

ИЗОЛЯТЫ ИЗ РИЗОСФЕРЫ И ФИЛОПЛАНЫ ПОДСОЛНЕЧНИКА, ПРОДУЦЕНТЫ ФИТОГОРМОНОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ БИОАГЕНТЫ-СТИМУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТЕНИЙ**К. Сапармырадов, Н. М. Александрова, Ш. З. Валидов**

Реферат. В условиях глобальных экологических вызовов возрастает необходимость модернизации земледелия путем разработки и распространения экологически безопасных бактериальных инокулянтов, способных заменить химические удобрения и пестициды, что особенно важно для устойчивого развития сельского хозяйства. Исследования проводили с целью поиска микроорганизмов-продуцентов фитогормонов для стимуляции роста растений и составления биологически активного консорциума. Работу выполняли в лабораторных условиях с выделенными из ризосферы и филопланы подсолнечника 17-и изолятами микроорганизмов, способных синтезировать ауксины, в частности, индолил-3-уксусную кислоту. Скрининг биосинтеза этой кислоты исследуемыми изолятами в чашечном тесте на агаризованной среде с реактивом Сальковского позволил выявить качественную положительную реакцию и установить концентрации индолил-3-уксусной кислоты у выделенных изолятов. В результате изучения фенотипических признаков и молекулярно-генетического анализа последовательностей гена 16S рРНК определена видовая принадлежность выделенных микроорганизмов. Три наиболее активных изолята, способных к производству фитогормона, относятся к роду *Pseudomonas* и были идентифицированы до вида как *Pseudomonas poae*, *Pseudomonas frederiksbergensis* и *Pseudomonas brassicacearum*. Синтез индолил-3-уксусной кислоты этими изолятами составляет $93,0 \pm 0,4$ мкг/мл; $69,6 \pm 2,0$ мкг/мл и $74,2 \pm 2,5$ мкг/мл соответственно. Изолят КПД77, идентифицированный как *Arthrobacter oryzae*, продемонстрировал уровень синтеза индолил-3-уксусной кислоты, равный $86,1 \pm 2,8$ мкг/мл. Способность микроорганизмов этого вида к синтезу такого фитогормона установлена впервые. На основе полученных данных отобрано пять перспективных изолятов, выделенных из ризосферы и филопланы подсолнечника, для формирования консорциума микроорганизмов, предназначенного для стимуляции роста растений.

Ключевые слова: индолил-3-уксусная кислота, фитогормон, биопрепарат, микроорганизмы.

Введение. Почвенная микрофлора представляет собой совокупность различных микроорганизмов, которые находятся в тесной взаимосвязи с растительным миром. Существование микробов в ризосфере во многом зависит от корневых экссудатов растений [1]. Аналогичным образом, эндوفиты приносят пользу своему хозяину, синтезируя ценные вторичные метаболиты для своего хозяина и взамен получая пищу и убежище [2]. Одной из причин взаимодействия микроорганизмов с растениями выступает способность микроорганизмов вырабатывать фитогормоны [3]. Фитогормонами, вырабатываемыми микроорганизмами, считаются: ауксин, гиббереллин, цитокинин, этилен и абсцизовая кислота. В дополнение к этим пяти гормонам жасмоновая и салициловая кислоты также документированы как бактериальные гормоны [4]. Индолил-3-уксусная кислота служит наиболее распространенным членом семейства фитогормонов ауксинов [5]. Индолил-3-уксусная кислота в растении участвует в закладке и удлинении корней, а также в других процессах, связанных с дифференциацией и пролиферацией растительной ткани [6]. Также в некоторых исследованиях отмечено, что индолил-3-уксусная кислота управляет точными фенотипическими эффектами в растениях, включая реакцию корней и побегов на свет и гравитацию, дифференциацию сосудистой ткани, апикальное доминирование, инициацию боковых и

придаточных корней [7].

Использование бактериальных инокулянтов, способствующих росту растений, в качестве живых микробных биодобровитов служит многообещающей альтернативой химическим удобрениям и пестицидам. Расщепление неорганического фосфата и синтез индолил-3-уксусной кислоты выступает одним из основных механизмов стимулирования роста растений бактериями [8].

Существует много исследований, где разные ризосферные микроорганизмы использовали как биоагенты для стимуляции роста растений [9, 10, 11]. Результаты этих исследований показывают, что индолил-3-уксусная кислота, выделяемая бактериями, положительно сказывается как на всхожести, так и на росте растений в целом [12]. Положительное влияние оказывает как обработка культуральной бесклеточной жидкостью, так и клеточными препаратами.

В связи с этим, выделение из ризосферы и филопланы растений изолятов, продуцирующих фитогормоны актуально.

Цель исследований – поиск микроорганизмов-продуцентов фитогормонов для стимуляции роста растений, и составление биологически активного консорциума.

Условия, материалы и методы. Работу выполняли в лаборатории молекулярно-генетических и микробиологических методов на базе ФИЦ КазНЦ РАН. Образцы ризосферы и филопланы подсолнечника были получены на разных стадиях развития

подсолнечника на опытном поле Татарского научно-исследовательского института сельского хозяйства Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук» в период с июня по сентябрь 2022 года. Все образцы ризосферы и филопланы подсолнечника хранили при температуре +4°C до исследования.

Образцы ризосферы и филопланы подсолнечника для исследований собирали в стерильные пробирки типа Falcon на 50 мл. Далее проводили смывы, к испытуемому образцу приливали фосфатно-солевой буфер (ФСБ) в соотношении 1 г образца: 19 мл буфера, перемешивали с использованием вортекса в течение 1 минуты. Разведенные до 10^{-6} смывы пересевали на питательную среду Кинга Б (пептон – 10 г/л, глицерин – 10 г/л, K_2HPO_4 – 1,5 г/л, $MgSO_4$ – 1,5 г/л, агар микробиологический – 20 г/л). Чашки Петри с культурами инкубировали при температуре +28°C в термостате в течение 24...36 часов.

Для определения видовой принадлежности полученных изолятов выделяли геномную ДНК методом фенол-хлороформной экстракции [13]. Полимеразную цепную реакцию амплификации гена 16S рРНК проводили по стандартной методике [14]. Использованы универсальные праймеры 27F (5'-gagtttgatcctggctcag-3') и 1492R (5'-taccttggtagcagctt-3') [15]. Реакционную смесь для амплификации готовили из расчета на 1 пробу: 10X Tag-буфер – 5 мкл, dNTP – 1 мкл, праймеры (27F/1492R) – 1 мкл, Taq-полимераза – 1 мкл, ДНК – 1 мкл и mQ – 42 мкл. ПЦР амплификация состояла из 36 циклов – денатурация ДНК при +95°C в течении 20 сек; отжиг при температуре +54°C в течении 30 сек; синтез при температуре +72°C в течении 90 сек. Окончательный синтез проводили при температуре +72°C в течении 5 мин. Полученные ампликоны хранили при температуре -20°C.

Секвенирование проводили по Сэнгеру в компании «Евроген» (Москва). Полученные последовательности секвенирования обрабатывали в программе Clone Manager 9 и сопоставляли с фрагментом гена 16S рРНК, представленным в базе данных NCBI GenBank, с использованием BLASTn (дата обращения: 15.08.2024).

Для первичного скрининга биосинтеза индол-3-уксусной кислоты исследуемые изоляты инкубировали на чашке Петри с агаризованной средой LB (триптон – 10 г/л, NaCl – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 1,5 г/л, $MgSO_4$ – 1,5 г/л, агар микробиологический – 20 г/л) с добавлением 0,1% L-триптофана в качестве предшественника индолил-3-уксусной кислоты при температуре 28°C в течении 3 суток.

На агаризованную среду с выросшими культурами наносили реактив Сальковского (1 мл 0,5M $FeCl_3$ в 50 мл 35% хлорной

кислоты) и оставляли в темном месте в течение 30 минут. Положительным результатом служили розовые круги вокруг колоний.

Количественный анализ индол-3-уксусной кислоты выполняли колориметрическим методом. Для оценки количества индол-3-уксусной кислоты изоляты выращивали в среде LB с добавлением 0,1% L-триптофана, который использовали в качестве предшественника. Культивирование проводили при температуре +28°C с постоянным встряхиванием (180 об/мин) в течение 72 часов. После завершения инкубации для удаления клеток культуральную жидкость центрифугировали при 13400 об/мин в течение 10 минут. Из полученного супернатанта отбирали 1 мл и смешивали с реактивом Сальковского в соотношении 1:4. Полученную смесь инкубировали в темном месте при комнатной температуре в течение 30 минут. Измерение оптической плотности проводили при длине волны 530 нм. Концентрацию индолил-3-уксусной кислоты оценивали по стандартной кривой в диапазоне 0...1000 мкг/мл. В качестве контроля использовали 1 мл стерильной среды LB, смешанной с реактивом Сальковского [16].

Для создания консорциума из микроорганизмов для стимуляции роста растений были отобраны наиболее перспективные изоляты и проводили тест на биосовместимость в трёх разных средах: LB, Кинга Б, PDA (Qingdao Hope Bio-Technology Co., Ltd., Китай).

Результаты и обсуждение. По полученным последовательностям гена 16S рРНК большинство выделенных изолятов отнесены к роду *Pseudomonas*, которые в основном входят в состав группы флюоресцирующих бактерий *Pseudomonas fluorescens group*, три изолята (АПД43, КПД20 и КПД77) – к классу *Actinobacteria* и столько же – к семейству *Bacilli* (КПД8, КПД18 и КПД75).

Бактерии комменсалы или симбионты растений часто синтезируют фитогормоны, такие как ауксины, гиббереллины, цитокинины, этилены и абсцизовая кислота. Наиболее распространенным и лучше всего охарактеризованным в физиологически активным ауксином в растениях выступает индолил-3-уксусная кислота, которая повышает как скорость удлинения клеток, так и их деление, и дифференциацию в растениях.

Первичный скрининг биосинтеза индолил-3-уксусной кислоты исследуемых бактериальных изолятов в чашечном тесте на агаризованной среде с реактивом Сальковского, позволил выявить качественную положительную реакцию на все исследуемые изоляты. С использованием колориметрического метода с реактивом Сальковского определили концентрации индолил-3-уксусной кислоты в исследуемых изолятах (табл. 1).

Таблица 1 – Концентрация индолил-3-уксусной кислоты в исследуемых изолятах

Изолят	Видовая принадлежность	Концентрация индолил-3-уксусной кислоты, мкг/мл
АПД21	<i>Pseudomonas grimontii</i>	40,5±0,5
АПД23	<i>Pseudomonas poae</i>	93,0±0,4
АПД26	<i>Pseudomonas grimontii</i>	27,0±1,1
АПД28	<i>Pseudomonas extremaustralis</i>	32,0±2,4
АПД43	<i>Streptomyces luteogriseus</i>	55,2±0,3
АПД22	<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	36,5±2,4
КПД8	<i>Fictibacillus solisalsi</i>	29,0±1,8
КПД9	<i>Variovorax paradoxus</i>	25,5±2,3
КПД18	<i>Psychrobacillus psychrodurans</i>	11,9±2,8
КПД20	<i>Arthrobacter oryzae</i>	66,6±1,5
КПД29	<i>Pseudomonas poae</i>	41,2±2,5
КПД38	<i>Pseudomonas frederiksbergensis</i>	69,6±2,0
КПД68	<i>Pseudomonas brassicacearum</i>	74,2±2,5
КПД70	<i>Pseudomonas azotoformans</i>	19,6±2,1
КПД71	<i>Pseudomonas cedrina</i>	13,4±0,4
КПД75	<i>Bacillus aryabhatai</i>	56,9±1,6
КПД77	<i>Arthrobacter oryzae</i>	86,1±2,8

Большинство изолятов синтезируют относительно высокие концентрации индолил-3-уксусной кислоты. Наиболее активными продуцентами оказались изоляты АПД23, КПД20, КПД38, КПД68 и КПД77, из которых три относятся к роду *Pseudomonas*, а два – к *Arthrobacter*.

Род *Pseudomonas* – хорошо изученная группа микроорганизмов, известных способностью синтезировать индолил-3-уксусную кислоту. В различных исследованиях было показано, что концентрации этого соединения варьируют от 50 мкг/мл до 100 мг/мл [17]. Как сообщают Е. Ibrahim, et al. [18], выделенный ими штамм *Pseudomonas poae* продемонстрировал стимуляцию роста пшеницы и синтезировал 72,5 мкг/мл индолил-3-уксусной кислоты. В то же время изолят АПД23, идентифицированный как *Pseudomonas poae*, показал более высокий уровень синтеза — 93,00±0,4 мкг/мл. Изоляты КПД38 и КПД68 также продемонстрировали значительные уровни синтеза индолил-3-уксусной кислоты, составившие 69,62±2,0 мкг/мл и 74,25±2,5 мкг/мл соответственно. Эти изоляты были идентифицированы как *Pseudomonas frederiksbergensis* и *Pseudomonas brassicacearum*. Согласно исследованиям А. Jiménez-Gómez, et al., *Pseudomonas brassicacearum* рассматриваются как перспективные кандидаты для стимуляции роста рапса, что было подтверждено полевыми испытаниями [19]. Кроме того, благодаря их высокой колонизирующей способности и другим положительным свойствам, эти микроорганизмы пользуются высоким спросом на разработке биопрепаратов.

Микроорганизмы рода *Arthrobacter* известны своей устойчивостью к тяжелым металлам и способностью оказывать положительное влияние на загрязненные почвы [20, 21]. Изоляты КПД20 и КПД77 были идентифицированы до вида с использованием последовательности гена 16S рРНК как *Arthrobacter*

oryzae и продемонстрировали высокие уровни синтеза индолил-3-уксусной кислоты, составившие 66,6±1,5 мкг/мл и 86,1±2,8 мкг/мл соответственно. Вид *Arthrobacter oryzae* был предложен как новый вид только в 2008 году [22], и его способность синтезировать индолил-3-уксусную кислоту ранее не описывалась. В наших исследованиях впервые отмечена способность микроорганизмов вида *Arthrobacter oryzae* к синтезу фитогормона индолил-3-уксусной кислоты, что открывает возможности их использования в составе консорциумов из микроорганизмов для разработки биопрепаратов.

Для микробных консорциумов с биозащитой, изолят АПД43, который был определен до вида как *Streptomyces luteogriseus*, будет служить хорошим кандидатом, так как его способность к синтезу индолил-3-уксусной кислоты выше средней среди исследуемых изолятов, точнее – 55,2±0,3 мкг/мл. Кроме того, стрептомицеты известны своими вторичными метаболитами: ферментами, антибиотиками, аминокислотами и др. Поэтому изолят АПД43 может послужить темой для дальнейших исследований.

Таким путем по полученным результатам были отобраны пять изолятов и из них сформирован консорциум. В состав консорциума вошли изоляты, выделенные из растений подсолнечника: *Pseudomonas frederiksbergensis* (КПД38, штамм, повышающий холодоустойчивость растений и контролирующий стресс растений от засоленных почв), *Pseudomonas poae* (АПД23, штамм-антагонист фитопатогенов), *Streptomyces luteogriseus* (АПД43, антагонист фитопатогенов, продуцент антибактериальных соединений пелиомицина и стрептонола А), *Pseudomonas azotoformans* (КПД70, подвижный штамм, колонизатор корней растений, смягчает стресс растений при засухе), *Fictibacillus solisalsi* (КПД8, колонизатор корней, галотолерантный штамм). Эти изоляты совместимы между собой (рис.).

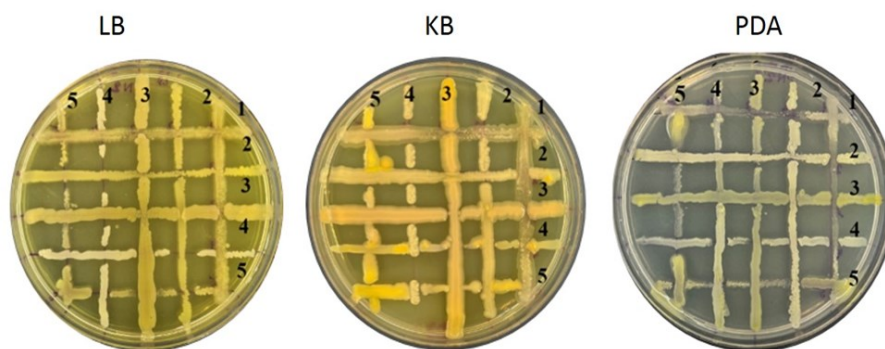


Рис. – Совместимость бактериальных штаммов консорциума

Выводы. Изоляты АПД23, КПД20, КПД38, КПД68 и КПД77, выделенные из ризосферы и филопланы подсолнечника, способны продуцировать фитогормоны и могут быть использованы в составе

ростостимулирующих биопрепаратов для растений.

Сведение об источнике финансирования
Работа выполнена в рамках Государственного задания № 124050300050-4.

Литература

1. An ABC transporter mutation alters root exudation of phytochemicals that provoke an overhaul of natural soil microbiota / D. V. Badri, N. Quintana, E. G. El. Kassiss, et al. // *Plant physiology*. 2009. Vol. 151. No. 4. P. 2006–2017. doi: 10.1104/pp.109.147462.
2. Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression / M. A. C. Latz, B. Jensen, D. B. Collinge, et al. // *Plant Ecology & Diversity*. 2018. Vol. 11. No. 5–6. P. 555–567. doi: 10.1080/17550874.2018.1534146.
3. Роль фитогормонов и света в процессе дэйтиляции / В. В. Кузнецов, А. С. Дорошенко, Н. В. Кудрякова и др. // *Физиология растений*. 2020. Т. 67. № 6. С. 563–577. doi: 10.31857/S001533032006010X
4. Techniques to study microbial phytohormones / K. Patel, D. Goswami, P. Dhandhukia, et al. // *Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem*. 2015. P. 1–27. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-24654-3_1 (дата обращения: 28.02.2025) doi: 10.1007/978-3-319-24654-3_1.
5. Пряников И. Д., Сорокин Д. С. Гормональная регуляция как механизм координации обмена веществ у растений // *Молодая фармация - потенциал будущего: сборник материалов конференции*. Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, 2023. С. 863–868.
6. Hassan M. K., McInroy J. A., Kloepper J. W. The interactions of rhizodeposits with plant growth-promoting rhizobacteria in the rhizosphere: a review // *Agriculture*. 2019. Vol. 9. No. 7. P. 1–13. URL: <https://www.mdpi.com/2077-0472/9/7/142> (дата обращения: 28.02.2025). doi: 10.3390/agriculture9070142.
7. Glick B. R. Beneficial plant-bacterial interactions: Monography / B.R. Glick. – Heidelberg: Springer, 2015. Vol. 243. 383 p. doi: 10.1007/978-3-319-13921-0.
8. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates / N. Oteino, R. D. Lally, S. Kiwanuka, et al. // *Frontiers in microbiology*. 2015. Vol. 6. Art. 745. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2015.00745/full> (дата обращения: 22.02.2025). doi: 10.3389/fmicb.2015.00745.
9. Громова О. А., Максимов А. Ю. Характеристика бактерий - продуцентов гидролитических ферментов, перспективных в качестве стимуляторов роста растений // *Фундаментальные и прикладные исследования в биологии и экологии: сборник статей по материалам региональной научной конференции*. Пермь: Пермский государственный национальный исследовательский университет, 2024. С. 98–100.
10. Новая грамположительная бактерия рода *Exiguobacterium* sp. S4/2 – эффективный многофункциональный стимулятор роста растений / Т. Н. Абашина, А. Н. Звонарев, А. П. Шорохова и др. // *Актуальная биотехнология*. 2022. № 1. С. 11–14.
11. Optimization of IAA production by endophytic *Bacillus* spp. from *Vigna radiata* for their potential use as plant growth promoters / N. Bhutani, R. Maheshwari, M. Negi, et al. // *Israel journal of plant sciences*. 2018. Vol. 65. № 1-2. P. 83–96. doi: 10.1163/22238980-00001025.
12. Characterisation of the endophytic and rhizospheric *Bacillus licheniformis* strains isolated from sweet potato with plant growth-promoting and yield enhancing potential / Á. Bordé-Pavlicz, A. R. Zhumakayev, H. Allaga, et al. // *Advances in Agriculture*. 2024. Vol. 2024. P. 4073275. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2024/4073275> (дата обращения: 28.02.2025) doi: 10.1155/2024/4073275.
13. Gautam A. Phenol-chloroform DNA isolation method // *DNA and RNA Isolation Techniques for Non-Experts*. Cham: Springer International Publishing, 2022. P. 33–39. doi: 10.1007/978-3-030-94230-4.
14. Metabolic profiling of streptomycetes strains from different types of Tatarstan soils using GEN III omnilog system / K. A. Saparmyradov, C. Bolormaa, I. A. Nabiullovi, et al. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015. Vol. 6. № 4. P. 148–154.
15. Исламов Б. Р., Шульга Е. Ю. Получение перспективных штаммов из дикорастущих растений для применения в сельском хозяйстве // *Вестник Казанского ГАУ*. 2024. № 4 (76). С. 41–48. doi: 10.12737/2073-0462-2024-41-48.
16. Патент № 2822893 С1 Российская Федерация. Консорциум микроорганизмов для стимуляции роста растений и защиты от фитопатогенных грибов и способ повышения продуктивности растений / Д. М. Афордоян, Ш. З. Валидов, Е. Ю. Шульга и др. / заявл. 28.12.2023; опубл. 15.07.2024. Заявитель: Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук».

17. Kamble K. D., Galerao D. K. Indole acetic acid production from *Pseudomonas* species isolated from rhizosphere of garden plants in Amravati // International journal of advances in pharmacy, biology and chemistry. 2015. Vol. 4. №. 1. P. 23–31.

18. Biocontrol efficacy of endophyte *Pseudomonas poae* to alleviate *Fusarium* seedling blight by refining the morpho-physiological attributes of wheat / E. Ibrahim, R. Nasser, S.O. Ogunyemi, et al. // Plants. 2023. Vol. 12. No. 12. Art. 2277. URL: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/12/2277> (дата обращения: 28.02.2025) doi: 10.3390/plants12122277.

19. Selection of the root endophyte *Pseudomonas brassicacearum* CDVBN10 as plant growth promoter for *Brassica napus* L. crops / A. Jiménez-Gómez, Z. Saati-Santamaria, M. Kostovcik, et al. // Agronomy. 2020. Vol. 10. No. 11. Art. 1788. URL: <https://www.mdpi.com/2073-4395/10/11/1788> (дата обращения: 28.02.2025) doi: 10.3390/agronomy10111788.

20. Application of *Arthrobacter* sp. YM27 for promoting germination and early growth of panicum in heavy metal-contaminated soil / S. Hwang, S. Joo, Y. Lee, et al. // Microbiology and biotechnology letters. 2024. Vol. 52. №. 4. P. 383–396. doi: 10.48022/mbi.2410.10002.

21. Draft genome sequence of *Arthrobacter oryzae* TNBS02, a bacterium containing heavy metal resistance genes, isolated from soil of Antarctica / Y. J. Cho, A. Cho, S. G. Hong, et al. // Microbiology Resource Announcements. 2019. Vol. 8. No. 4. P. e01501-18. URL: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mra.01501-18> (дата обращения: 28.02.2025) doi: 10.1128/mra.01501-18.

22. *Arthrobacter oryzae* sp. nov. and *Arthrobacter humicola* sp. nov. / A. Kageyama, K. Morisaki, S. Omura, et al. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2008. Vol. 58. №. 1. P. 53–56. doi: 10.1099/ijs.0.64875-0.

Сведения об авторах:

Сапармуратов Керемли – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических и микробиологических методов, e-mail: saparmuradov.k@knc.ru

Александрова Наталья Михайловна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических и микробиологических методов, e-mail: natalya5566@yandex.ru

Валидов Шамиль Завдатович – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетических и микробиологических методов, e-mail: sh.validov@knc.ru

Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», г. Казань, Россия

ISOLATES FROM THE RHIZOSPHERE AND SUNFLOWER PHYLLOPLANES, PRODUCERS OF PHYTOHORMONES AS POTENTIAL BIOAGENTS-STIMULATORS OF PLANT GROWTH

K. Saparmuradov, N. M. Aleksandrova, Sh. Z. Validov

Abstract. In the context of global environmental challenges, there is an increasing need to modernize agriculture by developing and disseminating environmentally friendly bacterial inoculants capable of replacing chemical fertilizers and pesticides, which is especially important for the sustainable development of agriculture. The studies were conducted to find microorganisms-producers of phytohormones to stimulate plant growth and to form a biologically active consortium. The work was carried out in laboratory conditions with 17 isolates of microorganisms, capable of synthesizing auxins, in particular, indole-3-acetic acid, isolated from the rhizosphere and phylloplane of sunflower. Screening of the biosynthesis of this acid by the studied isolates in a plate test on an agar medium with Salkovskiy's reagent revealed a qualitative positive reaction and established the concentrations of indole-3-acetic acid in the assigned isolates. As a result of studying the phenotypic characteristics and molecular genetic analysis of the 16S rRNA gene sequences, the species affiliation of the isolated microorganisms was determined. The three most active isolates, capable of producing the phytohormone, belong to the *Pseudomonas* genus and were identified to the species level as *Pseudomonas poae*, *Pseudomonas frederiksbergensis* and *Pseudomonas brassicacearum*. The synthesis of indole-3-acetic acid by these isolates is 93.0 ± 0.4 µg/ml; 69.6 ± 2.0 µg/ml and 74.2 ± 2.5 µg/ml, respectively. KPD77 isolate, identified as *Arthrobacter oryzae*, demonstrated the level of synthesis of indole-3-acetic acid equal to 86.1 ± 2.8 µg/ml. The ability of microorganisms of this species to synthesize such a phytohormone was established for the first time. Based on the data obtained, five promising isolates extracted from the rhizosphere and sunflower of were selected to form a consortium of microorganisms designed to stimulate plant growth.

Key words: indole-3-acetic acid, phytohormone, biopreparation, microorganisms.

References

1. Badri DV, Quintana N, El. Kassis EG. An ABC transporter mutation alters root exudation of phytochemicals that provoke an overhaul of natural soil microbiota. Plant physiology. 2009; Vol.151. No.4. 2006-2017 p. doi: 10.1104/pp.109.147462.

2. Latz MAC, Jensen B, Collinge DB. Endophytic fungi as biocontrol agents: elucidating mechanisms in disease suppression. Plant Ecology & Diversity. 2018; Vol.11. No.5-6. 555-567 p. doi: 10.1080/17550874.2018.1534146.

3. Kuznetsov VV, Doroshenko AS, Kudryakova NV. [The role of phytohormones and light in the process of de-etiolation]. Fiziologiya rasteniy. 2020; Vol.67. 6. 563-577 p. doi: 10.31857/S001533032006010X

4. Patel K, Goswami D, Dhandhukia P. Techniques to study microbial phytohormones. [Internet]. Bacterial metabolites in sustainable agroecosystem. 2015; 1-27 p. [cited 2025, February 28]. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-24654-3_1. doi: 10.1007/978-3-319-24654-3_1.

5. Pryanikov ID, Sorokin DS. [Hormonal regulation as a mechanism for coordinating metabolism in plants. Young pharmacy - potential of the future]. Sbornik materialov konferentsii. Saint-Petersburg: Sankt-Peterburgskiy gosudarstvennyy khimiko-farmatsevticheskiy universitet. 2023; 863-868 p.

6. Hassan MK, McInroy JA, Kloepper JW. The interactions of rhizodeposits with plant growth-promoting rhizobacteria in the rhizosphere: a review. [Internet]. Agriculture. 2019; Vol.9. No.7. 1-13 p. [cited 2025, February 28]. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0472/9/7/142>. doi: 10.3390/agriculture9070142.

7. Glick BR. Beneficial plant-bacterial interactions: Monography. Heidelberg: Springer. 2015; Vol.243. 383 p. doi: 10.1007/978-3-319-13921-0.

8. Oteino N, Lally RD, Kiwanuka S. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. [Internet]. Frontiers in microbiology. 2015; Vol.6. Art. 745. [cited 2025, February 22]. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2015.00745/full>. doi: 10.3389/

fmicb.2015.00745.

9. Gromova OA, Maksimov AYU. [Characteristics of bacteria - producers of hydrolytic enzymes, promising as plant growth stimulants. Fundamental and applied research in biology and ecology]. Sbornik statey po materialam regionalnoy nauchnoy konferentsii. Perm: Permskiy gosudarstvennyy natsionalnyy issledovatel'skiy universitet. 2024; 98-100 p.

10. Abashina TN, Zvonarev AN, Shorokhova AP. [New gram-positive bacterium of the genus *Exiguobacterium* sp. S4/2 – an effective multifunctional plant growth stimulator]. Aktualnaya biotekhnologiya. 2022; 1. 11-14 p.

11. Bhutani N, Maheshwari R, Negi M. Optimization of IAA production by endophytic *Bacillus* spp. from *Vigna radiata* for their potential use as plant growth promoters. Israel journal of plant sciences. 2018; Vol.65. 1-2. 83-96 p. doi: 10.1163/22238980-00001025.

12. Borde-Pavlicz A, Zhumakayev AR, Allaga H. Characterisation of the endophytic and rhizospheric *Bacillus* licheniformis strains isolated from sweet potato with plant growth-promoting and yield enhancing potential. [Internet]. Advances in Agriculture. 2024; Vol.2024. 4073275 p. [cited 2025, February 28]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2024/4073275>. doi: 10.1155/2024/4073275.

13. Gautam A. Phenol-chloroform DNA isolation method. DNA and RNA isolation techniques for non-experts. Cham: Springer International Publishing. 2022; 33-39 p. doi: 10.1007/978-3-030-94230-4.

14. Saparmyradov KA, Bolormaa C, Nabiullovi IA. Metabolic profiling of streptomyces strains from different types of Tatarstan soils using GEN III omnilog system. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2015; Vol.6. 4. 148-154 p.

15. Islamov BR, Shulga EYu. [Obtaining promising strains from wild plants for use in agriculture]. Vestnik Kazanskogo GAU. 2024; 4 (76). 41-48 p. doi: 10.12737/2073-0462-2024-41-48.

16. Afordoani DM, Validov ShZ, Shulga EYu. [Consortium of microorganisms for stimulating plant growth and protecting against phytopathogenic fungi and a method for increasing plant productivity]. Patent № 2822893 C1. Declared: 28.12.2023; published: 15.07.2024. Applicant: Federal Research Center “Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”.

17. Kamble KD, Galerao DK. Indole acetic acid production from *Pseudomonas* species isolated from rhizosphere of garden plants in Amravati. International journal of advances in pharmacy, biology and chemistry. 2015; Vol.4. 1. 23-31 p.

18. Ibrahim E, Nasser R, Ogunyemi SO. Biocontrol efficacy of endophyte *Pseudomonas poae* to alleviate *Fusarium* seedling blight by refining the morpho-physiological attributes of wheat. [Internet]. Plants. 2023; Vol.12. No.12. Art. 2277. [cited 2025, February 28]. Available from: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/12/2277>. doi: 10.3390/plants12122277.

19. Jimenez-Gomez A, Saati-Santamaria Z, Kostovcik M. Selection of the root endophyte *Pseudomonas brassicacearum* CDVBN10 as plant growth promoter for *Brassica napus* L. crops. [Internet]. Agronomy. 2020; Vol.10. No.11. Art.1788. [cited 2025, February 28]. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4395/10/11/1788>. doi: 10.3390/agronomy10111788.

20. Hwang S, Joo S, Lee Y. Application of *Arthrobacter* sp. YM27 for promoting germination and early growth of panicum in heavy metal-contaminated soil. Microbiology and biotechnology letters. 2024; Vol.52. 4. 383-396 p. doi: 10.48022/mbi.2410.10002.

21. Cho YJ, Cho A, Hong SG. Draft genome sequence of *Arthrobacter oryzae* TNBS02, a bacterium containing heavy metal resistance genes, isolated from soil of Antarctica. [Internet]. Microbiology Resource Announcements. 2019; Vol.8. No.4. e01501-18 p. [cited 2025, February 28]. Available from: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mra.01501-18>. doi: 10.1128/mra.01501-18.

22. Kageyama A, Morisaki K, Omura S. *Arthrobacter oryzae* sp. nov. and *Arthrobacter humicola* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2008; Vol.58. 1. 53-56 p. doi: 10.1099/ijs.0.64875-0.

Authors:

Saparmyradov Keremli – Ph.D. in Biology, researcher of Molecular Genetic and Microbiological Methods Laboratory, e-mail: saparmuradov.k@knc.ru

Aleksandrova Natalya Mikhailovna – Ph.D. in Biology, senior researcher of Molecular Genetic and Microbiological Methods Laboratory, e-mail: natalya5566@yandex.ru

Validov Shamil Zavdatovich – Ph.D. in Biology, Head of Molecular Genetic and Microbiological Methods Laboratory, e-mail: sh.validov@knc.ru

Federal Research Center “Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”, Kazan, Russia.