

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Повышение эффективности клонального микроразмножения картофеля при инокуляции ризосферными бактериями *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2

К.Ю. Каргаполова¹, О.В. Ткаченко¹✉, Г.Л. Бурьгин^{1,2}, Н.В. Евсеева², А.А. Широков², Л.Ю. Матора², С.Ю. Щёголев²

¹ Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов, Россия

² Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», Саратов, Россия

✉ oktkachenko@yandex.ru

Аннотация. Устойчивое развитие сельского хозяйства зависит от обеспечения рынка качественными семенами. Инокуляция растений рост-стимулирующими ризобактериями в культуре *in vitro* может быть использована для повышения эффективности роста и продуктивности микрорастений при получении оздоровленного посадочного материала картофеля. Изучено влияние инокуляции *in vitro* штаммами *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 по отдельности и в консорциуме на микрорастения сортов Невский и Кондор. Оценены морфологические параметры роста растений в культуре *in vitro*, в условиях адаптации *ex vitro*, а также показатели роста и продуктивности растений в грунтовой теплице. На протяжении всего опыта была установлена зависимость эффективности бактериализации от генотипа картофеля, этапа культивирования и состава инокулята. Методом иммунофлуоресцентного анализа показано, что оба штамма бактерий успешно вступают во взаимодействие с клетками растений без антагонистического взаимного влияния. В культуре *in vitro* *A. baldaniorum* Sp245 и консорциум штаммов стимулировали образование корней на микрорастениях обоих сортов и рост побегов сорта Невский. На этапе культивирования *ex vitro* на все ростовые показатели микрорастений сорта Невский положительно влияла инокуляция *O. cytisi* IPA7.2 и консорциум штаммов. При выращивании в теплице в большинстве вариантов инокуляции стимулировался рост побегов обоих сортов. Приживаемость растений сорта Невский в теплице повысилась под действием одновременной коинокуляции в 1.7 раза. Инокуляция микрорастений консорциумом штаммов *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 увеличивала количество мини-клубней у сорта Невский в 1.5 раза, а у сорта Кондор – в 3.5 раза. Инокуляция изученными штаммами может быть использована для стимулирования роста микрорастений и повышения урожайности мини-клубней в системе семеноводства картофеля при получении оздоровленного посадочного материала.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L.; *Azospirillum baldaniorum* Sp245; *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2; растительно-микробные ассоциации; клональное микроразмножение; эффективность роста растений; адаптационная способность; *in vitro*; *ex vitro*.

Для цитирования: Каргаполова К.Ю., Ткаченко О.В., Бурьгин Г.Л., Евсеева Н.В., Широков А.А., Матора Л.Ю., Щёголев С.Ю. Повышение эффективности клонального микроразмножения картофеля при инокуляции ризосферными бактериями *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2022;26(5):422-430. DOI 10.18699/VJGB-22-52

Improving the efficacy of potato clonal micropropagation by inoculation with the rhizosphere bacteria *Azospirillum baldaniorum* Sp245 and *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2

K.Yu. Kargapolova¹, O.V. Tkachenko¹✉, G.L. Burygin^{1,2}, N.V. Evseeva², A.A. Shirokov², L.Yu. Matora², S.Yu. Shchyogolev²

¹ Saratov State Vavilov Agrarian University, Saratov, Russia

² Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms – Subdivision of the Saratov Federal Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia

✉ oktkachenko@yandex.ru

Abstract. Sustainable development of agriculture depends on the provision of quality seeds to the market. Inoculation with plant-growth-promoting rhizobacteria in *in vitro* culture can be used to improve the growth efficacy and performance of microplants. We examined the effect of *in vitro* inoculation of microplants of the cultivars Nevsky and Kondor with the strains *Azospirillum baldaniorum* Sp245 and *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 separately and in combination. We examined the morphological variables of plant growth in *in vitro* culture and under *ex vitro* adaptation conditions; we also investigated the growth and performance of the plants in the greenhouse. The dependence of the inoculation efficacy on potato genotype, growth stage, and inoculum composition was ascertained throughout the experiment. *In vitro*, *A. baldaniorum* Sp245 alone and in combination with *O. cytisi* IPA7.2 promoted the formation of roots on the microplants of both cultivars and the growth of Nevsky shoots. During plant growth *ex vitro*, all growth

variables of the Nevsky microplants were promoted by *O. cytisi* IPA7.2 alone and in combination with *A. baldaniorum* Sp245. In both cultivars grown in the greenhouse, shoot growth was promoted in most inoculation treatments. The survival ability of the Nevsky microplants in the greenhouse increased 1.7-fold under the effect of simultaneous inoculation. Inoculation of microplants with a combination of *A. baldaniorum* Sp245 and *O. cytisi* IPA7.2 increased the number of Nevsky minitubers 1.5-fold and the number of Kondor minitubers 3.5-fold. Inoculation with the tested strains can be used to promote the growth of microplants and increase the yield of minitubers in potato seed breeding for the production of healthy planting material.

Key words: *Solanum tuberosum* L.; *Azospirillum baldaniorum* Sp245; *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2; plant-microbe associations, clonal micropropagation; plant growth efficacy; adaptability; *in vitro*; *ex vitro*.

For citation: Kargapolova K.Yu., Tkachenko O.V., Burygin G.L., Evseeva N.V., Shirokov A.A., Matora L.Yu., Shchyogolev S.Yu. Improving the efficacy of potato clonal micropropagation by inoculation with the rhizosphere bacteria *Azospirillum baldaniorum* Sp245 and *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(5):422-430. DOI 10.18699/VJGB-22-52

Введение

В семеноводстве многих вегетативно размножаемых культур широко применяются методы клонального микроразмножения *in vitro* (Rajasekharan, Sahijram, 2015). Ризобактерии различных таксономических групп могут быть использованы при клональном микроразмножении разных видов растений (Orlikowska et al., 2017; Soumare et al., 2021). В качестве объектов бактериализации среди травянистых растений преобладают орхидные (Castillo-Pérez et al., 2021), сахарный тростник (Oliveira et al., 2002) и некоторые другие виды (Dias et al., 2009). Были выделены бактериальные штаммы, стимулирующие рост микроклонов картофеля *in vitro*, адаптацию к условиям *ex vitro*, а также продуктивность мини-клубней (Oswald et al., 2010). Решающее значение имеет правильный подбор микроассоциантов (Wang et al., 2016). В предварительных исследованиях нами было показано, что чистые культуры ассоциативных ризобактерий *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 обладают способностью стимулировать рост микрорастений картофеля в условиях *in vitro* и *ex vitro* (Tkachenko et al., 2015; Burygin et al., 2019; Kargapolova et al., 2020).

Некоторые авторы отмечают, что совместная инокуляция растений двумя и более штаммами ризосферных стимулирующих рост растений бактерий (PGPR) может быть более эффективной по сравнению с чистыми культурами (Thomas et al., 2010). При инокуляции консорциумами штаммов важно учитывать совместимость бактериальных культур (Yegorenkova et al., 2016). Ранее нами установлено, что для штаммов с разными свойствами может иметь значение этап инокуляции микрорастений в процессе культивирования *in vitro* (Бурьгин и др., 2018).

Цель данного исследования – оценка эффективности инокуляции микрорастений картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сортов Невский и Кондор чистыми культурами и консорциумом штаммов *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 для повышения эффективности семеноводства оздоровленного посадочного материала методом клонального микроразмножения.

Материалы и методы

Культивирование микрорастений картофеля в условиях *in vitro*. Использовались микрорастения двух средне-ранних сортов картофеля Невский (ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр картофеля им. А.Г. Лорха», Россия) и Кондор (AGRICO U.A., Netherlands) из

in vitro коллекции кафедры «Растениеводство, селекция и генетика» агрономического факультета Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова (г. Саратов), полученные методом вычленения апикальных меристем. Сорта Невский и Кондор в соответствии с Государственным реестром селекционных достижений, допущенных к использованию (<https://reestr.gossortrf.ru/>), рекомендованы для выращивания в Нижневолжской зоне.

Микрочеренки с одним листом и почкой помещали на жидкую питательную среду Мурасиге–Скуга без гормонов (Murashige, Skoog, 1962). Растения в пробирках культивировали 30 сут при температуре 24 °С, влажности воздуха 60 %, освещенности 60 мкМ/(м²·с), длине дня 16 ч. Оценивали морфометрические параметры побегов и корней: длину побега, мм; количество узлов на побеге, шт.; среднюю длину корней, мм; количество корней на побеге, шт.

Инокуляция микрочеренков штаммами бактерий.

Использовали два штамма ризосферных бактерий – *A. baldaniorum* Sp245 (Baldani et al., 1983) и *O. cytisi* IPA7.2 (Burygin et al., 2017, 2019) из Коллекции ризосферных микроорганизмов Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов) (<http://collection.ibppm.ru/>). Культуры бактерий выращивали при 35 °С на ротационном шейкере с интенсивностью перемешивания 120 об/мин до конца экспоненциальной фазы (18 ч) в жидкой малатной среде с содержанием компонентов (г/л): Na-малат 5.0; КН₂Р₄ 0.4; NaCl 0.1; MgSO₄ 0.2; FeSO₄·7H₂O 0.02; Na₂MoO₄·2H₂O 0.002; NH₄Cl 1.0, при pH 6.8–7.0 (Döbereiner, Day, 1976). Клетки стерильно осаждали центрифугированием при 3000 г и ресуспендировали в 0.12 М фосфатном буфере (pH 7.2), содержащем (г/л): КН₂Р₄ 0.43; Na₂НРО₄ 1.68; NaCl 7.2. Центрифугирование повторяли дважды в физиологическом растворе с фосфатным буфером. Для инокуляции в пробирки с растениями, содержащими 10 мл среды Мурасиге–Скуга, добавляли 0.1 мл суспензии (10⁸ кл/мл). Итоговая концентрация клеток бактерий в среде составляла 10⁶ кл/мл.

Бактерии вносили по отдельности: *A. baldaniorum* Sp245 – при черенковании микрорастений картофеля (0-е сутки), *O. cytisi* IPA7.2 – на 15-е сутки культивирования микрорастений, а также совместно: одновременно – на 15-е сутки культивирования микрорастений или последовательно – на 0-е сутки при черенковании штамм *A. baldaniorum* Sp245, а затем дополнительно на 15-е сутки штамм

O. cytisi IPA7.2. В контрольном варианте культивировали микрорастения на среде без бактерий.

Выращивание растений картофеля в условиях *ex vitro*. Адаптация микрорастений к условиям *ex vitro* проводилась в сосудах с почвой 20 сут в оранжерее при температуре 24 °С, влажности воздуха 60 %, освещенности 60 мкМ/(м²·с), длине дня 16 ч. Анализировали морфометрические параметры: длину побегов, количество и площадь листьев.

Затем растения высаживали в грунтовую теплицу с покрытием из агроволокна. Схема посадки 0.4×0.4 м. Условия температуры и влажности воздуха в грунтовой теплице не регулировались и зависели от погоды, поэтому были стрессовыми для растений (дневные температуры могли подниматься до 30 °С, а влажность воздуха опускалась ниже 60 %). Полив растений проводили по необходимости, в среднем через каждые 3–5 сут. Через три недели после посадки, а также в начале фазы бутонизации и цветения регистрировали долю выживших растений, высоту растений, количество побегов и листьев на растениях и площадь листьев. Мини-клубни выкапывали после завядания кустов. Подсчитывали количество и массу мини-клубней на растениях, массу и диаметр каждого клубня.

Иммунофлуоресцентный анализ. Идентификацию бактерий на корнях растений проводили на 30-е сутки после инокуляции методом иммунофлуоресцентного анализа с использованием штаммоспецифичных антител, как описано (Shelud'ko et al., 2010). Контролем служили неинокулированные и инокулированные корни растений, обработанные неспецифическими антителами. Неспецифическую сорбцию антител блокировали 2-часовой инкубацией отрезков корней при комнатной температуре в 0.05 % растворе полиэтиленгликоля (MW 20000) в фосфатном буфере. В качестве первичных антител использовали штаммоспецифичные кроличьи антитела к липополисахаридам *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 (концентрация 50 мкг/мл) и вторичные изотиоцианат тетраметилпроамина (TRITC)-меченые козьи антикроличьи антитела (Abscam, США; концентрация 1 мкг/мл).

Микроскопию инокулированных корней микрорастений проводили с помощью конфокального микроскопа TCS SP5 (Leica Microsystems, Германия) в Центре коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» (ИБФРМ РАН, Саратов).

Статистика. Эксперимент был повторен дважды. В каждом эксперименте в каждом варианте опыта использовали три повторности по 10 растений, всего по 30 растений на вариант каждого опыта. Данные всех экспериментов были подвергнуты двухфакторному дисперсионному анализу (ANOVA). Оценка результатов выполнялась для уровня значимости $p = 0.05$. Для проверки нулевой гипотезы вычисляли критерий Фишера (F фактический), затем определяли наименьшую существенную разницу (НСР_{0,05}) между вариантами опыта, а также проводили множественное сравнение частных средних по тесту Дункана. Использовали пакет программ статистических и биометрико-генетических анализов в растениеводстве и селекции растений AGROS (версия 2.09).

Результаты

Влияние бактерий на рост и развитие микроклонов картофеля в условиях *in vitro*

По всем изучаемым признакам, за исключением средней длины корня, в культуре *in vitro* микрорастения сорта Кондор отставали в росте от микрорастений сорта Невский (рис. 1). На длину побега микрорастений картофеля сорта Невский все варианты инокуляции влияли положительно (см. рис. 1, а). Микрорастения, инокулированные только *A. baldaniorum* Sp245, были выше контроля на 18.9 %, и это максимальный показатель среди изучаемых вариантов. Для сорта Кондор все варианты инокуляции оказывали негативный эффект на длину побега, кроме варианта с *A. baldaniorum* Sp245, в котором растения не отличались от контроля.

На признак «количество узлов на побеге» (см. рис. 1, б) у сорта Невский все варианты инокуляции положительно влияли, кроме инокуляции *O. cytisi* IPA7.2, когда длина растений не отличалась от контроля. У микрорастений сорта Невский, инокулированных *A. baldaniorum* Sp245, было на 11.6 % больше узлов, чем в контроле. Микрорастения, коинокулированные последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки)+*O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки), имели на 5 % больше узлов на побегах. Микрорастения, коинокулированные одновременно *A. baldaniorum* Sp245 (15-е сутки)+*O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки), имели на 10.5 % больше узлов. Варианты инокуляции сорта Кондор чистой культурой *A. baldaniorum* Sp245 и последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки)+*O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки), были на уровне контроля. Остальные варианты инокуляции отрицательно влияли на количество узлов на микрорастениях сорта Кондор.

У сорта Невский при инокуляции *A. baldaniorum* Sp245 средняя длина корней увеличивалась на 4 % по сравнению с контролем (см. рис. 1, в), а *O. cytisi* IPA7.2 – на 3.7 %. Однако последовательная коинокуляция *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки)+*O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки) негативно влияла на длину корней (на 4.3 % ниже контроля). Для сорта Кондор все варианты инокуляции оказывали отрицательное влияние на длину корней.

По количеству корней (см. рис. 1, г) для обоих сортов выделились варианты с инокуляцией чистой культурой *A. baldaniorum* Sp245 и коинокуляцией последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки)+*O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки). У сортов Невский и Кондор с инокуляцией *A. baldaniorum* Sp245 количество корней увеличилось на 12.5 % по сравнению с контролем. Микрорастения сорта Невский, коинокулированные последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки)+*O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки), имели на 6.3 % больше корней, чем в контроле. Сорт Кондор, коинокулированный последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки)+*O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки), оказался на 26.7 % лучше контроля по количеству корней.

Таким образом, инокуляция чистой культурой *A. baldaniorum* Sp245 или консорциумом последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки)+IPA7.2 (15-е сутки) положительно воздействовала на микрорастения сорта Невский. Увеличивалась длина побега, количество узлов на побеге и количество корней при уменьшении их средней длины.

Идентификация бактерий на корнях микрорастений картофеля *in vitro*

Иммунофлуоресцентный анализ корней картофеля сорта Невский с использованием конфокальной микроскопии показал, что оба штамма бактерий успешно вступают во взаимодействие с клетками растений (рис. 2).

Бактерии обоих штаммов обнаруживались на корнях растений как при использовании для инокуляции чистых культур, так и при коинокуляции. Оба штамма сохранялись в вариантах коинокуляции растений, что говорит об отсутствии антогонистического влияния и преимущества какого-либо штамма при взаимодействии с клетками корней картофеля.

Влияние бактерий на адаптацию микрорастений картофеля к условиям *ex vitro*

Приживаемость сформированных *in vitro* микрорастений картофеля в сосудах с почвой в условиях оранжереи (этап *ex vitro*) была высокой (более 80 %) (рис. 3, а). У сорта Невский снижение приживаемости микрорастений на 6 % по сравнению с контролем отмечено только в варианте с инокуляцией чистой культурой *O. cytisi* IPA7.2. У сорта Кондор снижение приживаемости наблюдалось в двух вариантах: на 11 % – при одновременной инокуляции *A. baldaniorum* Sp245 (15-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки), а также на 14 % – при использовании чистой культуры *O. cytisi* IPA7.2.

В условиях *ex vitro* обнаружено достоверное влияние генотипа на все изучаемые признаки. Сорт Невский формировал более крупные побеги с большим числом крупных листьев (см. рис. 3).

Все варианты инокуляции положительно влияли на длину побега сорта Невский (см. рис. 3, б). В варианте с инокуляцией *A. baldaniorum* Sp245 высота побегов увеличивалась на 14 % по сравнению с контролем; при коинокуляции последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки) – на 5 %; при одновременной коинокуляции *A. baldaniorum* Sp245 (15-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки) – на 11.5 %; при инокуляции *O. cytisi* IPA7.2 – на 8 %. У сорта Кондор все варианты инокуляции отрицательно влияли на длину побега (уменьшение на 4–16 %).

По показателю «количество листьев на побеге» (см. рис. 3, в) во всех вариантах опыта сорт Кондор не отличался от контрольных растений. На сорте Невский, напротив, бактериализация во всех вариантах оказала положительное влияние на данный признак, кроме варианта с инокуляцией *A. baldaniorum* Sp245, в котором не установлено достоверных отличий от контроля. Растения сорта Невский, коинокулированные последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки), формировали на 10.5 % больше листьев, чем в контроле. В варианте с одновременной коинокуляцией *A. baldaniorum* Sp245 (15-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки) микрорастения образовали на 18.7 % больше листьев, чем в контроле. Растения, инокулированные *O. cytisi* IPA7.2, имели на 19.4 % больше листьев, чем контрольные.

У сорта Кондор по признаку «площадь листовой поверхности» (см. рис. 3, г) все варианты инокуляции не отличались от контроля, кроме одновременной коиноку-

ляции *A. baldaniorum* Sp245 (15-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки), когда установлен отрицательный эффект – на 36.6 %. На площадь листьев сорта Невский инокуляция *O. cytisi* IPA7.2 и коинокуляция *A. baldaniorum* Sp245 + *O. cytisi* IPA7.2 влияла положительно (в обоих случаях показатель на 60 % больше, чем в контроле). Растения этого сорта, инокулированные *O. cytisi* IPA7.2, имели более крупные листья (на 19 %), чем в контроле.

Таким образом, эффект инокуляции микрорастений в условиях *in vitro* и на этапе адаптации *ex vitro* существенно зависел от генотипа. На сорт Невский положительное влияние по всем исследуемым показателям оказывала инокуляция *O. cytisi* IPA7.2 отдельно или в комплексе с *A. baldaniorum* Sp245. Для сорта Кондор влияние было отрицательным, или растения не отличались от контроля.

Влияние бактерий на рост микрорастений в грунтовой теплице и урожаем мини-клубней

Приживаемость растений в грунтовой теплице была существенно ниже, чем в сосудах в контролируемых условиях (рис. 4, а), поскольку факторы среды не контролировались и зависели от окружающей среды. Для сорта Невский приживаемость варьировала от 30 до 64 %, а для сорта Кондор была еще ниже: от 18.33 до 25 %. Установлен достоверный положительный эффект бактериализации растений сорта Невский на приживаемость в грунтовой теплице в вариантах с инокуляцией *O. cytisi* IPA7.2 (в 1.5 раза) отдельно и в комплексе с *A. baldaniorum* Sp245 (в 1.2 и 1.7 раза). Варианты инокуляции микрорастений сорта Кондор не отличались от контроля.

Как и на предыдущих этапах, сорт Кондор достоверно уступал по вегетативной массе сорту Невский. В условиях теплицы обнаружено более выраженное положительное влияние бактериализации, чем на предыдущих этапах культивирования (см. рис. 4). Только в одном варианте с инокуляцией растений сорта Кондор *O. cytisi* IPA7.2 был обнаружен негативный эффект на длину побега – на 11 %. В двух вариантах опыта не установлено достоверного эффекта по сравнению со стандартом: у растений сорта Кондор по длине побегов при инокуляции *A. baldaniorum* Sp245 и по площади листьев при коинокуляции консорциумом последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки). В остальных вариантах наблюдался положительный эффект инокуляции.

По длине побегов (см. рис. 4, б) у сортов Невский и Кондор положительный эффект наблюдался в вариантах с коинокуляцией последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки) – на 57.1 и 27.5 % соответственно, и одновременно (на 15-е сутки) – на 60.6 и 13.8 % соответственно.

По количеству листьев (см. рис. 4, в) аналогичный максимальный положительный эффект для обоих сортов наблюдался в варианте с одновременной коинокуляцией *A. baldaniorum* Sp245 (15-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки) – на 80.5 и 51.1 % для сорта Невский и Кондор соответственно.

Увеличение площади листовой поверхности (см. рис. 4, г) по каждому сорту (Невский, Кондор) наблюдалось в большинстве вариантов бактериализации, но макси-

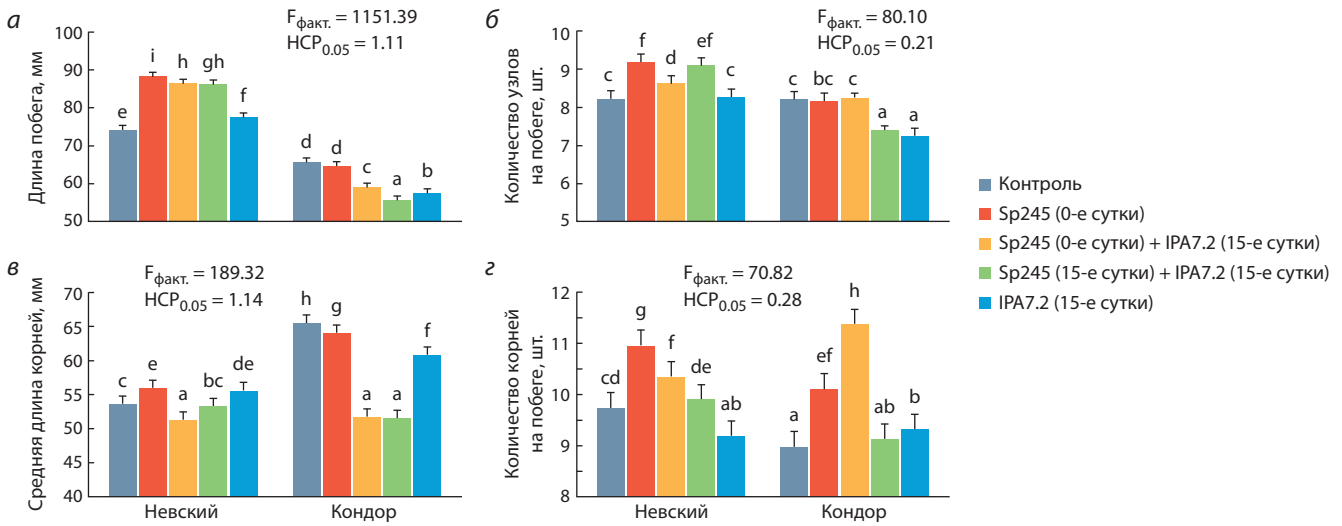


Рис. 1. Влияние инокуляции бактериями *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 в культуре *in vitro* на морфологические параметры микрорастений картофеля: а – длину побега; б – количество узлов на побеге; в – среднюю длину корней; з – количество корней.

Здесь и на рис. 3–5: для всех параметров использован уровень значимости $p = 0.05$, $n = 30$. Разными буквами латинского алфавита (а, б, с и т. д.) показано, что значения вариантов различаются существенно на основании сравнения частных средних по тесту Дункана.

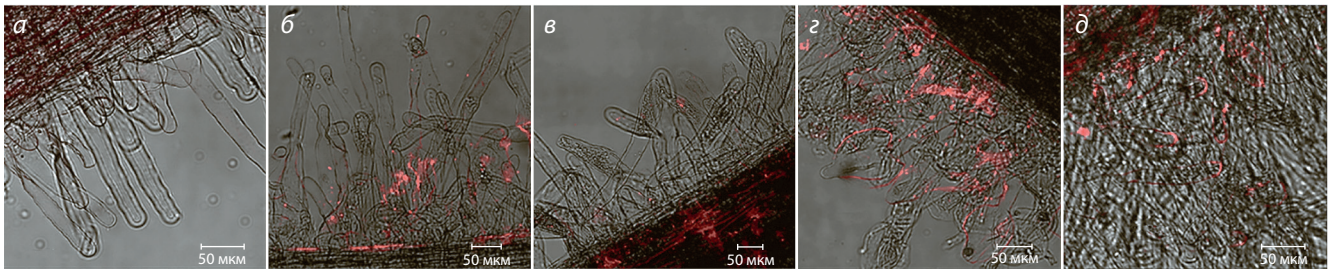


Рис. 2. Идентификация бактерий на корнях микрорастений картофеля с использованием иммунофлуоресцентной конфокальной микроскопии: а – контроль без инокуляции бактериями, антитела к *O. cytisi* IPA7.2; б – инокуляция штаммом *A. baldaniorum* Sp245, антитела к *A. baldaniorum* Sp245; в – коинокуляция штаммами *A. baldaniorum* Sp245 + *O. cytisi* IPA7.2, антитела к *A. baldaniorum* Sp245; з – коинокуляция штаммами *A. baldaniorum* Sp245 + *O. cytisi* IPA7.2, антитела к *O. cytisi* IPA7.2; д – инокуляция штаммом *O. cytisi* IPA7.2, антитела к *O. cytisi* IPA7.2.

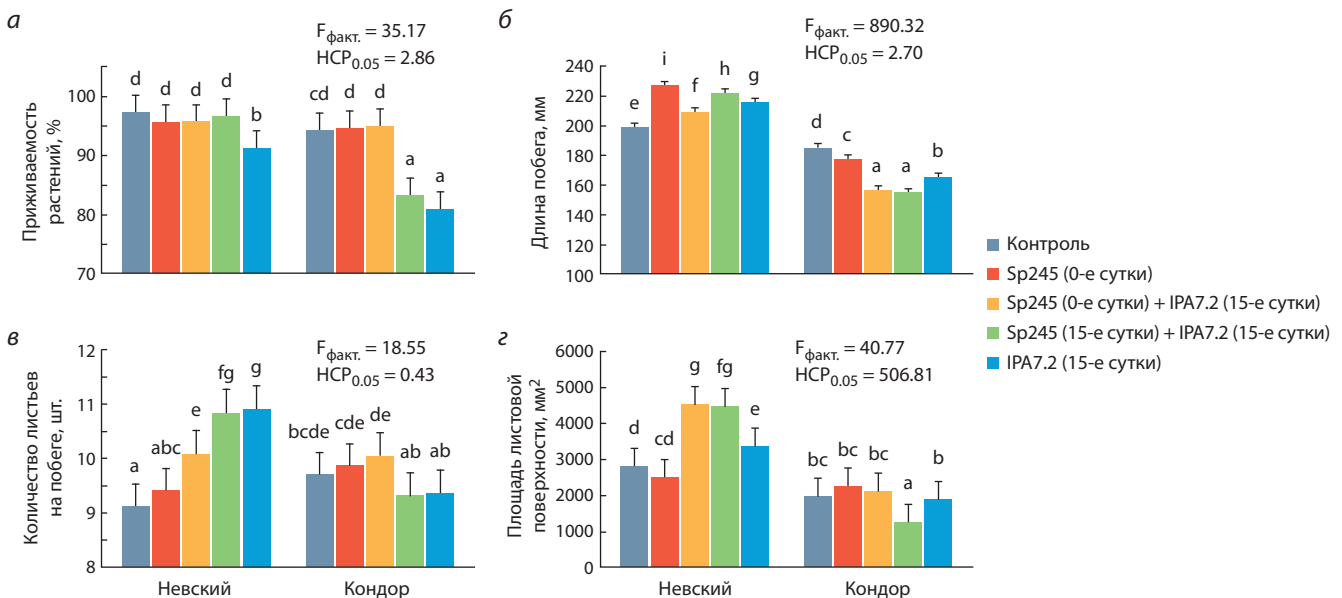


Рис. 3. Влияние инокуляции бактериями *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на этапе адаптации к условиям *ex vitro* на параметры микрорастений картофеля: а – приживаемость растений; б – длину побега; в – количество листьев на побеге; з – площадь листовой поверхности.

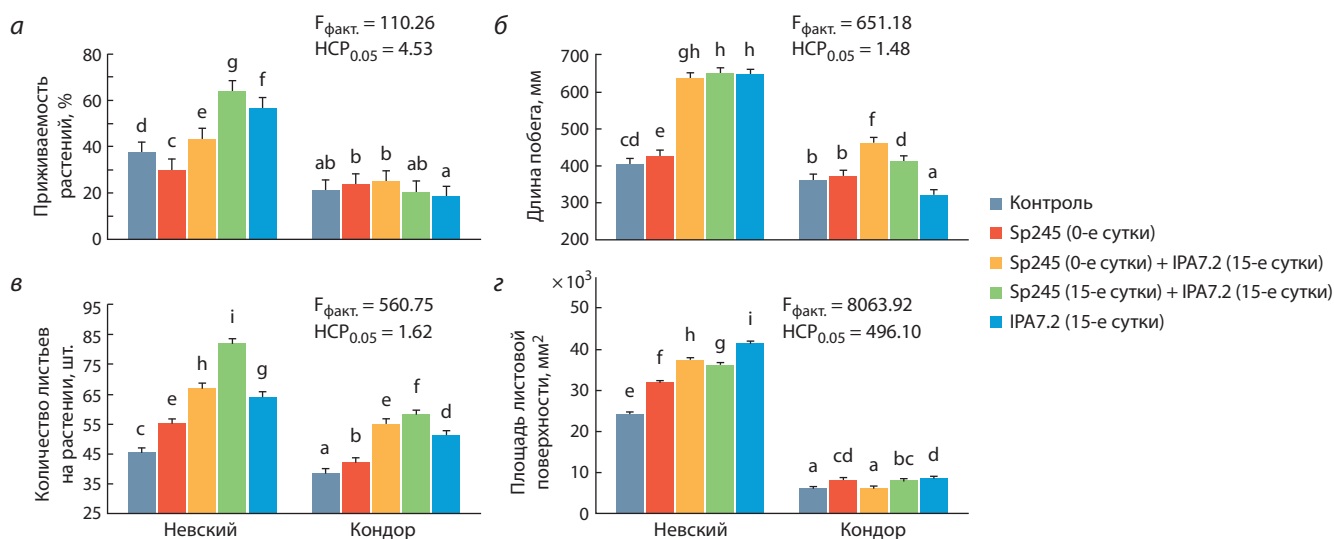


Рис. 4. Влияние инокуляции бактериями *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на параметры микрорастений картофеля в условиях выращивания в грунтовой теплице: а – приживаемость растений; б – длину побега; в – количество листьев на побеге; з – площадь листовой поверхности.

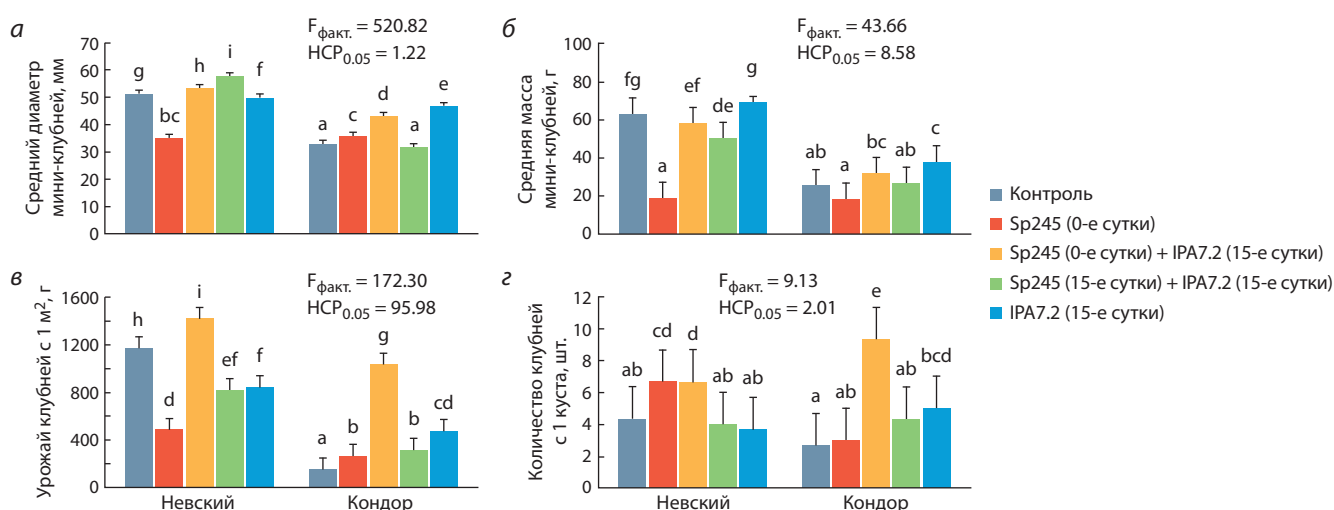


Рис. 5. Влияние инокуляции бактериями *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на урожай мини-клубней картофеля в условиях выращивания в грунтовой теплице: а – средний диаметр мини-клубней; б – среднюю массу мини-клубней; в – урожай клубней с 1 м²; з – количество клубней с одного растения.

мально – при инокуляции *O. cytisi* IPA7.2 (на 71.0 и 41.0 % соответственно).

По размеру клубней максимальный положительный эффект обнаружен в вариантах с инокуляцией растений *O. cytisi* IPA7.2 (на сорте Кондор) и с коинокуляцией консорциумом последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки) (на обоих сортах) (рис. 5, а, б). У сорта Кондор диаметр мини-клубней максимально увеличивался (на 41.9 %) в варианте с инокуляцией *O. cytisi* IPA7.2, а у сорта Невский (на 12.5 %) – в варианте с одновременной коинокуляцией *A. baldaniorum* Sp245 (15-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки).

Масса мини-клубней (см. рис. 5, б) в большинстве вариантов опыта не отличалась от контроля. Негативное влияние на массу клубней у сорта Невский отмечено при

инокуляции штаммом *A. baldaniorum* Sp245 – на 70.5 %, а также при одновременной коинокуляции *A. baldaniorum* Sp245 (15-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки) – на 20.5 %. У сорта Кондор наблюдалось увеличение массы клубней на 48.7 % при инокуляции штаммом *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки). *O. cytisi* IPA7.2 положительно влиял на сорт Кондор по всем показателям размера и массы мини-клубней.

Урожайность мини-клубней сорта Кондор была ниже, чем у сорта Невский, что согласуется с морфометрическими показателями всех предыдущих этапов (см. рис. 5, в). При этом у более урожайного сорта Невский бактериализация в меньшей степени повышала урожайность мини-клубней по сравнению с сортом Кондор. Максимальный положительный эффект инокуляции микрорастений на этапе культуры *in vitro* был обнаружен в варианте коинокуля-

ции последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки). Урожайность мини-клубней с 1 м² в данном варианте инокуляции увеличилась у сорта Невский на 11.1 %, у сорта Кондор в 6.8 раза.

С одного растения в данных экспериментах было получено от 2.67 до 9.33 клубня (см. рис. 5, з). По сортам количеству клубней на растении достоверно не различалось. Эффект бактериализации выявлен у сортов Невский и Кондор в варианте с коинокуляцией консорциумом последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки) – в 3.5 и 1.5 раза соответственно. У сорта Невский обнаружен аналогичный эффект увеличения количества мини-клубней с одного растения в варианте инокуляции чистой культурой *A. baldaniorum* Sp245. У сорта Кондор количество клубней на растении увеличилось также в варианте инокуляции *O. cytisi* IPA7.2 – в 1.9 раза.

Таким образом, коинокуляция микрорастений на этапе культивирования *in vitro* консорциумом последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки) существенно увеличивала массу и количество мини-клубней, являющихся оздоровленным оригинальным посадочным материалом.

Обсуждение

Получение оздоровленного посадочного материала – важный этап технологии производства картофеля. Обязательным этапом семеноводства картофеля является клональное микроразмножение растений, свободных от всех видов патогенов, методом культивирования апикальных меристем в культуре *in vitro*. Эффективность метода может быть повышена применением ризосферных бактерий. По данным литературных источников, на всех этапах культивирования, в том числе *in vitro* и *in vivo*, наблюдалось положительное влияние бактерий на рост растений. Отмечено также положительное воздействие на адаптационную способность при посадке микрорастений в нестерильные условия *ex vitro* (Oswald et al., 2010; Belimov et al., 2015; Santiago et al., 2017; Soumare et al., 2021).

Наши предыдущие исследования показали, что для стимулирования роста микрорастений картофеля в условиях *in vitro* и *ex vitro* могут быть использованы ассоциативные ризобактерии *A. baldaniorum* Sp245 (Tkachenko et al., 2015) и *O. cytisi* IPA7.2 (Burygin et al., 2019). Способность бактерий рода *Azospirillum* стимулировать рост и продуктивность картофеля, в том числе в системе производства семян, хорошо известна (Naqqash et al., 2016; Kargapolova et al., 2020; Tkachenko et al., 2021). При этом эффективность применения бактерий выше в оптимальных условиях *in vitro*, но снижается на этапе выращивания растений в поле (Bacilio et al., 2017).

Результаты настоящего исследования тоже показывают, что инокуляция чистой культурой *A. baldaniorum* Sp245 по сравнению с остальными вариантами обработки лучше стимулировала рост микрорастений сорта Невский в оптимальных условиях *in vitro*, чем *ex vitro* или в почве в условиях теплицы. Штамм *A. baldaniorum* Sp245 был выделен из корней пшеницы (Baldani et al., 1983; Ferreira et al., 2020) и является модельным для многих исследований. Согласно нашим данным, этот штамм обладает высокой способностью к производству гормона

индолилуксусной кислоты, что объясняет его стимулирующее влияние на корни микрорастений (Kargapolova et al., 2020).

Штамм *O. cytisi* IPA7.2, выделенный нами непосредственно из корней картофеля и являющийся аборигенным для почв Саратовской области, более устойчив к стрессовым воздействиям, чем азоспириллы (Burygin et al., 2017, 2019). Он выдерживает значительные колебания температуры, повышенные содержания соли и гербицидов, что объясняет его способность защищать растения от стресса, в том числе осмотического (Evseeva et al., 2019).

Влияние бактериальной инокуляции на формирование и линейный рост органов растения (побегов, корней) зависит от существующего на данный момент в растении гормонального баланса, определяемого генетическими особенностями, факторами среды и изменениями, которые вызывают в нем конкретные штаммы (Arkhipova et al., 2020). Поэтому при стимуляции роста побега не всегда достигается аналогичный эффект для корней, а действие разных штаммов и на разных генотипах растений может различаться.

Комбинирование разных штаммов, в том числе азоспирилл с другими микросимбионтами, считается перспективным для инокуляции растений благодаря возможному синергетическому эффекту и большей устойчивости многокомпонентной системы (Panahyan-e-Kivi et al., 2016; Trdan et al., 2019; Gavilanes et al., 2020). Но при использовании коинокуляции важное значение имеет совместимость штаммов, их способность сохраняться на растении одновременно и не вызывать антагонистических проявлений (O'Brien, Harrison, 2021). Эффективность бактериализации зависит от генотипа растения, этапа развития, внешних и внутренних условий (Andreote et al., 2010).

В проведенных нами ранее исследованиях установлено (Бурьгин и др., 2018), что этап инокулирования зависит от особенностей используемого штамма. Бактерии *A. baldaniorum* Sp245 не способны к самостоятельному росту на питательной среде для культивирования микрорастений и могут применяться для инокуляции на любом этапе культивирования микрорастений *in vitro*. Бактерии *O. cytisi* IPA7.2 демонстрируют активный рост на питательной среде для культивирования микрорастений и могут применяться для инокуляции только во второй половине пассажа. Поэтому было изучено два варианта коинокуляции микрорастений штаммами *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2: одновременный на 15-е сутки культивирования и последовательный – *A. baldaniorum* Sp245 на 0-е сутки и *O. cytisi* IPA7.2 на 15-е сутки культивирования. Результаты показали, что *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 способны одновременно сохраняться на корнях растений картофеля без антагонистических взаимодействий (см. рис. 2). При этом синергетический эффект наблюдался не во всех вариантах и зависел от этапа культивирования и сорта картофеля. В условиях культуры *in vitro* (см. рис. 1) варианты коинокуляции двумя штаммами по большинству показателей не превышали действие каждого штамма в отдельности, в том числе *A. baldaniorum* Sp245, обладавшего хорошей рост-стимулирующей активностью в отношении микрорастений сорта Невский.

Адаптационная способность микрорастений в благоприятных лабораторных условиях на этапе высадки *ex vitro* (см. рис. 3) под действием коинокуляции двумя штаммами оставалась на уровне контроля или действия штаммов по отдельности. Но в стрессовых условиях грунтовой теплицы, при слабоконтролируемом действии факторов внешней среды защитное влияние бактериализации проявилось с большей силой (см. рис. 4), по крайней мере для сорта Невский. В том числе максимально повысилась (на 71 %) приживаемость растений данного сорта под действием одновременной коинокуляции, что превзошло положительный эффект инокуляции чистой культурой *O. cytisi* IPA7.2 почти на 20 %.

Положительный эффект коинокуляции отмечен для сорта Невский на этапе адаптации *ex vitro* по количеству и площади листьев на растениях (см. рис. 3), при этом по второму показателю наблюдался синергетический эффект. Максимальное стимулирующее влияние бактериализации отмечено в неблагоприятных условиях выращивания в грунтовой теплице (см. рис. 4), что согласуется с данными (Cesari et al., 2019) о повышении толерантности растений к стрессам под действием бактериализации, в том числе коинокуляции консорциумом бактерий с азоспириллами в составе. На показатели роста растений обоих сортов коинокуляция оказывала положительное влияние на уровне или даже выше действия чистой культуры *O. cytisi* IPA7.2.

Эффективность всей технологии производства оздоровленного посадочного материала картофеля в конечном счете зависит от урожая мини-клубней. Надо сказать, что для семеноводства большее значение имеет не столько масса, сколько количество мини-клубней на растениях, так как это определяет коэффициент размножения и скорость тиражирования семян. Эффект бактериализации на получение мини-клубней проявился особенно сильно, причем на обоих сортах (см. рис. 5). Средний размер мини-клубней изменялся незначительно, но количество мини-клубней на растениях существенно возрастало при коинокуляции последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0-е сутки) + *O. cytisi* IPA7.2 (15-е сутки). Она привела к увеличению выхода мини-клубней у сорта Невский в 1.5 раза, а у сорта Кондор в 3.5 раза, причем для сорта Кондор отмечен синергетический эффект коинокуляции по сравнению с действием штаммов по отдельности. Аналогичный синергетический эффект отмечен для обоих сортов в том же варианте коинокуляции по урожаю мини-клубней с 1 м².

Способ коинокуляции – последовательный (при черенковании *A. baldaniorum* Sp245 и затем *O. cytisi* IPA7.2 на 15-е сутки) или одновременный на 15-е сутки – на разных этапах культивирования микрорастений проявлял влияние по-разному, но исходя из стимулирующего эффекта *A. baldaniorum* Sp245 в условиях *in vitro* и конечного получения мини-клубней можно считать предпочтительным последовательную коинокуляцию.

Заключение

По результатам экспериментов установлено положительное влияние бактериальных штаммов *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 как по отдельности, так и в составе консорциума, которое по-разному проявлялось на различных этапах культивирования растений. Макси-

мальный положительный эффект бактериализации на этапе культуры *in vitro* установлен по количеству адвентивных корней, на этапе адаптации *ex vitro* – по количеству и площади листьев, при выращивании растений в почве в условиях теплицы – по всем показателям вегетативной части побегов, а также по массе мини-клубней. Между рассмотренными штаммами бактерий не наблюдалось антагонистического влияния. Отмечена существенная зависимость рост-стимулирующего эффекта бактерий от генотипа картофеля. Максимальный положительный эффект при взаимодействии двух штаммов получен на этапе выращивания инокулированных растений в открытом грунте. Использование штаммов *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 по отдельности и совместно может быть рекомендовано для инокуляции микрорастений картофеля в культуре *in vitro* при клональном микроразмножении картофеля в системе производства оздоровленного посадочного материала для устойчивого развития сельского хозяйства.

Список литературы / References

- Бурьгин Г.Л., Каргаполова К.Ю., Евсеева Н.В., Ткаченко О.В. Особенности инокуляции растений ризосферными бактериями как фактор повышения эффективности микроклонального размножения картофеля. *Вестн. биотехнологии и физ.-хим. биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2018;14(2):12-16.
- [Burygin G.L., Kargapolova K.Y., Evseeva N.V., Tkachenko O.V. Peculiarities of plant inoculation with rhizosphere bacteria as a factor increasing the efficacy of potato microclonal propagation. *Vestnik Biotehnologii i Fiziko-Khimicheskoy Biologii im. Yu.A. Ovchinnikova = Yu.A. Ovchinnikov Bulletin of Biotechnology and Physical and Chemical Biology*. 2018;14(2):12-16. (in Russian)]
- Andreote F.D., Rocha U.N., Araújo W.L., Azevedo J.L., van Overbeek L.S. Effect of bacterial inoculation, plant genotype and developmental stage on root-associated and endophytic bacterial communities in potato (*Solanum tuberosum*). *Antonie Leeuwenhoek*. 2010; 97(4):389-399. DOI 10.1007/s10482-010-9421-9.
- Arkhipova T.N., Evseeva N.V., Tkachenko O.V., Burygin G.L., Vysotskaya L.B., Akhtyamova Z.A., Kudoyarova G.R. Rhizobacteria inoculation effects on phytohormone status of potato microclones cultivated *in vitro* under osmotic stress. *Biomolecules*. 2020;10(9): 1231. DOI 10.3390/biom10091231.
- Bacilio M., Moreno M., Lopez-Aguilar D.R., Bashan Y. Scaling from the growth chamber to the greenhouse to the field: demonstration of diminishing effects of mitigation of salinity in peppers inoculated with plant growth-promoting bacterium and humic acids. *Appl. Soil Ecol.* 2017;119:327-338. DOI 10.1016/j.apsoil.2017.07.002.
- Baldani V.L.D., Baldani J.I., Döbereiner J. Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat. *Can. J. Microbiol.* 1983;29(8):924-929. DOI 10.1139/m83-148.
- Belimov A.A., Dodd I.C., Safronova V.I., Shaposhnikov A.I., Azarova T.S., Makarova N.M., Davies W.J., Tikhonovich I.A. Rhizobacteria that produce auxins and contain 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid deaminase decrease amino acid concentrations in the rhizosphere and improve growth and yield of well-watered and water-limited potato (*Solanum tuberosum*). *Ann. Appl. Biol.* 2015; 167(1):11-25. DOI 10.1111/aab.12203.
- Burygin G.L., Kargapolova K.Y., Kryuchkova Y.V., Avdeeva E.S., Gogoleva N.E., Ponomaryova T.S., Tkachenko O.V. *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 promotes growth of potato microplants and is resistant to abiotic stress. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2019;35(4):55. DOI 10.1007/s11274-019-2633-x.
- Burygin G.L., Popova I.A., Kargapolova K.Y., Tkachenko O.V., Matora L.Y., Shchyogolev S.Y. A bacterial isolate from the rhizosphere of potato (*Solanum tuberosum* L.) identified as *Ochrobactrum lu-*

- pini* IPA7.2. *Agric. Biol.* 2017;52(1):105-115. DOI 10.15389/agrobiology.2017.1.105eng.
- Castillo-Pérez L.J., Martínez-Soto D., Fortanelli-Martínez J., Carranza-Álvarez C. Asymbiotic seed germination, in vitro seedling development, and symbiotic acclimatization of the Mexican threatened orchid *Stanhopea tigrina*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2021;146:249-257. DOI 10.1007/s11240-021-02064-9.
- Cesari A.B., Paulucci N.S., López-Gómez M., Hidalgo-Castellanos J., Plá C.L., Dardanelli M.S. Performance of *Bradyrhizobium* and *Bradyrhizobium-Azospirillum* in alleviating the effects of water-restrictive conditions during the early stages of *Arachis hypogaea* growth. *J. Plant Growth Regul.* 2019;38:1362-1374. DOI 10.1007/s00344-019-09939-4.
- Dias A.C.F., Costa F.E.C., Andreote F.D., Lacava P.T., Teixeira M.A., Assumpção L.C., Araújo W.L., Azevedo J.L., Melo I.S. Isolation of micropropagated strawberry endophytic bacteria and assessment of their potential for plant growth promotion. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2009;25:189-195. DOI 10.1007/s11274-008-9878-0.
- Döbereiner J., Day J.M. Associative symbioses in tropical grasses: characterization of microorganisms and nitrogen-fixing sites. In: Proceedings of the 1st Int. Symp. on Nitrogen Fixation. Washington State Univ., 1976;518-538.
- Evseeva N.V., Tkachenko O.V., Denisova A.Y., Burygin G.L., Veselov D.S., Matora L.Y., Shchyogolev S.Y. Functioning of plant-bacterial associations under osmotic stress in vitro. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2019;35:195. DOI 10.1007/s11274-019-2778-7.
- Ferreira N.D.S., Sant'Anna F.H., Reis V.M., Ambrosini A., Volpiano C.G., Rothballer M., Schwab S., Baura V.A., Balsanelli E., Pedrosa F.O., Passaglia L.M.P., de Souza E.M., Hartmann A., Casan F., Zilli J.E. Genome-based reclassification of *Azospirillum brasilense* Sp245 as the type strain of *Azospirillum baldaniorum* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2020;70(12):6203-6212. DOI 10.1099/ijsem.0.004517.
- Gavilanes F.Z., Andrade D.S., Zucareli C., Horácio E.H., Yunes J.S., Barbosa A.P., Alves L.A.R., Cruzatty L.G., Maddela N.R., Guimarães M.F. Co-inoculation of *Anabaena cylindrica* with *Azospirillum brasilense* increases grain yield of maize hybrids. *Rhizosphere.* 2020;15:100224. DOI 10.1016/j.rhisph.2020.100224.
- Kargapolova K.Y., Burygin G.L., Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Pukhalskiy Y.V., Belimov A.A. Effectiveness of inoculation of in vitro-grown potato microplants with rhizosphere bacteria of the genus *Azospirillum*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2020;141:351-359. DOI 10.1007/s11240-020-01791-9.
- Murashige T., Skoog G. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 1962;15(3):473-497. DOI 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- Naqqash T., Hameed S., Imran A., Hanif M.K., Majeed A., van Elsas J.D. Differential response of potato toward inoculation with taxonomically diverse plant growth promoting rhizobacteria. *Front. Plant Sci.* 2016;7:144. DOI 10.3389/fpls.2016.00144.
- O'Brien A.M., Harrison T.L. Host match improves root microbiome growth. *Nat. Microbiol.* 2021;6(9):1103-1104. DOI 10.1038/s41564-021-00957-1.
- Oliveira A.L.M., Urquiaga S., Döbereiner J., Baldani J.I. The effect of inoculating endophytic N₂-fixing bacteria on micropropagated sugarcane plants. *Plant Soil.* 2002;242:205-215. DOI 10.1023/A:1016249704336.
- Orlikowska T., Nowak K., Reed B. Bacteria in the plant tissue culture environment. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2017;128:487-508. DOI 10.1007/s11240-016-1144-9.
- Oswald A., Calvo V.P., Davila D.Z., Pineda J.A. Evaluating soil rhizobacteria for their ability to enhance plant growth and tuber yield in potato. *Ann. Appl. Biol.* 2010;157(2):259-271. DOI 10.1111/j.1744-7348.2010.00421.x.
- Panahyan-e-Kivi M., Raei Y., Hassanpanah D. Study the effect of growth promoting bacteria (GPRB) on number and weight of mini-tubers of *Solanum tuberosum* cultivars in greenhouse conditions. *J. Fundam. Appl. Sci.* 2016;8(2S):28-38. DOI 10.4314/jfas.v8i2s.556.
- Rajasekharan P.E., Sahjram L. Plant biology and biotechnology. In: Plant Biology and Biotechnology. Vol. II. Plant genomics and biotechnology. New Delhi: Springer, 2015:417-443. DOI 10.1007/978-81-322-2283-5_30.
- Santiago C.D., Yagi S., Ijima M., Nashimoto T., Sawada M., Ikeda S., Asano K., Orikasa Y., Ohwada T. Bacterial compatibility in combined inoculations enhances the growth of potato seedlings. *Microbes Environ.* 2017;32(1):14-23. DOI 10.1264/jsm.2ME16127.
- Shelud'ko A.V., Shirokov A.A., Sokolova M.K., Sokolov O.I., Petrova L.P., Matora L.Y., Katsy E.I. Wheat root colonization by *Azospirillum brasilense* strains with different motility. *Microbiology.* 2010;79(5):688-695. DOI 10.1134/S0026261710050140.
- Soumare A., Diédhiou A.G., Arora N.K., Al-Ani L.K.T., Ngom M., Fall S., Hafidi M., Ouhdouch Y., Koussini L., Sy M.O. Potential role and utilization of plant growth promoting microbes in plant tissue culture. *Front. Microbiol.* 2021;12:649878. DOI 10.3389/fmicb.2021.649878.
- Thomas J., Ajay D., Kumar R.R., Mandal A.K.A. Influence of beneficial microorganisms during in vivo acclimatization of in vitro-derived tea (*Camellia sinensis*) plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2010;101:365-370. DOI 10.1007/s11240-010-9687-7.
- Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Boikova N.V., Matora L.Y., Burygin G.L., Lobachev Y.V., Shchyogolev S.Y. Improved potato microclonal reproduction with the plant-growth promoting rhizobacteria *Azospirillum*. *Agron. Sustain. Develop.* 2015;35:1167-1174. DOI 10.1007/s13593-015-0304-3.
- Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Terentyeva E.V., Burygin G.L., Shirokov A.A., Burov A.M., Matora L.Y., Shchyogolev S.Y. Improved production of high-quality potato seeds in aeroponics with plant-growth-promoting rhizobacteria. *Potato Res.* 2021;64:55-66. DOI 10.1007/s11540-020-09464-y.
- Trdan S., Vučajnik F., Bohinc T., Vidrih M. The effect of a mixture of two plant growth-promoting bacteria from Argentina on the yield of potato, and occurrence of primary potato diseases and pest – short communication. *Acta Agric. Scand. B Soil Plant Sci.* 2019;69(1):89-94. DOI 10.1080/09064710.2018.1492628.
- Wang X., Yam T., Meng Q., Zhu J., Zhang P., Wu H., Wang J., Zhao Y., Song X. The dual inoculation of endophytic fungi and bacteria promotes seedlings growth in *Dendrobium catenatum* (Orchidaceae) under in vitro culture conditions. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2016;126(3):523-531. DOI 10.1007/s11240-016-1021-6.
- Yegorenkova I.V., Tregubova K.V., Burygin G.L., Matora L.Y., Ignatov V.V. Assessing the efficacy of co-inoculation of wheat seedlings with the associative bacteria *Paenibacillus polymyxa* 1465 and *Azospirillum brasilense* Sp245. *Can. J. Microbiol.* 2016;62(3):279-285. DOI 10.1139/cjm-2015-0647.

ORCID ID

K.Yu. Kargapolova orcid.org/0000-0002-6040-9401
O.V. Tkachenko orcid.org/0000-0001-8327-6763
G.L. Burygin orcid.org/0000-0001-8031-9641

N.V. Evseeva orcid.org/0000-0002-3973-6766
A.A. Shirokov orcid.org/0000-0003-4321-735X
L.Yu. Matora orcid.org/0000-0001-5654-8292
S.Yu. Shchyogolev orcid.org/0000-0002-1084-312X

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 19-016-00116.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 12.11.2021. После доработки 10.03.2022. Принята к публикации 28.04.2022.