

## РАСТИТЕЛЬНО-БАКТЕРИАЛЬНЫЕ АССОЦИАЦИИ ПРИ ОСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Н.В. Евсеева<sup>1</sup>, О.В. Ткаченко<sup>2</sup>, Г.Л. Бурыгин<sup>1,2</sup>, А.Ю. Денисова<sup>2</sup>, Л.Ю. Матора<sup>1</sup>,  
С.Ю. Щеголев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия, [evseeva\\_n@ibppm.ru](mailto:evseeva_n@ibppm.ru)

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», Саратов, Россия, [oktkachenko@yandex.ru](mailto:oktkachenko@yandex.ru)

**Аннотация.** Исследовали взаимодействие микроклонов картофеля с ассоциативными бактериями *Azospirillum brasilense* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 в оптимальных условиях и при осмотическом стрессе в культуре *in vitro*. Бактерии оказывали ростстимулирующее действие на растения в условиях *in vitro* и способствовали снижению уровня стрессового пролина, что коррелировало с ростом побегов и увеличением массы побегов и корней при постстрессовой репарации.

**Ключевые слова:** культура клеток и тканей растений *in vitro*; картофель; *Azospirillum brasilense* Sp245; *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2; осмотический стресс

**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-289-292

Растительно-бактериальные ассоциации в условиях *in vitro* являются уникальными моделями для исследования молекулярных и клеточных механизмов взаимодействия макро- и микропартнеров в оптимальных условиях и при действии различных стрессовых факторов. Стимулирующие рост растений ризобактерии (plant growth promoting rhizobacteria – PGPR) играют важную роль в жизнедеятельности растения-хозяина, а также влияют на формирование у растений устойчивости к биотическому и абиотическому стрессам [Максимов и др., 2015; Bashan et al., 2014; Tkachenko et al., 2015; Verma et al., 2018].

Цель работы – исследование ответных реакций микроклонов картофеля сорта Невский на инокуляцию штаммами *Azospirillum brasilense* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 в оптимальных условиях и при осмотическом стрессе в культуре *in vitro*.

Исследования проводили на сорте картофеля Невский из пересадочной коллекции кафедры Растениеводство, селекция и генетика агрономического факультета ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ». В качестве инокулятов использовали модельный штамм *Azospirillum brasilense* Sp245 и природный изолят из ризосферы картофеля *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН. Осмотический стресс создавали путем добавления к питательной среде полиэтиленгликоля (ПЭГ, М.м. 6000) в концентрации 25 г/л, что соответствовало осмотическому давлению в среде выращивания – 0,0189 МПа. В питательную среду Мурасиге и Скуга [Murashige, Skoog, 1962] добавляли суспензию бактерий в концентрации 10<sup>6</sup> кл/мл. Для изучения влияния на растения бактерий и водного дефицита закладывалось 4 варианта опыта: контроль без добавления бактерий и ПЭГ (К1); вариант с бактериями без ПЭГ (К2); вариант без бактерий с ПЭГ (К3) и вариант с бактериями и ПЭГ (О). Оценку состояния растений проводили на основании изменения морфофизиологических параметров и содержания свободного пролина в листьях на 7 сутки стресса и на 7 сутки постстрессовой репарации. Пролин определяли колориметрическим методом по стандартной методике [Bates et al., 1973]. Статистическую обработку результатов проводили методом дисперсионного анализа

(ANOVA) с вычислением наименьшей существенной разницы (НСР) и проведением множественных сравнений по тесту Дункана при уровне значимости 95% ( $P \leq 0,05$ ).

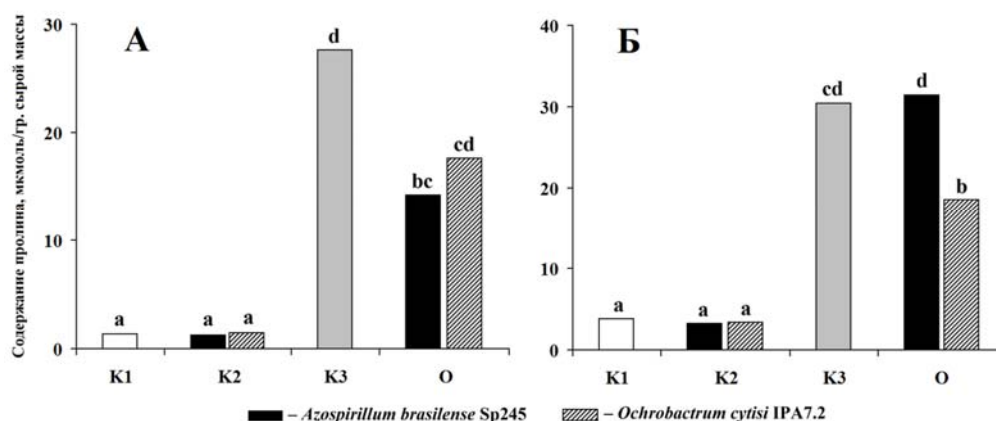


Рис. 1. Влияние бактерий на содержание пролина в листьях картофеля после 7 суток стресса (А) и на 7 сутки постстрессовой репарации (Б).

Было показано, что азоспириллы в оптимальных условиях положительно влияли на количество корней и сырую массу стебля по сравнению с неинокулированными растениями. В отличие от азоспирилл штамм *O. cytisi* IPA7.2 в этих условиях не проявлял заметного ростстимулирующего действия. Инокуляция микрорастений бактериями частично способствовала ослаблению действия стресса, что проявлялось в увеличении длины побега, массы листьев, стеблей и корней при инокуляции штаммом *O. cytisi* IPA7.2 и в увеличении только длины побегов и массы листьев при инокуляции растений азоспирилами по сравнению с контрольными вариантами при стрессе.

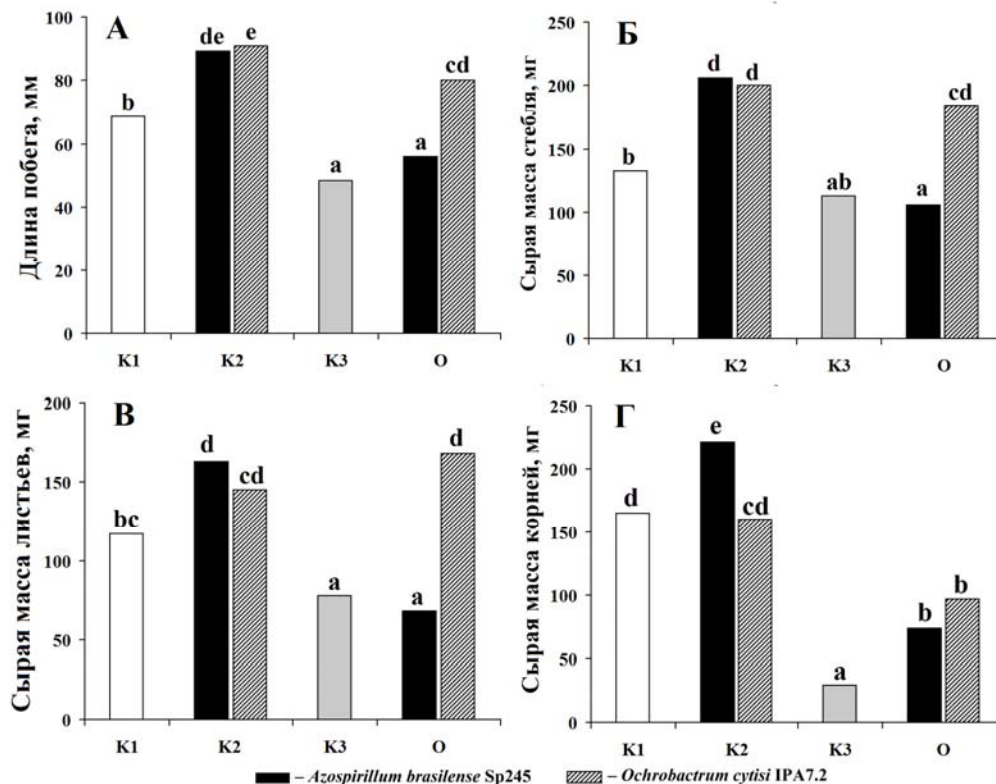


Рис. 2. Влияние бактерий *O. cytisi* IPA7.2 и *A. brasilense* Sp245 на длину побега (А), массу стеблей (Б), листьев (В) и корней (Г) растений картофеля на 7 сутки постстрессовой репарации.

Осмотический стресс приводил к увеличению содержания свободного пролина в листьях как инокулированных, так и контрольных растений (рис. 1А), что согласуется с данными других авторов [Sziderics et al., 2007]. Уровень пролина оставался высоким в течение 7 суток после снятия действия стрессового фактора. Бактеризация способствовала снижению уровня стрессового пролина при репарации (рис. 1Б), что коррелировало с ростом побегов и, соответственно, увеличением массы листьев, стеблей и корней при инокуляции *O. cytisi* IPA7.2 и увеличением массы только корней под влиянием *A. brasilense* Sp245 по сравнению с КЗ (рис. 2, А, Б, В, Г).

Следует заметить, что бактерии *O. cytisi* IPA7.2 сильнее проявляли ростстимулирующее действие на растения при репарации по сравнению с азоспириллами. Вероятно, штамм *A. brasilense* Sp245 не выдерживал длительного стресса, что приводило к частичной потере его защитных функций. Таким образом, бактеризация растений стимулировала рост растений в условиях *in vitro* и репарационные процессы в модельных условиях осмотического стресса.

Повышение адаптационного потенциала растений в целенаправленно создаваемых растительно-микробных ассоциациях представляется перспективным с точки зрения общих подходов к экологически чистому земледелию.

#### Литература

Максимов И.В., Веселова С.В., Нужная Т.В., Сарварова Е.Р., Хайруллин Р.М. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам (Обзор) // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 6. – С. 763–775.

Bashan Y., de-Bashan L.E., Prabhu S.R., Hernandez J-P. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013) // Plant Soil. – 2014. – V. 378. – P. 1–33.

Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies // Plant Soil. – 1973. – V. 39, № 1. – P. 205–207.

Murashige T., Skoog G. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiol. Plantarum. – 1962. – V. 15. – P. 473–497.

Sziderics A.N., Rasche F., Trognitz F., Sessitsch A., and Wilhelm E. Bacterial endophytes contribute to abiotic stress adaption in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) // Can. J. Microbiol. – 2007. – V. 53. – P. 1195–1202.

Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Boikova N.V., Matora L.Yu., Burygin G.L., Lobachev Y.V., Shchyogolev S.Yu. Improved potato microclonal reproduction with the plant-growth promoting rhizobacteria *Azospirillum* // Agron. Sustain. Develop. – 2015. – V. 35. – P. 1167–1174.

Verma S.K., Kingsley K., Bergen M., English C., Elmore M., Kharwar R.N., White J.F. Bacterial endophytes from rice cut grass (*Leersia oryzoides* L.) increase growth, promote root gravitropic response, stimulate root hair formation, and protect rice seedlings from disease // Plant Soil. – 2018 – V. 422. – P. 223–238.

## PLANT-BACTERIA ASSOCIATIONS UNDER *IN VITRO* OSMOTIC STRESS CONDITIONS

N.V. Evseeva<sup>1</sup>, O.V. Tkachenko<sup>2</sup>, A.Yu. Denisova<sup>2</sup>, G.L. Burygin<sup>1,2</sup>, L.Yu. Matora<sup>1</sup>, S.Yu. Shchyogolev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia, [evseeva@ibppm.sgu.ru](mailto:evseeva@ibppm.sgu.ru)

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Educational University of Higher Education “Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov”, Saratov, Russia, [oktkachenko@yandex.ru](mailto:oktkachenko@yandex.ru)

**Abstract.** We studied *in vitro* interactions of potato microclones with associative bacteria *Azospirillum brasilense* Sp245 and *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 under the optimal and osmotic stress conditions. It was shown that the bacteria had a growth promoting effect on plants *in vitro* and facilitated the decrease of stress prolin level, being correlated to shoots growth and to increase of mass of shoots and roots during the post-stress reparation.

**Keywords:** *plant cells and tissue culture in vitro, potatoes, Azospirillum brasilense* Sp245, *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, osmotic stress