

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И МИКОЛОГИЯ / AGRICULTURAL MICROBIOLOGY AND MYCOLOGY

<https://doi.org/10.30766/2072-9081.2024.25.5.855-864>
УДК 631.147+579.87



Бактеризация микрорастений картофеля *in vitro* ризобактерией *Streptomyces* повышает эффективность культивирования

© 2024. И. Г. Широких¹✉, С. Э. Мокрушина^{1,2}, Р. И. Абубакирова¹

¹ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», г. Киров, Российская Федерация

²ФГБОУ ВО «Вятский Государственный Университет», г. Киров, Российская Федерация

В целях более эффективного выращивания высококачественного семенного картофеля необходимо постоянно совершенствовать технологии культивирования и ускоренного размножения *in vitro* материала в асептических условиях. В проведенном исследовании установлено, что оптимизировать условия культивирования *in vitro* материала на этапах клонирования позволяет инокуляция местным штаммом *Streptomyces minoensis* КР-10, который был выделен из ризосферы *Urtica dioica* L. с помощью селективного приема. Штамм характеризуется фитостимулирующей активностью, способностью к синтезу ауксинов ($18,7 \pm 1,0$ мкг/мл), высокой радиальной скоростью роста ($65,7 \pm 8,8$ мкм/ч) и колонизирующей способностью (10^5 – 10^8 КОЕ/г в зависимости от вида растительной ткани). В работе выявлен оптимальный способ инокуляции, предусматривающий последовательное обмакивание микро-черенков в бактериальную суспензию, и определен титр бактериальной суспензии (10^5 КОЕ/мл), способствующий увеличению коэффициента размножения перспективного селекционного номера 172-13 и сорта Пранса. Выраженность эффектов бактеризации зависела от генотипических особенностей картофеля. Инокуляция штаммом *S. minoensis* КР-10 позволила снизить долю морфозов среди *in vitro* материала селекционного номера 172-13 в 2,5 раза. Разработанные приемы способны повысить эффективность выращивания биоматериала картофеля в процессе ускоренного клонального размножения.

Ключевые слова: *Solanum tuberosum* L., *Streptomyces* sp. КР-10, *in vitro* материал, клональное размножение, инокуляция, фитостимуляция

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого» (тема № FNWE-2022-0005).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Широких И. Г., Мокрушина С. Э., Абубакирова Р. И. Бактеризация микрорастений картофеля *in vitro* ризобактерией *Streptomyces* повышает эффективность культивирования. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2024;25(5):855–864. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2024.25.5.855-864>

Поступила: 26.08.2024

Принята к публикации: 10.10.2024

Опубликована онлайн: 30.10.2024

Bacterization of potato micro-plants *in vitro* by *Streptomyces* rhizobacteria increases the efficiency of cultivation

© 2024. Irina G. Shirokikh¹✉, Svetlana E. Mokrushina^{1,2}, Roza I. Abubakirova¹

¹Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky, Kirov, Russian Federation

²Vyatka State University, Kirov, Russian Federation

In order to grow high-quality seed potatoes more efficiently, it is necessary constantly to improve cultivation technologies and accelerated reproduction of *in vitro* material under aseptic conditions. During the research it has been established that inoculation with a local strain of *Streptomyces minoensis* KR-10, which was isolated from the rhizosphere of *Urtica dioica* L. with the help of selective reception, allows to optimize the conditions of *in vitro* cultivation of the material at the cloning stages. The strain is characterized by phyto-stimulating activity, the ability to synthesize auxins (18.7 ± 1.0 µg/ml), high radial growth rate (65.7 ± 8.8 µm/h) and colonizing ability (10^5 – 10^8 CFU/g depending on the type of plant tissue). The optimal inoculation method was identified, which provides for sequential dipping of micro gears into a bacterial suspension, and the titer of the bacterial suspension (10^5 CFU/ml) was determined, contributing to an increase in the reproduction coefficient of the promising breeding number 172-13 and the 'Pransa' cultivar. The severity of bacterization effects depended on the genotypic

*characteristics of potatoes. Inoculation with *S. minoensis* strain KR-10 made it possible to reduce the proportion of morphoses among in vitro material number 172-13 by 2.5 times. The developed techniques are able to increase the efficiency of growing potato biomaterial in the process of accelerated clonal reproduction.*

Keywords: *Solanum tuberosum* L., *Streptomyces* sp. KR-10, in vitro material, clonal micropropagation, inoculation, phytostimulation

Acknowledgements: the research was carried out under the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the state assignment of Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky (theme No. FNWE-2022-0005).

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citations: Shirokikh I. G., Mokrushina S. E., Abubakirova R. I. Bacterization of potato microgrowths in vitro by *Streptomyces* rhizobacteria increases the efficiency of cultivation. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2024;25(5):855–864. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2024.25.5.855-864>

Received: 26.08.2024

Accepted for publication: 10.10.2024 Published online: 30.10.2024

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является четвертой после кукурузы, пшеницы и риса культурой по распространенности во всем мире [1]. Эта важная продовольственная культура восприимчива к различным грибным, бактериальным и вирусным инфекциям, поражение которыми в отдельные годы приводит к потере до 60 % от всего урожая картофеля [2]. Селекция на устойчивость к возбудителям болезней и химические средства защиты не могут решить эту проблему в полной мере. Урожайность картофеля напрямую зависит от качества посадочного материала. В современной практике для выращивания высококачественного семенного картофеля используются различные технологии ускоренного размножения *in vitro* материала [3]. При клональном микро-размножении *in vitro* растений на этапах клонирования возникает необходимость повысить эффективность культивирования. Из литературы известно, что искусственная бактеризация может стимулировать рост картофеля *in vitro*, способствовать адаптации к условиям *ex vitro*, а также увеличивать выход миниклубней в первом клубневом поколении [4]. Показано, что чистые культуры ассоциативных граммотрицательных ризобактерий *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 обладают способностью стимулировать рост микрорастений картофеля в условиях *in vitro* и *ex vitro* [5, 6, 7, 8]. Стимулирующие эффекты в условиях *in vitro* в отношении морфогенеза, ризогенеза и активности протекания процессов фотосинтеза отмечали в микрорастениях картофеля под влиянием нанесения на питательную среду вторичных метаболитов штаммов бактерий *Bacillus cereus* 9-08-CH9 и *Achromobacter spanius* 10-50TS2, выделенных из кернов много-летнемерзлых пород [9].

Стимулировать рост картофеля в культуре *in vitro*, наряду с граммотрицательными ризо-

сферными бактериями и вторичными бактериальными метаболитами, могут грамположительные мицелиальные бактерии рода *Streptomyces*. Как симбионты растений, стрептомицеты, за исключением возбудителей парши *S. scabiae* и еще нескольких видов, продуцирующих такстомины [10], в целом характеризуются положительными эффектами [11, 12]. В предыдущих наших исследованиях было показано, что выделенные из ризосферы *Solanum lycopersicum* L. и *Nicotiana tabacum* L. штаммы *Streptomyces* spp. успешно колонизируют ткани и способствуют усилению роста микрорастений в *in vitro* культуре и после их высадки на субстрат [13, 14]. Положительные эффекты от инокуляции *in vitro* материала прослеживались как в чистых культурах стрептомицетов, так и в ассоциации с *Agrobacterium tumefaciens* [15], а также на фоне заражения растений бактерией *Clavibacter michiganensis* – возбудителем кольцевой гнили картофеля [16].

Цель исследований – разработка способа стимуляции роста и повышения коэффициента размножения *in vitro* микрорастений картофеля на основе бактеризации новым штаммом ризобактерий *Streptomyces minoensis* KP-10.

Научная новизна – на основе нового полученного из ризосферы *Urtica dioica* L. штамма *S. minoensis* KP-10 с высокой радиальной скоростью роста и колонизирующей способностью, продуцирующего ауксины и обладающего фитостимулирующим действием, разработаны приемы, способные повысить эффективность выращивания исходного материала картофеля.

Материал и методы. Получение, культивирование и изучение свойств бактериального микроассоцианта. В работе использовали бактериальный изолят KP-10 из ризосферы *Urtica dioica* L., полученный на казеин-глицериновом агаре (КГА) после прогревания образца

при 70 °C в течение 4 час для ограничения роста немиецелиальных бактерий. После процедуры очистки изолят КР-10 хранили на скошенном овсяном агаре [17] при 4 °C. На стандартных диагностических средах ISP (International Streptomyces Project) изолят КР-10 имел культурально-морфологические признаки (нефрагментированный мицелий, длинные цепочки спор в воздушном мицелии и отсутствие спор на субстратном мицелии), характерные для представителя серии *Cinereus Violaceus* рода *Streptomyces*. В соответствии с ключом Гаузе [17] его предварительно отнесли к виду *S. minoensis*.

Оценку фиторегуляторного действия *S. minoensis* КР-10 проводили в водно-бумажной культуре на семенах мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Приокская. Обработанные жидкой культурой семена раскладывали в чашки Петри на поверхность увлажненной фильтровальной бумаги, помещая в каждую чашку по 10 семян, и проращивали при температуре 20±2 °C в течение 6 суток. Повторность в опыте трехкратная. Контролем служили семена, замоченные в воде, и обработанные в растворе индоллил-3-уксусной кислоты (ИУК) с концентрацией 1 мкг/мл. Учитывали всхожесть семян и морфометрические показатели проростков.

Способность продуцировать ауксины определяли с реактивом Сальковского [18] на спектрофотометре UVmini-1240 (SHIMADZU, Япония) при длине волны 540 нм. Для построения калибровочного графика использовали разведения стандартного раствора ИУК (Fluka, Швейцария). Контролем служила среда без инокуляции, но с добавлением реактива. В качестве предшественника индольных соединений в жидкую среду для культивирования бактерии [19] добавляли L-триптофан («ДИАЭМ», Индия) в количестве 100 мкг/мл. Инкубировали при комнатной температуре (20±2 °C) и постоянном встряхивании (180 об/мин). Для анализа использовали супернатант жидкой культуры *S. minoensis* КР-10 на 5-е сутки роста. Измерения проводили в трех биологических повторностях.

Для определения радиальной скорости роста *S. minoensis* КР-10 проводили посев уколом в агаризованную среду Гаузе 1 в девяти повторениях (по три на чашку). Скорость роста рассчитывали по формуле:

$$K_r = (D_2 - D_1) / (t_2 - t_1),$$

где K_r – радиальная скорость роста, мкм/ч;
 D_1 и D_2 – диаметр колоний (мкм) в начальный

(t_1) и конечный (t_2) моменты времени измерения соответственно (час)¹.

Способность штамма колонизировать ткани картофеля оценивали количественно, определяя численность пропагул стрептомицета в корнях, листьях, верхней и нижней части побега инокулированных микрорастений. Для этого производили посев из разведений тканевых гомогенатов различных органов на агаризованную среду Гаузе 1 в трехкратной повторности. Учет вырастающих при 28 °C колоний стрептомицета проводили на 7-е сутки культивирования. С учетом сухой массы, взятой для посева навески вычисляли количество КОЕ в 1 г растительной ткани.

Культивирование микрорастений картофеля в условиях in vitro. Для бактеризации использовали микрорастения двух генотипов картофеля – перспективного селекционного номера 172-13 и сорта Пранса. Асептически полученные микрочеренки с одним листом и почкой помещали на свежую безгормональную питательную среду МС [20] с добавлением 20 г/л сахарозы и культивировали при температуре 24±2 °C, освещенности 4 тыс. клк, фотопериоде 16 ч.

Инокуляция микрочеренков штаммом бактерии. Культуру *S. minoensis* КР-10 выращивали в жидкой среде Гаузе 1 [17] при температуре 24±2 °C на качалке с интенсивностью перемешивания 120 об/мин до конца экспоненциальной фазы роста (7 сут). Полученную бактериальную суспензию разводили для инокуляции в 10 и 100 раз стерильной водой. Итоговая концентрация клеток бактерий в инокуляте составила 10⁵ и 10⁴ КОЕ/мл.

Инокуляцию проводили двумя способами – путем обмакивания микрочеренка в жидкую суспензию бактерии (титр 2,5×10⁴ КОЕ/мл) и путем капельного нанесения суспензии (10 мкл) на лист микрочеренка. Контролем служили необработанные растения. Инкубацию осуществляли в течение 8 недель. В каждом варианте инкубировали не менее 15 растений. Оценивали количество аномальных и нормально развитых растений, их морфометрические параметры: длину корней, мм; высоту побега, мм; количество листьев; число междоузлий на побеге, шт.; сухую биомассу растения, г. Рассчитывали долю растений с морфологическими аномалиями и коэффициент размножения исследуемых генотипов картофеля.

¹Методы почвенной микробиологии и биохимии. Под ред. Д. Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 224 с.

При статистической обработке данных подсчет средних значений и стандартных отклонений выполняли в программе Microsoft Excel 2007. Оценку различий между сравниваемыми вариантами проводили методом непараметрической статистики с использованием рангового критерия Крускала-Уоллиса (H). Вычисление значений H осуществляли с помощью онлайн-калькулятора Stats.blue². Полученные данные H_p сравнивали с табличными значениями χ^2 для числа степеней свободы, на единицу меньшего числа сравниваемых вариантов. Различия между вариантами считали существенными, если вычисленное значение H

было больше табличных значений χ^2 , соответствующих определенному уровню значимости.

Результаты и их обсуждение. Характеристика свойств бактериального ассоцианта. Ризосферный штамм *S. minoensis* KP-10 в тесте на фиторегуляторную активность способствовал, по сравнению с контролем без инокуляции и вариантом с обработкой семян раствором, содержащим 1 мкг/мл ИУК, увеличению линейных размеров проростков пшеницы. Всхожесть семян и сухая биомасса проростков на этом этапе онтогенеза изменились по сравнению с контролем несущественно (табл. 1).

Таблица 1 – Всхожесть и морфометрические показатели проростков пшеницы при обработке семян штаммом *S. minoensis* KP-10 /

Table 1 – Germination and morphometric parameters of wheat seedlings during seed treatment with *S. minoensis* KR-10 strain

Вариант / Variant	Всхожесть, % / Germination, %	Длина корня, мм / Root length, mm	% от контроля / % of the control	Высота побега, мм / Shoot height, mm	% от контроля / % of the control	Сухая масса растения / Plant dry mass, g	% от контроля / % of the control
Контроль / Control	53±20,8	137±52,5**	-	100,9±33,3*	-	0,009±0,003	-
1 мкг/мл ИУК / 1 mcg/ml of IAA	67±8,2	132,1±32,2**	96	111,5±26,1*	110	0,011±0,002	122
KP-10	57±15,3	161,1±33,2**	118	122,2±26,6*	121	0,010±0,004	111

Примечания: различия между вариантами достоверны: *при уровне значимости 0,1; H_p = 5,093; χ^2 = 4,605; ** при уровне значимости 0,025; H_p = 8,047; χ^2 = 7,378 /

Notes: the differences between the variants are significant: * with a significance level of 0.1; H_p = 5.093; χ^2 = 4.605; ** with a significance level of 0.025; H_p = 8.047; χ^2 = 7.378

В жидкой среде с добавлением 100 мкг/мл L-триптофана штамм *S. minoensis* KP-10 продуцировал ауксины в количестве 18,7±1,0 мкг/мл. На агаризованной среде Гаузе 1 штамм характеризовался высокой радиальной скоростью роста – 65,7±8,8 мкм/ч. Оценка способности данного штамма колонизировать растительную ткань картофеля показала, что в результате инокуляции микрочеренков сорта Пранса пропагулы *S. minoensis* KP-10 обнаруживались в корнях, стебле и листьях микрорастений в различном количестве (рис. 1).

Наибольшей заселенностью бактериями отличались корни микрорастений $(3,0\pm0,14) \times 10^8$ и нижний сегмент побега $(9,4\pm0,3) \times 10^8$ КОЕ/г. В верхней части побега количество пропагул стрептомицета не превышало $(6,8\pm1,01) \times 10^6$ КОЕ/г, а в листьях снова увеличивалось, варьируя в пределах от $(1,9\pm0,14) \times 10^7$ до $(5,3\pm0,89) \times 10^7$ КОЕ/г. Эти результаты свиде-

тельствуют о формировании ассоциативной связи между клетками микрорастения и мицелиальной бактерией.

По совокупности проявленных свойств штамм *S. minoensis* KP-10 был выбран в качестве микроассоцианта для бактеризации картофеля в культуре *in vitro*.

Разработка элементов техники инокуляции картофеля для повышения коэффициента размножения. Микрорастения картофеля перспективного селекционного номера 172-13 отличались от таковых сорта Пранса более высокой частотой появления морфологических аномалий (морфозов), что при клональном микроразмножении этого генотипа вызвало определенные сложности: количество пригодных для пассирования микрочеренков не всегда соответствовало числу междоузлий на побеге. Значительная доля морфологически аномальных растений, возможно, была обусловлена

²The Kruskal-Wallis Test. [Электронный ресурс]. URL: https://stats.blue/Stats_Suite/kruskal_wallis_test.html (дата обращения: 07.08.2024).

последствием экзогенных фитогормонов или недостаточной продолжительностью периода адаптации микрорастений к гнотобиотическим условиям. Исходя из этого, с использованием микрорастений селекционного номера 172-13,

решали следующие задачи: а) определение оптимального способа инокуляции микро-черенков; б) определение оптимальной плотности инокулята бактерий.

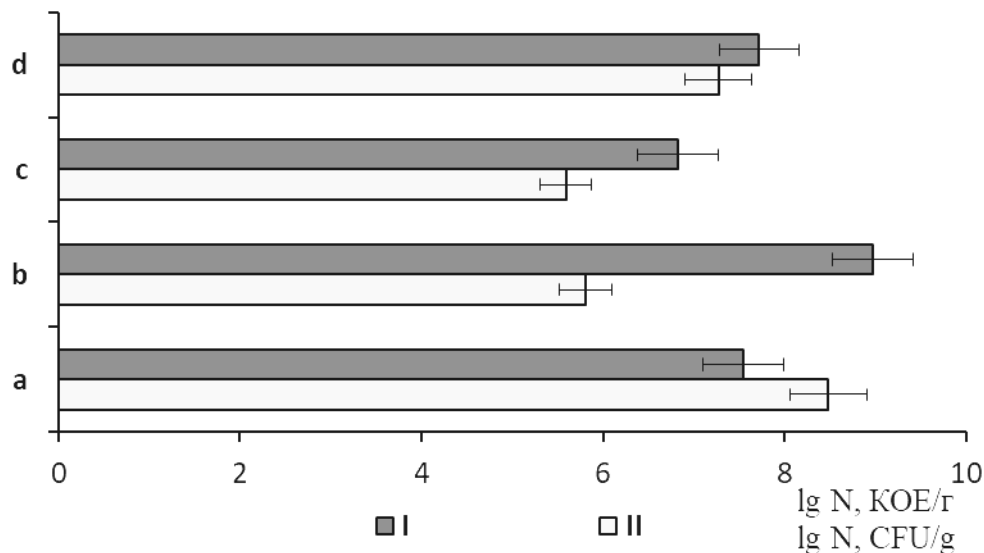


Рис. 1. Количество пропагул *S. minoensis* KP-10 (N) в корнях (а), нижнем сегменте побега (б), верхнем сегменте побега (с), листьях (д) микрорастений картофеля сорта Пранса в возрасте 7 недель. Титр инокулята, КОЕ/мл: 10^4 (I); 10^5 (II) /

Fig. 1. The number of propagules *S. minoensis* KR-10 (N) in the roots (a), lower segment of the shoot (b), upper segment of the shoot (c), leaves (d) of 'Pransa' potato micro-plants at the age of 7 weeks. Inoculate titer, CFU/ml: 10^4 (I); 10^5 (II)

Определение оптимального способа инокуляции. При сравнении эффектов двух способов инокуляции – обмакивание микро-черенка в бактериальную суспензию и капельное нанесение суспензии на лист микро-черенка – учитывали морфометрические показатели микрорастений. В вариантах с обмакиванием в бактериальную суспензию наблюдали статистически значимое увеличение высоты побега, количества листьев и междоузлий, сухой биомассы растений, более выраженное при использовании титра бактерий 10^4 (рис. 2). В этих же вариантах доля растений с морфозами сократилась до 30 и 20 % (с 50 % в контроле), при капельном нанесении суспензии, она, напротив, увеличилась до 60–70 %, а высота побега существенно снизилась по сравнению с контролем. Хотя при капельном способе инокуляции суспензией с титром бактерий 10^4 количество листьев и сухая биомасса растений в среднем не уступали варианту с обмакиванием черенка, линейные размеры микрорастений при этом были значительно меньше.

Таким образом, более предпочтительным способом бактериализации картофеля явилось погружение микро-черенка в клеточную су-

спензию *S. minoensis* KP-10 и в дальнейшей работе именно его применяли. Данный прием способствовал увеличению большинства (за исключением длины корня) морфометрических показателей и коэффициента размножения селекционного номера 172-13, а также сокращению доли растений с различными морфозами.

Определение оптимальной плотности инокулята. Морфометрические показатели микрорастений селекционного номера 172-13, инокулированных суспензиями *S. minoensis* KP-10 разной плотности (10^4 и 10^5 КОЕ/мл), представлены в таблице 2.

В варианте с использованием титра бактериальной суспензии 10^5 , спустя 6 недель после инокуляции, наблюдали увеличение высоты побега в среднем на 48 %, количества листьев – на 33 %, сухая масса микрорастения на 30 % превысила показатель контрольного варианта. Количество кондиционных (пригодных для пассирования) микро-черенков, полученных от одного инокулированного растения ($7,1 \pm 1,91$ шт.), в среднем на 77 % было больше, чем в контроле без инокуляции ($4,0 \pm 1,10$ шт.). В результате коэффициент размножения селекционного номера 172-13 вырос с 1:4 в контроле

до 1:7 в варианте с инокуляцией *Streptomyces* sp. КР-10 (титр 10^5). Использование для инокуляции суспензии с меньшим титром – 10^4 также способствовало увеличению морфометрических показателей картофеля и среднего количества микрочеренков ($4,9 \pm 1,58$ шт.) на одно растение, но коэффициент клонального размножения в этом случае не превысил 1:5.

Статистическая значимость различий между вариантами оценивалась на уровне 0,001 ($N = 15,496$; $\chi^2 = 13,816$).

Зависимость морфометрических показателей микрорастений сорта Пранс от титра инокулята была выражена в меньшей степени, чем у селекционного номера 172-13 (табл. 3).

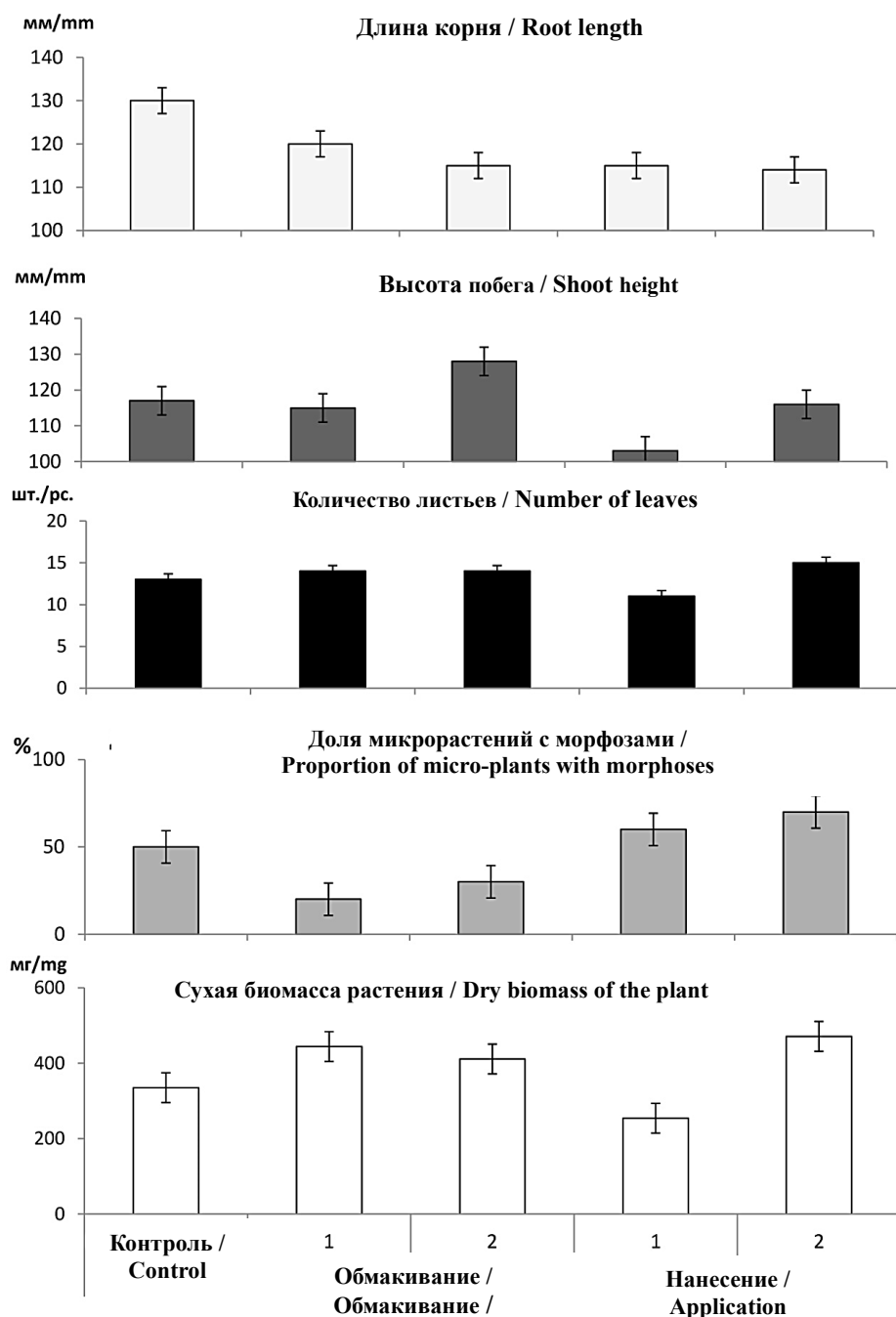


Рис. 2. Изменение морфометрических показателей микрорастений картофеля селекционного номера 172-13 при разных способах инокуляции штаммом *S. minoensis* КР-10. Титр инокулята, КОЕ/мл: 10^5 (1); 10^4 (2) /

Fig. 2. Changes in morphometric parameters of potato micro-plants of breeding number 172-13 by different methods of inoculation with *S. minoensis* strain KR-10. Inoculate titer, CFU/ml: 10^5 (1); 10^4 (2)

Таблица 2 – Морфометрические показатели микрорастений картофеля селекционного номера 172-13 после инокуляции суспензиями *S. minoensis* KP-10 разной плотности / Table 2 – Morphometric indicators of potato micro-plants of breeding number 172-13 after inoculation with suspensions of *S. minoensis* KR-10 of different density

Вариант / Variant		Высота побега, мм / Shoot height, mm	Число листьев, шт. / Number of leaves, pcs.	Сухая масса растения, г / Plant dry mass, g
Контроль без инокуляции / Control without inoculation		50,8±11,07*	8,2±1,61**	0,035
Инокуляция <i>S. minoensis</i> KP-10 с титром суспензии, КОЕ/мл / Inoculation of <i>S. minoensis</i> KR-10 with suspension titer, CFU/ml	10 ⁴	55,8±13,72*	8,4±1,56**	0,037
	10 ⁵	75,1±16,13*	10,9±1,87**	0,046

Примечания: Различия между вариантами достоверны: *при уровне значимости 0,001: $H_p = 14,439$; $\chi^2 = 13,816$; ** 0,001: $H_p = 17,042$; $\chi^2 = 13,816$ /

Notes: The differences between the variants are significant: *at a significance level of 0.001: $H_p = 14.439$; $\chi^2 = 13.816$; ** 0.001: $H_p = 17.042$; $\chi^2 = 13.816$.

Таблица 3 – Морфометрические показатели микрорастений картофеля сорта Пранса после инокуляции суспензиями *S. minoensis* KP-10 разной плотности / Table 3 – Morphometric indicators of ‘Pransa’ cultivar potato micro-plants after inoculation with *S. minoensis* KR-10 suspensions of different density

Вариант / Variant		Длина корня, мм / Root length, mm	Высота побега, мм / Shoot height, mm	Число листьев, шт. / Number of leaves, pcs.	Сухая масса растения, г / Plant dry mass, g
Контроль без инокуляции / Control without inoculation		167±42,8*	64,6±10,27	10,3±1,54	0,050
Инокуляция <i>S. minoensis</i> KP-10 с титром суспензии, КОЕ/мл / Inoculation of <i>S. minoensis</i> KR-10 with suspension titer, CFU/ml	10 ⁴	114±31,9*	59,4±17,21	9,9±1,09	0,052
	10 ⁵	113±29,7*	66,4±10,34	10,5±1,39	0,049

*Различия между вариантами достоверны при уровне значимости 0,001: $H_p = 14,978$; $\chi^2 = 13,816$ /

*The differences between the variants are significant at a significance level of 0.001: $H_p = 14.978$; $\chi^2 = 13.816$.

Бактеризация штаммом *S. minoensis* KP-10 сорта Пранса не сопровождалась существенными изменениями линейных размеров и облиственности микрорастений, которые практически не отличались от контроля без инокуляции. Вместе с тем, количество кондиционных микрочеренков от одного инокулированного растения (4,7±0,96 и 5,1±1,07 шт.) увеличилось по сравнению с контролем (4,1±0,77 шт.) в вариантах с титрами инокулята 10⁴ и 10⁵ в среднем на 14,6 и 24,3 % соответственно. В последнем случае коэффициент размножения сорта Пранса возрос почти на четверть и составил 1:5. При этом статистическая значимость различий между вариантами оценивалась на уровне 0,05 ($H = 6,171$; $\chi^2 = 5,991$). Это указывает на необходимость целевого подбора штаммов для бактеризации конкретных генотипов картофеля и проведения дальнейших исследований, направленных на повышение эффектив-

ности культивирования и микроклонального размножения *in vitro* материала картофеля.

Закключение. Результаты проведенных исследований показали, что бактеризация местным штаммом ризобактерии *S. minoensis* KP-10 микрорастений картофеля на этапе клонального микроразмножения способствует повышению эффективности его культивирования *in vitro*. Штамм *S. minoensis* KP-10 способен колонизировать растительные ткани, отличается фитостимулирующей активностью, способностью к синтезу ауксинов, высокой радиальной скоростью роста. Для данного штамма экспериментально определены оптимальный способ инокуляции и титр бактериальной суспензии, применение которых способствовало увеличению коэффициентов размножения перспективного селекционного номера 172-13 и сорта Пранса. Кроме того, у селекционного номера 172-13 в результате инокуляции отмечено снижение доли

микрорастений с морфозами и возрастные таких морфометрических показателей, как высота побега, количество листьев и междоузлий, сухая масса микрорастений. Зависимость эффективности инокуляции от генотипических особенностей картофеля обуславливает необ-

ходимость изучения эффектов бактеризации в дальнейшем на более широком наборе генотипов. Логическим продолжением работы является также оценка инокулированных *in vitro* растений на этапах их адаптации и выращивания в условиях *ex vitro*.

Список литературы

1. Liu Z., Coulter J. A., Li Y., Zhang X., Meng J., Liu Y. Genome-wide identification and analysis of the Q-type C2H2 gene family in potato (*Solanum tuberosum* L.). International Journal of Biological Macromolecules. 2020;153:327–340. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.022>
2. Симаков Е. А., Анисимов Б. В., Митюшкин А. В., Журавлев А. А., Митюшкин Ал-др. В., Гайзатулин А. С., Семенов В. А., Зебрин С. Н., Жук О. Ю. Новые перспективные сорта картофеля для различного целевого использования в товарном производстве. Картофель и овощи. 2024;(2):35–39. DOI: <https://doi.org/10.25630/PAV.2024.27.20.004> EDN: JFYEF
3. Семчук Н. Н., Овэс Е. В., Балун О. В., Гладких С. Н. Технология получения и ускоренного размножения здорового посадочного материала растений картофеля (*Solanum tuberosum*). АгроЭкоИнженерия. 2023;(1(114)):92–103. DOI: <https://doi.org/10.24412/2713-2641-2023-1114-92-103> EDN: HZNFQB
4. 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. Annals of Applied Biology. 2010;157(2):259–271. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00421.x>
5. 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*. Agronomy for Sustainable Development. 2015;35:1167–1174. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0304-3>
6. 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 Journal of Microbiology and Biotechnology. 2019;35(4):55. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2633-x>
7. 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 and Organ Culture. 2020;141:351–359. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01791-9>
8. Каргаполова К. Ю., Ткаченко О. В., Бурыгин 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: <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-52> EDN: CMNBZ
9. Ренёв Н. О., Мальчевский В. А., Субботин А. М., Петров С. А. Рост и развитие микрорастений картофеля *in vitro* под влиянием метаболитов бактерий, выделенных из многолетнемерзлых пород. Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2023;28(3):435–442. DOI: <https://doi.org/10.31242/2618-9712-2023-28-3-435-442> EDN: BXXRPA
10. Eid A. R., Bayoumi S. R., El-Argawy E., Ghazlan M. H. The Role of Thaxtomin A and Necrosis Protein in Virulence that Cause Potato Common Scab Disease. Alexandria Science Exchange Journal. 2022;43(2):289–299. DOI: <https://doi.org/10.21608/asejaqisae.2022.242243>
11. Vurukonda S. S. K. P., Giovanardi D., Stefani E. Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes. International Journal of Molecular Sciences. 2018;19(4):952. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19040952>
12. Nazari M. T., Schommer V. A., Braun J. C. A., dos Santos L. F., Lopes S. T., Simon V. et al. Using *Streptomyces* spp. as plant growth promoters and biocontrol agents. Rhizosphere. 2023;27:100741. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100741>
13. Назарова Я. И., Широких И. Г., Бакулина А. В., Баранова Е. Н., Ашихмина Т. Я. Идентификация двух ризосферных изолятов стрептомицетов и изучение *in vitro* их колонизирующей активности. Теоретическая и прикладная экология. 2019;(3):72–79. DOI: <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-3-072-079> EDN: BRUBMQ
14. Назарова Я. И., Бакулина А. В., Широких И. Г. Изучение влияния ризосферного штамма *Streptomyces* sp. ТК-5 на рост меристемного картофеля. Мелиорация почв для устойчивого развития сельского хозяйства: мат-лы научн.-практ. конф. Киров: Вятская государственная сельскохозяйственная академия, 2019. С. 192–196. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=37651838> EDN: LNCLFF
15. Бакулина А. В., Назарова Я. И., Широких И. Г. Изучение колонизации меристемных растений картофеля ризосферным штаммом *Streptomyces flavogriseus* ТК-5 в монокультуре и в ассоциации с *Agrobacterium tumefaciens* СТ-1. IX Съезд общества физиологов растений России «Физиология растений – основа создания растений будущего». Казань, 2019. С. 54. DOI: <https://doi.org/10.26907/978-5-00130-204-9-2019-54> EDN: LJZUWK

16. Бакулина А. В., Назарова Я. И., Широких И. Г. Изучение влияния *Streptomyces antimycoticus* 8A13 на растения картофеля, зараженные бактерией *Clavibacter michiganensis* СММ 1519. Методы и технологии в селекции растений и растениеводстве: мат-лы VII Междунар. науч.-практ. конф. Киров: ФАНЦ Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого, 2021. С. 293–297. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=46351650> EDN: FAPLAU
17. Гаузе Г. Ф., Преображенская Т. П., Свешникова М. А., Терехова Л. П., Максимова Т. С. Определитель актиномицетов. М.: Наука, 1983. 246 с.
18. Libbert E., Risch H. Interactions between plants and epiphytic bacteria regarding their auxin metabolism. *Physiologia Plantarum*. 1969;22(1):51–58. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1969.tb07840.x>
19. Мерзаева О. В., Широких И. Г. Образование ауксинов эндофитными актинобактериями озимой ржи. Прикладная биохимия и микробиология. 2010;46(1):51–57. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=13044956> EDN: KZMAST
20. Murashige T., Skoog G. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473–497. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

References

1. Liu Z., Coulter J. A., Li Y., Zhang X., Meng J., Zhang J., Liu Y. Genome-wide identification and analysis of the Q-type C2H2 gene family in potato (*Solanum tuberosum* L.). *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;153:327–340. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.022>
2. Simakov E. A., Anisimov B. V., Mityushkin A. V., Zhuravlev A. A., Mityushkin A. I., Gayzatulin A. S., Semenov V. A., Zebrin S. N., Zhuk O. Yu. New promising potato cultivars for various use in commercial production. *Kartofel' i ovoshchi* = Potato and Vegetables. 2024;(2):35–39. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.25630/PAV.2024.27.20.004>
3. Semchuk N. N., Oves E. V., Balun O. V., Gladkikh S. N. Technology of obtaining and accelerated reproduction of healthy planting material of potato plants (*Solanum tuberosum*). *AgroEkolInzheneriya* = Agricultural Engineering (Moscow). 2023;(1(114)):92–103. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.24412/2713-2641-2023-1114-92-103>
4. 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. *Annals of Applied Biology*. 2010;157(2):259–271. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2010.00421.x>
5. 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*. *Agronomy for Sustainable Development*. 2015;35:1167–1174. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13593-015-0304-3>
6. 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 Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2019;35(4):55. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2633-x>
7. 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 and Organ Culture*. 2020;141:351–359. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01791-9>
8. Kargapolova K. Yu., Tkachenko O. V., Burygin G. L., Evseeva N. V., Shirokov A. A., Matora L. Yu., Shchegolev S. Yu. Improving the efficacy of potato clonal micropropagation by inoculation with the rhizosphere bacteria *Azospirillum baldaniorum* Sp245 and *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii* = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2022;26(5):422–430. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.18699/VJGB-22-52>
9. Renev N. O., Malchevskiy V. A., Subbotin A. M., Petrov S. A. Growth and development of potato microplants *in vitro* under the influence of bacterial metabolites isolated from permafrost. *Prirodnye resursy Arktiki i Subarkтики* = Arctic and Subarctic Natural Resources. 2023;28(3):435–442. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.31242/2618-9712-2023-28-3-435-442>
10. Eid A. R., Bayoumi S. R., El-Argawy E., Ghazlan M. H. The Role of Thaxtomin A and Necrosis Protein in Virulence of *Streptomyces scabies* that Cause Potato Common Scab Disease. *Alexandria Science Exchange Journal*. 2022;43(2):289–299. DOI: <https://doi.org/10.21608/asejaqisae.2022.242243>
11. Vurukonda S. S. K. P., Giovanardi D., Stefani E. Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(4):952. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19040952>
12. Nazari M. T., Schommer V. A., Braun J. C. A., dos Santos L. F., Lopes S. T., Simon V., et al. Using *Streptomyces* spp. as plant growth promoters and biocontrol agents. *Rhizosphere*. 2023;27:100741. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100741>
13. Nazarova Ya. I., Shirokikh I. G., Bakulina A. V., Baranova E. N., Ashikhmina T. Ya. Identification of two strains of streptomycetes from the rhizosphere and *in vitro* study of their colonizing activity. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya* = Theoretical and Applied Ecology. 2019;(3):72–79. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2019-3-072-079>

14. Nazarova Ya. I., Bakulina A. V., Shirokikh I. G. To study the effect of the rhizospheric strain *Streptomyces* sp. TK-5 on the growth of meristemic potatoes. Soil reclamation for sustainable agricultural development: Proceedings of scientific and practical conf. Kirov: *Vyatskaya gosudarstvennaya sel'skokhozyaystvennaya akademiya*, 2019. pp. 192–196. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=37651838>

15. Bakulina A. V., Nazarova Ya. I., Shirokikh I. G. Study of colonization of meristematic potato plants by rhizosphere strain *Streptomyces flavogriseus* TK-5 in monoculture and in association with *Agrobacterium tumefaciens* CT-1. In Proceedings of the IX Congress of the Society of Plant Physiologists of Russia «Plant Physiology is the Basis for Creating Plants of the Future». Kazan', 2019. p. 54. DOI: <https://doi.org/10.26907/978-5-00130-204-9-2019-54>

16. Bakulina A. V., Nazarova Ya. I., Shirokikh I. G. Study of the influence of *Streptomyces antimycoticus* 8A13 on potato plants infected with the bacterium *Clavibacter michiganensis* CMM 1519. Methods and technologies in plant breeding and crop production: Proceedings of the VII International scientific and practical conf. Kirov: *FANTs Severo-Vostoka im. N. V. Rudnitskogo*, 2021. pp. 293–297. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=46351650>

17. Gauze G. F., Preobrazhenskaya T. P., Sveshnikova M. A., Terekhova L. P., Maksimova T. S. Identifier of actinomycetes. Moscow: *Nauka*, 1983. 246 p.

18. Libbert E., Risch H. Interactions between plants and epiphytic bacteria regarding their auxin metabolism. *Physiologia Plantarum*. 1969;22(1):51–58. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1969.tb07840.x>

19. Merzaeva O. V., Shirokikh I. G. The production of auxins by the endophytic bacteria of winter rye. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2010;46(1):51–57. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=13044956>

20. Murashige T., Skoog G. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473–497. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

Сведения об авторах

✉ **Широких Ирина Геннадьевна**, доктор биол. наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии растений и микроорганизмов, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», ул. Ленина, 166а, Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3319-2729>, e-mail: irgenal@mail.ru

Мокрушина Светлана Эдуардовна, лаборант-исследователь, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», ул. Ленина, 166а, Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru; магистрант, ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», ул. Московская, д. 36, Киров, Российская Федерация, 610000. e-mail: info@vyatsu.ru, ORCID: <http://orcid.org/0009-0005-2192-7416>

Абубакирова Роза Ильдусовна, лаборант-исследователь, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», ул. Ленина 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8526-2733>

Information about the authors

✉ **Irina G. Shirokikh**, DSc in Biological Science, chief researcher, Head of the Laboratory, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky, Lenin str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, email: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3319-2729>, e-mail: irgenal@mail.ru

Svetlana E. Mokrushina, laboratory researcher, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky, Lenin str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru; undergraduate student, Vyatka State University, Moskovskaya str., 36, Kirov, Russian Federation, 610000, e-mail: info@vyatsu.ru, ORCID: <http://orcid.org/0009-0005-2192-7416>

Roza I. Abubakirova, laboratory researcher, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky, Lenin str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8526-2733>

✉ – Для контактов / Corresponding author