Coinoculation effect of potato microclones by rhizosphere bacteria under osmotic stress *in vitro*

Evseeva N.V.¹, Denisova A.Yu.², Burygin G.L.^{1,2}, Pozdnyakova N.N.¹, Tkachenko O.V.²

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia;

²Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia

E-mail: evseeva_n@ibppm.ru

Key message. Inoculation of potato plants with a mixing culture of *A. brasilense* Sp245 and *O. cytisi* IPA7.2 under osmotic stress *in vitro* promoted an increase in catalase activity in plant leaves.

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

For bacterial inoculation of cultivated plants, more and more attention is paid to associations of microorganisms from different taxa, which could complement each other and have growth-stimulating and adaptive effects on plants.

The purpose of this work was to study the effect of a mixing culture of *Azospirillum brasilense* Sp245 and *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 on the physiological and biochemical parameters of potato microclones under conditions of osmotic stress *in vitro*. Microplants of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivar Nevsky from the collection of *in vitro* potato microclones of the Saratov State Agrarian University were used. As inoculants, two bacterial strains from the Collection of Rhizosphere Microorganisms of the Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, were used: *A. brasilense* Sp245 – low salt tolerance and *O. cytisi* IPA7.2 – halotolerant strains. The bacteria were placed on a liquid Murashige-Skoog (MS) medium for plant growth at a concentration of 10⁶ cells/ml. Osmotic stress was created by adding polyethylene glycol (FW 6000) to the MS medium at a concentration of 25 g/l, which corresponded to the osmotic pressure in the growing medium –0.3 MPa. The physiological and morphological parameters of plants, the content of malondialdehyde (MDA), peroxidase and catalase enzymes in leaves were evaluated on the 7th day of stress action and on the 7th day of reparation.

The positive effect of bacterization on the physiological and morphological parameters of plants was established only under optimal conditions. It was shown that the activity of peroxidase, as one of the antioxidant proteins, sharply increased in both bacterized and control plants under stress. Bacterization also promoted an increase in catalase in plant leaves under stress and reparation. The content of MDA, as an indicator of oxidative stress, also increased in the leaves of both inoculated and non-inoculated variants. However, during the reparation of bacterized plants, in contrast to the control under stress, the MDA content was equal to its content in the leaves of plants without stress.

Thus, bacterization of potato plants by a mixing culture of *A. brasilense* Sp245 and *O. cytisi* IPA7.2 promoted a decrease in the level of oxidative processes under stress in plants due to an increase in catalase activity.

This work was supported by the RFBR grant No. 19-016-00116.

Эффект коинкуляции микроклонов картофеля ризосферными бактериями при осмотическом стрессе *in vitro*

Евсеева Н.В.¹, Денисова А.Ю.², Бурьгин Г.Л.^{1,2}, Позднякова Н.Н.¹, Ткаченко О.В.²

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, Россия; ²Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И.Вавилова, Саратов, Россия

Аннотация. Инокуляция растений картофеля совместной культурой бактерий *A. brasilense* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 при осмотическом стрессе *in vitro* способствовала повышению активности каталазы в листьях растений.

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

Для бактериальной инокуляции культурных растений все больше внимания уделяется ассоциациям микроорганизмов из разных таксонов, которые могли бы дополнить друг друга и оказать ростстимулирующий и адаптационный эффекты на растения.

Целью данной работы было изучить влияние смешанной культуры бактерий *Azospirillum brasilense* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 на физиолого-биохимические параметры микроклонов картофеля в условиях осмотического стресса *in vitro*. Были использованы микрорастения картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Невский из коллекции микроклонов картофеля *in vitro* ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. В качестве инокулянтов были использованы 2 штамма бактерий из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН: *A. brasilense* Sp245 – слабосолеустойчивый и *O. cytisi* IPA7.2 – галотолерантный штаммы. Бактерии добавляли в среду Мурасиге-Скуга (МС) для выращивания растений в концентрации 10⁶ кл/мл. Осмотический стресс создавали путем добавления в среду МС полиэтиленгликоля (М.м. 6000) в концентрации 25 г/л, что соответствовало осмотическому давлению в среде выращивания –0,3 МПа. Оценивали физиолого-морфологические параметры растений, содержание малонового диальдегида (МДА), ферментов пероксидазы и каталазы в листьях на 7 сутки действия стресса и на 7 сутки репарации.

Установлен положительный эффект бактеризации на физиолого-морфологические параметры растений только в оптимальных условиях. Показано, что активность пероксидазы, как одного из антиоксидантных белков, резко повышалось как у бактеризованных, так и контрольных растений при стрессе. Бактеризация также способствовала повышению каталазы в листьях растений при стрессе и репарации. Содержание МДА, как показателя окислительного стресса, также увеличивалось в листьях как инокулированных, так и неинокулированных вариантов. Но при репарации бактеризованных растений, в отличие от контрольных при стрессе, содержание МДА оказалось равным содержанию его в листьях растений без стресса.

Таким образом, бактеризация растений картофеля совместной культурой бактерий *A. brasilense* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 способствовала снижению уровня окислительных процессов при стрессе в растениях за счет повышения активности каталазы.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-016-00116.