

INTENSIFICATION OF AUXINS SYNTHESIS IN SURFACTANTS PRODUCER *NOCARDIA VACCINII* IMV B-7405

T. Pirog, D. Piatetska, N. Klymenko
National University of Food Technologies

T. Shevchuk, N. Leonova
Zabolotny Institute of Microbiology and Virology
National Academy of Sciences of Ukraine

Key words:

Tryptophan
Indolyl-acetic acid
Precursors of biosynthesis
Surfactant producers

Article history:

Received 04.10.2019
 Received in revised form 19.10.2019
 Accepted 14.11.2019

Corresponding author:

T. Pirog
E-mail:
 npnuht@ukr.net

ABSTRACT

The effect of different concentrations of tryptophan in the culture medium on the auxin-synthesizing ability of surfactant producer *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 was studied. Tryptophan (precursor of the biosynthesis of phytohormones auxin nature) was added into the medium in the form of 1% solution in the amount of 100, 200 or 300 mg/L at the beginning of the process (lag phase) or at the end of the exponential growth phase (48 h of cultivation). Purification and concentration of phytohormonal extracts were carried out by thin layer chromatography, and the qualitative and quantitative composition of auxins was determined by high performance liquid chromatography.

It was found that irrespective of the time of tryptophan introduction into the medium of cultivation of strain IMV B-7405 with refined and fried oil, there was a significant increase in the synthesis of auxins compared to the indicators on the medium without this precursor. With increasing concentration of tryptophan, the level of phytohormone synthesis increased in several times. Thus, under cultivation of the IMV B-7405 strain on refined oil without a precursor, the concentration of auxins was about 80 µg/L, and in the case of adding 100, 200 or 300 mg/L of tryptophan at the end of the exponential growth phase increased to 140, 1355 and 3143 µg/L, respectively. During the cultivation of *N. vaccinii* IMV B-7405 on the medium with fried oil, the maximum auxin concentration (5800 µg/L) was reached if 300 mg/L of tryptophan was added at the lag phase. In the composition of auxins synthesized in the presence of tryptophan indole-3-acetic acid (the dominant component) as well as indole-3-carboxylic acid and indole-3-carboxaldehyde were identified.

The possibility of developing a waste-free technology for obtaining complex microbial preparations with phytohormonal activity for use in agriculture is discussed.

ІНТЕНСИФІКАЦІЯ СИНТЕЗУ АУКСИНІВ У ПРОДУЦЕНТА ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *NOCARDIA VACCINII* ІМВ В-7405

Т. П. Пирог, Д. В. П'ятецька, Н. О. Клименко

Національний університет харчових технологій

Т. А. Шевчук, Н. О. Леонова

Інститут мікробіології і вірусології НАН України ім. Д. К. Заболотного

У статті досліджено вплив різних концентрацій триптофану у середовищі культивування на ауксин-синтезувальну здатність продуцента поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405. Триптофан (попередник біосинтезу фітогормонів ауксинової природи) вносили у середовище у вигляді одновідсоткового розчину у кількості 100, 200 або 300 мг/л на початку процесу (лаг-фаза) або в кінці експоненційної фази росту (на 48 год культивування). Попереднє очищення і концентрування фітогормональних екстрактів проводили методом тонкошарової хроматографії, а якісний і кількісний склад ауксинів визначали методом високоефективної рідинної хроматографії.

Встановлено, що незалежно від моменту внесення триптофану у середовище культивування штаму ІМВ В-7405 як з рафінованою, так і відпрацьованою олією спостерігалось суттєве підвищення синтезу ауксинів порівняно з показниками на середовищі без цього попередника. Із збільшенням концентрації триптофану рівень синтезу фітогормонів підвищувався у кілька разів. Так, за умов росту штаму ІМВ В-7405 на рафінованій олії без попередника концентрація ауксинів становила близько 80 мкг/л, а у разі внесення 100, 200 або 300 мг/л триптофану в кінці експоненційної фази росту підвищувалася до 140, 1355 і 3143 мкг/л відповідно. Під час культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на середовищі з відпрацьованою олією максимальна концентрація ауксинів (5800 мкг/л) досягалася у разі додавання 300 мг/л триптофану у лаг-фазі. У складі ауксинів, синтезованих за наявності триптофану, виявлена індол-3-оцтова кислота (домінуючий компонент), а також індол-3-карбонова кислота та індол-3-карбоксальдегід.

Підтверджено можливість розробки безвідходної технології одержання комплексних мікробних препаратів з фітогормональною активністю для використання у сільському господарстві.

Ключові слова: триптофан, індол-оцтова кислота, попередники біосинтезу, продуценти поверхнево-активних речовин.

Постановка проблеми. У попередніх дослідженнях встановлено здатність продуцента поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 синтезувати фітогормони стимулювальної дії — ауксини, цитокиніни та гібереліни [1]. Такі результати є основою для розробки комплексних препаратів з ріст-стимулювальними та антимікробними щодо фітопатогенних бактерій властивостями з метою використання у рослинництві.

Дослідження [2; 3], проведені на вегетаційному майданчику Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного з використанням як тест-культур томатів та ячменю, підтвердили, що супернатант культуральної рідини *N. vaccinii* ІМВ В-7405 позитивно впливає на ріст і розвиток рослин. Встановлено, що за обробки насіння ячменю розбавленим супернатантом культуральної рідини *N. vaccinii* ІМВ В-7405 врожайність збільшувалася на 58,55% відповідно порівняно з обробкою насіння водою. У разі обробки кореневої системи томатів розведеним супернатантом культуральної рідини *N. vaccinii* ІМВ В-7405 кількість плодів перевищувала контроль на 25,0%, а загальна вага — на 77,1%.

Проте зазначимо, що концентрація позаклітинних фітогормонів, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405, була невисокою, що суттєво знижує ефективність використання таких препаратів у рослинництві.

В опублікованому огляді [4] ми акцентували увагу на тому, що більшість ґрунтових мікроорганізмів (як асоційованих, так і неасоційованих з рослинами), синтезують фітогормони ауксинової природи за наявності у середовищі культивування екзогенного триптофану, який є попередником синтезу індол-3-оцтової кислоти (ІОК). Причому дослідники вносили триптофан у середовище на початку процесу культивування і, зазвичай, у достатньо високій концентрації (до 10 г/л). Зазначимо, що фітогормони є вторинними метаболітами, утворення яких починається у стаціонарній фазі росту, тому логічнішим видається і додавання попередника на цьому етапі процесу. Крім того, концентрація попередників, що використовуються для інтенсифікації синтезу у мікробних біотехнологіях, як правило, становить 0,1—0,2% від вмісту джерела вуглецю у середовищі культивування [5].

Зазначимо, що у [1] встановлено, що *N. vaccinii* ІМВ В-7405 синтезує ауксини за умов росту на середовищах з різними субстратами без попередника, а отже, існують потенційні можливості для підвищення їх синтезу.

Мета дослідження: встановити оптимальну концентрацію триптофану і момент його внесення у середовище культивування продуцента ПАР *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 для забезпечення максимального синтезу ауксинів.

Матеріали і методи. Об'єкт дослідження — штам *Nocardia vaccinii* К-8, зареєстрований у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України за номером ІМВ В-7405.

Штам *N. vaccinii* ІМВ В-7405 вирощували у середовищі, що містило (г/л): NaNO_3 — 0,5—1,25; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; KH_2PO_4 — 0,1; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,001; дріжджовий автолізат — 0,5% (об'ємна частка). Джерело вуглецю та енергії — рафінована, а також відпрацьована після смаження картоплі «фрі» соняшникова олія в концентрації 1% (об'ємна частка).

Триптофан вносили у середовище у вигляді одновідсоткового розчину в кількості 100, 200 або 300 мг/л на початку процесу або в кінці експоненційної фази росту (на 48 год культивування).

Як інокулянт використовували культури в експоненційній фазі росту, вирощені на відповідних рідких середовищах, що містили 0,5—1% (об'ємна частка) субстрату. Кількість посівного матеріалу (10^4 – 10^5 кл/мл) становила 5—10% від об'єму поживного середовища. Культивування бактерій здійсню-

вали в колбах об'ємом 750 мл з 100 мл середовища на качалці (320 об./хв) при 28—30°C упродовж 120 год.

Фітогормони визначали у супернатанті, для отримання якого культуральну рідину центрифугували (5000 g) упродовж 25 хв. Залишки соняшникової олії з культуральної рідини видаляли шляхом її трикратної екстракції петролейним ефіром або гексаном (співвідношення 1:1).

Позаклітинні фітогормони ауксини виділяли методом перерозподілу фітогормонів у двох фазах розчинників, що не змішуються між собою [6]. Як органічний розчинник використовували етилацетат, рН 3,0. Одержані екстракти випарювали під вакуумом при 40—45°C. Сухий залишок перерозчиняли у 80-відсотковому етанолі, переносили у мікропробірки. Отримані екстракти зберігали за температури — 24°C.

Попереднє очищення і концентрування фітогормональних екстрактів (накопичувальна тонкошарова хроматографія) проводили на пластинках із силікагелем марки «Silufol UV₂₅₄» (Chemapol, Чехія) у суміші розчинників, що вводили послідовно: хлороформ, 12,5% водний аміак, етилацетат: оцтова кислота (20:1).

Якісний і кількісний склад ауксинів аналізували методом високоефективної рідинної хроматографії (high performance liquid chromatography — HPLC) з використанням рідинного хроматографа Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) та мас-спектрометричного (mass spectrometry — MS) детектора Agilent G1956B. HPLC/MS аналіз ауксинових екстрактів *N. vaccinii* IMB B-7405 виконано у Центрі колективного користування при Інституті мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України.

Для порівняння використовували стандартні синтетичні фітогормони Sigma (Німеччина) і Acros Organic (Бельгія):

IAA — Indole-3-acetic acid, Індол-3-оцтова кислота (ІОК);

ICal — Indole-3-carboxaldehyde, Індол-3-карбоксальдегід;

IC — Indole-3-carbinol, Індол-3-карбінол;

ICA — Indole-3-carboxylic acid, Індол-3-карбоксилова кислота;

IAA-hydr. — Indole-3-acetic acid hydrazide, Індол-3-оцтової кислоти гідразид;

IBut — Indole-3-butyric acid, Індол-3-масляна кислота;

Як рухомих фаз використовували метанол (А) та одновідсотковий розчин оцтової кислоти у воді (В). Розділення проводили на хроматографічній колонці Zorbax SB-C18 (2,1мм·150мм, 3 мкм) (Agilent Technologies, USA), швидкість потоку через колонку 0,25 мл/хв, температура термостату 30°C, об'єм інжекції 2 мкл. Елюювання проводили в градієнтному режимі: 0 хв — А (30%): В (70%); 25 хв — А (30%): В (70%); 35 хв — А (100%): В (0%); 35 хв — А (100%): В (0%).

Детекцію сполук проводили з використанням діодно-матричного детектора з реєстрацією сигналу при 254 та 280 нм та фіксацією спектрів поглинання в діапазоні 191—700 нм. Для визначення молекулярних мас досліджуваних сполук використовували мас-спектрометричний детектор Agilent G1956B (Agilent Technologies, USA). Іонізацію проводили в режимі ESI та APCI з фіксацією позитивних іонів у режимі SCAN в діапазоні 100—1200 m/z. Калібрування проводили з використанням стандартних розчинів ауксинів.

Усі досліди проводили в трьох повторностях, кількість паралельних визначень в експериментах становило від 3 до 5. Статистичну обробку експериментальних даних проводили, як описано раніше [1]. Відмінності середніх показників вважали достовірними при рівні значущості $p < 0,05$.

Результати і обговорення. Попередні дослідження показали, що синтез метаболітів ауксинової природи залежав від природи джерела вуглецю в середовищі культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 [1].

Вибір субстратів (рафінована та відпрацьована після смаження картоплі соняшникова олії) для вирощування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 з метою інтенсифікації синтезу ауксинів був зумовлений такими причинами. По-перше, за умов росту на рафінованій олії штам *N. vaccinii* ІМВ В-7405 синтезував найвищу кількість ауксинів (770,4 мкг/л) порівняно з такою на інших субстратах [1]. По-друге, комплексний мікробний препарат повинен характеризуватися високою антимікробною активністю щодо фітопатогенних бактерій, а раніше у [7] встановлено, що такі властивості притаманні поверхнево-активним речовинам, синтезованим у процесі культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на рафінованій і відпрацьованій після смаження картоплі олії. По-третє, відпрацьована олія є токсичним відходом, викиди якої в Україні не регламентуються, а використання її як субстрату дасть змогу одночасно утилізувати небезпечні відходи та знизити собівартість цільового продукту для рослинництва.

Дані, наведені у табл. 1 і 2, засвідчують, що незалежно від моменту внесення триптофану у середовище культивування штаму ІМВ В-7405 як з рафінованою, так і відпрацьованою олією спостерігали суттєве підвищення синтезу ауксинів порівняно з показниками на середовищі без цього попередника. Серед ауксинів були виявлені індол-3-оцтова кислота, індол-3-карбонова кислота, індол-3-карбоксамальдегід, індол-3-оцтової кислоти гідрозид, проте найбільший вміст становила ІОК, попередником якої і є триптофан. Зазначимо, що найвища концентрація ауксинів досягалася за внесення у середовище з обома субстратами 300 мг/л триптофану.

Відомо [5], що більшість попередників залучаються до процесів біосинтезу вторинних метаболітів у кінці експоненційної або на початку стаціонарної фаз росту. Це чітко прослідковувалося за умов вирощування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на рафінованій олії: внесення 100, 200 і 300 мг/л триптофану в кінці експоненційної фази росту супроводжувалося підвищенням концентрації синтезованих ауксинів в 1,8, 17,8 та 41,3 раза відповідно (див. табл. 1).

Таблиця 1. Синтез ауксинів за умов росту *N. vaccinii* ІМВ В-7405 у середовищі з рафінованою олією із внесенням триптофану

| Кількість триптофану, мг/л | Фаза росту | Концентрація ауксинів, мкг/л | | | | Сума ауксинів, мкг/л |
|----------------------------|----------------------------|------------------------------|-------|-------|--------------|----------------------|
| | | ІОК | ІКК | ІК | ІОК-гідрозид | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 0 | Лаг-фаза | 64,87 | 6,33 | 2,13 | 3,59 | 76,92 |
| | Лаг-фаза | 28,99 | 11,59 | 17,68 | – | 58,27 |
| | Кінець експоненційної фази | 40,57 | 14,40 | 84,89 | – | 139,86 |

Продовження таблиці 1.

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|-----|----------------------------|---------|---------|-------|---|---------|
| 200 | Лаг-фаза | 348,64 | 71,73 | 11,26 | – | 431,63 |
| | Кінець експоненційної фази | 854,03 | 501,45 | – | – | 1355,48 |
| 300 | Лаг-фаза | 331,42 | 89,95 | – | – | 421,37 |
| | Кінець експоненційної фази | 1986,68 | 1157,03 | – | – | 3143,70 |

Примітка: ІОК — індол-3-оцтова кислота; ІКК — індол-3-карбонова кислота; ІК — індол-3-карбоксальдегід; ІОК-гідразид — індол-3-оцтової кислоти гідразид; «–» — не виявлено.

У той же час інші закономірності спостерігали під час культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 у середовищі з відпрацьованою олією: для більшості варіантів найвищу концентрацію ауксинів спостерігали у разі додавання триптофану на початку процесу культивування (табл. 2). Ми припускаємо, що це може бути зумовлено якістю використовуваної як субстрату відпрацьованої олії, зокрема наявністю у її складі компонентів, які можуть так чи інакше впливати на біосинтез фітогормонів. З'ясуванню цих питань будуть присвячені наші подальші дослідження.

Разом з тим зазначимо, що з точки зору організації технологічного виробництва внесення попередника на початку процесу є значно зручнішим.

Таблиця 2. Вплив триптофану на синтез ауксинів у процесі культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на відпрацьованій олії

| Кількість триптофану, мг/л | Фаза росту | Концентрація ауксинів, мкг/л | | | | Сума ауксинів, мкг/л |
|----------------------------|----------------------------|------------------------------|---------|-------|--------------|----------------------|
| | | ІОК | ІКК | ІК | ІОК-гідразид | |
| 0 | Лаг-фаза | 4,53 | 1,81 | – | 6,89 | 13,23 |
| 100 | Лаг-фаза | 1258,87 | 472,58 | – | – | 1731,45 |
| | Кінець експоненційної фази | 874,31 | 292,10 | – | – | 1185,67 |
| 200 | Лаг-фаза | 2331,15 | 470,62 | – | – | 2801,77 |
| | Кінець експоненційної фази | 2166,39 | 725,81 | 12,69 | – | 2910,84 |
| 300 | Лаг-фаза | 4666,74 | 1139,24 | – | – | 5805,98 |
| | Кінець експоненційної фази | 1538,84 | 719,73 | – | – | 2258,57 |

Примітка: ІОК — індол-3-оцтова кислота; ІКК — індол-3-карбонова кислота; ІК — індол-3-карбоксальдегід; ІОК-гідразид — індол-3-оцтової кислоти гідразид. «–» — не виявлено.

Дані, наведені у табл. 1 і 2, засвідчують, що концентрація синтезованих ауксинів підвищувалася із збільшенням концентрації попередника у середовищі культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405. Не виключено, що й подальше

підвищення кількості триптофану буде супроводжуватися інтенсифікацією синтезу ауксинів. Проте на цьому етапі для створення ефективного мікробного препарату з ріст-стимулювальними властивостями в цьому немає необхідності, оскільки за досягнутої концентрації ауксинів (3000—5000 мкг/л, див. табл. 1 і 2) культуральну рідину *N. vaccinii* IMB B-7405 з метою обробки насіння або кореневої системи розсади рослин необхідно розбавляти як мінімум у 400—500 разів.

Зазначимо, що після публікації нашого огляду [4], в якому було проаналізовано наявну на той час літературу щодо синтезу фітогормонів різними мікроорганізмами, з'явилися роботи, в яких дослідники порівнювали синтез ауксинів за відсутності та наявності попередника. Так, Мон Муо із співавт. [9] встановили, що продуцент неоміцину *Streptomyces fradiae* NKZ-259 на середовищі без триптофану синтезував 4,876 мкг/л індол-3-оцтової кислоти, а у разі внесення триптофану (2 г/л) рівень синтезу збільшився у 20 разів (до 82,363 мкг/л). Проте ефективність трансформації такої кількості триптофану (у 6—10 разів вища, ніж використовувана в нашому дослідженні) в ІОК штамом NKZ-259 була вкрай низькою, а концентрація індол-3-оцтової кислоти перебувала на рівні синтезованої *N. vaccinii* IMB B-7405 у середовищі без попередника.

Wagi і Ahmed [10] встановили, що виділений з ризосфери пасльону чорного (*Solanum nigrum*) штам *Bacillus cereus* So3II b на середовищі без триптофану утворював 23,3 мг/л ІОК, а при додаванні попередника у 3 рази більше — 70,0 мг/л. Концентрацію триптофану, що забезпечувала синтез такої кількості ауксинів, автори не наводили, проте у дослідженнях використовували попередник у достатньо високій кількості (5—40 мг/мл). Зазначимо, що на відміну від штаму *S. fradiae* NKZ-259 [9], *B. cereus* So3II характеризувався значно вищим рівнем синтезу ІОК навіть за умов росту на середовищі без попередника.

Літературні дані свідчать про те, що для ризосферних бактерій, асоційованих з рослинами, підвищений синтез ауксинів часто спостерігається у стресових умовах (зміна рН, температури тощо). Так, у [11] зазначається, що за умов культивування виділених з ризосфери стевії медової (*Stevia rebaudiana*) неідентифікованих штамів при рН 9 та температурі 37°C на середовищі з пептоном (містить у своєму складі триптофан) рівень синтезу ауксинів сягав 91,7 мг/л. У подальших дослідженнях було встановлено, що під час вирощування цих штамів на декстрозі без внесення триптофану концентрація ауксинів досягала 104,0 мг/л.

У 2017 р. з'явилося повідомлення [12] про виділення з філосфери рису штаму *Enterobacter* sp. DMKU-RP206, який на середовищі з лактозою і 1,1% триптофану синтезував до 5,56 г/л ІОК, що в 13,4 раза більше, ніж без триптофану (0,415 г/л). Така концентрація дає змогу розглядати штам DMKU-RP206 як перспективний продуцент ауксину для розробки відповідної технології. Зазначимо, що в літературі є лише поодинокі публікації про штами, здатні до синтезу такої концентрації ІОК (кілька г/л). Так, в огляді [4] ми навели інформацію про штам бактерій *Pantoea agglomerans* PVM, який на

середовищі з сахарозою та триптофаном (1 г/л) синтезував 2,191 г/л ІОК, а також про штам дріжджів *Rhodospiridium paludigenum* DMKURP301, який на сахарозі за наявності та 0,4% триптофану утворював 1,63 г/л індол-оцтової кислоти.

Загалом, аналіз літературних даних показав, що в [9—11] вдалося підвищити синтез ІОК у 3—20 разів, щоправда за наявності досить високих концентрацій триптофану (від 1 до 40 г/л). Варто зауважити, що за такої концентрації триптофан можна вважати ростовим субстратом, а не попередником біосинтезу. Крім того, використання такої кількості триптофану як компонента поживного середовища є недоцільним з економічної точки зору. Наші дослідження показали, що за значно нижчих концентрацій триптофану (до 300 мг/л) відбувається інтенсифікація синтезу ауксинів у сотні разів.

Крім того, вперше доведено можливість інтенсифікації синтезу ауксинів на відходах інших виробництв, зокрема харчової промисловості (відпрацьована після смаження картоплі олія). У літературі подібні відомості відсутні. Щоправда, у 2018 р. було опубліковано працю [13], в якій встановлено, що ендодітний штам *Pseudomonas aeruginosa* L10 за умов росту на дизельному паливі (5 г/л) без триптофану синтезував 27 мкг/л індол-3-оцтової кислоти, а також утворював поверхнево-активні рамноліпіди. Зазначимо, що в цьому дослідженні автори не намагалися підвищити синтез ІОК.

Висновки

Отже, в результаті проведеного дослідження встановлено можливість підвищення на один-два порядки кількості синтезованих ауксинів у разі внесення в олієвісні середовища культивування штаму *N. vaccinii* ІМВ В-7405 невисоких концентрацій попередника їх біосинтезу.

Література

1. Пирог Т. П., Леонова Н. О., Шевчук Т. А., Савенко І. В., Іутињская Г. А. Вплив умов культивування продуцентів поверхнево активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 і *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 на синтез фітогормонів. *Наукові праці НУХТ*. 2017; 23(5): 15—22. doi: 10.24263/2225-2924-2017-23-5-1-4.
2. Havrylkina D. V., Leonova N. O., Pirog T. P. The influence of exometabolites *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 and *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 on yields of tomatoes and barley. *J. Agric. Environ.* 2019; 1(9): 1—8. doi: 10.23649/jae.2019.1.9.2.
3. Piatetska D. V., Leonova N. O., Pirog T. P., Klymenko N. O. Yield of tomatoes and peppers under the influence of *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 and *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017. *J. Agric. Environ.* 2019; 3(11): 1—8. doi: 10.23649/jae.2019.3.11.4.
4. Pirog T. P., Iutynska G. O., Leonova N. O., Beregova K. A., Shevchuk T. A. Microbial synthesis of phytohormones. *Biotechnologia Acta*. 2018; 11(1): 5—24. doi: 10.15407/biotech11.01.005
5. Підгорський В. С., Іутињська Г. О., Пирог Т. П. Інтенсифікація технологій мікробного синтезу. Київ, 2010. 327 с.
6. Методические рекомендации по определению фитогормонов. Киев: Ин-т ботаники АН УССР, 1988. 78 с.
7. Panasyuk E. V., Nikityuk L. V., Iutynska G. O. Influence of cultivation conditions on antimicrobial properties of *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 surfactants. *Biotechnologia Acta*. 2016; 9(1): 38—45. doi: 10.15407/biotech9.01.038.

8. Shao J., Li S., Zhang N., Cui X., Zhou X., Zhang G., Shen Q., Zhang R. Analysis and cloning of the synthetic pathway of the phytohormone indole-3-acetic acid in the plant-beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9. *Microb. Cell Fact.* 2015; 14: 130. doi: 10.1186/s12934-015-0323-4.
9. Mon Myo E., Ge B., Ma J., Cui H., Liu B., Shi L. et al. Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces fradiae* NKZ-259 and its formulation to enhance plant growth. *BMC Microbiol.* 2019; 19(1): 1—14. doi: 10.1186/s12866-019-1528-1.
10. Wagi S., Ahmed A. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA. *Peer J.* 2019; 7: e7258. doi: 10.7717/peerj.7258.
11. Chandra S., Askari K., Kumari M. Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *J. Gen. Engineer. Biotechnol.* 2018; 16(2): 581—586. doi: 10.1016/j.jgeb.2018.09.001.
12. Nutaratat P., Monprasit A., Srisuk N. High-yield production of indole-3-acetic acid by *Enterobacter* sp. DMKU-RP206, a rice phyllosphere bacterium that possesses plant growth-promoting traits. *3 Biotech.* 2017; 7(5): 305. doi: 10.1007/s13205-017-0937.
13. Wu T., Xu J., Xie W., Yao Z., Yang H., Sun C. *Pseudomonas aeruginosa* L10: a hydrocarbon-degrading, biosurfactant-producing and plant-growth-promotion endophytic bacterium isolated from a reed (*Phragmites australis*). *Front. Microbiol.* 2018; 9: 1087. doi: 10.3389/fmicb.2018.01087.