

МРНТИ: 68.03.07, 34.27.23, 34.27.51

Ж.Н. ЕРМЕКБАЙ¹, Е.А. ОЛЕЙНИКОВА^{1*}, М.Г. САУБЕНОВА¹, С.Т. ДАУГАЛИЕВА¹,
А.В. КЕРДЯШКИН², М.Е. ЕЛУБАЕВА¹, Г.В. КЕРДЯШКИНА¹

¹Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан

² Институт ботаники и фитоинтродукции, Алматы, Казахстан

*e-mail: elena.olejnikova@mail.ru

ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ПШЕНИЦЫ К ЗАСОЛЕНИЮ

doi: 10.53729/MV-AS.2022.04.07

Аннотация

Засоление почв является серьезной проблемой Республики Казахстан. Один из путей повышения толерантности сельскохозяйственных культур к солевому стрессу – использование сообществ эндофитных микроорганизмов, повышающих устойчивость растений к различным повреждающим воздействиям. В данной работе показано влияние эндофитов растений, произрастающих в засушливых условиях, на способность проростков пшеницы противостоять солевому стрессу. Наилучшие результаты на синтетической среде показала ассоциация из растения *Erigeron canadensis* в сочетании с эндофитным актиномицетом пшеницы, отнесенным к виду *Streptomyces curacoi*. Влияние предварительной адаптации эндофитных микроорганизмов к хлориду натрия на устойчивость растения-хозяина к засолению было показано нами впервые.

Ключевые слова: эндофиты, пшеница, солеустойчивость, адаптация, актиномицеты.

На территории Казахстана 41% почв относится к засоленным. Особенно широко они распространены в южных и центральных районах [1]. Повсеместно отмечаемые изменения климатических условий в сочетании с нерациональной деятельностью человека наносят серьезный урон растениеводству, снижая урожайность и качество производимой продукции. По приблизительному расчету ФАО около 96,5% сельскохозяйственных земель в мире подвержены абиотическим стрессам [2]. Наиболее серьезный абиотический стресс во всем мире, влияющий на рост и продуктивность растений за счет воздействия на несколько физиологических и метаболических процессов, связан с засухой и засолением. Повышение концентрации соли в том и другом случае является причиной осмотического стресса растений и роста ионной токсичности, при которых снижается скорость прорастания семян, ингибируется фотосинтез растений, теряется целостность клеточных мембран и повышается образование активных форм кислорода [3-5]. Избыточное поглощение и накопление ионов натрия и хлора в тканях растений приводит к серьезному ионному дисбалансу и функциональным нарушениям, а именно препятствует поглощению элементов, необходимых для роста и развития, таких как ионы калия, что приводит к снижению продуктивности и возможной гибели растений [6].

Ранее применяемые селекционные и трансгенные технологии повышения резистентности культурных растений, в особенности в отношении солеустойчивости, пока не увенчались окончательным успехом [7, 8]. Многочисленными исследованиями показано, что толерантность растений к солевому стрессу можно повысить с помощью экзогенных биостимуляторов, таких как ризобактерии, способствующих росту растений (PGPR) [9-12]. Они применимы к широкому кругу сельскохозяйственных культур для улучшения прорастания семян при одновременном увеличении биомассы и продуктивности растений [13-15]. Большинство PGPR включают различные штаммы видов *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas* и *Rhizobium* [16, 17]. Однако защитные свойства PGPR не безграничны и с увеличением засоления теряют свойства стимуляции роста растений [18].

В комплексной борьбе с повреждающим воздействием таких абиотических факторов как засуха, засоление, а также низкая или высокая температура, стресс, связанный с тяжелыми металлами, наряду с традиционными способами использования более устойчивых сортов культурных растений все большее значение приобретает применение эндофитов – сообществ микроорганизмов, колонизирующих растения и повышающих их способность противостоять различным повреждающим воздействиям [19-25]. Показано, что эндофитные актиномицеты могут выполнять функции стимулирующих рост растений микроорганизмов за счет разнообразных механизмов воздействия [26-28].

Непосредственное влияние эндофитных микроорганизмов на солеустойчивость растений еще крайне слабо исследовано. Однако, имеются данные о облегчении солевого стресса у растений томата с помощью галотолерантного актиномицета [29]. Qin и соавторами [30] показано, что эндофитные актиномицеты вносят вклад в устойчивость галофитного растения *Limonium sinense*. Выявлено также, что колонизация пшеницы эндофитными актиномицетами происходит на самых ранних стадиях развития [31], что может быть полезным при предпосевной обработке семян.

В данной работе выделены эндофитные актиномицеты пшеницы и исследовано влияние эндофитных микроорганизмов, выделенных из различных растений в условиях засухи, на способность проростков пшеницы противостоять солевому стрессу. Исходя из предыдущего опыта работы в области повышения устойчивости микроорганизмов путем адаптации к солевому стрессу [32], сделано также предположение о возможности влияния предварительной адаптации эндофитных микроорганизмов к солевому стрессу на солеустойчивость растений-хозяев.

Объекты и методы исследования

В работе использовали ранее выделенные ассоциации ОЖ-Ра и ОЖП эндофитных микроорганизмов из засухоустойчивых растений мелколепестник канадский *Erigeron canadensis* и горец птичий *Polygonum aviculare*, обитающих в пределах г. Алматы и показавших ранее положительное влияние на рост пшеницы в лабораторных условиях засухи [33].

Эндофитные микроорганизмы выделяли из растений пшеницы (*Triticum aestivum*) после 30-дневного культивирования в лабораторных условиях атмосферной засухи (начиная с 10 дня от засева) на почве, отобранной за пределами г. Алматы вблизи полей с посевами злаковых культур. Для выделения эндофитов корни и стебли растений тщательно отмывали, ополаскивали стерильной водопроводной водой, разрезали на кусочки размером около 1 см, обрабатывали последовательно 70% этанолом, гипохлоритом натрия и снова 70% этанолом, затем трехкратно отмывали в стерильной водопроводной воде. Далее кусочки стебля и корня отдельно растирали в ступке, добавляли 1 мл стерильной воды и высевали на смесь сред (1:1): мясо-пептонный агар (Nutrient agar, TM-Media, India) и Сабуро (г/л: глюкоза 40,0; пептон 10,0; агар-агар 20,0). Для контроля часть цельных обработанных кусочков стебля и корня раскладывали на поверхность среды в чашках Петри, а также производили высеивание воды из последнего промывания. Посевы культивировали при 30°C в течение 48 ч. Изолированные актиномицеты в дальнейшем поддерживали на среде для культивирования актиномицетов (TM Media, Индия).

Для молекулярно-генетической идентификации актиномицетов проводили секвенирование 16S рРНК по Сэнгеру. Для филогенетического дерева использовали последовательности референтных штаммов Международной базы данных Blast NCBI. Построение дерева производили в программе Mega 11 с выравниванием последовательностей по ClustalW.

Для обработки семян пшеницы использовали ассоциации микроорганизмов ОЖ-Ра из *P. aviculare*, ОЖП из *E. canadensis* и изолированные актиномицеты. Составляющие микроорганизмы также дополнительно адаптировали к хлориду натрия путем последовательных пересевов на оптимальную среду с добавлением 2% NaCl. Влияние

каждой ассоциации исследовали с использованием неадаптированных и адаптированных микроорганизмов.

Для получения ассоциаций использовали равные соотношения составляющих микроорганизмов. Семена пшеницы сортировали и отбирали семена одного размера. На один вариант опыта использовали 2 чашки Петри по 15 семян. Семена равномерно смачивали 1 мл суспензии клеток (10^7 КОЕ/мл по стандарту мутности Мак-Фарланда) в стерильной водопроводной воде и раскладывали на поверхности подготовленной среды Ковровцева с добавлением хлорида натрия (г/л: NaCl 10,0; MgSO₄ 1,0; K₂HPO₄ 1,0; CaHPO₄ 0,2; агар-агар 6,0; вода водопроводная). В контроле использовали 1 мл стерильной водопроводной воды. Культивировали при 30 °С. Через 3 суток после посева учитывали количество проросших семян и количество корешков. Через 7 суток измеряли длину стебля и максимальную длину корня.

Статистическую обработку данных проводили в программе Excel с использованием однофакторного дисперсионного анализа ANOVA и апостериорных тестов. Для сравнения средних значений по отношению к контролю использовали критерий Даннетта [34, 35], для попарных сравнений между обработкой адаптированными и неадаптированными вариантами различных ассоциаций использовали тест Стьюдента. Статистически достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Из корней пшеницы, культивировавшейся в условиях атмосферной засухи выделено несколько изолятов актиномицетов, продуцирующих бурый пигмент в среду. Среди них отобрано два изолята, наиболее различающихся по степени продукции пигмента в среду: Wh и 1zh2. Проведена молекулярно-генетическая идентификация отобранных штаммов. Филогенетическое древо эндофитных актиномицетов пшеницы приведено на рисунке 1.

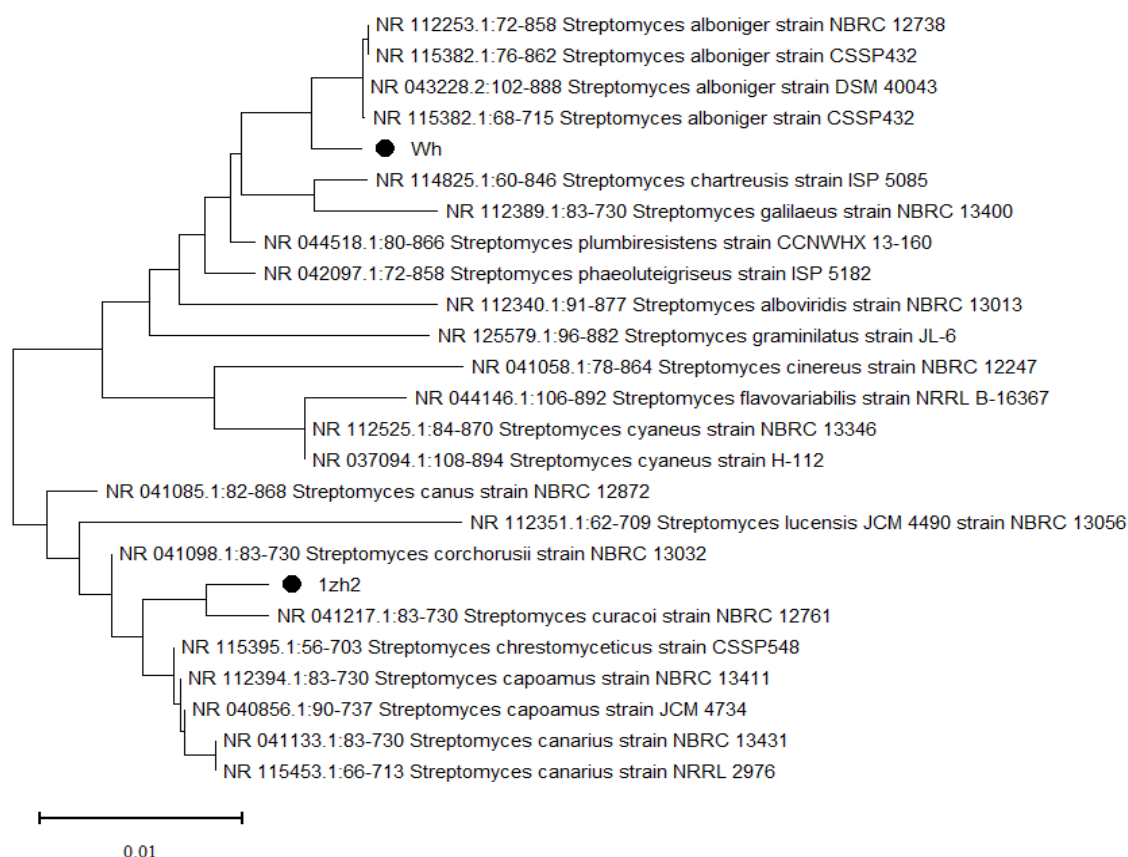


Рисунок 1 – Филогенетическое древо эндофитных актиномицетов пшеницы, культивировавшейся в засушливых условиях

Степень гомологии последовательности нуклеотидов изолята 1zh2 с ближайшим штаммом NR 041217.1:83-730 *Streptomyces curacoii* strain NBRC 12761 составила 99,38%, а изолята Wh с ближайшим штаммом NR 043228.2:102-888 *Streptomyces alboniger* strain DSM 40043–99,37%. На основании полученных результатов, эндофитные актиномицеты идентифицированы как *S. curacoii* 1zh2 и *S. alboniger* Wh.

Выделенные актиномицеты были использованы совместно с ассоциациями эндофитных микроорганизмов *E. canadensis* и *P. aviculare* для предпосевной обработки семян пшеницы при культивировании на среде с повышенным содержанием хлорида натрия. Таблицы 1 и 2 показывают данные по влиянию предпосевной обработки семян пшеницы ассоциациями микроорганизмов, в том числе адаптированными к повышенной концентрации хлорида натрия.

Таблица 1 – Показатели прорастания семян пшеницы (через 3 суток) на среде Ковровцева с добавлением 1% хлорида натрия

Ассоциация	Вариант	Количество семян с проростком стебля, %	Среднее количество корней, шт.
Контроль	Без обработки	53	0,9±0,2
ОЖ-Ра	Неадаптированные	87	1,5±0,2
	Адаптированные к NaCl	87	1,8±0,2*
ОЖП	Неадаптированные	97	2,3±0,2**
	Адаптированные к NaCl	93	2,0±0,4*
ОЖП + <i>S. alboniger</i> Wh	Неадаптированные	93	2,1±0,2**
	Адаптированные к NaCl	100	2,0±0,2**
ОЖП + <i>S. curacoii</i> 1zh2	Неадаптированные	83	1,6±0,2
	Адаптированные к NaCl*	94	2,3±0,2**

Примечание – ОЖ-Ра - консорциум эндофитных микроорганизмов из *P. aviculare*; ОЖП - консорциум эндофитных микроорганизмов из *E. canadensis*; * отклонение относительно контроля достоверно при $p < 0,05$; ** при $p < 0,01$; *в графе «Вариант» означает статистически достоверное отличие относительно неадаптированного варианта.

Таблица 2 – Показатели развития проростков пшеницы (через 7 суток) на среде Ковровцева с добавлением 1% хлорида натрия

Ассоциация	Вариант	Количество растений в % относительно засева	Средняя длина корня, мм	Средняя длина стебля, мм
Контроль	Без обработки	37	-	3,9±0,4
ОЖ-Ра	Неадаптированные	27	2,6±0,2	3,6±0,4
	Адаптированные к NaCl	27	2,2±0,2	3,3±0,6
ОЖП	Неадаптированные	50	4,8*±0,2	5,6*±0,5
	Адаптированные к NaCl	40	3,9±0,3	5,5±0,7
ОЖП + <i>S. alboniger</i> Wh	Неадаптированные	37	3,6±0,3	4,4±0,4
	Адаптированные к NaCl	23	3,1±0,3	3,1±0,6
ОЖП + <i>S. curacoii</i> 1zh2	Неадаптированные	50	3,6±0,3	3,4±0,5
	Адаптированные к NaCl	60	4,4*±0,2	6,2*±0,2

Примечание – ОЖ-Ра - консорциум эндофитных микроорганизмов из *P. aviculare*; ОЖП - консорциум эндофитных микроорганизмов из *E. canadensis*; “-” невозможно измерить из-за распространения грибковой инфекции; * отклонение относительно неадаптированного варианта достоверно при $p < 0,05$.

Приведенные в таблице 1 данные показывают, что обработанные эндофитными микроорганизмами семена быстрее прорастают на среде с добавлением 1% хлорида натрия

в сравнении с необработанным контролем. Уже через 3 суток после засева отмечается различие в количестве проросших семян и длине корешков пшеницы.

Через 7 суток (таблица 2) выживаемость в контроле составила 37% по отношению к количеству засеянных семян, а в варианте с обработкой адаптированными к хлориду натрия микроорганизмами ассоциации из *E. canadensis*, включающей *S. curacoï* 1zh2, - 60%. Значительное влияние на полученные результаты оказало распространение грибковых заболеваний пшеницы (рисунок 2). Отсутствие грибкового поражения в варианте с обработкой эндофитными микроорганизмами позволяет предположить также наличие у них противогрибковой активности. Однако для подтверждения этого предположения необходимо отдельное исследование.

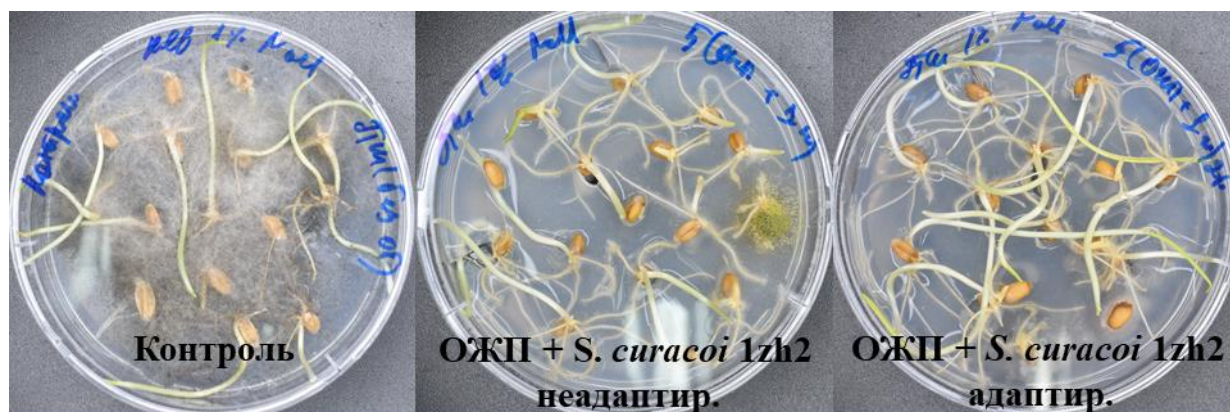


Рисунок 2 – Влияние эндофитных микроорганизмов и их адаптации к хлориду натрия на солеустойчивость проростков пшеницы

Наилучшие результаты по способности проростков пшеницы противостоять солевому стрессу были отмечены в варианте с ассоциацией ОЖП микроорганизмов из *E. canadensis*, и актиномицетом *S. curacoï* 1zh2. Ассоциация ОЖП показала хорошие результаты по длине корней и проростков также при отсутствии в составе *S. curacoï* 1zh2 и использовании неадаптированных вариантов. Предварительное культивирование на среде с 1% NaCl, напротив, несколько снизило выживаемость и не показало статистически достоверных отличий в сравнении с контролем. Указанное отличие может объясняться тем, что основной вклад в защиту растений от солевого стресса в данной ассоциации вносит именно культура актиномицета. Этот вывод подтверждается отсутствием положительного эффекта при использовании *S. alboniger* Wh. Ассоциация ОЖ-Ра из *P. aviculare* также не оказывала защитного действия при солевом стрессе.

Заключение

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о способности ассоциаций эндофитных микроорганизмов смягчать воздействие солевого стресса на растения пшеницы.

Проведенное исследование также расширяет сведения об эндофитной микробиоте пшеницы и влиянии эндофитных микроорганизмов на устойчивость к солевому стрессу. В литературе имеются сведения о доминировании в корнях риса эндофитных актинобактерий, относящихся к виду *S. alboniger* [36], а также о выделении из различных частей растений пшеницы разнообразных актинобактерий, способных к стимуляции роста и защите от фитопатогенных грибов [37-39]. Yandigeri и соавторами было показано, что эндофитные актинобактерии могут защищать растения пшеницы в условиях водного стресса [40]. Указания о выделении и использовании *S. curacoï* для защиты пшеницы от солевого стресса не найдены в доступной научной литературе.

Влияние предварительной адаптации эндофитных микроорганизмов к хлориду натрия на устойчивость растения-хозяина к засолению было показано нами впервые.

Результаты исследования будут использованы для дальнейшей разработки препарата, способствующего выживанию растений в условиях засоления. Это поможет как избежать отрицательного воздействия вторичного засоления, так и расширить в будущем перечень используемых для растениеводства почв.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке КН МНВО РК (грант № AP09258751).

Литература:

- 1 Исанова Г.Т., Абудувайли Ц., Мамутов Ж.У., Калдыбаев А.А., Сапаров Г.А., Базарбаева Т.А. Засоленные почвы и определение провинции соленакопления на территории Казахстана // Аридные экосистемы. – 2017. – Т. 23, № 4(73). – С. 35-43. <https://cyberleninka.ru/article/n/zasolennye-pochvy-i-opredelenie-provintsii-solenakopleniya-na-territorii-kazahstana>
- 2 Cramer G.R., Urano K., Delrot S., Pezzotti M., Shinozaki K. Effects of abiotic stress on plants: A systems biology perspective // BMC Plant Biol. – 2011. – Vol. 11. – Art.ID 163(2011). <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-163>
- 3 Greenberg B.M., Huang X.D., Gerwing P., Yu X.M., Chang P., Wu S.S., Gerhardt K., Nykamp J., Yu X., Glick B., Gerwing P. Phytoremediation of salt impacted soils: greenhouse and the field trials of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth and salt phytoaccumulation // Proceeding of the 33rd AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response. - Ottawa: Environment, 2008. – P. 627–637.
- 4 Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance // Annu Rev Plant Biol. – 2008. – Vol. 59. – P. 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- 5 Xu Z., Jiang Y., Jia B., Zhou G. Elevated-CO₂ response of stomata and its dependence on environmental factors // Front Plant Sci. – 2016. – Vol. 7. - Art. ID 657. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00657>
- 6 Shah A.N., Tanveer M., Abbas A., Fahad S., Baloch M.S., Ahmad M.I., Saud S., Song Y. Targeting salt stress coping mechanisms for stress tolerance in Brassica: a research perspective // Plant Physiol. Biochem. - 2021. – Vol. 158. – P. 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.044>
- 7 Phang T.H., Shao G.H., Lam H.M. Salt tolerance in soybean // J. Integr. Plant Biol. – 2008. – Vol. 50. – P. 1196–1212. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00760.x>
- 8 Zou P., Li K.C., Liu S., Xing R.G., Qin Y.K., Yu H.H., Zhou M., Li P. Effect of chitooligosaccharides with different degrees of acetylation on wheat seedlings under salt stress // Carbohydr. Polym. – 2015. – Vol. 126. – P. 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.028>
- 9 Zou P., Lu X., Jing C., Yuan Y., Lu Y., Zhang C., Meng L., Zhao H., Li Y. Low-molecular-weight polysaccharides from *Pyropia yezoensis* enhance tolerance of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) to salt stress // Front. Plant Sci. - 2018. – Vol. 9. – Art. ID 427. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00427>
- 10 Upadhyay S.K., Singh D.P. Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment // Plant Biol. (Stuttg). – 2015. – Vol. 17, Issue 1. – P. 288–293. <https://doi.org/10.1111/plb.12173>
- 11 Li L., Li L., Wang X., Zhu P., Wu H., Qi S. Plant growth-promoting endophyte *Piriformospora indica* alleviates salinity stress in *Medicago truncatula* // Plant Physiol. Biochem. - 2017. – Vol. 119. – P. 211–223. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.08.029>
- 12 Habib S.H., Kausar H., Saud H.M. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes // Biomed. Res. Int. – 2016. – Vol. 2016. - Art. ID 6284547. <https://doi.org/10.1155/2016/6284547>
- 13 Paré P.W., Zhang H.M., Aziz M., Xie X.T., Kim M.S., Shen X. Beneficial rhizobacteria induce plant growth: mapping signaling networks in *Arabidopsis* // Biocommun. Soil Microorg. Soil Biol. – 2011. – Vol. 23. – P. 403–412. https://doi.org/10.1007/978-3-642-14512-4_15
- 14 Bhattacharyya P.N., Jha D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2012. – Vol. 28, Issue 4. – P. 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>

- 15 Chung E.J., Hossain M.T., Khan A., Kim K.H., Jeon C.O., Chung Y.R. *Bacillus oryzicola* sp. nov., an endophytic bacterium isolated from the roots of rice with antimicrobial, plant growth promoting, and systemic resistance inducing activities in rice // *Plant Pathol.* – 2015. – Vol. 31, Issue 2. – P. 152–164. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.12.2014.0136>
- 16 Hamdia A.B.E., Shaddad M.A.K., Doaa M.M. Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions // *Plant Growth Regul.* – 2004. – Vol. 44, Issue 2. – P. 165–174. <https://doi.org/10.1023/B:GROW.0000049414.03099.9b>
- 17 Bharti N., Pandey S.S., Barnawal D., Patel V.K., Kalra A. Plant growth promoting rhizobacteria *Dietzia natronolimnaea* modulates the expression of stress responsive genes providing protection of wheat from salinity stress // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – Art. ID 34768. <https://doi.org/10.1038/srep34768>
- 18 Upadhyay S.K., Singh D.P. Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment // *Plant Biol. (Stuttg.)*. – 2015. – Vol. 17, Issue 1. – P. 288–293. <https://doi.org/10.1111/plb.12173>
- 19 Arora N.K., Egamberdieva D., Mehnaz S., Li W.J., Mishra I. Editorial: Salt tolerant rhizobacteria: For better productivity and remediation of saline soils // *Front. Microbiol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. ID 660075. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.660075>
- 20 Kumar A., Singh S., Gaurav A.K., Srivastava S., Verma J.P. Plant growth-promoting bacteria: Biological tools for the mitigation of salinity stress in plants // *Front Microbiol.* – 2020. – Vol. 11. – Art. ID 1216. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01216>
- 21 Verma H., Kumar D., Kumar V., Kumari M., Singh S.K., Sharma V.K., Droby S., Santoyo G., White J.F., Kumar A. The potential application of endophytes in management of stress from drought and salinity in crop plants // *Microorganisms.* – 2021. – Vol. 9. – Art. ID 1729. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081729>
- 22 Moghaddam M.S.H., Safaie N., Soltani J., Hagh-Doust N. Desert-adapted fungal endophytes induce salinity and drought stress resistance in model crops // *Plant Physiol. Biochem.* – 2021. – Vol. 160. – P. 225–238. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.022>
- 23 Mbinda W., Mukami A. A review of recent advances and future directions in the management of salinity stress in Finger Millet // *Frontiers in Plant Science.* – 2021. – Vol. 12. – Art. ID 734798. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.734798>
- 24 Ahluwalia O., Singh P.C., Bhatia R. A review on drought stress in plants: Implications, mitigation and the role of plant growth promoting rhizobacteria // *Resources, Environment and Sustainability.* – 2021. – Volume 5. – Art. ID 100032. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2021.100032>
- 25 Mishra P., Mishra J., Arora N.K. Plant growth promoting bacteria for combating salinity stress in plants - Recent developments and prospects: A review // *Microbiol Res.* – 2021. – Vol. 252. – Art. ID 126861. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126861>
- 26 Adeleke B.S., Babalola O.O., Glick B.R. Plant growth-promoting root-colonizing bacterial endophytes // *Rhizosphere.* – 2021. – Vol. 20. – Art. ID 100433. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100433>
- 27 Afzal I., Shinwari Z.K., Sikandar S., Shahzad S. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants // *Microbiological Research.* – 2019. – Vol. 221. – P. 36–49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>
- 28 Yadav K.K., Shrivastava N., Solanki A.C., Upadhyay S., Trivedi M. Actinobacteria interventions in plant and environment fitness // In: *Microbiomes and Plant Health.* – London: Academic Press, 2021. – P. 397–427. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819715-8.00014-8>
- 29 Gong Y., Chen L.J., Pan S.Y., Li X.W., Xu M.J., Zhang C.M., Xing K., Qin S. Antifungal potential evaluation and alleviation of salt stress in tomato seedlings by a halotolerant plant growth-promoting actinomycete *Streptomyces* sp. KLBMP5084 // *Rhizosphere.* – 2020. – Vol. 16. – Art. ID 100262. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100262>
- 30 Qin S., Feng W.W., Wang T.T., Ding P., Xing K., Jiang J.H. Plant growth-promoting effect and genomic analysis of the beneficial endophyte *Streptomyces* sp. KLBMP 5084 isolated from halophyte *Limonium sinense* // *Plant Soil.* – 2017. – Vol. 416. – P. 117–132. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3192-2>
- 31 Coombs J.T., Franco C.M. Visualization of an endophytic *Streptomyces* species in wheat seed // *Appl Environ Microbiol.* – 2003. – Vol. 69, Issue 7. – P. 4260–4262. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.7.4260-4262.2003>

- 32 Саубенова М.Г. Полисахариды дрожжевых организмов. – Алма-Ата: «Наука» КазССР, 1976. – 112 с.
- 33 Олейникова Е.А., Ермекбай Ж.Е., Кердяшкин А.В., Алыбаева А.Ж., Амангелді А.А., Чижаева А.В., Саубенова М.Г., Кердяшкина Г.В., Елубаева М.Е. Эндоефитные микроорганизмы, повышающие устойчивость пшеницы к засухе // Микробиология және вирусология. – 2022. – №1(36). – С. 94-112. <https://doi.org/10.53729/MV-AS.2022.01.06>
- 34 Lee S., Lee D.K. What is the proper way to apply the multiple comparison test? // Korean J Anesthesiol. – 2018. – Vol. 71, Issue 5. – P. 353-360. <https://doi.org/10.4097/kja.d.18.00242>.
- 35 Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 458 с.
- 36 Mahyarudin, Rusmana I., Lestari Y. Metagenomic of *Actinomyces* Based on 16S rRNA and nifH genes in soil and roots of four indonesian rice cultivars using PCR-DGGE // HAYATI Journal of Biosciences. – 2015. – Vol. 22, Issue 3. – P. 113-121. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2015.10.001>
- 37 Gangwar M., Sheela Rani, Sharma N. Diversity of endophytic Actinomycetes from wheat and its potential as plant growth promoting and biocontrol agents // Journal of Advanced Laboratory Research in Biology. – 2012. – Vol. 3, Issue 1. – P. 13-16. <https://core.ac.uk/download/pdf/188610104.pdf>
- 38 Deng S., Liu Y., Deng Z., Huang Y. Isolation of actinobacterial endophytes from wheat sprouts as biocontrol agents to control seed pathogenic fungi // Archives of Microbiology. – 2021. – Vol. 203, Issue 10. – P. 6163 – 6171. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02581-3>
- 39 Al-Askar A.A. Endophytic *Streptomyces olivaceiscleroticus* Endo-1: Biocontrol agent and growth promoter of wheat // Journal of Pure and Applied Microbiology. – 2014. – Vol. 8, Issue 1. – P. 307-317.
- 40 Yandigeri M.S., Meena K.K., Singh D., Malviya N., Singh D.P., Solanki M.K., Yadav A.K., Arora D.K. Drought-tolerant endophytic actinobacteria promote growth of wheat (*Triticum aestivum*) under water stress conditions // Plant Growth Regulation. – 2012. – Vol. 68, Issue 3. – P. 411-420. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9730-2>

Ж.Н. ЕРМЕКБАЙ¹, Е.А. ОЛЕЙНИКОВА^{1*}, М.Г. САУБЕНОВА¹, С.Т. ДАУГАЛИЕВА¹,
А.В. КЕРДЯШКИН², М.Е. ЕЛУБАЕВА¹, Г.В. КЕРДЯШКИНА¹

¹ Микробиология және вирусология ғылыми - өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан

² Ботаника және фитоинтродукция институты, Алматы, Қазақстан

*e-mail: elena.olejnikova@mail.ru

ЭНДОФИТТИ МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ БИДАЙДЫҢ ТҮЗДАНУ ТӨЗІМДІЛІГІНЕ ӘСЕРІ

Түйін

Топырақтың тұздануы Қазақстан Республикасының күрделі проблемасы болып табылады. Дақылдардың тұздану стрессіне төзімділігін арттырудың бір жолы-өсімдіктердің әртүрлі зақымдайтын әсерлерге төзімділігін арттыратын эндофитті микроорганизмдер қауымдастығын пайдалану. Бұл жұмыста құрғақ жағдайда өсетін өсімдіктердің эндофиттерінің бидай көшеттерінің тұздану стрессіне төтеп беру қабілетіне әсерін көрсетеді. Синтетикалық ортадағы ең жақсы нәтижелерді *Erigeron canadensis* өсімдігінің *Streptomyces curacoii* түріне жататын бидайдың эндофитті актиномицетімен біріктірілген ассоциациясы көрсетті. Алдын ала натрий хлоридіне бейімделіп алынған эндофитті микроорганизмдердің негізгі өсімдіктің тұздануға төзімділік әсерін алғаш көрсеттік.

Кілтті сөздер: эндофиттер, бидай, тұзға төзімділік, бейімделу, актиномицеттер.

IRSTI: 68.03.07, 34.27.23, 34.27.51

Zh.N. YERMEKBAY¹, Ye.A. OLENIKOVA^{1*}, M.G. SAUBENOVA¹,
S.T. DAUGALIYEVA¹, A.V. KERDYASHKIN², M.Y. YELUBAEVA¹,
G.V. KERDYASHKINA¹

¹Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan

²Institute of Botany and Phytointroduction, Almaty, Kazakhstan

*e-mail: elena.olejnikova@mail.ru

INFLUENCE OF ENDOPHYTIC MICROORGANISMS ON WHEAT RESISTANCE TO SALINITY

doi: 10.53729/MV-AS.2022.04.07

Abstract

Soil salinization is a serious problem in the Republic of Kazakhstan. One of the ways to increase the tolerance of agricultural crops to salt stress is the use of communities of endophytic microorganisms, which increase the resistance of plants to various damaging effects. This work shows the influence of endophytes of plants growing in arid conditions on the ability of wheat seedlings to withstand salt stress. The best results on a synthetic medium were shown by an association from the plant *Erigeron canadensis* in combination with an endophytic wheat actinomycete assigned to the species *Streptomyces curacoi*. The influence of the preliminary adaptation of endophytic microorganisms to sodium chloride on the resistance of the host plant to salinity was shown by us for the first time.

Keywords: endophytes, wheat, salt tolerance, adaptation, actinomycetes.

On the territory of Kazakhstan, 41% of the soil is saline. They are especially widespread in the southern and central regions [1]. The widespread changes in climatic conditions, combined with irrational human activities, are causing serious damage to crop production, reducing yields and the quality of products. According to a rough estimate by the FAO, about 96.5% of agricultural land in the world is subject to abiotic stresses [2]. The most serious abiotic stress worldwide affecting plant growth and productivity through effects on several physiological and metabolic processes is associated with drought and salinity. An increase in salt concentration in both cases is the cause of the osmotic stress of plants and a rise in ionic toxicity, in which the rate of seed germination decreases, plant photosynthesis is inhibited, the integrity of cell membranes is lost, and the formation of reactive oxygen species is increased [3–5]. Excessive absorption and accumulation of sodium and chloride ions in plant tissues leads to a serious ion imbalance and functional disorders, namely, it prevents the absorption of elements necessary for growth and development, such as potassium ions, which leads to a decrease in productivity and possible death of plants [6].

Previously used breeding and transgenic technologies for increasing the resistance of cultivated plants, especially with regard to salt tolerance, have not yet been crowned with final success [7, 8]. Numerous studies have shown that plant tolerance to salt stress can be increased with the help of exogenous biostimulants such as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) [9–12]. They are applicable to a wide range of crops to improve seed germination while increasing plant biomass and productivity [13–15]. Most PGPRs include various strains of *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, and *Rhizobium* species [16, 17]. However, the protective properties of PGPR are not unlimited and, with increasing salinity, they lose their properties of promoting plant growth [18].

In the complex fight against the damaging effects of such abiotic factors as drought, salinity, low or high temperature, and stress associated with heavy metals, along with the traditional methods of using more resistant varieties of cultivated plants, the application of endophytic communities of microorganisms, which colonize plants and increase their ability to withstand various damaging effects, is becoming increasingly important [19–25].

The direct influence of endophytic microorganisms on the salt tolerance of plants is still extremely poorly studied. However, there are data on the alleviation of salt stress in tomato plants with the help of a halotolerant actinomycete [29]. Qin et al. [30] showed that endophytic actinomycetes contribute to the resistance of the halophytic plant *Limonium sinense*. It was also revealed that colonization of wheat by endophytic actinomycetes occurs at the earliest stages of development [31], which can be useful in the pretreatment of seeds.

In this work, endophytic actinomycetes of wheat were isolated and the effect of endophytic microorganisms isolated from various plants under drought conditions on the ability of wheat seedlings to withstand salt stress was studied. Based on previous experience in the field of increasing the resistance of microorganisms through adaptation to salt stress [32], it was also suggested that the pre-adaptation of endophytic microorganisms to salt stress could affect the salt tolerance of host plants.

Materials and methods

Previously identified associations of ОЖ-Рa and ОЖП of endophytic microorganisms from drought-resistant plants Canadian horseweed *Erigeron canadensis* and knotweed *Polygonum aviculare* living within Almaty and showing a positive effect on wheat growth under laboratory conditions of drought [33], were used in this work.

Endophytic microorganisms were isolated from wheat plants (*Triticum aestivum*) after 30 days of cultivation under laboratory conditions of atmospheric drought (starting from the 10th day from sowing) on soil taken outside Almaty near fields with cereal crops. To isolate endophytes, plant roots and stems were thoroughly washed, rinsed with sterile tap water, cut into pieces about 1 cm in size, treated successively with 70% ethanol, sodium hypochlorite, and again with 70% ethanol, then washed three times in sterile tap water. Next, pieces of the stem and root were separately ground in a mortar, and 1 ml of sterile water was added and inoculated on a mixture of media (1:1): meat-peptone agar (Nutrient agar, TM-Media, India) and Sabouraud (g/l: glucose 40, 0; peptone 10.0; agar-agar 20.0). As a control, part of the completely processed pieces of the stem and root were laid out on the surface of the medium in Petri dishes, and the water from the last washing was seeded. The inoculations were cultured at 30°C for 48 hours. The isolated actinomycetes were subsequently maintained on an actinomycete culture medium (TM Media, India).

For molecular genetic identification of actinomycetes, 16S rRNA sequencing according to Sanger was performed. For the phylogenetic tree, the sequences of reference strains of the Blast NCBI International Database were used. The tree was constructed using the Mega 11 program with sequence alignment according to ClustalW.

For the treatment of wheat seeds, associations of microorganisms ОЖ-Рa from *P. aviculare*, ОВТ from *E. canadensis*, and isolated actinomycetes were used. The constituent microorganisms were also additionally adapted to sodium chloride by successive transfers to the optimal medium supplemented with 2% NaCl. The effect of each association was investigated using non-adapted and adapted microorganisms.

To obtain associations, equal ratios of constituent microorganisms were used. Wheat seeds were sorted and seeds of the same size were selected. For one variant of the experiment, two Petri dishes with 15 seeds each were used. Seeds were evenly moistened with 1 ml of cell suspension (107 CFU/ml according to McFarland turbidity standard) in sterile tap water and spread on the surface of the prepared Kovrovtssev medium with the addition of sodium chloride (g/l: NaCl 10.0; MgSO₄ 1.0; K₂HPO₄ 1.0; CaHPO₄ 0.2; agar-agar 6.0; tap water). One ml of sterile tap water was used as a control. Plates were cultivated at 30°C. 3 days after sowing, the number of germinated seeds and the number of roots was taken into account. After 7 days, the length of the stem and the maximum length of the root were measured.

Statistical data processing was carried out in the Excel program using one-way ANOVA analysis of variance and post hoc tests. Dunnett's test [34, 35] was used to compare mean values with respect to control; Student's t-test was used for pairwise comparisons between treatment with

adapted and non-adapted variants of various associations. Differences were considered statistically significant at $p \leq 0.05$.

Results and discussion

From the roots of wheat cultivated under conditions of atmospheric drought, several isolates of actinomycetes producing brown pigment in the medium were isolated. Among them, two isolates were selected, the most different in the degree of pigment production in the medium: Wh and 1zh2. Molecular genetic identification of the selected strains was carried out. The phylogenetic tree of wheat endophytic actinomycetes is shown in Figure 1.

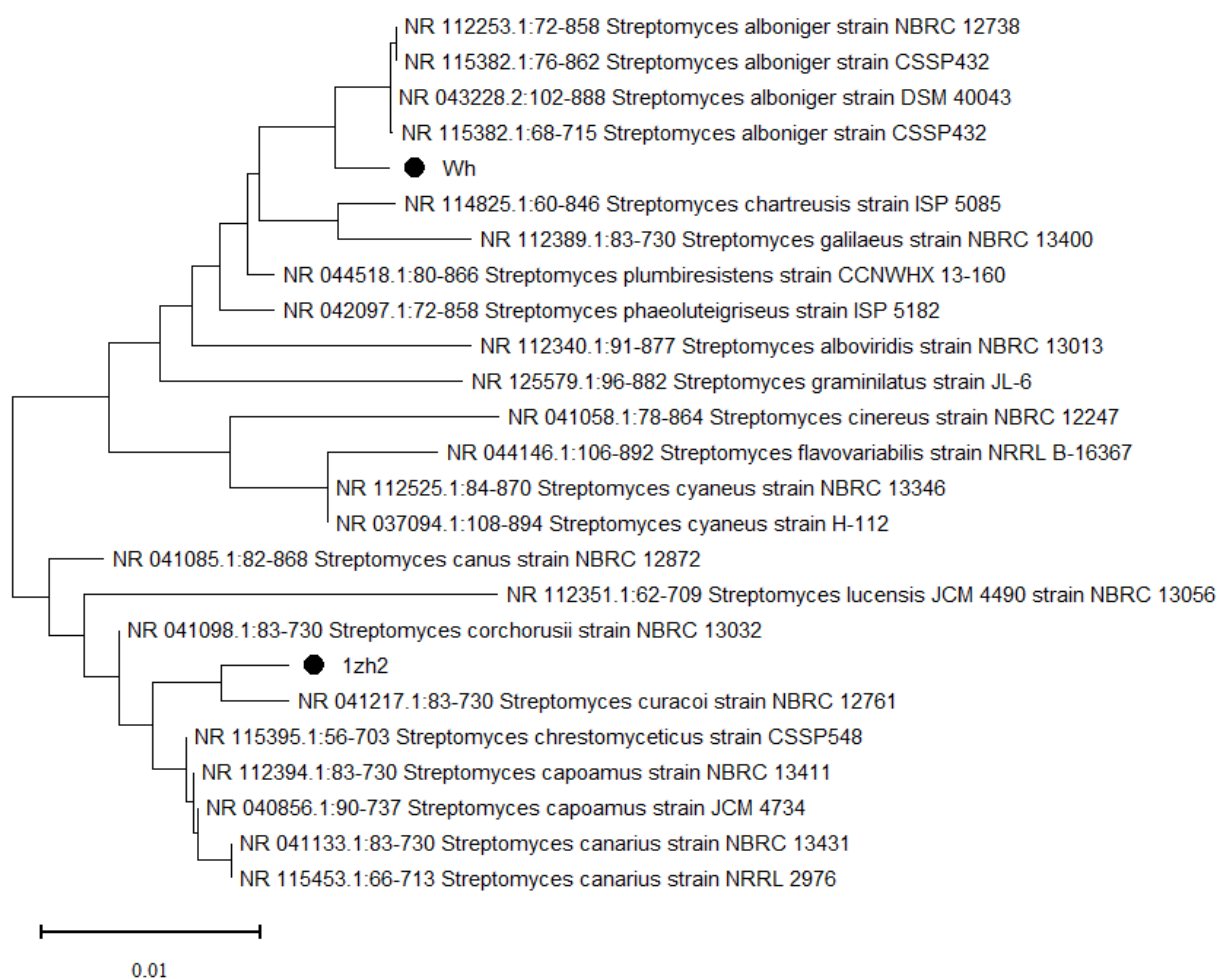


Figure 1 - Phylogenetic tree of endophytic actinomycetes of wheat cultivated in arid conditions

The degree of homology of the nucleotide sequence of the 1zh2 isolate with the closest strain NR 041217.1:83-730 *Streptomyces curacoi* NBRC 12761 was 99.38%, and that of the Wh isolate with the closest strain NR 043228.2:102-888 *Streptomyces alboniger* DSM 40043 was 99.37%. Based on the obtained results, endophytic actinomycetes were identified as *S. curacoi* 1zh2 and *S. alboniger* Wh.

The isolated actinomycetes were used together with associations of endophytic microorganisms of *E. canadensis* and *P. aviculare* for the presowing treatment of wheat seeds when cultivated on a medium with a high content of sodium chloride. Tables 1 and 2 show data on the effect of the presowing treatment of wheat seeds with associations of microorganisms, including those adapted to an increased concentration of sodium chloride.

Table 1 - Indicators of germination of wheat seeds (after 3 days) on Kovrovtssev's medium with the addition of 1% sodium chloride

Association	Variant	Number of seeds with stem sprouts, %	Average number of roots, pcs.
Control	No pretreatment	53	0.9±0,2
ОЖ-Па	Not adapted	87	1.5±0,2
	Adapted to NaCl	87	1.8±0,2*
ОЖП	Not adapted	97	2.3±0,2**
	Adapted to NaCl	93	2.0±0,4*
ОЖП + <i>S. alboniger</i> Wh	Not adapted	93	2.1±0,2**
	Adapted to NaCl	100	2.0±0,2**
ОЖП + <i>S. curaco</i> 1zh2	Not adapted	83	1.6±0,2
	Adapted to NaCl*	94	2.3±0,2**

Note - ОЖ-Па a consortium of endophytic microorganisms from *P. aviculare*; ОЖП - a consortium of endophytic microorganisms from *E. canadensis*; * deviation relative to control is significant at $p<0.05$; ** at $p<0.01$; * in the column "Variant" means a statistically significant difference relative to the non-adapted variant.

Table 2 - Indicators of the development of wheat seedlings (after 7 days) on Kovrovtssev's medium with the addition of 1% sodium chloride

Association	Variant	Number of plants relative to sowing, %	Average root length, mm	Average stem length, mm
Control	No pretreatment	37	-	3.9±0,4
ОЖ-Па	Not adapted	27	2.6±0,2	3.6±0,4
	Adapted to NaCl	27	2.2±0,2	3.3±0,6
ОЖП	Not adapted	50	4.8*±0,2	5.6*±0,5
	Adapted to NaCl	40	3.9±0,3	5.5±0,7
ОЖП + <i>S. alboniger</i> Wh	Not adapted	37	3.6±0,3	4.4±0,4
	Adapted to NaCl	23	3.1±0,3	3.1±0,6
ОЖП + <i>S. curaco</i> 1zh2	Not adapted	50	3.6±0,3	3.4±0,5
	Adapted to NaCl	60	4.4*±0,2	6.2*±0,2

Note - ОЖ-Па a consortium of endophytic microorganisms from *P. aviculare*; ОЖП - a consortium of endophytic microorganisms from *E. canadensis*; "-“ impossible to measure due to the spread of fungal infection; * the difference relative to the non-adapted variant is significant at $p<0.05$.

The data in Table 1 show that the seeds treated with endophytic microorganisms germinate faster on a medium supplemented with 1% sodium chloride compared to the untreated control. As early as 3 days after sowing, there is a difference in the number of germinated seeds and the length of wheat roots.

After 7 days (Table 2), the survival rate in the control was 37% in relation to the number of sown seeds, and in the variant with the treatment with sodium chloride-adapted microorganisms of the association from *E. canadensis*, including *S. curaco* 1zh2, - 60%. The spread of fungal diseases of wheat had a significant impact on the results obtained (Figure 2). The absence of fungal infection in the variant with treatment with endophytic microorganisms also suggests that they

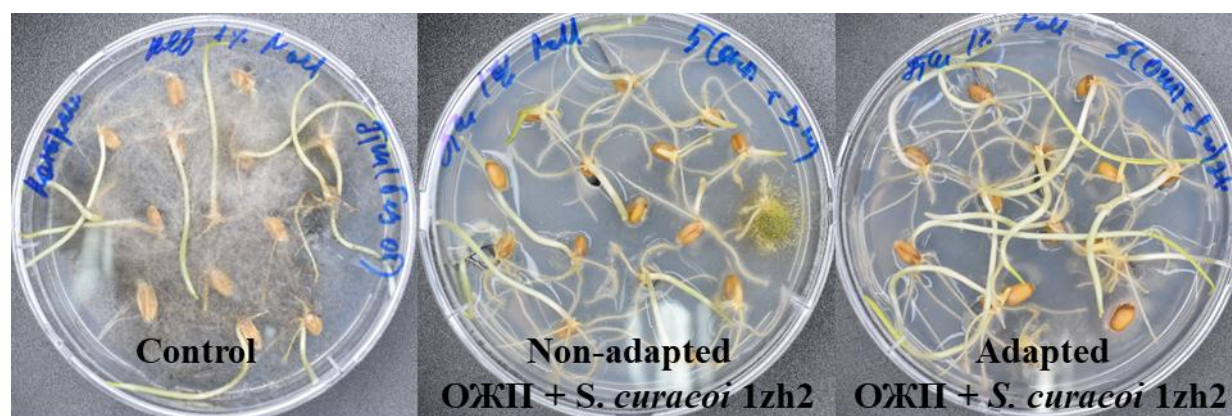


Figure 2 - The influence of endophytic microorganisms and their adaptation to sodium chloride on the salt tolerance of wheat seedlings

have antifungal activity. However, a separate study is needed to confirm this assumption.

The best results in terms of the ability of wheat seedlings to withstand salt stress were noted in the variant with the association of ОЖП microorganisms from *E. canadensis* and actinomycete *S. curacoii* 1zh2. The ОЖП association showed good results in terms of the length of roots and seedlings, also in the absence of *S. curacoii* 1zh2 and the use of unadapted variants. Pre-cultivation on a medium with 1% NaCl, on the contrary, somewhat reduced the survival rate and did not show statistically significant differences compared to the control. This difference can be explained by the fact that the main contribution to the protection of plants from salt stress in this association is made by the actinomycete culture. This conclusion is confirmed by the absence of a positive effect when using *S. alboniger* Wh. The association of ОЖ-Рa from *P. aviculare* also had no protective effect on salt stress.

Conclusion

Thus, the data obtained indicate the ability of associations of endophytic microorganisms to mitigate the impact of salt stress on wheat plants.

The study also expands the knowledge about the endophytic microbiota of wheat and the influence of endophytic microorganisms on resistance to salt stress. The literature contains data on the dominance of endophytic actinobacteria belonging to the species *S. alboniger* in rice roots [36], as well as on the isolation of various actinobacteria from various parts of wheat plants capable of stimulating growth and protecting against phytopathogenic fungi [37–39]. Yandigeri et al showed that endophytic actinobacteria could protect wheat plants under water stress conditions [40]. Information on the isolation and use of *S. curacoii* to protect wheat from salt stress was not found in the available scientific literature.

The influence of preliminary adaptation of endophytic microorganisms to sodium chloride on the resistance of the host plant to salinity was shown by us for the first time.

The results of the study will be used for the further development of a drug that promotes the survival of plants in saline conditions. This will help both avoid the negative impact of secondary salinization and expand the list of soils used for crop production in the future.

Funding

This research was funded by the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No. AP09258751).

References:

- 1 Isanova G.T., Abuduvajli C., Mamutov Zh.U., Kaldybaev A.A., Saparov G.A., Bazarbaeva T.A. Zasolennye pochvy i opredelenie provincii solenakopleniya na territorii Kazahstana. Aridnye jekosistemy. 2017. T. 23, No. 4(73). S. 35-43. <https://cyberleninka.ru/article/n/zasolennye-pochvy-i-opredelenie-provintsii-solenakopleniya-na-territorii-kazahstana>

- 2 Cramer G.R., Urano K., Delrot, S., Pezzotti M., Shinozaki K. Effects of abiotic stress on plants: A systems biology perspective. BMC Plant Biol. 2011. Vol. 11. Art.ID 163(2011). <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-163>
- 3 Greenberg B.M., Huang X.D., Gerwing P., Yu X.M., Chang P., Wu S.S., Gerhardt K., Nykamp J., Yu X., Glick B., Gerwing P. Phytoremediation of salt impacted soils: greenhouse and the field trials of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth and salt phytoaccumulation. Proceeding of the 33rd AMOP Technical Seminar on Environmental Contamination and Response. Ottawa: Environment, 2008. P. 627–637.
- 4 Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance. Annu Rev Plant Biol. 2008. Vol. 59. P. 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- 5 Xu Z., Jiang Y., Jia B., Zhou G. Elevated-CO₂ response of stomata and its dependence on environmental factors. Front Plant Sci. 2016. Vol. 7. Art. ID 657. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00657>
- 6 Shah A.N., Tanveer M., Abbas A., Fahad S., Baloch M.S., Ahmad M.I., Saud S., Song Y. Targeting salt stress coping mechanisms for stress tolerance in Brassica: a research perspective. Plant Physiol. Biochem. 2021. Vol. 158. P. 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.11.044>
- 7 Phang T.H., Shao G.H., Lam H.M. Salt tolerance in soybean. J. Integr. Plant Biol. 2008. Vol. 50. P. 1196–1212. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2008.00760.x>
- 8 Zou P., Li K.C., Liu S., Xing R.G., Qin Y.K., Yu H.H., Zhou M., Li P. Effect of chitooligosaccharides with different degrees of acetylation on wheat seedlings under salt stress. Carbohydr. Polym. 2015. Vol. 126. P. 62–69. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.03.028>
- 9 Zou P., Lu X., Jing C., Yuan Y., Lu Y., Zhang C., Meng L., Zhao H., Li Y. Low-molecular-weight polysaccharides from *pyropia yezoensis* enhance tolerance of wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) to salt stress. Front. Plant Sci. 2018. Vol. 9. Art. ID 427. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00427>
- 10 Upadhyay S.K., Singh D.P. Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment. Plant Biol. (Stuttg). 2015. Vol. 17, Issue 1. P. 288–293. <https://doi.org/10.1111/plb.12173>
- 11 Li L., Li L., Wang X., Zhu P., Wu H., Qi S. Plant growth-promoting endophyte *Piriformospora indica* alleviates salinity stress in *Medicago truncatula*. Plant Physiol. Biochem. 2017. Vol. 119. P. 211–223. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.08.029>
- 12 Habib S.H., Kausar H., Saud H.M. Plant growth-promoting rhizobacteria enhance salinity stress tolerance in okra through ROS-scavenging enzymes. Biomed. Res. Int. 2016. Vol. 2016. Art. ID 6284547. <https://doi.org/10.1155/2016/6284547>
- 13 Paré P.W., Zhang H.M., Aziz M., Xie X.T., Kim M.S., Shen X. Beneficial rhizobacteria induce plant growth: mapping signaling networks in *Arabidopsis*. Biocommun. Soil Microorg. Soil Biol. 2011. Vol. 23. P. 403–412. https://doi.org/10.1007/978-3-642-14512-4_15
- 14 Bhattacharyya P.N., Jha D.K. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. World J. Microbiol. Biotechnol. 2012. Vol. 28, Issue 4. P. 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- 15 Chung E.J., Hossain M.T., Khan A., Kim K.H., Jeon C.O., Chung Y.R. *Bacillus oryzicola* sp. nov., an endophytic bacterium isolated from the roots of rice with antimicrobial, plant growth promoting, and systemic resistance inducing activities in rice. Plant Pathol. 2015. Vol. 31, Issue 2. P. 152–164. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.12.2014.0136>
- 16 Hamdia A.B.E., Shaddad M.A.K., Doaa M.M. Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. Plant Growth Regul. 2004. Vol. 44, Issue 2. P. 165–174. <https://doi.org/10.1023/B:GROW.0000049414.03099.9b>
- 17 Bharti N., Pandey S.S., Barnawal D., Patel V.K., Kalra A. Plant growth promoting rhizobacteria *Dietzia natronolimnaea* modulates the expression of stress responsive genes providing protection of wheat from salinity stress. Sci. Rep. 2016. Vol. 6. Art. ID 34768. <https://doi.org/10.1038/srep34768>
- 18 Upadhyay S.K., Singh D.P. Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment. Plant Biol. (Stuttg). 2015. Vol. 17, Issue 1. P. 288–293. <https://doi.org/10.1111/plb.12173>
- 19 Arora N.K., Egamberdieva D., Mehnaz S., Li W.J., Mishra I. Editorial: Salt tolerant rhizobacteria: For better productivity and remediation of saline soils. Front. Microbiol. 2021. Vol. 12. Art. ID 660075. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.660075>

20 Kumar A., Singh S., Gaurav A.K., Srivastava S., Verma J.P. Plant growth-promoting bacteria: Biological tools for the mitigation of salinity stress in plants. *Front Microbiol.* 2020. Vol. 11. Art. ID 1216. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01216>

21 Verma H., Kumar D., Kumar V., Kumari M., Singh S.K., Sharma V.K., Droby S., Santoyo G., White J.F., Kumar A. The potential application of endophytes in management of stress from drought and salinity in crop plants. *Microorganisms.* 2021. Vol. 9. Art. ID 1729. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081729>

22 Moghaddam M.S.H., Safaie N., Soltani J., Hagh-Doust N. Desert-adapted fungal endophytes induce salinity and drought stress resistance in model crops. *Plant Physiol. Biochem.* 2021. Vol. 160. P. 225–238. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.022>

23 Mbinda W., Mukami A. A review of recent advances and future directions in the management of salinity stress in Finger Millet. *Frontiers in Plant Science.* 2021. Vol. 12. Art. ID 734798. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.734798>

24 Ahluwalia O., Singh P.C., Bhatia R. A review on drought stress in plants: Implications, mitigation and the role of plant growth promoting rhizobacteria. *Resources, Environment and Sustainability.* 2021. Volume 5. Art. ID 100032. <https://doi.org/10.1016/j.resenv.2021.100032>

25 Mishra P., Mishra J., Arora N.K. Plant growth promoting bacteria for combating salinity stress in plants - Recent developments and prospects: A review. *Microbiol Res.* 2021. Vol. 252. Art. ID 126861. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126861>

26 Adeleke B.S., Babalola O.O., Glick B.R. Plant growth-promoting root-colonizing bacterial endophytes. *Rhizosphere.* 2021. Vol. 20. Art. ID 100433. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100433>

27 Afzal I., Shinwari Z.K., Sikandar S., Shahzad S. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research.* 2019. Vol. 221. P. 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>

28 Yadav K.K., Shrivastava N., Solanki A.C., Upadhyay S., Trivedi M. Actinobacteria interventions in plant and environment fitness. In: *Microbiomes and Plant Health.* – London: Academic Press, 2021. P. 397-427. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819715-8.00014-8>

29 Gong Y., Chen L.J., Pan S.Y., Li X.W., Xu M.J., Zhang C.M., Xing K., Qin S. Antifungal potential evaluation and alleviation of salt stress in tomato seedlings by a halotolerant plant growth-promoting actinomycete *Streptomyces* sp. KLBMP5084. *Rhizosphere.* 2020. Vol. 16. Art. ID 100262. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2020.100262>

30 Qin S., Feng W.W., Wang T.T., Ding P., Xing K., Jiang J.H. Plant growth-promoting effect and genomic analysis of the beneficial endophyte *Streptomyces* sp. KLBMP 5084 isolated from halophyte *Limonium sinense*. *Plant Soil.* 2017. Vol. 416. P. 117–132. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3192-2>

31 Coombs J.T., Franco C.M. Visualization of an endophytic *Streptomyces* species in wheat seed. *Appl Environ Microbiol.* 2003. Vol. 69, Issue 7. P. 4260-4262. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.7.4260-4262.2003>

32 Saubenova M.G. Polisaharidy drozhzhevyh organizmov. Alma-Ata: «Nauka» KazSSR, 1976. 112 s.

33 Oleinikova Y.A., Yermekbay Z.N., Kerdyashkin A.V., Alybayeva A.Z., Amangeldi A.A., Chizhayeva A.V., Saubenova M.G., Kerdyashkina G.V., Yelubaeva M.Y. Endophytic microorganisms increasing wheat resistance to drought. *Microbiology and Virology.* 2022. No. 1(36). S. 94-112. <https://doi.org/10.53729/MV-AS.2022.01.06>

34 Lee S., Lee D.K. What is the proper way to apply the multiple comparison test? *Korean J Anesthesiol.* 2018. Vol. 71, Issue 5. P. 353-360. <https://doi.org/10.4097/kja.d.18.00242>

35 Glanc S. *Mediko-biologicheskaja statistika.* M.: Praktika, 1999. 458 s.

36 Mahyarudin, Rusmana I., Lestari Y. Metagenomic of *Actinomycetes* Based on 16S rRNA and nifH genes in soil and roots of four indonesian rice cultivars using PCR-DGGE. *HAYATI Journal of Biosciences.* 2015. Vol. 22, Issue 3. P. 113-121. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2015.10.001>

37 Gangwar M., Sheela Rani, Sharma N. Diversity of endophytic Actinomycetes from wheat and its potential as plant growth promoting and biocontrol agents. *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology.* 2012. Vol. 3, Issue 1. P. 13-16. <https://core.ac.uk/download/pdf/188610104.pdf>

38 Deng S., Liu Y., Deng Z., Huang Y. Isolation of actinobacterial endophytes from wheat sprouts as biocontrol agents to control seed pathogenic fungi. *Archives of Microbiology.* 2021. Vol. 203, Issue 10. – P. 6163 – 6171. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02581-3>

39 Al-Askar A.A. Endophytic *Streptomyces olivaceiscleroticus* Endo-1: Biocontrol agent and growth promoter of wheat. Journal of Pure and Applied Microbiology. 2014. Vol. 8, Issue 1. P. 307-317.

40 Yandigeri M.S., Meena K.K., Singh D., Malviya N., Singh D.P., Solanki M.K., Yadav A.K., Arora D.K. Drought-tolerant endophytic actinobacteria promote growth of wheat (*Triticum aestivum*) under water stress conditions. Plant Growth Regulation. 2012. Vol. 68, Issue 3. P. 411-420. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9730-2>