

УДК 579.64

## ПРОДУКЦИЯ ИНДОЛИЛ-3-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ ЭНДОФИТНЫМ ШТАММОМ *BACILLUS WIEDMANNII* EJ1

Н.С. Карамова<sup>1</sup>, А.А. Туама<sup>1,2</sup>, З.Р. Сабирова<sup>1</sup>, Ю.М. Залилова<sup>1</sup>, З. Сташевски<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

<sup>2</sup> Университет Диялы, Ирак

<sup>3</sup>ТамНИИСХ – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

Эндофитные микроорганизмы являются перспективной основой биоудобрений и биопрепаратов для повышения урожайности культурных растений вследствие их способности синтезировать множество биологически активных веществ, играющих ключевую роль в регуляции жизненно важных процессов в организме своих хозяев. В настоящей работе проведена оценка способности эндофитного штамма *Bacillus wiedmannii* EJ1, выделенного из листьев картофеля сорта Регги, продуцировать фитогормон индолил-3-уксусную кислоту (ИУК). Установлено, что исследуемый штамм синтезирует ИУК, причем добавление триптофана в среду культивирования приводит к повышению темпов накопления фитогормона в культуральной жидкости. Максимальная концентрация ИУК (14.6 мкг/мл) обнаружена на пятый день культивирования штамма *B. wiedmannii* EJ1 в среде М9 с добавлением триптофана.

**Ключевые слова:** фитогормоны, индолил-3-уксусная кислота, стимуляция роста растений, эндофитные бактерии, картофель

**Введение.** Растениеводство представляет собой важнейшую отрасль сельского хозяйства, которая играет существенную роль в обеспечении продовольственной безопасности населения и является источником сырья для многих промышленных производств. Масштабное применение химических удобрений и средств защиты является общепринятым подходом для контроля многочисленных вредителей, фитопатогенов и стимуляции роста культурных растений во всем мире. Однако серьезный ущерб, наносимый окружающей среде, а также ухудшение качества продуктов сельскохозяйственной продукции вследствие ее химизации, диктует необходимость глобального изменения вектора развития растениеводства [10, 11].

Современные тенденции в развитии сельского хозяйства направлены на использование природных механизмов и новых биотехнологий для повышения урожайности культурных растений. Огромным потенциалом стимулирования роста, защиты от биотического и абиотического стресса и повышения урожайности растений обладают эндофитные микроорганизмы. Эндофиты, признанные как важнейшая, полезная часть микробиоты растений, играют существенную роль в обеспечении своих хозяев питательными веществами, синтезе фитогормонов, а также различных биологически активных соединений, способствующих защите растений от многочисленных возбудителей инфекционных заболеваний [1, 2]. Фитогормоны, в частности ауксины, относятся к числу наиболее важных регуляторов жизнедеятельности растений. Например, индолил-3-уксусная кислота (ИУК) участвует в регуляции процессов роста и деления клеток, дифференцировки тканей, фотосинтеза и реакции на свет и гравитацию [4, 13].

Целью данного исследования явилась оценка способности эндофитного штамма *Bacillus wiedmannii* EJ1 к продукции фитогормона индолил-3-уксусной кислоты.

**Материалы и методы.** В работе использован эндофитный штамм *Bacillus wiedmannii* EJ1, выделенный из листьев картофеля сорта Регги [8].

Для получения инокулята культуру бактерий инкубировали 18 ч среде LB при температуре 30°C. При проведении эксперимента использовали: 1) среду M9 с добавлением 0.4% глюкозы в качестве источника углерода; 2) среда M9 добавлением 0.4% глюкозы в качестве источника углерода и триптофана (225 мкг/мл). В среды культивирования вносили инокулят (1% от общего объема среды) и инкубировали при 30°C с аэрацией в течение 7 суток. Каждые 24 часа отбирались пробы для определения ИУК в культуральной жидкости. Для осаждения клеток бактериальную суспензию центрифугированием при 8000 об/мин. Концентрацию ИУК в культуральной жидкости определяли по методу Сальковского [5]. К 100 мкл супернатанта добавляли 400 мкл реагента Сальковского и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин. Далее измеряли оптическую плотность реакционной смеси на спектрофотометре (BioRad, США) при  $\lambda=530$  нм. Калибровочная кривая была построена с использованием растворов ИУК разных концентраций (5–40 мкг/мл). Количественное содержание индолпроизводных, включая ИУК, в культуральной жидкости определяли по калибровочному графику, построенного на основе измерения оптической плотности стандартных растворов с разной концентрацией ИУК ( $y = 0.028x + 0.036$ ,  $R^2 = 0.9716$ ). Статистическую обработку результатов проводили с использованием стандартных математических методов в программе Microsoft Excel. Приведенные в работе данные представляют собой среднее значение трех независимых экспериментов  $\pm \sigma$  (среднеквадратичное отклонение).

**Результаты и обсуждение.** Многие виды ризосферных и эндофитных бактерий способны продуцировать фитогормон ИУК, используя в качестве предшественника аминокислоту L- триптофан. В то же время, для некоторых микроорганизмов известен триптофан-независимый механизм синтеза ИУК из индола, антралиловой кислоты, индоллил-3-глицерофосфата [7]. Из результатов, представленных в табл. 1 видно, что при росте эндофитного штамма *B. wiedmannii* EJ1 в среде M9 с триптофаном происходит сравнительно быстрое накопление ИУК в культуральной жидкости. Максимум содержания ИУК приходится на 5 день и составляет 14.6 мкг/мл. При культивировании *B. wiedmannii* EJ1 в среде без триптофана темпы синтеза ИУК были ниже, максимальная продукция данного фитогормона обнаруживалась на 7 день и составила 12.4 мкг/мл.

Таблица 1

Концентрация ИУК, продуцируемой эндофитным штаммом *Bacillus wiedmannii* EJ1

Варианты	Содержание ИУК, мкг/мл						
	24 ч	48 ч	72 ч	96 ч	120 ч	144 ч	168ч
Без триптофана	0.4±0.02	0.8±0.06	0.9±0.05	3.1±0.1	5.2±0.2	8.1±0.7	12.4±1.2
С триптофаном	0.7±0.05	2.1±0.1	3.7±0.2	9.9±0.7	14.6±0.9	12.5±1.1	11.2±0.8

Очевидно, что добавление триптофана в среду культивирования, стимулирует синтез ИУК бактериями. Сравнение временных параметров и максимальных значений продукции ИУК в обоих вариантах эксперимента позволяет предположить, что при росте в среде без триптофана бактериям необходимо время для синтеза самой аминокислоты как предшественника ИУК. В то же время, мы не исключаем возможность наличия у нашего штамма альтернативного пути синтеза ИУК в условиях отсутствия экзогенного триптофана в среде.

Способность к продукции ИУК показана для многих видов бактерий и микромицетов, в особенности для ризосферных и эндофитных микроорганизмов. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о значительной роли ауксина в регуляции взаимоотношений микробиоты с растениями-хозяевами. Кроме того, на сегодняшний день имеется немало сведений, доказывающих участие ИУК не только в стимуляции роста

растений, но также в механизмах предотвращения неблагоприятных последствий воздействия разных видов стресса [3, 12]. В научной литературе представлено несколько работ, посвященных оценке способности продуцировать ИУК эндофитами растений картофеля. В работе Гросси с соавторами показано, что эндофитный штамм *Methylobacterium* sp 2A, выделенный из корней картофеля, синтезировал ИУК, что стимулировало развитию корневой системы растений [6]. Также Кумар с соавторами [9] продемонстрировали ростостимулирующий эффект эндофитных бактерий на растения картофеля сорта Kufri bahar, ассоциированный со способностью к синтезу ИУК.

**Заключение.** Создание биопрепаратов на основе эндофитных микроорганизмов является перспективным направлением сельскохозяйственной биотехнологии, способствующим как совершенствованию устойчивого ведения сельского хозяйства, так и сохранению природного баланса в агробиоценозах. В настоящей работе установлено, что эндофитный штамм *Bacillus wiedmannii* EJ1, ранее выделенный нами из листьев картофеля сорта Регги, способен продуцировать один из важнейших фитогормонов индолил-3-уксусную кислоту. Дальнейшее изучение регуляции биосинтеза, а также вовлеченности бактериального ауксина в процессы, определяющие устойчивость растений картофеля к стрессовым факторам, внесет вклад в создание передовых, экологически чистых способов возделывания данной экономически важной культуры.

**Благодарности.** Статья подготовлена в рамках реализации программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (Приоритет-2030), при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по госзаданию ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН.

### Библиографический список

1. Васильева Е.Н., Ахтемова Г.А., Жуков В.А., Тихонович И.А. Эндофитные микроорганизмы в фундаментальных исследованиях и сельском хозяйстве // Экологическая Генетика. – 2019. – Т. 17, №. 1. – С. 19-32.
2. Ali A., Tabbasum I., Azeem H., Ölmez F., Devenci G., Khalid B. and Mehtab M. Bacterial endophytes, a resilient way toward sustainable agriculture: provide plant growth promotion and biocontrol of plant pathogens // Journal of Global Innovations in Agricultural Sciences. – 2023. – V.11. – P. 153-174.
3. Egamberdieva D., Eshboev F., Shukurov O., Alaylar B., Arora N.K. Bacterial Bioprotectants: Biocontrol Traits and Induced Resistance to Phytopathogens // Microbiol. Res. – 2023. – V. 14. –P. 689-703.
4. Fadiji A.E., Babalola O.O. Elucidating mechanisms of endophytes used in plant protection and other bioactivities with multifunctional prospects // Front Bioeng Biotechnol. – 2020. –V. 8. –P. 467-487.
5. Gordon S.A., Weber R.P. Colorimetric estimation of indoleacetic // Plant Physiol. – 1951. –V. 26. – P. 192-195.
6. Grossi C.E.M., Fantino E., Serral F., Zawoznik M.S., Fernandez Do, Porto D.A., Ulloa R.M. (2020) *Methylobacterium* sp. 2A is a plant growth-promoting rhizobacteria that has the potential to improve potato crop yield under adverse conditions // Front Plant Sci – V. 11 – e71.
7. Jahn L., Hofmann U., & Ludwig-Müller J. (2021). Indole-3-acetic acid is synthesized by the endophyte cyanodermella asteris via a tryptophan-dependent and-independent way and mediates the interaction with a non-host plant //International Journal of Molecular Sciences – 2021. – V. 22(5). – P. 1-19.
8. Karamova N.S., Tuama A., Minnullina L.F., Pudova D.S., Shagimardanova E.I., Mardanova A.M. and Stasevski Z. *Bacillus wiedmannii* strain EJ1, whole genome shotgun sequencing project. – 2022. – [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NZ\\_JANDGI000000000.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NZ_JANDGI000000000.1).

9. Kumar S., Chaudhary D., Rashmi, Jangra R., Kumari A., Kumar R. Exploring phyllosphere bacteria for growth promotion and yield of potato (*Solanum tuberosum* L.) // Int J Curr Microbiol Appl Sci. – 2018. – V. 7. – P. 1065-1071.
10. Tabbasum I., Amjad A., Urwa, S., Imam B., Bareerah K., Nadia I., and Naseer M. U. Role of endophytic fungal species in plant growth promotion and in sustainable agricultural productions: A review //The Journal of Microbiology and Molecular Genetics. – 2022. – V.1. – P. 1-21.
11. Velten S., Leventon J., Jager N, and Newig J. What Is Sustainable Agriculture? A Systematic Review. // Sustainability – 2015. – V. 7 – P. 7833-7865.
12. Xavier M.L., Bosch A.R., Karp S.G., Soccol C.R. Endophytic bacteria: a possible path towards a sustainable agriculture // Biotechnology Research and Innovation. – 2021. – V. 5. – e. 2021008.
13. Zhao Y. Auxin biosynthesis and its role in plant development // Annu. Rev. Plant Biol. – 2010. –V. 61. – P. 49-64.