

А.П. Колбас¹, Н.Ю. Колбас², М. Мени³

¹канд. биол. наук, доц. каф. ботаники и экологии, начальник Центра экологии
Брестского государственного университета имени А.С. Пушкина

²канд. биол. наук, доц. каф. химии

Брестского государственного университета имени А.С. Пушкина

³д-р философии (PhD), гл. науч. сотрудник лаборатории INRA BIOGECO
сообщества университетов Бордо (Франция)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ФИТОЭКСТРАКЦИИ МЕДИ ПОДСОЛНЕЧНИКОМ: 1. ВЛИЯНИЕ НА СТРУКТУРНЫЕ ПАРАМЕТРЫ

*Микроорганизмы могут повышать производство биомассы растений и их устойчивость к потенциально токсичным элементам в загрязненной среде. Эндوفитные бактерии, полученные из корней и семян устойчивых к меди популяций *Agrostis capillaris* L., были введены в растения мутантной линии подсолнечника. При использовании серии загрязненных медью почв было оценено их влияние на морфологические характеристики. Было определено влияние четырех видов обработки на следующие параметры растений: сухая биомасса подземных и надземных органов, максимальная длина стебля. Полезное влияние семенного нефильтрованного экстракта и экстракта без бактериальных клеток связано как с действием эндوفитных бактерий, так и с растворимыми биоактивными веществами и элиситорами, содержащимися в семенах и околоплоднике, таких как проантоцианидины. Предлагается практическое использование данной обработки подсолнечника для повышения его продуктивности в фиторемедиации.*

Введение

Все большее внимание в современной прикладной экологии уделяется методам фиторемедиации почв, загрязненных металлами, а также модификации растений для повышения эффективности этого подхода [1–3]. Один из вариантов фитоэкстракции металлов – это повышение биомассы надземных органов и/или концентрации в них металла за счет использования бактерий, улучшающих рост растений (БУРР), связанных с множеством видов растений. Многие из БУРР, такие как эндوفитные бактерии (ЭБ), могут развиваться в органах растений [4]. Процесс колонизации может начинаться в корневой зоне, но ЭБ могут также происходить из филлосферы, спермосферы или антосферы [5]. По сравнению с ризосферными и филосферными бактериями ЭБ имеют более тесный контакт с организмом хозяина. Эндوفитные бактерии проявляют некоторое сходство с ризосферными бактериями в механизмах улучшения роста растений [6]. Их эффект объясняется использованием 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК), синтезом индолилуксусной кислоты (ИУК) и сидерофоров, а также повышением растворимости фосфатов [7].

Для поддержания постоянного уровня АЦК в межклеточном пространстве растения должны выделять ее больше, чем то количество, которое преобразуется в этилен [8]. Присутствие рост стимулирующих факторов зависит от ЭБ: эти сообщества микроорганизмов производят приблизительно от 20 до 80% всей синтезируемой ИУК, от 7 до 36% АЦК-деаминазы и от 40 до 95% сидерофоров [9].

Известны многие примеры практического использования эндوفитных бактерий. Биоаугментация – увеличение производительности растений за счет использования ЭБ, устойчивых к микроэлементам. Она может способствовать приживаемости и последующему росту растений, а также влияет на поступление через корни макро- и микроэлементов при фиторемедиации загрязненных почв [10].

Различные ответы могут зависеть от комбинации «растение – бактерия», так же как и от химических особенностей элементов и от уровня их содержания в почве [3; 9].

Для изолирования потенциально устойчивых к меди бактерий (БУРР и ЭБ), а также апробирования новых подходов в фиторемедиации обычно используется 2 пути: добавление бактерий в почву и/или инокуляция экстрагированными бактериями семян растений. Так, добавление в почву *Pseudomonas aspleni* способствует поступлению меди у *Brassica napus* и увеличению ее биомассы [11]. Инокуляция семян с помощью *Proteus vulgaris* повышает всхожесть, биомассу и содержание хлорофилла, а также снижает аккумуляцию меди в корнях и побегах *Cajanus cajan* [12]. Большое разнообразие и специализация эндофитных бактерий отмечена в органах растений купрофитов. Например, в листьях и стеблях *Elsholtzia splendens* и *Commelina communis* было идентифицировано 32 вида эндофитов [13]. Их последовательный анализ выявил наличие α -, β - и γ -*Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*.

У устойчивых к металлам злаков, таких, как *Agrostis* sp., представлены многочисленные эндофитные бактерии и грибы. В частности, ЭБ, изолированные из корней, после их поверхностной стерилизации у металлоустойчивых и неустойчивых популяций *Agrostis capillaris* L. (АС), собранных на участке по обработке древесины и в условиях лесных экосистем Юго-Запада Франции, отличаются по их рост улучшающим способностям и устойчивости к меди [14]. Однако исследования по выявлению влияния ЭБ, полученных из поверхностно стерилизованных корней и семян, на устойчивость растений к повышенным концентрациям меди довольно малочисленны, особенно с использованием почв из реально загрязненных медью территорий, а не полученных искусственным путем (например, с помощью добавления растворов солей).

Особый интерес в этом случае представляют растения, используемые в фиторемедиации загрязненных почв. Некоторые сельскохозяйственные культуры являются весьма перспективными для фиторемедиации почв, загрязненных металлами. Один из таких кандидатов – это подсолнечник однолетний (*Helianthus annuus* L.), который важен как для фитоэкстракции металлов, так и для получения масла, в частности, при производстве биотоплива [15]. Кроме того, ранее была отмечена его отзывчивость на внесение бактерий [3].

Динамично расширяется применение подсолнечника для очистки почвы от неорганических и органических загрязнителей [16]. Некоторые коммерческие сорта и мутантные линии подтвердили свою эффективность в фиторемедиации почв, загрязненных медью [15]. Потенциальное влияние устойчивых к меди ЭБ на фенотипические черты и поглощение меди этими подсолнечниками ранее не было задокументировано.

Цель этой работы – оценить эффективность использования эндофитных бактерий для улучшения продуктивности подсолнечника при фиторемедиации загрязненных медью почв.

Для достижения поставленной цели нами были решены следующие задачи:

- 1) получить инокулянт с эндофитными бактериями из поверхностно стерилизованных корней популяции АС, устойчивых к меди, и из экстрактов семян того же АС, содержащих бактериальные клетки или без них;
- 2) выявить, какой инокулянт, в частности, из корней или семян дает наилучший биоаугментационный эффект для металл-устойчивых мутантных линий подсолнечника.

Материалы и методы

I. Приготовление инокулянтов.

1. Эндофитные бактерии из семян АС.

Экстракция ЭБ из семян проводилась по методике [4]. Семена (2 г) растений из металл-устойчивой популяции АС были собраны на территории предприятия по пропитке и консервированию древесины (Сан-Медар д'Айран, Франция). Были помещены

на 30 секунд в 70%-ный этанол и затем промыты стерилизованной сверхчистой водой в течение 30 секунд. Затем семена были помещены на 15 мин в 42%-ный раствор гипохлорита натрия с добавлением одной капли обезжиривающего раствора «Tween 80» в расчете на 100 мл раствора, затем трижды промыты сверхчистой водой в течение 10 минут и далее закрыты стерильной нейлоновой сеткой.

Эффективность поверхностной стерилизации была проверена высеванием после трехкратного промывания растворов в среде 869 (если рост не наблюдался после трех дней, поверхностная стерилизация признавалась успешной). Поверхностно стерилизованные семена были измельчены в стерильной ступке, содержащей стерильный песок и 10 мМ $MgSO_4$. Этот неочищенный семенной экстракт был разделен на две части: первая половина была сразу использована как инокулянт (СЭ), вторая была профильтрована через стерильный фильтр Minisart (диаметр пор 0,2 мкм), который улавливал все бактериальные клетки. Полученный экстракт, лишенный бактериальных клеток, был обозначен СЭФ.

2. Эндوفитные бактерии, изолированные из корней АС.

Десять штаммов ЭБ, толерантных к меди (именуемые М1-М10), были предварительно изолированы из поверхностно стерилизованных корней устойчивой к металлам популяции АС, затем описаны и охарактеризованы с точки зрения их влияния на рост растений (таблица 1). Изоляты были собраны в шесть групп согласно их хроматограммам с уровнем схожести 92%. Большинство из выросших штаммов были определены как представители рода *Pseudomonas* и один штамм был отнесен к *Labrys* sp.

Таблица 1. – Характеристика бактериальных штаммов, изолированных из поверхностно стерилизованных корней металл-устойчивой популяции АС

Наиболее схожие штаммы (% схожести)	Группа	хроматограмма	изолят	S	SR	IAA	ACC	ACO	SP
<i>Pseudomonas</i> sp. DQ200851 (99,6%)	1		M01	+	–	–	–	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i> GU198107 (99,0%)	2		M02	+	–	–	–	+	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i> GU198108 (99,3%)	2		M04	+	–	–	–	+	+
	4		M05	+	+	–	+	–	+
<i>Pseudomonas</i> sp. AY247063 (99,3%)	5		M09	+	+	–	+	–	+
	5		M06	+	+	–	+	–	+
	5		M10	+	+	–	+	–	+
	5		M08	+	+	–	+	–	+
<i>Pseudomonas</i> sp. AY014803 (99,0%)	6		M07	+	+	–	+	+	–
<i>Labrys</i> sp. EF125935 (99,8%)	3		M03	+	–	–	+	+	+

Тестируемые вещества: S – серофилы, SR – сурфактанты, ИУК – индолилуксусная кислота, АЦК – аминокислоты, ОК – органические кислоты, SP – растворимые неорганические фосфаты.

Для приготовления корневого инокулянта (вариант КЭ) каждый штамм культивировался на стерильной среде 869 в течение 3-х дней, затем был подвергнут центрифугированию (4 000 об/мин, 15 мин), и повторно растворен в растворе $MgSO_4$ (10 мМ) до оптической плотности 0,7 при длине волны 660 нм (около 10^7 клеток на мл). То же количество стерильного раствора $MgSO_4$ (10 мМ) было добавлено к контрольным семенам (вариант КМг).

II. Выращивание подсолнечника.

Семена (100 г) мутантной линии подсолнечника (М6, 1/67-35-190-04), полученные в результате химического мутагенеза с использованием этилметансульфоната [17], собранные на условно чистых участках, были поверхностно стерилизованы согласно протоколу, примененному для АС, и затем пророщены в ауксеничных условиях на стерильной фильтровальной бумаге, пропитанной 10 мМ MgSO_4 в термостате в темноте при 25 °С. Проросшие семена с длиной корешков 3–5 мм были инокулированы (100 мкл на растение) одним из КЭ или СЭ инокулянтов, или обработаны 100 мкл одного из растворов (СЭФ или КМg) путем полива сверху, после чего содержались в ауксеничных условиях в климатической комнате (температура: 25 °С (день); 17 °С (ночь); относительная влажность: 60–65%; фотопериод – 12 ч, обеспеченный флуоресцентными лампами Philips TDL 58WT33 с фотосинтетической активной радиацией 160 мкмоль $\text{м}^{-2} \text{сек}^{-1}$) для оптимизации проникновения ЭБ через корневые волоски и микропорезы корней.

Серии почв с увеличивающимся общим содержанием меди (13–1 020 мг кг^{-1}) были получены смешением двух почв схожего аллювиально-песчаного типа, а именно: загрязненная почва, отобранная (0–25 см) на опытном поле лаборатории BIOGECO (Франция) [15], и незагрязненная почва в пропорциональном соотношении от 0:100% до 100:0%, с шагом в 10%. Для всех обработанных растений, по одному сеянцу было высажено в каждую почву, помещенную в горшки. Все опыты были проведены в трехкратной повторности (таблица 2).

Таблица 2. – Перечень обработок растений и концентраций меди в почве

Тип инокулянта	Аббревиатура	Соотношение почв	Содержание меди (мг $\text{Cu}/\text{кг}$)
Контроль	К	$C_0 - C_{100}$ шаг 10%	13–1020
Среда 869 и MgSO_4	КМg	$C_0 - C_{100}$ шаг 10%	13–1020
Семенной экстракт	СЭ	$C_0 - C_{100}$ шаг 10% (исключение C_{70}, C_{90})	13–1020
Семенной экстракт (фильтрованный)	СЭФ	$C_0 - C_{60}$ шаг 10%	13–617
Корневой экстракт	КЭ	$C_0 - C_{100}$ шаг 10%	13–1020

Горшки были помещены в климатическую комнату со следующими условиями: 14 ч свет, 10 ч темнота; 25 °С, 22 °С; относительная влажность – 65% (ISO 2005). Горшки были расставлены на столе в соответствии с рандомизированным дизайном и поливались ежедневно дистиллированной водой (влажность почвы поддерживалась на уровне 50% от ее водоудерживающей способности). Дважды были осуществлены подкормки почвы.

Растения были собраны после одного месяца выращивания на стадии вторых настоящих листьев. Побеги и корни были собраны и взвешены для определения сырой массы), промыты в дистиллированной воде, высушены при температуре 50 °С в течение 48 часов, после чего была определена сухая масса. Были измерены также другие биометрические параметры, такие как длина корней, стеблей и листьев.

III. Статистический анализ.

Все статистические обработки были произведены с использованием программы R версия 2.13.1 (Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия). Для определения достоверной разницы средних значений использовался t-критерий Стьюдента. Средние значения, обозначенные на рисунках звездочками, отличаются менее чем на 5%.

Результаты и обсуждение

Параметры растений.

1. Длина стебля.

Длина стебля у всех обработанных растений была в основном короче, чем у контрольных растений (рисунок, а, б). Значительные различия между сериями почв наблюдались до того, как концентрация меди в почве достигала 516 мг Cu/кг. Контрольные и КМg-растения показывали ответы типа хормезис. Это явление характеризуется увеличением жизненности растений при малых концентрациях контаминанта. Этот ответ был максимальным при концентрации меди 415 мг на кг почвы.

По сравнению с контрольными растениями ответ хормезис менее выражен для КМg-растений и не был выявлен у КЭ, СЭ и СЭФ-растений. В большинстве случаев корреляция между длиной стебля и биомассой побегов была слабой, так как инокулированные растения имели короткий и толстый стебель и более крупные листья. Это подтверждает, что длина стебля не является индикаторным параметром фитотоксичности для растений, подверженных влиянию избытка меди.

2. Биомасса надземных частей.

При концентрации меди в диапазоне от 13 до 517 мг/кг почвы в модальностях СЭ и СЭФ была отмечена стимуляция роста биомассы побегов, тогда как другие варианты обработки не влияли на этот параметр (исключение составляют КМg в диапазоне 13–214 мг Cu/кг и КЭ в диапазоне 416 мг Cu/кг, но эти различия не достоверны) (рисунок 1 с). В данном диапазоне СЭ-инокулянты повышают биомассу в 1,6–2 раза по сравнению с контрольными растениями. Биомасса побегов СЭ-растений значительно выше, чем у СЭФ-растений только при малых уровнях содержания меди (13–114 мг Cu/кг). СЭ-инокулянт значительно снижает число видимых нарушений в строении листа, вызываемых избытком меди (например, хлороз и некроз) в случае умеренного загрязнения. Полученные данные позволяют предположить, что улучшающий эффект для биомассы побегов обусловлен действием ЭБ. Подобные результаты были ранее представлены в работе [18], где также отмечена зависимость биомассы от уровня содержания меди и других почвенных характеристик.

В данном случае улучшающий эффект в модальностях СЭ и СЭФ был следствием: 1) содержания в них ионов Mg^{2+} и SO_4^{2-} ; 2) действия веществ, содержащихся в семенах и околоплоднике; 3) действия эндофитных бактерий. С одной стороны, магний является макроэлементом, который широко используется растениями для роста, так как он может смягчать токсическое действие металлов. Его гомеостаз является главнейшим для многих процессов в растении, несмотря на то, что избыток меди снижает содержание магния, например, в побегах *Arabidopsis thaliana* [19].

Увеличение содержания магния в клетке может снижать оксидантный стресс в растениях при избытке меди. Варьирование содержания магния в хлоропласте регулирует активность важнейших фотосинтетических пигментов, а концентрация Mg^{2+} влияет на транспорт ионов через мембраны хлоропласта и вакуоли, что, в свою очередь, влияет на регуляцию баланса меди в клетке [20]. Кроме того, Mg играет важную роль в биосинтезе хлорофилла, а медь, проявляя изоморфизм, может заместить магний в молекуле хлорофилла.

Что касается накопления сульфата, то оно связано с синтезом тиола и повышением устойчивости к металлам [21]. Однако урожай надземной части у КМg-растений был стабилен либо слегка увеличивался, но оставался ниже, чем у СЭ и СЭФ-растений (рисунок, в, д), что является следствием не только биологического действия $MgSO_4$. Большой эффект у СЭ-инокулянтов по сравнению с СЭФ наводит на мысль о влиянии эндофитных бактерий, а не только растворимых биоактивных веществ из семенных экстрактов. Последние, а именно антимикробные и антиоксидантные вещества, такие

как резвератрол, флавоноиды, процианидины, аллелохимикалии, получаемые из зараженных эндофитами злаков [22], могут объяснять эффект СЭФ-модальности. Несмотря на фильтрацию, которая должна отделить все бактериальные клетки, существует гипотетическая, хотя и маловероятная, возможность присутствия штаммов ЭБ с особыми свойствами [23].

3. Биомасса корней.

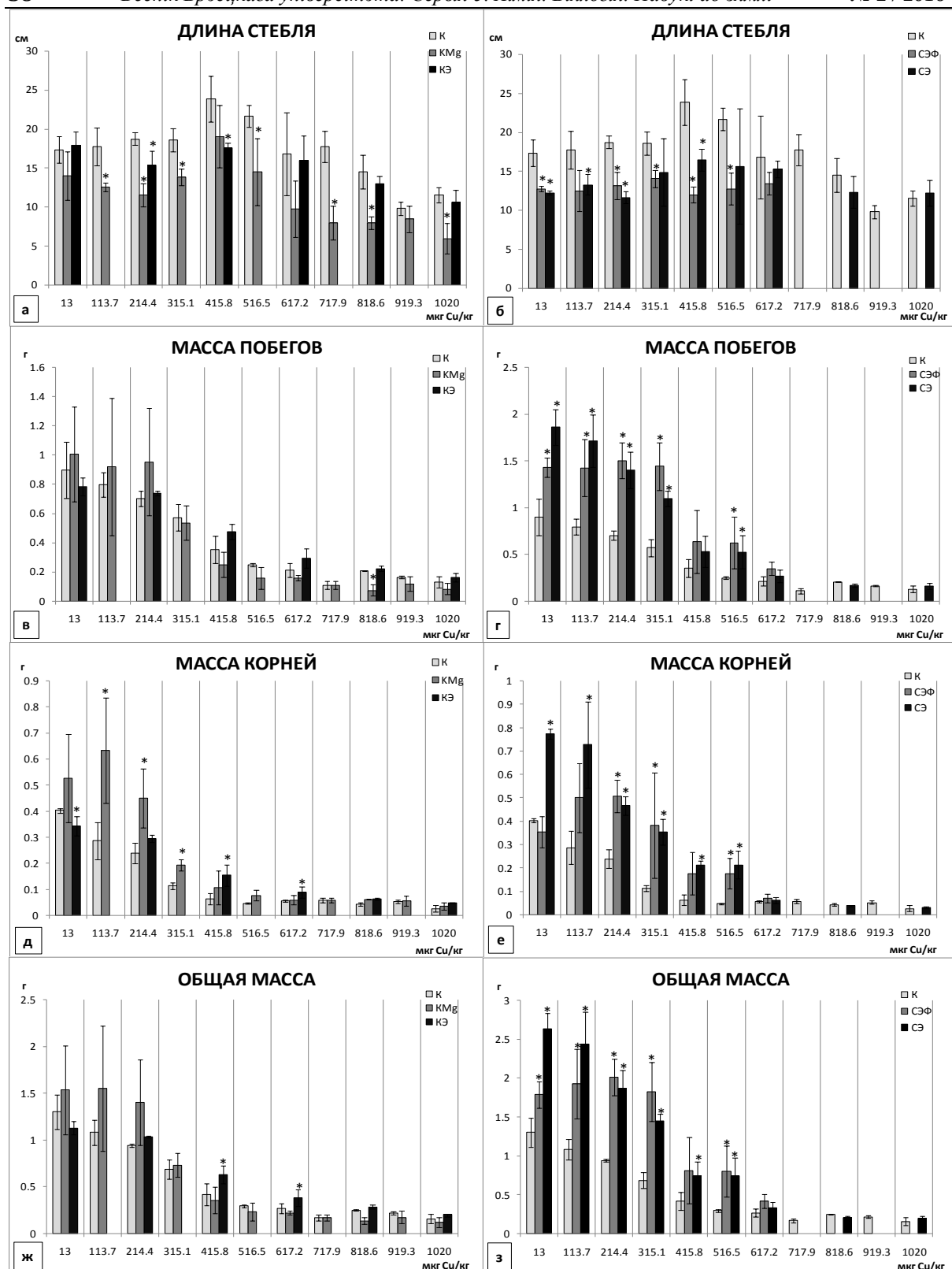
Сухая масса корней значительно увеличивается в модальностях КМg, СЭ и СЭФ между 13 и 517 мг Cu/кг. По сравнению с контрольными растениями растения в варианте КМg имеют в 1,3–2,2 раза выше биомассу корней в диапазоне 13–214 мг Cu/кг. Биомасса корней повышается в 1,2–3,2 раза у растений СЭ и СЭФ в промежутке между 13 и 517 мг Cu/кг. При высоком уровне общего содержания меди в вариантах СЭ и СЭФ эффект не наблюдался. Эффект хормесиса, который довольно редок для корней, был обнаружен у СЭФ и КМg-растений при уровне меди от 114 до 214 мг Cu/кг. Эти значения были ниже, чем для длины стебля. Инокулянты КЭ имели слабое преимущество по сравнению с контролем при 416 мг Cu/кг.

Обе модальности КЭ и КМg содержат $MgSO_4$, но растения, обработанные корневыми эндофитами, имеют меньшую биомассу корней, чем КМg и СЭ-растения (в диапазоне между 13 и 214 мг Cu/кг). Это свидетельствует о негативном влиянии меди на устойчивые к меди ЭБ из корней АС. Не все штаммы бактерий из корней могут иметь такой же эффект. При добавлении их смеси мы можем иметь как улучшающие, так и негативные эффекты.

Подобным образом инокуляция *Lupinus luteus* эндофитными бактериями, экстрагированными из корней других видов, уменьшает его биомассу, потому что ЭБ экзогенного происхождения отличаются своими биохимическими параметрами от эндогенных ЭБ, могут вызывать защитные реакции и иметь негативное влияние на рост растений. В литературе описывается выделение фенольных соединений после инокуляции ЭБ, что является типичным защитным ответом растений на действие патогенных бактерий [5]. Только 1–5% всех бактериальных сообществ являются пригодными для культивирования [24], причем и среди них могут встречаться патогенные.

Увеличение содержания некоторых условно-патогенных эндофитных бактерий может превышать критические пороги, за которыми ЭБ могут вызывать негативные эффекты для местных трав и злаков. Мы комбинировали 10 штаммов, предварительно изолированных на основе морфологических характеристик и функциональных ответов, но некоторые из них относились к одинаковым видам и имели сходные хроматограммы, поэтому затем сравнивались другие черты (таблица 1).

В конечном варианте КЭ-инокулянта некоторые штаммы были добавлены в большем количестве, чем другие. Мы не пробовали изолировать повторно КЭ-штаммы из инокулянта, поэтому не можем говорить о выживаемости и конкурентоспособности отдельных штаммов.



а, б – длина стебля; в, г – сухая биомасса побегов; д, е – сухая биомасса корней;
ж, з – сухая биомасса всего растения; Т-тест указывает на достоверные различия
между инокулированными и контрольными растениями (К); * $P < 0,05$

Рисунок. – Структурные ответы растений на увеличение концентрации меди с использованием модальностей КМg и СЭФ и инокулянтов СЭ и КЭ

Заключение

Инокуляция проросших поверхностно стерилизованных семян подсолнечника с помощью фильтрованных и не фильтрованных экстрактов семян АС, устойчивых к меди, может улучшать рост и развитие в диапазоне ее содержания в почве от 14 до 517 мг/кг. После дозы 517 мг Cu/кг почвы оба семенных экстракта не имели улучшающего эффекта на параметры растений подсолнечника. Урожай биомассы побегов и корней улучшается при действии нефильтрованного фильтрата в диапазоне 13–114 мг/кг, предполагая улучшающее влияние эндофитных бактерий, расположенных в семенах, а также дополнительное влияние растворимых биоактивных веществ из нефильтрованного экстракта. Напротив, культивируемые ЭБ, полученные из поверхностно стерилизованных корней Cu-устойчивых АС, повышают урожайность подземных и надземных частей подсолнечника при высоких уровнях содержания меди в почве (416–617 мг/кг). Эндофиты, обитающие в корнях и семенах, а также химический состав семенного экстракта без бактериальных клеток, могут быть изучены в перспективе для объяснения ответов растений и уточнения молекулярных механизмов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мартьянычев, А. В. Применение фиторемедиации почв для очистки земель сельскохозяйственного назначения / А. В. Мартьянычев // Вестн. НГИЭИ. – 2013. – Вып. № 4(23). – С. 87–95.
2. Assessment of successful experiments and limitations of phytotechnologies: contaminant uptake, detoxification and sequestration, and consequences for food safety / M. Mench [et al.] // *Envir. Sci. and Pollution Res.* – 2009. – Vol. 16. – P. 876–900.
3. Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field / J. Vangronsveld [et al.] // *Envir. Sci. and Pollution Res.* – 2009. – Vol. 16. – P. 765–794.
4. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmium phytotoxicity / C. Mastretta [et al.] // *International Journal of Phytoremediation.* – 2009. – Vol. 11. – P. 251–267.
5. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects / S. Compant [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology.* – 2005. – Vol. 71. – P. 4951–4959.
6. Glick, B. R. Making phytoremediation work better: maximizing a plant's growth potential in the midst of adversity / B. R. Glick, J. C. Stearns // *Intern. J. Phytoremediation.* – 2011. – Vol. 13, Suppl. 1. – P. 4–16.
7. Ma, Y. Inoculation of plant growth promoting bacterium *Achromobacter xylosoxidans* strain Ax10 for the improvement of copper phytoextraction by *Brassica juncea* / Y. Ma, M. Rajkumar, H. Freitas // *J. Environmental Management.* – 2009. – Vol. 90. – P. 831–837.
8. Bacterial endophytes: recent developments and applications / R. P. Ryan [et al.] // *Fems Microbiology Letters.* – 2008. – Vol. 278. – P. 1–9.
9. Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows / M. Kuffner [et al.] // *Plant and Soil* – 2008. – Vol. 304. – P. 35–44.
10. Эндофитные бактерии как перспективный биотехнологический ресурс и их разнообразие / В. К. Чеботарь [и др.] // *Сельскохозяйственная биология.* – 2015. – Т. 50, № 5. – С. 648–654.
11. Reed, M. L. E. Growth of canola (*Brassica napus*) in the presence of plant growth-promoting bacteria and either copper or polycyclic aromatic hydrocarbons / M. L. E. Reed, B. R. Glick // *Canadian Journal of Microbiology* – 2005. – Vol. 51. – P. 1061–1069.

12. Rani, A. Declination of copper toxicity in pigeon pea and soil system by growth-promoting *Proteus vulgaris* KNP3 strain / A. Rani, Y. S. Shouche, R. Goel // *Current Microbiology*. – 2008. – Vol. 57. – P. 78–82.
13. Genetic diversity and characterization of heavy metal-resistant-endophytic bacteria from two copper-tolerant plant species on copper mine wasteland / L.-N. Sun [et al.] // *Bioresource Technology*. – 2010. – Vol. 101. – P. 501–509.
14. Jaunatre, R. *Agrostis capillaris* et endophytes bacteriens: une association pour stimuler la tolerance aux sols contamines au cuivre Master 2 thesis. UMR Biogeco INRA 1202, University of Bordeaux 1, UFR Biology, Talence, France. – 2008. – P. 15–21.
15. Copper phytoextraction in tandem with oilseed production using commercial cultivars and mutant lines of sunflower / A. Kolbas [et al.] // *Intern. J. Phytoremediation*. – 2011. – Vol. 13, Suppl. 1. – P. 55–76.
16. Phytomanagement of metal-contaminated agricultural land using sunflower, maize and tobacco / E. Faessler [et al.] // *Agriculture Ecosystems & Environment*. – 2010. – Vol. 136. – P. 49–58.
17. In vitro breeding of *Brassica juncea* L. to enhance metal accumulation and extraction properties / E. Nehnevajova [et al.] // *Plant Cell Reports*. – 2007. – Vol. 26. – P. 429–437.
18. Lyubun, Y. Use of rhizobacteria to inoculate agricultural crops grown on arsenic-polluted soil / Y. Lyubun, M. Chernyshova // *J. Biotechnology*. – 2010. – Vol. 150. – P. 247–259.
19. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile / H. Lequeux [et al.] // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2010. – Vol. 48. – P. 673–682.
20. Shaul, O. Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg / O. Shaul // *Biometals*. – 2002. – Vol. 15. – P. 309–323.
21. Interaction of heavy metals with the sulphur metabolism in angiosperms from an ecological point of view / W. H. O. Ernst [et al.] // *Plant Cell and Environment*. – 2008. – Vol. 31. – P. 123–143.
22. Kiran, B. Antifungal and growth promoting potentiality of seeds of *Psoralea corylifolia* L. / B. Kiran, V. Lalitha, K. A. Raveesha // *Research J. Pharmaceutical, Biological and Chemical Sci.* – 2011. – Vol. 2. – P. 564–573.
23. Rylo, S.-J. Plant growth promoting of endophytic *Sporosarcina aquimarina* SJA16103 isolated from the pneumatophores of *Avicennia marina* L. / S.-J. Rylo, P. Eganathan // *Intern. J. Microbiology*. – 2012. – Vol. 1 – P. 1–10.
24. Factors influencing the composition of bacterial communities found at abandoned copper-tailings dumps // R. De la Iglesia [et al.] // *Journal of Applied Microbiology*. – 2006. – Vol. 100. – P. 537–544.

Рукапіс паступіў у рэдакцыю 05.09.2016

Kolbas A., Kolbas N., Mench M. Endophytic Bacteria use to Improve Copper Phytoextraction by Sunflower: 1. Effect On Structural Parameters

*Microorganisms can enhance biomass production and tolerance of plants to trace elements in stress environment. Endophytic bacteria from roots and crude seed extracts of a Cu-tolerant population of *Agrostis capillaris* L. were inoculated to a sunflower mutant line and their influence on Cu phytoextraction was assessed using a Cu-contaminated soil series. The beneficial influence of crude and bacterial cell-free seed extracts, likely related, respectively, to seed endophytic bacteria and soluble bioactive compounds and elicitors in seeds and bran, such as procyanidins, suggests practical applications using inoculated sunflower for Cu phytoextraction.*