

*На правах рукописи*



**Каргаполова Кристина Юрьевна**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА КЛОНАЛЬНОГО  
МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ  
РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ**

1.5.6. Биотехнология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

Саратов, 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова»

**Научный руководитель:** кандидат сельскохозяйственных наук, доцент  
**Ткаченко Оксана Викторовна**

**Официальные оппоненты:** **Марданшин Ильдар Салимьянович,**  
доктор сельскохозяйственных наук,  
Башкирский научно-исследовательский институт  
сельского хозяйства - обособленное структурное  
подразделение Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения Уфимского  
федерального исследовательского центра  
Российской академии наук, заведующий  
лабораторией селекции и семеноводства картофеля

**Корнацкий Сергей Аркадьевич,**  
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент,  
Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования  
«Российский университет дружбы народов»  
(г. Москва), доцент агробиотехнологического  
департамента

**Ведущая организация:** ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный  
аграрный университет»

Защита состоится « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 года в \_\_\_\_\_<sup>00</sup> часов на заседании  
диссертационного совета 35.2.035.01 при ФГБОУ ВО «Саратовский государственный  
университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» по адресу:  
410005, Саратов, ул. Соколова, 335, диссертационный зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Вавиловский  
университет и на сайте [www.vavilovsar.ru](http://www.vavilovsar.ru)

Отзывы направлять по адресу: 410012, г. Саратов, пр-кт им. Петра Столыпина,  
зд. 4, стр.3, ученому секретарю диссертационного совета.

Автореферат диссертации разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук, профессор

Карпунина Лидия Владимировна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является четвертой по значимости продовольственной культурой в мире после риса, пшеницы и кукурузы. Более миллиарда человек во всем мире используют картофель в пищу (Growth and yield..., 2021). Более экологически чистый и экономичный подход к агротехнике культуры заключается в использовании агrobiотехнологий на основе микроорганизмов ризосферы, в том числе рост-стимулирующих ризобактерий (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, PGPR) (Mohammadi, 2012). Исследования влияния PGPR проведены на различных культурах в условиях *in vivo*. Положительная роль бактериализации PGPR установлена для риса (Use of two PGPR..., 2009), кукурузы (Isolation and identification..., 2014), пшеницы (Isolation and characterization..., 2015; Isolation and identification..., 2016), сои (*Azospirillum brasilense* Az39..., 2009), бобовых (Perez-Montano, 2014) и подсолнечника (Root colonization and..., 2012). Возможность использования PGPR в культуре *in vitro*, в том числе при клональном микроразмножении растений, изучена слабо.

**Степень разработанности темы исследования.** Важный этап в семеноводстве картофеля – получение оздоровленного посадочного материала в культуре *in vitro*. Инокулирование микрорастений культурами PGPR *in vitro* может положительно влиять на рост побегов и корней картофеля *in vitro* и адаптационную способность растений на этапе переноса в условия *ex vitro*. Показана возможность использования для инокулирования микрорастений *in vitro* штаммов бактерий родов *Pseudomonas* и *Methylovorus* (Влияние ассоциативных псевдомонад..., 2012). Одним из хорошо изученных объектов в исследовании ассоциативных симбиозов являются бактерии рода *Azospirillum*. Было показано, что штамм *A. baldaniorum* Sp245 способен усиливать рост и развитие микроклонов картофеля *in vitro* (Создание ассоциации *in vitro*..., 2015), стимулировать адаптацию полученных регенерантов к условиям *ex vitro*, а также способствовать увеличению урожая мини-клубней (Improved potato microclonal..., 2015). Создание активных растительно-микробных ассоциаций PGPR с микроклонами растений картофеля может стать основой инновационной технологии получения посадочного материала в культуре *in vitro*. При этом методология создания ассоциаций и ассортимент возможных штаммов-ассоциантов очень мало изучены.

**Цель и задачи.** Цель исследования – создание и изучение функционирования растительно-микробных ассоциаций ризосферных рост-стимулирующих бактерий с микрорастениями картофеля в культуре *in vitro* и *ex vitro* для развития экологически чистых агrobiотехнологий.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. Провести оценку коллекционных штаммов ризосферных бактерий рода *Azospirillum* по их рост-стимулирующей способности в растительно-микробных ассоциациях с микроклонами картофеля в культуре *in vitro* и *ex vitro*.
2. Выделить природные рост-стимулирующие ризобактерии из ризосферы картофеля и провести оценку отобранных природных изолятов по их влиянию на ростовые процессы микрорастений картофеля в культуре *in vitro* и *ex vitro*.
3. Провести идентификацию выделенных природных ризосферных штаммов, обладающих максимальной способностью к стимулированию ростовых процессов микрорастений картофеля в культуре *in vitro* и *ex vitro*.
4. Изучить влияние условий инокуляции PGPR микрорастений картофеля на эффективность функционирования растительно-микробных ассоциаций.

5. Оценить возможность комбинированного использования наиболее эффективных коллекционных и природных штаммов PGPR в культуре *in vitro* и *ex vitro* картофеля.

#### **Научная новизна**

Впервые проведено комплексное изучение влияния штаммов бактерий рода *Azospirillum* из коллекции ризосферных микроорганизмов Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра “Саратовский научный центр Российской академии наук” (ИБФРМ ФИЦ СЦ РАН) (Саратов) (<http://collection.ibppm.ru/>) и оригинальных штаммов, выделенных с поверхностно-стерилизованных корней картофеля, выращенного в полевых условиях в Саратовской области, на рост микрорастений картофеля в условиях *in vitro* и адаптационный потенциал в условиях *ex vitro*. Идентифицированы новые штаммы ризосферных бактерий, обладающие рост-стимулирующим эффектом на микрорастения картофеля. Подобраны оптимальные условия создания активных микробно-растительных ассоциаций в культуре *in vitro* для различных штаммов ризосферных бактерий. Изучена возможность ко-инокуляции микрорастений картофеля одновременно двумя штаммами ризосферных бактерий *A. baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2.

#### **Теоретическое и практическое значение работы**

Теоретически обоснована и разработана методика создания растительно-микробных ассоциаций в условиях культуры *in vitro* в зависимости от особенностей штаммов ризосферных бактерий (их способности утилизировать сахарозу). Установлена возможность повышения эффективности метода клонального микроразмножения картофеля с использованием штаммов рост-стимулирующих бактерий разных таксономических групп. Показана высокая вариабельность эффекта инокуляции в зависимости от штамма бактерий и сорта растений картофеля.

На основе методов секвенирования нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК и 16S-23S межгенного спейсера идентифицировано 5 новых штаммов ризосферных бактерий, обладающих способностью стимулировать рост растений картофеля. Штаммы *Ensifer adhaerens* T1Ks14 (= RCAM04487), *Kocuria rosea* T1Ks19 (= RCAM04488), *Acinetobacter guillouiae* K2Kn02 (= RCAM04485), *Ochrobactrum sp.* T1Kr02 (= RCAM04486) и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. (= RCAM04481) депонированы в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ, Санкт-Петербург). Для *O. cytisi* IPA7.2 проведено полногеномное секвенирование с депонированием данных в базе данных GenBank NCBI (MOES01000000).

**Методология и методы исследования.** Изучение эффективности ассоциативного взаимодействия между микроорганизмами и растениями картофеля проводилось по стандартной методике клонального микроразмножения растений в культуре *in vitro* и по разработанному оригинальному методу внесения суспензий различных штаммов в разное время культивирования растений *in vitro*. Результаты ассоциативного взаимодействия оценивались по комплексу физиолого-морфологических и биохимических признаков растений. Обнаружение инокулированных ризосферных бактерий на растениях в созданных ассоциациях проводилось по комплексу иммунохимических тестов с использованием специфических поликлональных кроличьих антител к О-антигенам бактериальных клеток. Таксономическая идентификация новых штаммов проводилась методами

молекулярно-генетического анализа на основании секвенирования нуклеотидной последовательности. Для построения филогенетических деревьев методом максимального правдоподобия применялся интегрированный пакет программ филогенетического анализа MEGA-6 с установками по умолчанию.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Коллекционные штаммы ризосферных бактерий рода *Azospirillum* оказывают рост-стимулирующее влияние на микроклоны картофеля в культуре *in vitro* и *ex vitro*.

2. Выделенные из ризосферы картофеля новые штаммы природных ризосферных рост-стимулирующих бактерий *Ensifer adhaerens* T1Ks14, *Kocuria rosea* T1Ks19, *Acinetobacter guillouiae* K2Kn02, *Ochrobactrum* sp.T1Kr02, *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 способны стимулировать ростовые процессы микрорастений картофеля в культуре *in vitro* и *ex vitro*.

3. Методика инокуляции и совместного культивирования PGPR с микрорастениями картофеля применима для создания и эффективного функционирования растительно-микробных ассоциаций в культуре *in vitro*.

4. Ко-инокуляции микрорастений картофеля одновременно двумя штаммами ризосферных бактерий *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 стимулирует рост растений картофеля в условиях *in vitro*, адаптацию *ex vitro* и продуктивность растений в условиях грунтовой теплицы.

**Работа выполнена** на кафедре «Растениеводство, селекция и генетика» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова» (ФГБОУ ВО Вавиловский университет) и при частичной финансовой поддержке гранта: РФФИ № 16-34-00720 «Изучение закономерностей функционирования ассоциаций растений с микросимбионтами в модельных (*in vitro*) и природных (*ex vitro* и *in vivo*) симбиотических системах с целью развития экологически чистых агробiotехнологий».

**Степень достоверности и апробация работы**

Достоверность полученных результатов подтверждается не менее чем двухкратным повторением опытов, наличием трехкратных повторностей вариантов внутри каждого опыта, общепринятыми методами оценки параметров роста растений, использованием статистических методов оценки полученных данных.

Результаты исследований были представлены на следующих конференциях: конференции профессорско-преподавательского состава и аспирантов Вавиловского университета по итогам научно-исследовательской, учебно-методической и воспитательной работы за 2015-2021 гг. (Саратов, 2016-2022); Международные научно-практические конференции «Вавиловские чтения» 2015-2022 гг. (Саратов, 2015-2022); V Российский симпозиум с международным участием «Фитоиммунитет и клеточная сигнализация у растений» (Казань, 2016); Годичные собрания общества физиологов растений России (Санкт-Петербург, 2016; Судак, 2017; Казань, 2019; Москва 2021); VII съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы (Санкт-Петербург, 2019); II Международная научная конференция «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (Минск, 2015); X и XI Международные научные конференции «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты» (Минск, 2017, 2019); Международная научная конференция «Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология» (Минск, 2018); Международная научная конференция, посвященная 130-летию Н.И. Вавилова

(Москва, 2017); Научная конференция с международным участием и школа молодых ученых «Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма» (Санкт-Петербург, 2016); V Международная научно-практическая конференция «Биотехнология: наука и практика» (Ялта, 2017); Международные научные конференции «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» PLAMIC2018 (Уфа, 2018), PLAMIC2022 (Санкт-Петербург, 2022); Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты» (Томск, 2018).

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 29 работ, в том числе 3 в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, и 3 в журналах, входящих в международную наукометрическую базу Scopus.

**Личный вклад соискателя** заключается в проведении экспериментов на всех этапах диссертационного исследования, анализе полученных данных, проведении обзора литературы для обоснования актуальности изучаемой темы, подготовке текста диссертации, апробации материалов исследований на конференциях различного уровня, обработке и интерпретации основных научных положений, выносимых на защиту, подготовке научных публикаций по теме диссертации.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, двух глав (обзора литературы и экспериментальной части, включающей объекты и методы исследований, результаты исследований и их обсуждение), а также заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложений. Работа изложена на 132 страницах и иллюстрирована 21 рисунком и 33 таблицами. Список литературы включает 209 наименований, в том числе 33 отечественных и 176 зарубежных.

## **Экспериментальная часть**

### **Объекты и методы исследований**

В качестве макропартнеров для создания и изучения растительно-микробных ассоциаций использовались сорта картофеля (*Solanum tuberosum* L.) Кондор и Невский, рекомендованные для выращивания в Саратовской области (<http://reestr.gossort.com>). Микрорастения картофеля для проведения экспериментов были получены из апикальных меристем и культивировались *in vitro* в контролируемых условиях среды по стандартной методике на безгормональной среде Мурасиге-Скуга (МС) (Гончаров, 1981).

В качестве микропартнеров использовались коллекционные штаммы бактерий: *Azospirillum brasilense* SR8, SR64, SR87, Sp7<sup>T</sup>, SR75, SR80, SR88, S27; *Azospirillum baldaniorum* Sp245; *Azospirillum lipoferum* SR61, SR85, SR42; *Niveispirillum irakense* KBC1<sup>T</sup>; *Azospirillum halopraeferens* Au4<sup>T</sup>; *Azospirillum sp.* SR38; *Enterobacter ludwigii* K7; *Pseudomonas chlororaphis* K3 и *Rhizobium radiobacter* LCu4A. Данные штаммы бактерий были взяты из коллекции свободноживущих почвенных микроорганизмов института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук № 1021 (WDCM – World Data Centre for Microorganisms) (<http://collection.ibppm.ru>) Кроме того, изучались ризосферные бактерии (171 изолят), выделенные из гомогената отмытых корней картофеля сортов Невский и Кондор, выращенных в Энгельском, Марксовском и Красноармейском районах Саратовской

области.

В процессе исследований проводилась оценка способности бактерий к росту на среде с сахарозой, изучалась активность фермента ИУК-оксидазы в ферментной вытяжке по реакции Сальковского (Паламарчук, 1965). Скрининг изолятов проводился по показателям отсутствия фитотоксичного влияния на микрочеренки картофеля в культуре *in vitro*, а также их способности к стимулированию роста побегов и корней. Для анализа сформированной растительно-микробной ассоциации проводилась оценка содержания бактерий на корнях микрорастений картофеля после 30 суток совместного культивирования *in vitro*. Для определения бактериальных клеток в области корня растений использовали поликлональные кроличьи антитела и флуоресцентно-меченные антикроличьи антитела (Alexa Fluor® 532, Invitrogen, США) (Бактериальный изолят из, 2017). Применяли методы иммуноферментного анализа и иммунофлуоресцентной микроскопии с использованием конфокального лазерного микроскопа TCS SP5 (Leica-microsystems, Германия) на базе ЦКП «Симбиоз» ФИЦ СЦ ИБФРМ РАН.

Идентификацию бактериальных изолятов проводили по совокупности их морфологических, физиологических и биохимических признаков, а также на основе анализа нуклеотидных последовательностей генома. Геномная ДНК штамма выделялась из клеток, культивированных на твердой питательной среде, и очищалась согласно описанию (Dedysh, 1998). При выравнивании исходный набор гомологичных последовательностей ДНК гена 16S рРНК штаммов – представителей родов, близкородственных изолятам, составляли с применением технологии BLASTN. При отборе референтных штаммов для филогенетического анализа учитывалось их соответствие базе данных SILVA. Для построения филогенетического дерева по последовательностям 16S рРНК применялись методы MrBayes и Neighbor Joining из интегрированного пакета программ филогенетического анализа MEGA v.6. Эти построения выполняли по множественным выравниваниям, полученным с использованием алгоритма Clustal Omega и ресурса SINA Alignment Service, расположенного на портале SILVA (Бактериальный изолят из, 2017).

Для оценки эффективности ассоциативного растительно-микробного взаимодействия в условиях культуры *in vitro* и в условиях *ex vitro* снимались морфометрические показатели микрорастений.

Статистическую оценку результатов проводили методом однофакторного и двухфакторного дисперсионного анализа со сравнением частных средних по тесту Дункана с использованием пакета программ AGROS версия 2.10.

## Результаты исследований и их обсуждение

### Первичный скрининг коллекционных штаммов PGPR по ростостимулирующей способности в отношении микрорастений картофеля в условиях *in vitro* и *ex vitro*

Скрининг 18 штаммов бактерий из коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН по их способности потреблять сахарозу и пригодности к совместному культивированию с микрорастениями картофеля в условиях *in vitro*, а также оценка влияния инокуляции микрорастений картофеля этими штаммами на морфометрические показатели в условиях *in vitro* и *ex vitro* показала, что штаммы *Azospirillum brasilense* SR64 и SR75, *Azospirillum lipoferum* SR61, *Rhizobium radiobacter* LCu4a, *Pseudomonas chlororaphis* K3, *Enterobacter cloacae* K7, и *Niveispirillum irakense* KBC1<sup>T</sup> активно потребляют сахарозу и не могут быть

использованы в экспериментах по созданию растительно-микробных ассоциаций в культуре *in vitro*, так как на питательной среде МС происходит контаминация культуры.

### Изучение ростостимулирующей способности отобранных коллекционных штаммов в отношении микрорастений картофеля в условиях *in vitro* и *ex vitro*

Штаммы с отсутствием фитотоксичного влияния на микрорастения (*A. brasilense* Sp7<sup>T</sup>, *A. brasilense* S27, *A. brasilense* SR80, *A. brasilense* SR88, *A. baldaniorum* Sp245) изучали на эффективность создания растительно-микробных ассоциаций в культуре *in vitro* и *ex vitro*.

В культуре *in vitro* (Рисунок 1) было установлено, что по признаку «Длина побега» все штаммы оказывали рост-стимулирующее действие и инокулированные растения положительно отличались от контроля в среднем на 15,4%. Штамм *A. brasilense* SR88 увеличивал длину корней микрорастений на 16,9% по сравнению с контролем (без инокуляции). По количеству узлов опытные и контрольные растения достоверно не различались. По количеству корней большинство вариантов были на уровне контроля, кроме вариантов с двумя штаммами: растения инокулированные штаммом *A. baldaniorum* Sp245 были меньше контроля на 10%, а штаммом *A. brasilense* SR88 – больше контроля на 10%. Таким образом, штамм *A. brasilense* SR88 положительно влиял на микрорастения картофеля по большинству признаков.

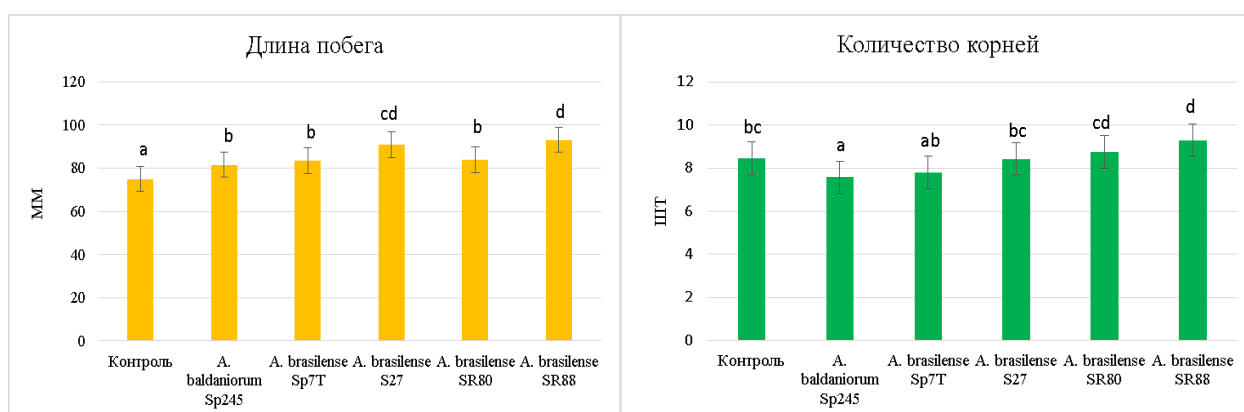


Рисунок 1 – Влияние коллекционных штаммов *A. baldaniorum* Sp245, *A. brasilense* S27, *A. brasilense* Sp7<sup>T</sup>, *A. brasilense* SR80, *A. brasilense* SR88 на длину побегов и корней микрорастения картофеля сорта Невский в культуре *in vitro* на 30 сутки культивирования

Изучаемые микрорастения высаживали в сосуды с почвой и адаптировали к естественным условиям выращивания в течение 20 суток (Таблица 1). В условиях *ex vitro* растения, инокулированные штаммами *A. brasilense* SR80, *A. brasilense* SR88 превышали контроль по длине побега, но были на уровне варианта с инокуляцией штаммом *A. baldaniorum* Sp245. По количеству листьев достоверно превышали контроль растения, инокулированные *A. brasilense* SR80. По площади листовой поверхности данные штаммы обладали лучшим стимулирующим эффектом по сравнению с контролем и штаммом *A. baldaniorum* Sp245. На 10 сутки у растений, инокулированных штаммом *A. brasilense* SR80, площадь листьев была на 75% больше контроля, а у растений, инокулированных штаммом *A. brasilense* SR88 – на 48%. На 20 сутки площадь листовой поверхности растений, инокулированных штаммами *A.*



*brasilense* SR80 и *A. brasilense* SR88 превышала контроль соответственно на 72% и 46%.

Таблица 1 – Влияние коллекционных штаммов *A. baldaniorum* Sp245, *A. brasilense* S27, *A. brasilense* Sp7<sup>T</sup>, *A. brasilense* SR80, *A. brasilense* SR88 на рост микрорастений картофеля сорта Невский в условиях *ex vitro*

Вариант	Длина побега, мм	Количество листьев, шт.	Площадь листовой поверхности, мм <sup>2</sup>
Контроль	178,40b	10,70b	2178,20c
<i>A. baldaniorum</i> Sp245	189,20bcd	11,00bc	2555,20d
<i>A. brasilense</i> SP7 <sup>T</sup>	159,60a	9,80a	1300,40a
<i>A. brasilense</i> S27	182,00b	10,60b	1892,14b
<i>A. brasilense</i> SR80	198,40cd	11,60c	3738,62f
<i>A. brasilense</i> SR88	199,40d	10,80b	3173,04e
F <sub>факт.</sub>	13,015*	6,180*	196,584*
HCP <sub>0,05</sub>	12,13	0,69	185,77

По итогам экспериментов можно сделать вывод, что из изученных коллекционных штаммов для совместного культивирования с микрорастениями картофеля в условиях *in vitro* и *ex vitro* можно рекомендовать два штамма: *A. brasilense* SR80, *A. brasilense* SR88. Данные штаммы по ростостимулирующей активности в отношении микрорастений картофеля сорта Невский были на уровне со штаммом *A. baldaniorum* Sp245 или выше его.

### **Выделение и изучение новых природных изолятов ризосферных бактерий**

Из 171 природного изолята ризосферных бактерий, выделенных из корней растений картофеля сортов Невский и Кондор, выращенных в естественных условиях почв Саратовской области, было отобрано 15 изолятов, пригодных для совместного культивирования с растениями в условиях *in vitro*. Изоляты проверили в серии экспериментов на способность стимулировать рост растений картофеля сортов Невский (Таблица 2) и Кондор в условиях *in vitro* (Таблица 3). В качестве контроля использовали инокулированные растения, а также рост-стимулирующий штамм *A. baldaniorum* Sp245.

Природные изоляты по-разному оказали влияние на микрорастениями картофеля сорта Невский (Таблица 2). Изолят T1Nn01 положительно влиял на все показатели роста растений в культуре *in vitro* по сравнению с контролем (вариант с не бактеризованными растениями), но его действие не отличалось от влияния штамма *A. baldaniorum* Sp245. Варианты с инокуляцией изолятами 2, 9.1 достоверно не отличались от контрольных вариантов. Изоляты 7.1 и 7.2 положительно оказывали воздействие на длину корня и количество узлов, но ингибировали образование новых корней. Изоляты 1, 12, 21, 86 достоверно отрицательно влияли на все ростовые процессы в растениях. На растениях сорта Невский изолят T1Ns10 не оказал достоверного влияния по сравнению со стандартными стерильными растениями.

На микрорастениях сорта Кондор так же замечено различное воздействие природных изолятов (Таблица 3). Изоляты 7.1, 7.2, 9.1 негативно влияли на рост черенков картофеля. Изолят 2 положительно влиял на длину побега, количество узлов и корней, но ингибировал длину корня. Микрорастения, инокулированные изолятами K2Kn02, K2Kn09, T1Ks19, T1Ks14, в большей степени не отличались от контрольных растений. Изолят T1Kr02 оказывал стимулирующее действие на рост микрочеренков.

Таблица 2 – Влияние природных изолятов на рост микрорастений картофеля сорта Невский в культуре *in vitro*, в % от контроля

№	Штамм	Длина побега	Средняя длина корня	Количество узлов	Количество корней
1	<i>A. baldaniorum</i> Sp245	+25	+11*	+34*	+32*
2	Изолят 7.1	+25	+13*	+40*	-27*
3	Изолят 7.2	+39	+5*	+29*	-30*
4	Изолят 2	+166	+148	+143	+100
5	Изолят 9.1	-31	-42	-56	-57
6	Изолят 1	-27*	-13*	-6*	-9*
7	Изолят 12	-63*	-62*	-28*	-18*
8	Изолят 21	-10*	-4*	-9*	-9*
9	Изолят 86	-51*	-13*	-9	+18*
10	Изолят T1Ns10	0	0	0	0
11	Изолят T1Nn01	+18*	+12*	+13*	+46*

Примечание – здесь и в таблицах 3 и 4 «\*» – достоверное отличие от контрольных (неинокулированных) микрорастений приведено по данным дисперсионного анализа (P = 0,05).

Таблица 3 – Влияние природных изолятов на рост микрорастений картофеля сорта Кондор в культуре *in vitro*, в % от контроля

№	Вариант	Длина побега	Длина корня	Количество узлов	Количество корней
1	<i>A. baldaniorum</i> Sp245	+97*	+64*	+71*	+114*
2	Изолят 7.1	-32*	+4	-7	-11
3	Изолят 7.2	-10*	+19	-16	-27
4	Изолят 2	+61*	-37*	+108*	+300*
5	Изолят 9.1	-1*	-44*	-59*	-47*
6	Изолят K2Kn02	-23*	0	-8*	0
7	Изолят K2Kn09	0	-15*	0	0
8	Изолят T1Ks19	0	-32*	0	0
9	Изолят T1Kr02	+18*	+8*	0	+25*
10	Изолят T1Ks14	0	0	0	+15*

Далее выделенные изоляты T1Ns10 и T1Nn01, K2Kn02, K2Kn09, T1Ks19, T1Ks14, T1Kr02 изучали на этапе адаптации микрорастений в условиях *ex vitro* (Таблица 4). Изолят T1Nn01 оказывал рост-стимулирующее влияние по отношению к растениям. Изолят K2Kn09 обладал ингибирующим эффектом по отношению к растениям. Остальные изоляты оказывали неоднозначное влияние, параметры растений были достоверно ниже, чем контроль либо на уровне его.

Скрининг природных изолятов позволил для дальнейшего исследования выделить несколько изолятов с ростостимулирующими свойствами. Среди изолятов, выделенных из корней картофеля сорта Невский, выделялись изоляты T1Nn01 и 7.1. Изоляты из сорта Кондор были на уровне контрольных растений и не проявляли ингибирующего действия на растения, а изоляты T1Kr02 и T1Ks14 стимулировали

рост побегов или образование корней на микропобегах картофеля *in vitro*, изоляты T1Ks19 и K2Kn02 повышали длину побегов картофеля *ex vitro*.

Таблица 4 – Влияние природных изолятов на рост растений картофеля в условиях *ex vitro*, % от контроля

№	Сорт картофеля	Штамм	Длина побега	Количество листьев	Площадь листовой поверхности
1	Невский	<i>A. baldaniorum</i> Sp245	+12*	0	+13*
2		T1Ns10	+13*	0	-12*
3		T1Nn01	+20*	+12*	0
4	Кондор	<i>A. baldaniorum</i> Sp245	+10*	0	+9*
5		K2Kn02	+8*	0	-45*
6		K2Kn09	-10*	0	-20*
7		T1Ks19	+8*	0	-39*
8		T1Kr02	0	0	-35*
9		T1Ks14	0	0	0

Было определено таксономическое положение некоторых бактериальных штаммов, для которых было показано рост-стимулирующее действие на микрорастения картофеля (Рисунок 2). Филогенетические деревья по последовательностям генов 16S рРНК показали эволюционную близость штамма T1Ks14 с типовым штаммом *Ensifer adhaerens* LMG20216T, штамма T1Ks19 – с типовым штаммом *Kocuria rosea* DSM20447<sup>T</sup>, изолят T1Kr02 со штаммом вида *Ochrobactrum* sp. Nt19McR.

Штаммы K2Kn02, T1Kr02, T1Ks14, T1Ks19 депонированы в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ).

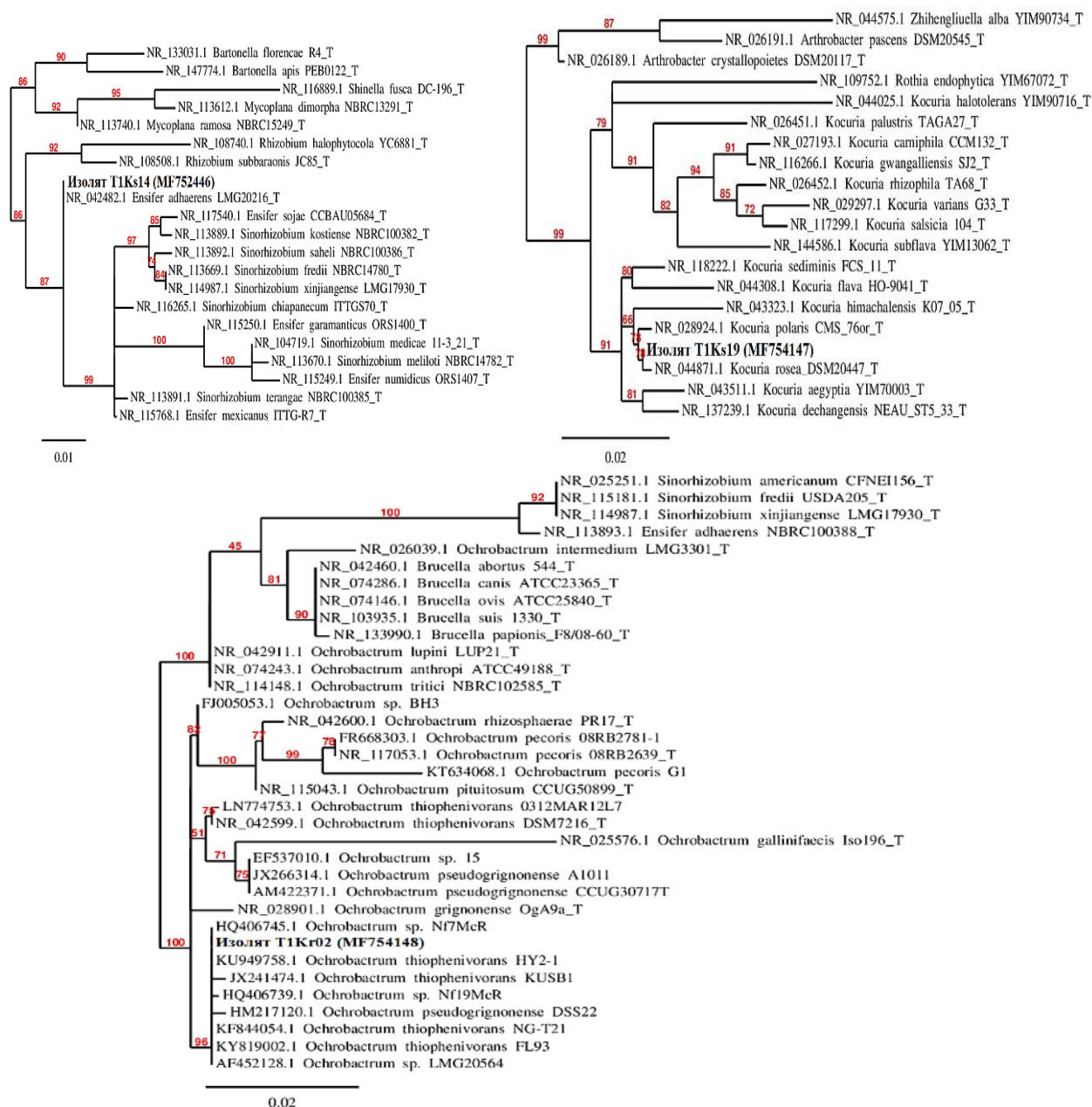


Рисунок 2 – Филогенетические деревья по последовательностям генов 16S рРНК штаммов T1Ks14, T1Ks19 и T1Kr02

### Изучение штамма *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 и его влияния на микрорастения картофеля в культуре *in vitro*

Изолят 7.2 по данным мультилокусного анализа последовательностей (MLSA) был отнесен к виду *Ochrobactrum cytisi*. При этом по биохимическим свойствам штамм IPA7.2 отличается от типового штамма *O. cytisi* LMG22713 урезной активностью (Use of *Azospirillum*, 2017; *Ochrobactrum cytisi* sp, 2007). Положительная урезная активность штамма IPA7.2 подтверждена присутствием в геноме двух оперонов, содержащих гены уреазы (Urease subunit alpha (*ureC*): OIS93271 и OIS93456. Urease subunit beta (*ureB*): OIS93270 и OIS93457). Таким образом, изолят IPA7.2 был классифицирован как уреазоположительный представитель вида *O. cytisi* таксономической группы *Ochrobactrum anthropic* (Рисунок 3).

Штамм *O. cytisi* IPA7.2 оказывал различное действие на микрорастения, находящиеся на разном этапе органогенеза. При черенковании, когда только

начинается регенерация органов (побегов из пазушных почек и адвентивных корней), внесение бактерий приводит к ингибированию темпов роста микрорастений. При этом не происходит существенного снижения концентрации сахарозы или изменения рН среды (данные не приводятся).

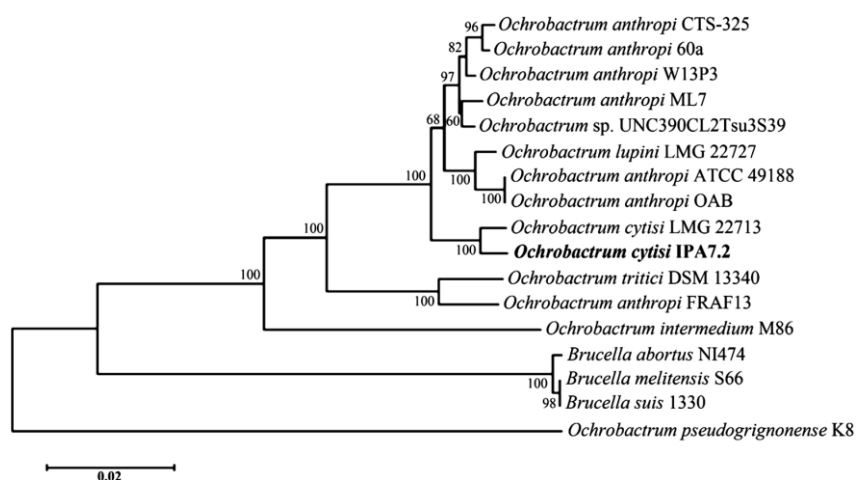


Рисунок 3 – Филогенетическое древо штаммов, близкородственных изоляту IPA7.2, полученное по последовательностям фрагментов 6 house-keeping genes (*gap*, *rpoB*, *dnaK*, *trpE*, *aroC*, and *recA*)

Негативное действие бактерий может быть связано с активным увеличением числа микробных клеток и, тем самым, усилением фитоиммунных реакций растительных клеток, замедляющих рост. В то же время, инокуляция микрорастений, уже имеющих дифференцированные органы (корни, узлы и листья), достоверно стимулирует рост растений независимо от размножения бактерий в среде (Таблица 5).

Таблица 5 – Влияние штамма *O. cytisi* IPA7.2 на рост микрорастений картофеля сорта Невский в условиях *in vitro* на 30 сутки выращивания при инокуляции на 15-ый день культивирования растений

Вариант	Длина побега, мм	Средняя длина корня, мм	Количество узлов, шт.	Количество корней, шт.
Контроль	53,50a	78,50b	8,050a	7,10a
Опыт	71,50b	72,30a	8,60b	8,25b
F <sub>факт.</sub>	3940*	101*	33,0*	31,10*
НСР <sub>0,05</sub>	0,90	2,10	0,30	0,66

Применение инокуляции микрорастений картофеля в середине процесса культивирования *in vitro* позволило проявиться достоверному положительному влиянию бактерий штамма *O. cytisi* IPA7.2 на длину побега, количеству узлов и количеству корней. При пересадке инокулированных растений в условия *ex vitro* (Таблица 6) наблюдалась лучшая приживаемость микрорастений, что также является важным аспектом успешности процесса клонального микроразмножения.

Таблица 6 – Влияние штамма *O. cytisi* IPA7.2 на рост микрорастений картофеля сорта Невский в условиях *ex vitro* на 20 сутки выращивания при инокуляции на 15-ый и 30-й день культивирования растений

Вариант	Длина побега, мм	Количество листьев, шт.	Площадь листовой поверхности, см <sup>2</sup>
Контроль	96,50a	8,75a	646a
Инокуляция на 15 сутки	115,50b	9,50b	1143b
Инокуляция на 30 сутки	95,30a	8,75a	750a
F <sub>факт.</sub>	48,4*	9,00*	69,9*
HCP <sub>0,05</sub>	5,64	0,499	108

Штамм *O. cytisi* IPA7.2 депонирован в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ) под регистрационным номером RCAM04481, в коллекции ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН (<http://collection.ibppm.ru>) как IBPPM544. Нуклеотидная последовательность гена 16S rRNA штамма внесена в базу данных GenBank NSBI под номером KU217325.1.

### Влияние ко-инокуляции штаммами *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на показатели микрорастений картофеля на этапе *in vitro*

Изучали ответные реакции растений картофеля двух сортов Невский и Кондор на инокуляцию микроорганизмами в комплексе и по отдельности двумя штаммами *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2. Сорт Невский превосходил сорт Кондор по всем показателям на всех этапах эксперимента. Эксперимент проводили в течение двух лет (2017-2018 гг.).

На рисунке 4 показаны результаты влияния ко-инокуляции микрорастений в культуре *in vitro*. Инокуляция чистой культурой *A. baldaniorum* Sp245 или консорциумом последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0 сут) + *O. cytisi* IPA7.2 (15 сут) положительно влияла на микрорастения сорта Невский. Увеличивалась длина побега, количество узлов на побеге и количество корней при уменьшении их средней длины.

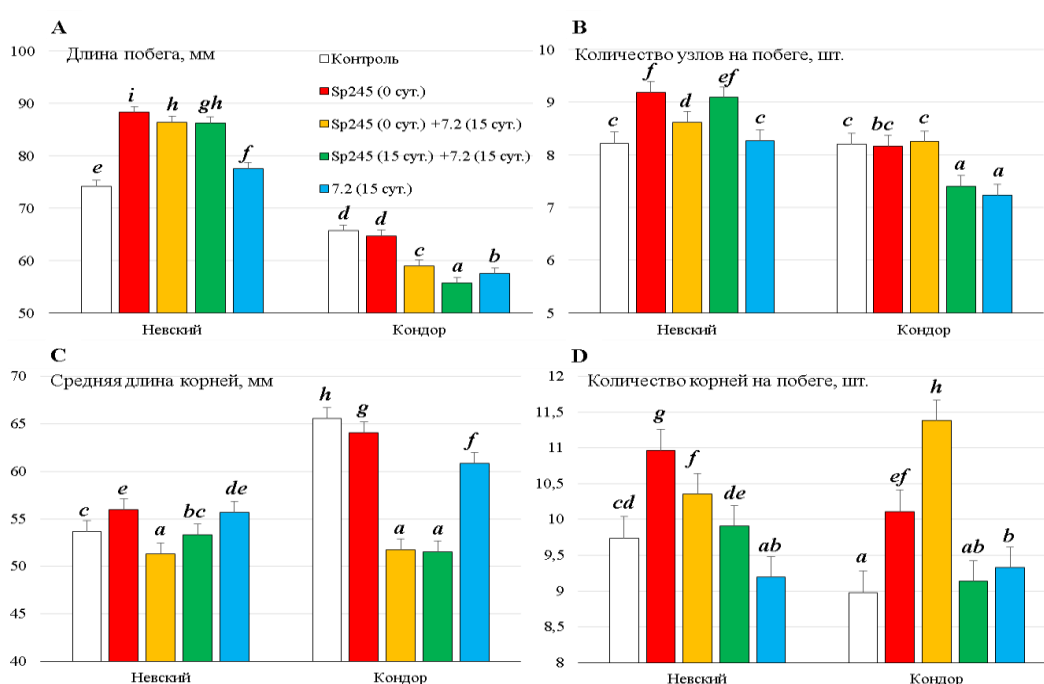


Рисунок 4 – Влияние штаммов *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на

морфометрические параметры микрорастений картофеля сортов Невский и Кондор в культуре *in vitro*

Иммунофлуоресцентный анализ корней картофеля сорта Невский с использованием конфокальной микроскопии показал, что оба штамма бактерий успешно вступают во взаимодействие с клетками растений (Рисунок 5). Бактерии обоих штаммов обнаруживались на корнях растений как при использовании для инокуляции чистых культур, так и при ко-инокуляции. Оба штамма бактерий сохранялись в вариантах ко-инокуляции растений, что говорит об отсутствии антагонистического влияния и преимущества какого-либо штамма при взаимодействии с клетками корней картофеля.

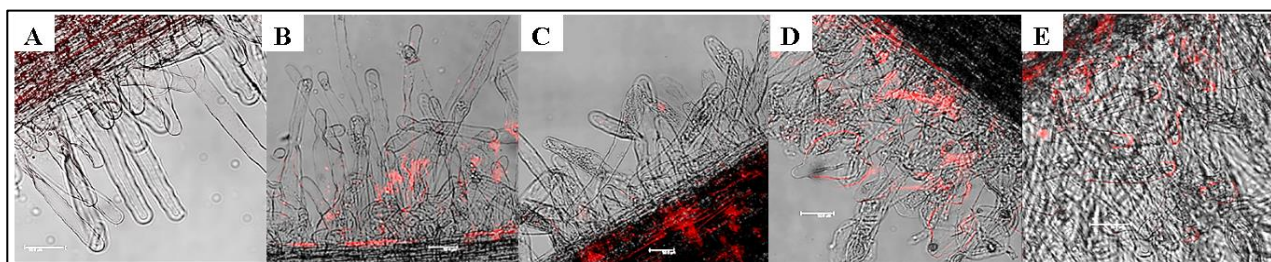


Рисунок 5 – Идентификация бактерий на корнях микрорастений картофеля с использованием иммунофлуоресцентной конфокальной микроскопии: А – контроль без инокуляции бактериями, антитела к *A. baldaniorum* Sp245 + антитела к *O. cytisi* IPA7.2; В – инокуляция штаммом *A. baldaniorum* Sp245, антитела к *A. baldaniorum* Sp245; С – ко-инокуляция штаммами *A. baldaniorum* Sp245 + *O. cytisi* IPA7.2, антитела к *A. baldaniorum* Sp245; D – ко-инокуляция штаммами *A. baldaniorum* Sp245 + *O. cytisi* IPA7.2, антитела к *O. cytisi* IPA7.2; Е – инокуляция штаммом *O. cytisi* IPA7.2, антитела к *O. cytisi* IPA7.2

#### **Влияние ко-инокуляции штаммами *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на показатели микрорастений картофеля на этапе *ex vitro***

На 30 сутки культивирования в условиях *in vitro* микрорастения картофеля высаживали в сосуды с почвой и адаптировали 20 суток в контролируемых условиях помещения (этап *ex vitro*). Приживаемость в сосудах с почвой в условиях оранжереи была высокой (Рисунок 6).

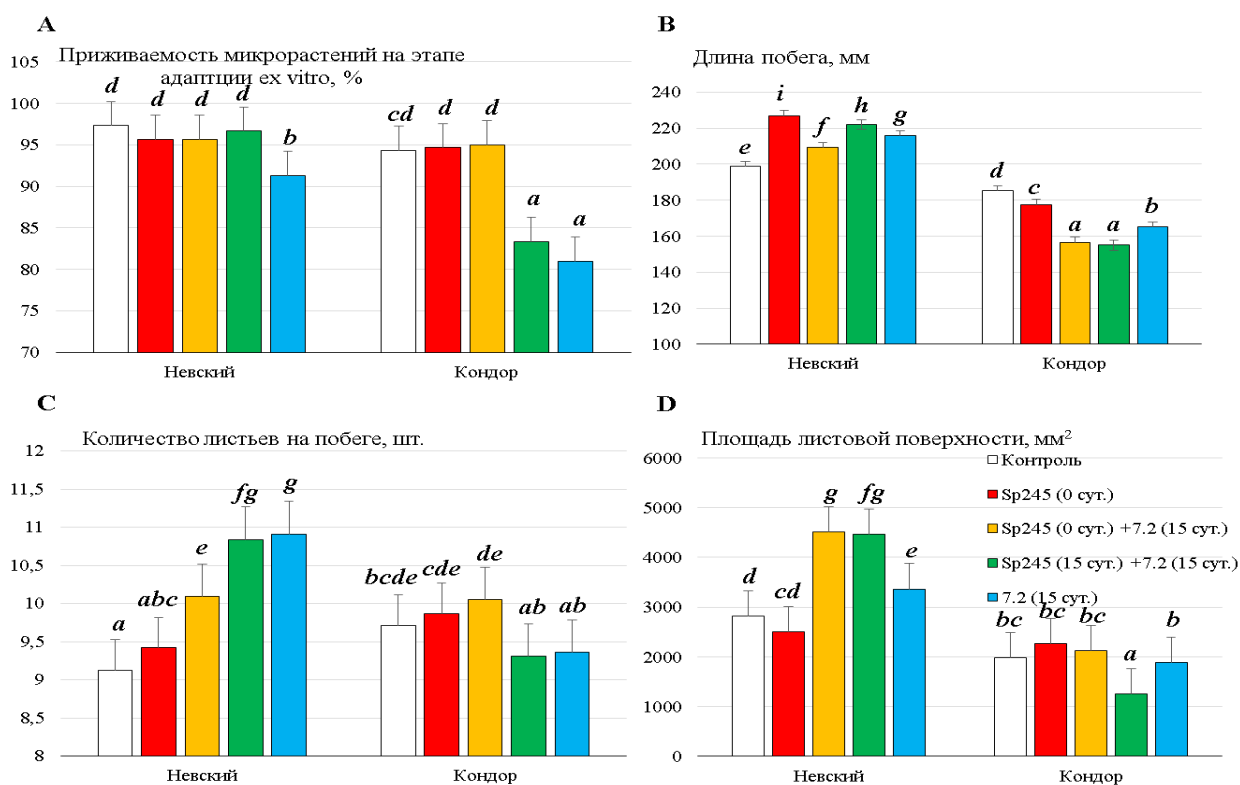


Рисунок 6 – Влияние штаммов *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на приживаемость и морфометрические параметры микрорастений картофеля сортов Невский и Кондор в культуре *ex vitro*

Эффект инокуляции микрорастений в условиях *in vitro* и на этапе адаптации *ex vitro* существенно зависел от генотипа. На сорт Невский положительно влияла по всем исследуемым показателям 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 ко-инокуляции штаммами *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на рост и продуктивность растений картофеля в условиях теплицы**

Далее растения после этапа адаптации *ex vitro* высаживали в летнюю каркасную теплицу в мае. Приживаемость растений на данном этапе была существенно ниже, чем в сосудах в контролируемых условиях (Рисунок 7), так как факторы окружающей среды не контролировались.

В условиях теплицы обнаружено более выраженное положительное влияние бактериализации, чем на предыдущих этапах культивирования. 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 ко-инокуляции консорциумом последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0 сут) + *O. cytisi* IPA7.2 (15 сут). В остальных вариантах наблюдался положительный эффект инокуляции.



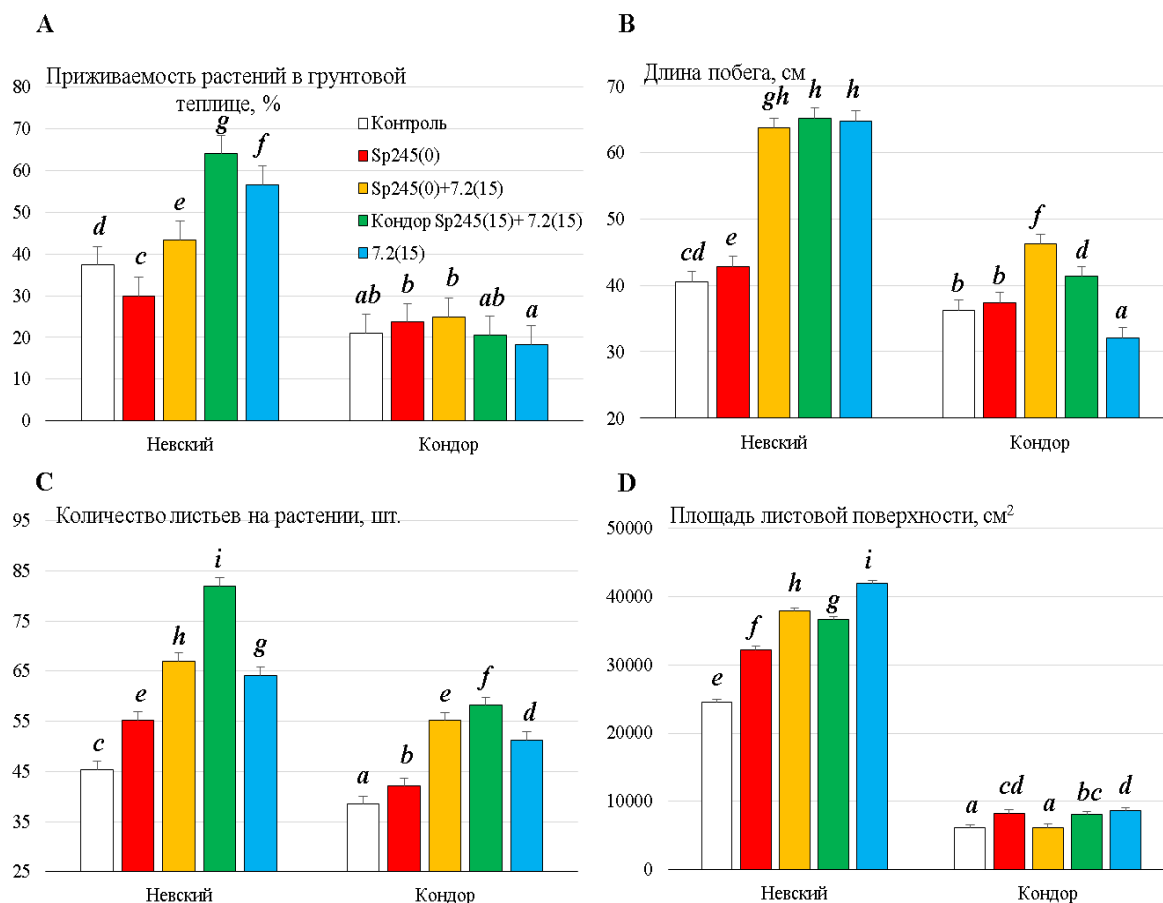


Рисунок 7 – Влияние штаммов *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на приживаемость и морфометрические параметры микрорастений картофеля сортов Невский и Кондор в грунтовой теплице

Ко-инокуляция микрорастений на этапе культивирования *in vitro* консорциумом последовательно *A. baldaniorum* Sp245 (0 сут) + *O. cytisi* IPA7.2 (15 сут) существенно увеличивала массу и количество мини-клубней, являющихся оздоровленным оригинальным посадочным материалом (Рисунок 8).

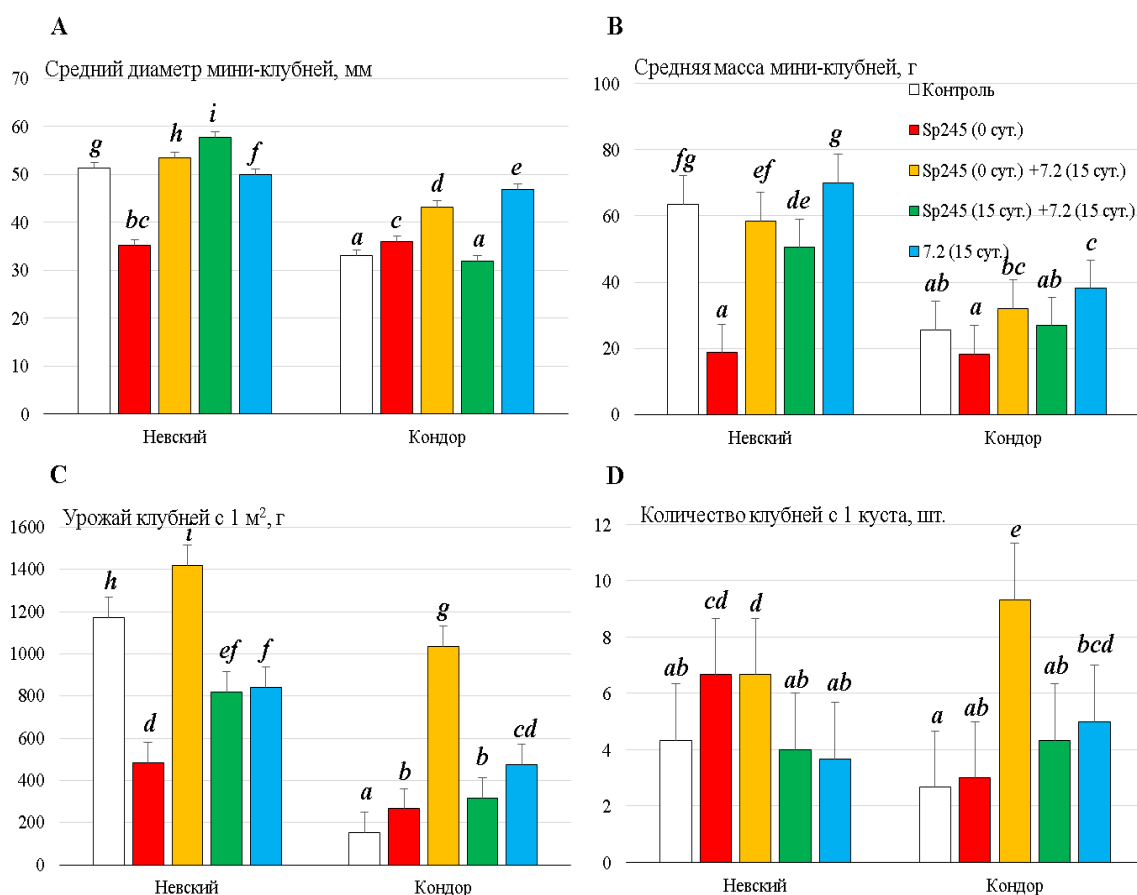


Рисунок 8 – Влияние штаммов *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на урожай мини-клубней картофеля в условиях выращивания в грунтовой теплице

По результатам анализа данных 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. Максимальный 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 данными штаммами бактерий не наблюдалось антагонистического влияния. Отмечена существенная зависимость рост-стимулирующего эффекта бактерий от генотипа картофеля. Максимальный положительный эффект при взаимодействии двух штаммов отмечен 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.

### Заключение

Проведенные исследования позволили установить, что при микроклональном размножении оздоровленного посадочного материала картофеля в условиях культуры *in vitro* происходит создание и активное функционирование растительно-микробных

ассоциаций с ризосферными рост-стимулирующими (PGPR) бактериям. Результатом штамм-специфической ассоциации являются: стимулирование роста *in vitro* и адаптационного потенциала микрорастений картофеля *ex vitro*, а также получения мини-клубней в условиях грунтовой теплицы. Полученные результаты могут быть использованы для развития экологически чистых агробiotехнологий в семеноводстве картофеля.

### Выводы

1. При скрининге коллекционных штаммов ризосферных бактерий рода *Azospirillum* (из коллекции ФИЦ СЦ ИБФРМ РАН) установлено, что наибольший рост-стимулирующий эффект на корневую систему микрорастений оказали штаммы *A. baldaniorum*Sp245, *A. brasilense* SR88, а на длину побега штаммы *A. baldaniorum*Sp245и *A. brasilense*Sp7<sup>T</sup>, S27, SR80.

2. Выделено 5 изолятов из 171 природных микроорганизмов, полученных из ризосферы картофеля, обладающих рост-стимулирующей активностью в отношении микроклонов картофеля в культуре *in vitro*.

3. Показано, что штамм *O. cytisi* IPA7.2 при инокуляции микрорастений картофеля на 14 сутки после черенкования положительно влияет рост побега и корней, повышает приживаемость микрорастений при адаптации в условиях *ex vitro*.

4. Установлено синергетическое влияние штаммов *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 на различных этапах культивирования микрорастений картофеля. В культуре *in vitro* максимальный положительный эффект бактеризации отмечен на увеличение количества адвентивных корней, на этапе адаптации *ex vitro* – на количество и площадь листьев, при выращивании растений в почве в условиях теплицы – на все показатели вегетативной части побегов, а также на массу мини-клубней.

5. Методом иммунофлуоресцентной конфокальной микроскопии показано, что между *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 не наблюдалось антогонистического влияния. Отмечена существенная зависимость рост-стимулирующего эффекта бактерий от генотипа картофеля. Максимальный положительный эффект при взаимодействии двух штаммов отмечен на этапе выращивания инокулированных растений в открытом грунте.

6. Совместное использование двух штаммов *A. baldaniorum* Sp245 и *O. cytisi* IPA7.2 для инокуляции микрорастений картофеля в культуре *in vitro* стабилизирует методику бактеризации по сравнению с применением чистых монокультур и может быть рекомендовано для практического применения при микроклональном размножении картофеля в системе производства оздоровленного посадочного материала.

### Практические предложения

Рекомендуется для получения высокого качества семенного материала картофеля использовать растительно-микробные ассоциации в культуре *in vitro* и *ex vitro*. В культуре *in vitro* проводить инокуляцию *O. cytisi* IPA7.2 на 15 сутки после черенкования микроклонов в концентрации  $10^6$  клеток в мл. Методика создания растительно-микробных ассоциаций в условиях культуры *in vitro* должна учитывать особенности штаммов ризосферных бактерий (их способность утилизировать сахарозу).

### Перспективы дальнейшей разработки темы

Проведенные исследования позволили установить, что при микроклональном размножении оздоровленного посадочного материала картофеля в условиях культуры *in vitro* происходит создание и активное функционирование растительно-микробных ассоциаций с ризосферными рост-стимулирующими бактериями. Результатом штамм-специфической ассоциации являются: стимулирование роста *in vitro* и адаптационного потенциала микрорастений картофеля *ex vitro*, а также получения мини-клубней в условиях грунтовой теплицы. Полученные результаты могут быть использованы для развития экологически чистых агробиотехнологий в семеноводстве картофеля

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК  
Минобрнауки России:

1. Бактериальный изолят из ризосферы картофеля (*Solanum tuberosum* L.), идентифицированный как *Ochrobactrum lupine* IPA7.2 / Г.Л. Бурыгин, И.А. Попова, **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Л.Ю. Матора, С.Ю. Щеголев // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – Т. 52, №1 – С. 105-115.

2. Особенности инокуляции растений ризосферными бактериями как фактор повышения эффективности микроклонального размножения картофеля / Г.Л. Бурыгин, **К.Ю. Каргаполова**, Н.В. Евсеева, О.В. Ткаченко // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2018. – Т. 14, №2. – С. 12-16.

3. Повышение эффективности клонального микроразмножения картофеля при инокуляции ризосферными бактериями *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин, Н.В. Евсеева, А.А. Широков, Л.Ю. Матора, С.Ю. Щёголев // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2022. – Т. 26, №5. – 422-430.

Публикации в изданиях, входящих в международные базы данных:

4. *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 promotes growth of potato microplants and is resistant to abiotic stress / G.L. Burygin, **K.Yu. Kargapolova**, Ye.V. Kryuchkova, E.S. Avdeeva, N.E. Gogoleva, T.S. Ponomaryova, O.V. Tkachenko // World J. Microbiol Biotechnol. – 2019. – Vol. 35, N. 4. – P. 1-12. (Scopus)

5. Effectiveness of inoculation of *in vitro* grown potato microplants with rhizosphere bacteria of the genus *Azospirillum* / **K.Yu Kargapolova**, G.L. Burygin, O.V. Tkachenko, N.V. Evseeva, Ya.V. Pukhalskiy, A.A. Belimov // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2020. – Vol. 141. – N. 2. – P. 351-359. (Scopus)

6. Structure, gene cluster of the O antigen and biological activity of the lipopolysaccharide from the rhizospheric bacterium *Ochrobactrum cytisi* IPA7. 2 / E.N. Sigida, **K.Y. Kargapolova**, A.S. Shashkov, E.L. Zdorovenko, T.S. Ponomaryova, A.A. Meshcheryakova, O.V. Tkachenko, G.L. Burygin, Y.A. Knirel //International journal of biological macromolecules. – 2020. – V. 154. – P. 1375-1381. (Scopus)

Публикации в сборниках и материалах конференций:

7. Создание и изучение ассоциативного симбиоза картофеля с ризосферными бактериями *in vitro* и *ex vitro* / О.В. Ткаченко, Н.В. Евсеева, Л.Ю. Матора, Г.Л. Бурыгин, С.Ю. Щеголев, Н.В. Бойкова, Е.В. Терентьева, **К.Ю. Каргаполова** // Межд. науч. конф.: Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы: Мат. конф. – Минск, 2015. – С. 202.

8. Скрининг ризосферных бактерий на пригодность для создания ассоциации с растениями картофеля *in vitro* / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин, Н.В. Евсеева, Л.Ю. Матора, С.Ю. Щеголев // Вавиловские чтения – 2015: Сборник статей междунар. науч.-практ. конф., посвященной 128-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Саратов, 2015. – С. 124.

9. Анализ генома ризосферного штамма *Ochrobactrum sp.* IPA7.2 / Г.Л. Бурыгин, Е.О. Дубгорина, Н.Е. Гоголева, Ю.В. Гоголев, Ю.А. Хлопко, А.О. Плотников, Н.В. Бойкова, **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко // Вавиловские чтения – 2016: Сборник статей междунар. науч.-практ. конф., посвященной 129-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Саратов, 2016. – С. 95-96.

10. Влияние штамма IPA7.2 на растения картофеля *in vitro* и *ex vitro* при микроклональном размножении / **К.Ю. Каргаполова**, Н.В. Бойкова, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин // Вавиловские чтения – 2016: Сборник статей междунар. науч.-практ. конф., посвященной 129-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Саратов, 2016. – С.108-110.

11. Каргаполова, К.Ю. Бактеризация растений при микроклональном размножении для повышения их адаптационной способности при высадке в открытый грунт / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин // «Фитоиммунитет и клеточная сигнализация у растений»: Тезисы IV Российского симпозиума с междунар. участием – Казань, 2016. – С. 75-76.

12. **Каргаполова, К.Ю.** Оценка изолятов ризосферных бактерий по способности стимулирования роста картофеля *in vitro* и *ex vitro* / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин // Вавиловские чтения – 2017: Сборник статей междунар. науч.-практ. конф., посвященной 130-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Саратов, 2017. – С. 127-128.

13. Видовая идентификация ростстимулирующих бактерий, выделенных с корней картофеля в Саратовской области / П.А. Потанина, В.И. Сафронова, А.А. Белимов, **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин // Вавиловские чтения – 2017: Сборник статей междунар. науч.-практ. конф., посвященной 130-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Саратов, 2017. – С. 149-153.

14. **Каргаполова, К.Ю.** Коинокуляция микрорастений картофеля *in vitro* бактериями *Azospirillum brasilense* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* RCAM04481 / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин, Н.В. Евсеева // Актуальная биотехнология. – 2017. – №2. – С. 170.

15. Подбор коллекционных штаммов ризосферных бактерий и природных изолятов для повышения эффективности метода микроклонального размножения картофеля *in vitro* / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин, Н.В. Евсеева // «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты»: Сборник тезисов науч. конф. и школа мол. уч. годичного собрания общества физиологов растений России. – Судак, 2017. – С. 187.

16. Подходы к отбору ризосферных бактерий для инокуляции растений при микроклональном размножении / Г.Л. Бурыгин, **К.Ю. Каргаполова**, Н.В. Евсеева, О.В. Ткаченко // Фундаментальные и прикладные аспекты: Мат. X междунар. науч. конф. Микробные биотехнологии. – Минск, 2017 – С. 123-125.

17. Таксономическое положение бактериального изолята T1Kr02, выделенного с корней картофеля сорта Кондор / Г.Л. Бурыгин, П.А. Потанина, **К.Ю. Каргаполова**, А.А. Белимов, О.В. Ткаченко, В.И. Сафронова // Вавиловские чтения – 2017: Сборник статей междунар. науч.-практ. конф., посвященной 130-й годовщине со дня рождения

академика Н.И. Вавилова. – Саратов, 2017. – С. 115-118.

18. Ткаченко, О.В. Влияние изолятов ризосферных бактерий T1Kr02, T1Ks14 на микрорастения картофеля / О.В. Ткаченко, **К.Ю. Каргаполова**, Г.Л. Бурыгин // Междунар. науч. конф., посвященной 130-летию Н.И. Вавилова. – Москва, 2017. – С. 25-27.

19. Эффективность культивирования клеток и тканей растений *in vitro* в присутствии бактерий и их метаболитов / О.В. Ткаченко, Н.В. Евсева, Г.Л. Бурыгин, **К.Ю. Каргаполова**, Ю.В. Лобачев, Л.Ю. Матора, С.Ю. Щеголев // «Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология»: Тезисы док. XI междунар. конф. – Минск, 2018. – С. 238-239.

20. **Каргаполова, К.Ю.** Оптимизация условий бактериальной инокуляции микрорастений при микроклональном размножении картофеля / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин // «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты»: Мат. всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. участием – Томск, 2018. – С. 222-223.

21. Бурыгин, Г.Л. Выделение, характеристика и определение рост-стимулирующего потенциала природных бактерий-симбионтов картофеля / Г.Л. Бурыгин, **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко // «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты»: Мат. всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. участием – Томск, 2018. – С. 205.

22. Оценка ростстимулирующей способности штаммов ризосферных бактерий в отношении микрорастений картофеля / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин, Н.В. Евсева // «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего»: Мат. междунар. науч. конф. PLAMIC2018. – Уфа, 2018. – С. 160.

23. **Каргаполова, К.Ю.** Использование микроорганизмов для повышения эффективности метода клонального микроразмножения картофеля / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин // «Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология»: Тезисы док. XI междунар. конф. – Минск, 2018. – С. 86-87.

24. Стратегия создания растительно-микробных ассоциаций *in vitro* для совершенствования агробиотехнологий в семеноводстве картофеля / О.В. Ткаченко, **К.Ю. Каргаполова**, Н.В. Евсева, Г.Л. Бурыгин, Л.Ю. Матора, С.Ю. Щеголев // VII съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы: Сборник тезисов междунар. конгр. – Санкт-Петербург, 2019. – С. 929.

25. Бурыгин, Г.Л. Молекулярно-генетический анализ агробиотехнологически значимых признаков штамма *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 / Г.Л. Бурыгин, **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко // «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты»: Мат. XI междунар. науч. конф. – Минск, 2019. – С. 138-139.

26. Влияние двух ризосферных штаммов на микрорастения картофеля в условиях *in vitro* и *ex vitro* / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин, Н.В. Евсева // «Экспериментальная биология растений и биотехнология: история и взгляд в будущее»: Мат. док. всеросс. науч. конф. с междунар. участием и школа для мол. уч. – Москва, 2021. – С. 277.

27. Растительно-микробные взаимодействия при коинокуляции *in vitro* картофеля рост-стимулирующими бактериями / О.В. Ткаченко, Г.Л. Бурыгин, М.А. Григорян, Н.В. Евсева, **К.Ю. Каргаполова** // Экобиотех: Мат. VII всеросс. конф. с междунар. участием – Уфа, 2021. – С. 30-32.

28. Коинокуляция микрорастений картофеля PGPR-бактериями *Azospirillum*

*baldaniorum* sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 для повышения эффективности микрклонального размножения картофеля / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Н.В. Евсева, Г.Л. Бурыгин // Вавиловские чтения –2022: Сборник статей междунар. науч.-практ. конф., посвященной 135-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Саратов, 2022. – С.126-129.

29. Роль ризобактерий в формировании устойчивости микрклонов картофеля к условиям *ex vitro* / **К.Ю. Каргаполова**, О.В. Ткаченко, Н.В. Евсева, А.Ю. Денисова, А.А. Куликов, Г.Л. Бурыгин // «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего»: Мат. междунар. науч. конф. PLAMIC2022. – Санкт-Петербург, 2022. – С. 160.