 55. – № 4. – P. 396-404.
232. Rangel L.I. Bacterial Auxin Production in the Phyllosphere / L.I. Rangel, G. Rastogi, T.R. Williams [*et al.*] // Phytobiomes Journal. – 2025. – Vol. 9. – № 3. – P. 376-390.
233. Ranjan A. Nature's Antimicrobial Arsenal: Non-Ribosomal Peptides from PGPB for Plant Pathogen Biocontrol / A. Ranjan, V.D. Rajput, E.V. Prazdnova [*et al.*] // Fermentation. – 2023. – Vol. 9. – № 7. – P. 597.
234. Rashmi I. Organic and Inorganic Fertilizer Contaminants in Agriculture: Impact on Soil and Water Resources / I. Rashmi, T. Roy, K.S. Kartika [*et al.*] // Contaminants in Agriculture: Sources, Impacts and Management / eds. M. Naeem, A.A. Ansari, S.S. Gill. – Cham: Springer International Publishing, 2020. – P. 3-41.
235. Ray S. A Thorough Comprehension of Host Endophytic Interaction Entailing the Biospherical Benefits: A Metabolomic Perspective / S. Ray, J. Singh, R.S. Rajput [*et al.*] // Endophytes and Secondary Metabolites / DOI: 10.1007/978-3-319-76900-4_16-1. – Springer, Cham, 2019. – P. 1-19.
236. Reed L. The Recent Use of Plant-Growth-Promoting Bacteria to Promote the Growth of Agricultural Food Crops / L. Reed, B.R. Glick // Agriculture. – 2023. – Vol. 13. – № 5. – P. 1089.
237. Reinhold-Hurek B. An endoglucanase is involved in infection of rice roots by the not-cellulose-metabolizing endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72 / B. Reinhold-Hurek, T. Maes, S. Gemmer [*et al.*] // Molecular Plant-Microbe Interactions. – 2006. – Vol. 19. – № 2. – P. 181-188.
238. Sabra A. Grape bioactive molecules, and the potential health benefits in reducing the risk of heart diseases / A. Sabra, T. Netticadan, C. Wijekoon // Food Chemistry: X. – 2021. – Vol. 12. – P. 100149.
239. Saeed Q. Rhizosphere Bacteria in Plant Growth Promotion, Biocontrol, and Bioremediation of Contaminated Sites: A Comprehensive Review of Effects and

Mechanisms / Q. Saeed, W. Xiukang, F.U. Haider [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 19. – P. 10529.

240. Safdarian M. Halophile plant growth-promoting rhizobacteria induce salt tolerance traits in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) / M. Safdarian, H. Askari, G. Nematzaden [et al.] // Pedosphere. – 2020. – Vol. 30. – № 5. – P. 684-693.

241. Saidi A. Phytohormones: plant switchers in developmental and growth stages in potato / A. Saidi, Z. Hajibarat // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. – 2021. – Vol. 19. – № 1. – P. 89.

242. Salvetti E. Whole-Metagenome-Sequencing-Based Community Profiles of *Vitis vinifera* L. cv. Corvina Berries Withered in Two Post-harvest Conditions / E. Salvetti, S. Campanaro, I. Campedelli [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2016. – Vol. 7.

243. Santoyo G. Plant growth-promoting bacterial endophytes / G. Santoyo, G. Moreno-Hagelsieb, M. del C. Orozco-Mosqueda [et al.] // Microbiological Research. – 2016. – Vol. 183. – P. 92-99.

244. Schillaci M. *Pseudomonas* and *Curtobacterium* Strains from Olive Rhizosphere Characterized and Evaluated for Plant Growth Promoting Traits / M. Schillaci, A. Raio, F. Sillo [et al.] // Plants. – 2022. – Vol. 11. – № 17. – P. 2245.

245. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation / T. Seemann // Bioinformatics. – 2014. – Vol. 30. – № 14. – P. 2068-2069.

246. Sen A. Exploring the Functional Roles of Endophytic Bacteria in Plant Stress Tolerance for Sustainable Agriculture: Diversity, Mechanisms, Applications, and Challenges / A. Sen, J. Saji, P. Faseela [et al.] // Plants. – 2026. – Vol. 15. – № 2. – P. 206.

247. Sena L. Exploring the potential of endophyte-plant interactions for improving crop sustainable yields in a changing climate / L. Sena, E. Mica, G. Valè [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2024. – Vol. 15.

248. Sepp S.-K. Global diversity and distribution of nitrogen-fixing bacteria in the soil / S.-K. Sepp, M. Vasar, J. Davison [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2023. – Vol. 14. – P. 1100235.

249. Sharma A. Plant-microbiome responses under drought stress and their metabolite-mediated interactions towards enhanced crop resilience / A. Sharma, N. Das, P. Pandey [et al.] // Current Plant Biology. – 2025. – Vol. 43. – P. 100513.
250. Shehata H.R. Bacterial endophytes from wild and ancient maize are able to suppress the fungal pathogen *Sclerotinia homoeocarpa* / H.R. Shehata, E.M. Lyons, K.S. Jordan [et al.] // Journal of Applied Microbiology. – 2016. – Vol. 120. – № 3. – P. 756-769.
251. Shi Z. Screening of high-efficiency nitrogen-fixing bacteria from the traditional Chinese medicine plant *Astragalus mongolicus* and its effect on plant growth promotion and bacterial communities in the rhizosphere / Z. Shi, X. Guo, Z. Lei [et al.] // BMC Microbiology. – 2023. – Vol. 23. – № 1. – P. 292.
252. Siddiqui T. Expression and Contributions of TRPM7 and KCa2.3/SK3 Channels to the Increased Migration and Invasion of Microglia in Anti-Inflammatory Activation States / T. Siddiqui, S. Lively, R. Ferreira [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9. – № 8. – P. e106087.
253. Silva N.M. Characterization of novel hydrocarbon-degrading *Gordonia paraffinivorans* and *Gordonia sihwensis* strains isolated from composting / N.M. Silva, A.M.S.A. de Oliveira, S. Pegorin [et al.] // PLoS ONE. – 2019. – Vol. 14. – № 4. – P. e0215396.
254. Silva R. Gluconacetobacter diazotrophicus Changes The Molecular Mechanisms of Root Development in *Oryza sativa* L. Growing Under Water Stress / R. Silva, L. Filgueiras, B. Santos [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21. – № 1. – P. 333.
255. Silvestrini G.R. Potential Use of Phosphate-Solubilizing Bacteria in Soybean Culture / G.R. Silvestrini, E.J. da Rosa, H.C. Corrêa [et al.] // AgriEngineering. – 2023. – Vol. 5. – № 3. – P. 1544-1554.
256. Simao F. A. BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs / F. A. Simão, R. M. Waterhouse, P. Ioannidis [et al.] // Bioinformatics. – 2015. – Vol. 31. – № 19. – P. 3210-3212. – DOI: 10.1093/bioinformatics/btv351.

257. Singh M.P. Plant Microbiomes: Understanding the Aboveground Benefits / M.P. Singh, P. Singh, R.K. Singh [*et al.*] // *Phytobiomes: Current Insights and Future Vistas* / eds. M.K. Solanki, P.L. Kashyap, B. Kumari. – Singapore: Springer, 2020. – P. 51-80.
258. Snoeijenbos M. Phytobiomes, the Reason Why Microbiologists and Botanists Should Work Together / M. Snoeijenbos, M. Cárdenas, M. Guevara-Suarez [*et al.*] // *Annual Plant Reviews online* / DOI: 10.1002/9781119312994.apr0699. – John Wiley & Sons, Ltd, 2019. – P. 585-618.
259. Solanki M.K. Characterization of Mycolytic Enzymes of *Bacillus* Strains and Their Bio-Protection Role Against *Rhizoctonia solani* in Tomato / M.K. Solanki, A.S. Robert, R.K. Singh [*et al.*] // *Current Microbiology*. – 2012. – Vol. 65. – № 3. – P. 330-336.
260. Soldan R. Bacterial endophytes of mangrove propagules elicit early establishment of the natural host and promote growth of cereal crops under salt stress / R. Soldan, F. Mapelli, E. Crotti [*et al.*] // *Microbiological Research*. – 2019. – Vols. 223-225. – P. 33-43.
261. Sorty A.M. Plant root exudates: Advances in belowground signaling networks, resilience, and ecosystem functioning for sustainable agriculture / A.M. Sorty, E.N. Kudjorjdie, K.K. Meena [*et al.*] // *Plant Stress*. – 2025. – Vol. 17. – P. 100907.
262. Spence C. Probiotics for Plants: Rhizospheric Microbiome and Plant Fitness / C. Spence, H. Bais // *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere* / DOI: 10.1002/9781118297674.ch67. – John Wiley & Sons, Ltd, 2013. – P. 713-721.
263. Sreekanth D. Phytohormones and plant growth regulators as sustainable modulators of salinity stress tolerance in major crops: Mechanistic insights and environmental perspectives / D. Sreekanth, C. Singh, M.K. Yadav [*et al.*] // *Plant Stress*. – 2026. – Vol. 21. – P. 101421.
264. Stępień Ł. Plant-Pathogenic *Fusarium* Species / Ł. Stępień // *Journal of Fungi*. – 2023. – Vol. 9. – № 1. – P. 13.

265. Sturz A.V. Associations of bacterial endophyte populations from red clover and potato crops with potential for beneficial allelopathy / A.V. Sturz, B.R. Christie, B.G. Matheson // Canadian Journal of Microbiology. – 1998. – Vol. 44. – № 2. – P. 162-167.
266. Sun J. OrthoVenn3: an integrated platform for exploring and visualizing orthologous data across genomes / J. Sun, F. Lu, Y. Luo [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2023. – Vol. 51. – № W1. – P. W397-W403.
267. Tanimoto E. Tall or short? Slender or thick? A plant strategy for regulating elongation growth of roots by low concentrations of gibberellin / E. Tanimoto // Annals of Botany. – 2012. – Vol. 110. – № 2. – P. 373-381.
268. Tao Y. A novel phytopathogen *Erwinia sorbitola* sp. nov., isolated from the feces of ruddy shelducks / Y. Tao, Y. Ge, J. Yang [et al.] // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2023. – Vol. 13. – P. 1109634.
269. Tara N. Combined use of Alkane-Degrading and Plant Growth-Promoting Bacteria Enhanced Phytoremediation of Diesel Contaminated soil / N. Tara, M. Afzal, T.M. Ansari [et al.] // International Journal of Phytoremediation. – 2014. – Vol. 16. – № 12. – P. 1268-1277.
270. Thilakarathne A.S. Plant Signaling Hormones and Transcription Factors: Key Regulators of Plant Responses to Growth, Development, and Stress / A.S. Thilakarathne, F. Liu, Z. Zou // Plants. – 2025. – Vol. 14. – № 7. – P. 1070.
271. Tian Q. Endophytic bacterial communities in wild rice (*Oryza officinalis*) and their plant growth-promoting effects on perennial rice / Q. Tian, Y. Gong, S. Liu [et al.] // Frontiers in Plant Science. – 2023. – Vol. 14.
272. Törönen P. PANNZER2: a rapid functional annotation web server / P. Törönen, A. Medlar, L. Holm // Nucleic Acids Research. – 2018. – Vol. 46. – № W1. – P. W84-W88. – DOI: 10.1093/nar/gky350.
273. Toumatia O. Biocontrol and plant growth promoting properties of *Streptomyces mutabilis* strain IA1 isolated from a Saharan soil on wheat seedlings and visualization of its niches of colonization / O. Toumatia, S. Compant, A. Yekkour [et al.] // South African Journal of Botany. – 2016. – Vol. 105. – P. 234-239.

274. Tripathi A. Perspectives and potential applications of endophytic microorganisms in cultivation of medicinal and aromatic plants / A. Tripathi, P. Pandey, S.N. Tripathi [*et al.*] // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 13.
275. Tsavkelova E.A. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin / E.A. Tsavkelova, T.A. Cherdyntseva, S.G. Botina [*et al.*] // *Microbiological Research*. – 2007. – Vol. 162. – № 1. – P. 69-76.
276. Tsugawa H. A lipidome atlas in MS-DIAL 4 / H. Tsugawa, K. Ikeda, M. Takahashi [*et al.*] // *Nature Biotechnology*. – 2020. – Vol. 38. – № 10. – P. 1159-1163.
277. Tu C.-K. The rice endophytic bacterium *Bacillus velezensis* LS123N provides protection against multiple pathogens and enhances rice resistance to wind with increase in yield / C.-K. Tu, W.-D. Huang, P.-H. Wang [*et al.*] // *Biological Control*. – 2024. – Vol. 192. – P. 105507.
278. Tufail M. A. Endophytic bacteria perform better than endophytic fungi in improving plant growth under drought stress: A meta-comparison spanning 12 years (2010–2021) / M. A. Tufail, M. Ayyub, M. Irfan [*et al.*] // *Physiologia Plantarum*. – 2022. – Vol. 174. – № 6. – P. e13806. – DOI: 10.1111/ppl.13806.
279. U.S. Environmental Protection Agency. Biopesticides Registration Action Document (*Pantoea agglomerans* strain C9-1) (Chemical PC Code 006470) / U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, Biopesticides and Pollution Prevention Division. – 2009. – 27 p. – URL: https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-006470_23-Apr-09.pdf.
280. Unusan N. Proanthocyanidins in grape seeds: An updated review of their health benefits and potential uses in the food industry / N. Unusan // *Journal of Functional Foods*. – 2020. – Vol. 67. – P. 103861.
281. Upadhyay A. Phenazine-1-carboxylic acid is a more important contributor to biocontrol *Fusarium oxysporum* than pyrrolnitrin in *Pseudomonas fluorescens* strain Psd / A. Upadhyay, S. Srivastava // *Microbiological Research*. – 2011. – Vol. 166. – № 4. – P. 323-335.

282. Vanderstraeten L. The Ethylene Precursor ACC Affects Early Vegetative Development Independently of Ethylene Signaling / L. Vanderstraeten, T. Depaepe, S. Bertrand [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2019. – Vol. 10.
283. Vegan: Community Ecology Package [Электронный ресурс] / J. Oksanen, F.G. Blanchet, M. Friendly [et al.] – URL: <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>. (дата обращения: 20.05.24).
284. Verhagen B. Improved Resistance Against *Botrytis cinerea* by Grapevine-Associated Bacteria that Induce a Prime Oxidative Burst and Phytoalexin Production / B. Verhagen, P. Trotel-Aziz, P. Jeandet [et al.] // *Phytopathology*®. – 2011. – Vol. 101. – № 7. – P. 768-777.
285. Wagi S. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA / S. Wagi, A. Ahmed // *PeerJ*. – 2019. – Vol. 7. – P. e7258.
286. Wang C.W. *Fusarium avenaceum*: A New Pathogen Causing Amur Grape (*Vitis amurensis*) Fruit Rot in Jilin Province, China / C.W. Wang, J. Ai, Y.X. Liu [et al.] // *Plant Disease*. – 2015. – Vol. 99. – № 6. – P. 889.
287. Wang D. *Bacillus cereus* NJ01 induces SA- and ABA-mediated immunity against bacterial pathogens through the EDS1-WRKY18 module / D. Wang, L. Wei, J. Ma [et al.] // *Cell Reports*. – 2024. – Vol. 43. – № 4.
288. Wang H. Medical Benefits and Polymer Applications of Grapes / H. Wang // *Polymers*. – 2025. – Vol. 17. – № 6. – P. 750.
289. Wang J. Alleviative effects of plant growth-promoting rhizobacteria on salt-stressed rice seedlings: mechanisms mediated by rhizosphere microbiota and root exudates / J. Wang, X. Gao, M. Yang [et al.] // *Frontiers in Plant Science*. – 2025. – Vol. 16.
290. Wang R. Sulfur Oxidation in the Acidophilic Autotrophic *Acidithiobacillus* spp. / R. Wang, J.-Q. Lin, X.-M. Liu [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2019. – Vol. 9.
291. Wang S. Role of IAA and Primary Metabolites in Two Rounds of Adventitious Root Formation in Softwood Cuttings of *Camellia sinensis* (L.) / S. Wang, G. Sun, Y. Luo [et al.] // *Agronomy*. – 2022. – Vol. 12. – № 10. – P. 2486.

292. Wang S.-Y. Biocontrol ability of phenazine-producing strains for the management of fungal plant pathogens: A review / S.-Y. Wang, X.-C. Shi, X. Chen [et al.] // *Biological Control*. – 2021. – Vol. 155. – P. 104548.
293. Wang W. At the intersection of plant growth and immunity / W. Wang, Z.-Y. Wang // *Cell host & microbe*. – 2014. – Vol. 15. – № 4. – P. 400-402.
294. Webb B. A. Sinorhizobium meliloti chemotaxis to quaternary ammonium compounds is mediated by the chemoreceptor McpX / B. A. Webb, K. Karl Compton, R. Castañeda Saldaña [et al.] // *Molecular Microbiology*. – 2017. – Vol. 103. – P. 333-346. – DOI: 10.1111/mmi.13561.
295. West E.R. The characterization and diversity of bacterial endophytes of grapevine / E.R. West, E.J. Cother, C.C. Steel [et al.] // *Canadian Journal of Microbiology*. – 2010. – Vol. 56. – № 3. – P. 209-216.
296. Wick R.R. Unicycler: Resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads / R.R. Wick, L.M. Judd, C.L. Gorrie [et al.] // *PLOS Computational Biology*. – 2017. – Vol. 13. – № 6. – P. e1005595.
297. Wickham H. Welcome to the Tidyverse / H. Wickham, M. Averick, J. Bryan [et al.] // *Journal of Open Source Software*. – 2019. – Vol. 4. – № 43. – P. 1686.
298. Wilkinson L. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis by H. WICKHAM / L. Wilkinson // *Biometrics*. – 2011. – Vol. 67. – P. 678-679.
299. Wu J. Whole genome wide expression profiles of *Vitis amurensis* grape responding to downy mildew by using Solexa sequencing technology / J. Wu, Y. Zhang, H. Zhang [et al.] // *BMC Plant Biology*. – 2010. – Vol. 10. – № 1. – P. 234.
300. Xie J. The complete chloroplast genome of *Vitis amurensis* Rupr., an economic plant to China / J. Xie, X. Guo, R. Wang [et al.] // *Mitochondrial DNA. Part B, Resources*. – 2019. – Vol. 4. – № 2. – P. 3683-3684.
301. Yamaguchi S. Gibberellin Metabolism and its Regulation / S. Yamaguchi // *Annual Review of Plant Biology*. – 2008. – Vol. 59. – P. 225-251.
302. Yang D. Transcriptome Analysis Unravels Key Factors Involved in Response to Potassium Deficiency and Feedback Regulation of K⁺ Uptake in Cotton

Roots / D. Yang, F. Li, F. Yi [*et al.*] // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 6. – P. 3133.

303. Yang J. The Crosstalks Between Jasmonic Acid and Other Plant Hormone Signaling Highlight the Involvement of Jasmonic Acid as a Core Component in Plant Response to Biotic and Abiotic Stresses / J. Yang, G. Duan, C. Li [*et al.*] // Frontiers in Plant Science. – 2019. – Vol. 10. – P. 1349.

304. Yang L. The Effect of Banana Rhizosphere Chemotaxis and Chemoattractants on *Bacillus velezensis* LG14-3 Root Colonization and Suppression of Banana *Fusarium* Wilt Disease / L. Yang, Y. Zhou, L. Guo [*et al.*] // Sustainability. – 2023. – Vol. 15. – P. 351. – DOI: 10.3390/su15010351.

305. Yang Q. Transcriptome and metabolome analyses reveal that *Bacillus subtilis* BS-Z15 lipopeptides mycosubtilin homologue mediates plant defense responses / Q. Yang, H. Zhang, J. You [*et al.*] // Frontiers in Plant Science. – 2023. – Vol. 13.

306. Yim N. The antimicrobial activity of compounds from the leaf and stem of *Vitis amurensis* against two oral pathogens / N. Yim, D.T. Ha, T.N. Trung [*et al.*] // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2010. – Vol. 20. – № 3. – P. 1165-1168.

307. Yun F. The Role of Light-Regulated Auxin Signaling in Root Development / F. Yun, H. Liu, Y. Deng [*et al.*] // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24. – № 6. – P. 5253.

308. Zaheer M.S. Cytokinin Production by *Azospirillum brasilense* Contributes to Increase in Growth, Yield, Antioxidant, and Physiological Systems of Wheat (*Triticum aestivum* L.) / M.S. Zaheer, H.H. Ali, M.A. Iqbal [*et al.*] // Frontiers in Microbiology. – 2022. – Vol. 13.

309. Zarraonaindia I. The Soil Microbiome Influences Grapevine-Associated Microbiota / I. Zarraonaindia, S.M. Owens, P. Weisenhorn [*et al.*] // mBio. – 2015. – Vol. 6. – № 2. – P. e02527-14.

310. Zhang W. Quorum Sensing Is Required for the Colony Establishment of a Plant Phyllosphere Bacterium *Rhodopseudomonas palustris* Strain GJ-22 / W. Zhang, Q. Peng, L. Chen [*et al.*] // Applied and Environmental Microbiology. – 2023. – Vol. 89. – № 6. – P. e00487-23.

311. Zhang X. Screening and characterization of endophytic *Bacillus* for biocontrol of grapevine downy mildew / X. Zhang, Y. Zhou, Y. Li [*et al.*] // Crop Protection. – 2017. – Vol. 96. – P. 173-179.

312. Zhang Z. Cultivable Endophytic Bacteria in Seeds of Dongxiang Wild Rice and Their Role in Plant-Growth Promotion / Z. Zhang, T. Liu, X. Zhang [*et al.*] // Diversity. – 2021. – Vol. 13. – № 12. – P. 665.