

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ИУК-ПРОДУКТИВНОСТЬ ЭНДОФИТНОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО ШТАММА *KLEBSIELLA* RE3, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ КОРНЕЙ КАМЕЛИИ (*CAMELLIA* sp)

Нгуен Ван Жанг

к.с.-х.н., доцент, преподаватель,
кафедра микробиологической биотехнологии,
Вьетнамский национальный сельскохозяйственный университет (г. Ханой, Вьетнам)
E-mail: nvgiang@vnua.edu.vn

Ву Ть Нгок Зьеп

магистр,
кафедра микробиологической биотехнологии,
Вьетнамский национальный сельскохозяйственный университет (г. Ханой, Вьетнам)
E-mail: vudiep2609@gmail.com

Фам Хань Хьюен

магистр,
кафедра микробиологической биотехнологии,
Вьетнамский национальный сельскохозяйственный университет (г. Ханой, Вьетнам)
E-mail: phamkhanhhuyen8991@gmail.com

Е.А. Калашникова

д.б.н., профессор, зав. кафедрой биотехнологии,
Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева (Москва)
E-mail: kalash0407@mail.ru

Р.Н. Киракосян

к.б.н.,
кафедра биотехнологии, Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева (Москва)
E-mail: mia41291@mail.ru

Актуальность. Камелия – вечно зеленые растения, семейства чайные (Theaceae), среди которых наибольшую известность и популярность имеет *Camellia sinensis* L. – чайное растение. Интерес к этому растению обусловлен не только как к источнику получения тонизирующего напитка, но и как ценному лекарственному растению. Известно, что вторичные метаболиты *C. sinensis* L., в частности фенольные соединения, обладают противораковым действием, снижают уровень холестерина в крови, а также помогают людям бороться с такими болезнями, как диабет, атеросклероз, дизентерия, гипертония и др. В научно-исследовательских программах Вьетнама большое внимание уделяется селекции, а также изучению морфофизиологических и биологических характеристик *C. sinensis* L. Однако исследования, посвященные изучению эндофитных микроорганизмов корней *C. sinensis* L., малочисленны.

Цель исследования. Оценка влияния условий культивирования и состава питательной среды (углеродные и азотные компоненты) на продуцирование индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) эндофитным бактериальным штаммом *Klebsiella* RE3.

Материал и методы. Штамм выделен из корней чайных растений (*Camellia* sp.), произрастающих в садах компании ТД-GOLDEN TEAVIET (Trà Hoa vàng Tam Đảo), расположенных в деревне Куан Нгоай (Quan Ngoai), коммуне Там Куан (Tam Quan), районе Там Дао (Tam Đảo), провинции Винь Фук (Vĩnh Phúc), Вьетнам.

Результаты. Показано, что условия культивирования оказывают существенное влияние на продуктивность ИУК эндофитным бактериальным штаммом *Klebsiella* RE3. Установлено, что при выращивании штамма *Klebsiella* RE3 на питательной среде с pH 7, уже через 72 ч с начала культивирования наблюдается повышение продуктивности ИУК, показатель составляет 13,95 мкг/мл. При культивировании бактериального штамма при повышенных температурах (30 °С) продуктивность ИУК составляет 14,28 мкг/мл. При анализе состава питательной среды выявлено стимулирующее влияние сорбита и NH₄NO₃ на продуктивность ИУК. В этих условиях учитываемый показатель составил 12,9 и 11,35 мкг/мл соответственно.

Ключевые слова: камелия, штамм *Klebsiella*, ИУК, продуктивность, корни, углеродные и азотные источники, температура и время инкубации.

Для цитирования: Нгуен Ван Жанг, Ву Ть Нгок Зьеп, Фам Хань Хьюен, Калашникова Е.А., Киракосян Р.Н. Влияние условий культивирования на ИУК-продуктивность эндофитного бактериального штамма *Klebsiella* RE3, выделенного из корней камелии (*Camellia* sp). Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2020;23(11):47–53. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-11-08>

Чай (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) – это высокоценное вечнозеленое растение, которое выращивают в основном из-за его листьев, богатых кофеином. Средняя высота чайного растения составляет 10–15 м, но для облегчения сбора листьев их обрезают до 0,5–1,5 м на чайных плантациях. В мире выращивают различные сорта чая, наиболее важными из них являются китайские (*C. sinensis* var *sinensis*) и ассамские (*C. sinensis* var *assamica*). Чай адаптирован к большим высотам в тропических или низменных районах в субтропических регионах мира со средней температурой воздуха 18–30 °С. Хорошо дренированные кислые почвы с pH 4,5–5,0, солнечный свет и достаточное количество осадков (1500–2000 мм в год) являются оптимальными условиями для получения высококачественного чайного листа. В последние годы мировое производство чая составило примерно 5 млн тонн. Доминирующие производители – азиатские страны, на долю которых приходится около 85% мирового производства, за ними следуют страны Африки (13%) и страны Латинской Америки (2%).

Виды рода *Camellia* содержат множество биологически активных веществ, таких как полисахариды, полифенолы, сапонины, флавоноиды и др. Клинические испытания показали, что эти вещества могут понижать кровяное давление, снижать уровень липидов и холестерина в крови, предотвращать атеросклероз, а также бороться с раковыми болезнями. Экстракты, полученные из листьев, обладают антиоксидантной активностью, поэтому их широко применяют во Вьетнаме для лечения воспаления горла, диареи, дизентерии и других болезней [1].

Camellia sinensis (L.) O. Kuntze выращивают в разных районах Вьетнама. Так, северные районы, в частности Национальный парк Там Дао и прилегающие к нему географические районы, которые находятся относительно близко к границе с Китаем, традиционно считаются основными центрами распространения вьетнамских видов чая. Проведенные совместные исследования группой ученых из Вьетнама и Австралии привели к открытию ряда новых таксонов *Camellia* на плато Далат и на массиве Ланг Бианг в южных провинциях Вьетнама [2].

В научно-исследовательских программах Вьетнама большое внимание уделяется селекции [2], а также изучению морфофизиологических и биологических характеристик *C. sinensis* [2, 3]. Что касается изучения эндофитных микроорганизмов корней *C. sinensis*, то такие исследования малочислен-

ны. Интерес к этому направлению исследований не случаен, так как рост и развитие растений находится под контролем эндогенных фитогормонов, в частности ауксинов, цитокининов, гиббереллинов и др. Известно, что ауксины стимулируют развитие корневой системы, регулируют дифференцировку органов. Дополнительным источником индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) для растений являются бактерии, для которых ИУК необходима и для собственного развития. Известно, что ИУК-продуктивность бактерий зависит от условий их выращивания, таких как pH, температуры, состава питательной среды, особенно от углеродных и азотных источников. Эти вещества необходимы бактериям как для собственного развития, так и для установления связей с растениями и другими почвенными микроорганизмами.

Цель работы – оценка влияния разных условий культивирования на ИУК-продуктивность и фосфатрастворяющую способность эндофитного бактериального штамма *Klebsiella* RE3, выделенного из корней *Camellia* sp.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служил эндофитный бактериальный штамм *Klebsiella* RE3, выделенный из корней чайного растения, произрастающих в садах компании TĐ-GOLDEN TEAVIET (Trà Hòa vàng Tam Đảo), расположенных в деревне Quan Ngoai, коммуне TamQuan, районе Tam Dao, провинции Vinh Phuc. Штамм выделен сотрудниками лаборатории кафедры микробиологической биотехнологии Вьетнамского национального сельскохозяйственного университета.

Влияние pH культуральной среды на ИУК-продуктивность и фосфатрастворяющую активность штамма *Klebsiella* RE3. Концентрацию ИУК, продуцируемую бактериальным штаммом *Klebsiella* RE3, определяли по методике Glickmann и Dessaux [4]. Калибровочную кривую для выявления ИУК строили на основе содержания данного гормона в тестируемом растворе. Концентрации ИУК растворах составляли 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 и 80 мг/мл. *Klebsiella* RE3 выращивали в жидкой питательной среде Луриа–Бертани, содержащей пептон 10 г/л, дрожжевой экстракт 5 г/л, NaC 110 г/л, L-триптофана 100 мг/л при разных значениях pH (4, 5, 6, 7, 8, 9, и 10) на качалке при скорости ее вращения 200 об/мин. После 72 ч инкубации культуральную жидкость центрифугировали (5500 об/мин) в течение 10 мин

при температуре 4 °С. Затем 1 мл супернатанта энергично перемешивали с 4 мл реагента Салковского (150 мл концентрированной H₂SO₄, 250 мл дистиллированной H₂O; 7,5 мл 0,5 М FeCl₃·6H₂O) и оставляли в стационарном положении на 20 мин при комнатной температуре до измерения на спектрофотометре. Поглощение определяли при длине волны 530 нм. Концентрацию ИУК в каждой пробе (варианте) определяли путем сравнения со стандартной калибровочной кривой.

Влияние температуры и времени инкубации на ИУК-продуктивность штамма *Klebsiella RE3*. Изучали влияние температуры инкубации (25, 30, 35 и 40 °С) на ИУК-продуктивность *Klebsiella RE3*. Концентрацию ИУК определяли по методике Glickmann и Dessaux [4]. С целью оценки влияния времени культивирования на ИУК-продуцирующую способность штамма *Klebsiella RE3* каждые 24 ч измеряли концентрацию ИУК 1 раз.

Влияние углеродных и азотных источников на ИУК-продуктивность штамма *Klebsiella RE3*. Штамм *Klebsiella RE3* культивировали в жидкой питательной среде Лурии–Бертани. Изучали влияние различных источников углеродного питания (лактоза, сахароза, сорбит, маннит и крахмал) в концентрации 3% и азотного (NH₄H₂PO₄, NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄, NH₄Cl, KNO₃) питания в концентрации 5 г/л на ИУК-продуктивность исследуемого штамма.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения концентрации ИУК, продуцируемой штаммом *Klebsiella RE3*, приведены на рис. 1.

Исследования показали, что pH питательной среды оказывает существенное влияние на концентрацию ИУК, продуцируемую штаммом *Klebsiella RE3*. Установлено, что при всех изученных значениях pH среды от 4 до 10 исследуемый штамм спо-

собен синтезировать ИУК. Следует отметить, что самые высокие показатели получены на питательной среде с pH 6–8, причем при pH 7 этот показатель достигал максимума и составлял 13,95 мкг/мл. При pH ниже 6 и выше 8 условия культивирования были неблагоприятными для синтеза ИУК, и концентрация ИУК была в 2-3 раза ниже по сравнению с pH 7. Полученные данные согласуются с результатами, опубликованными другими исследователями. Так, Panigrahi с коллегами [5] сообщили, что штамм *Enterobacter cloacae* MG00145, выделенный из *Ocimum sanctum*, синтезирует максимальную концентрацию ИУК при pH 7 (17,807 мкг/мл). В работе Mohite [6] также показано, что питательная среда с pH 7 является наиболее благоприятной для синтеза ИУК изучаемым штаммом MR2. Аналогичные результаты были получены и Mohamed с коллегами [7], которые изолировали из почвы штамм *Streptomyces griseoflavus* и отметили, что на питательной среде с pH 7 наблюдается максимальный синтез ИУК. Однако для разных штаммов бактерий условия культивирования, обеспечивающие максимальный выход ИУК, могут отличаться. Например, в работе Nguyễn Văn Giang с коллегами [8] отмечается, что для культивирования *in vitro* эндофитных бактериальных штаммов, выделенных из корней алоэ (*Aloe vera*), оптимальная кислотность среды для синтеза ИУК составила 6. Santi с коллегами [9] сообщили, что максимальная продукция ИУК была получена из *Rhizobium* sp, выделенного из корневых клубеньков *Vigna mungo* L., при культивировании на питательной среде с pH в диапазоне от 6,4 до 7,8. В некоторых других научных работах, оптимальное значение pH для синтеза ИУК может изменяться от 7,5 до 8 и даже до 9 [10–12]. Все эти результаты еще раз подтверждают, что pH питательной среды оказывает существенное влияние на ИУК-продуктивность изучаемых штаммов бактерий и микроорганизмов.

Температурный режим выращивания является важным фактором, оказывающим определенные воздействия на рост и развитие биологических объектов. Принято различать три основные температурные точки, имеющие значение для развития микроорганизмов: оптимум, минимум и максимум. Для определения влияния температуры инкубации на ИУК-продуктивность, штамм *Klebsiella RE3* культивировали при разных температурных режимах – 25, 30, 35 и 40 °С. Результаты приведены на рис. 2.

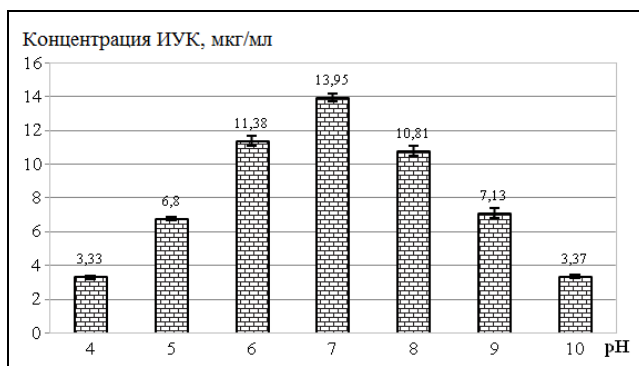


Рис 1. Влияние pH питательной среды на ИУК-продуктивность штамма *Klebsiella RE3*

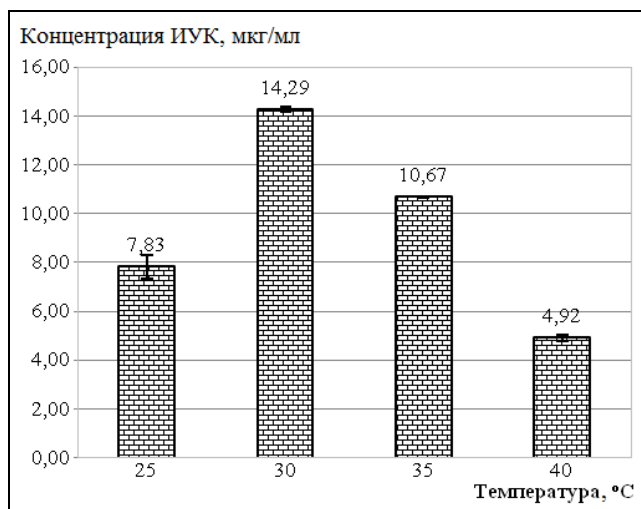


Рис. 2. Влияние температуры инкубации на ИУК-продуктивность штамма *Klebsiella* RE3

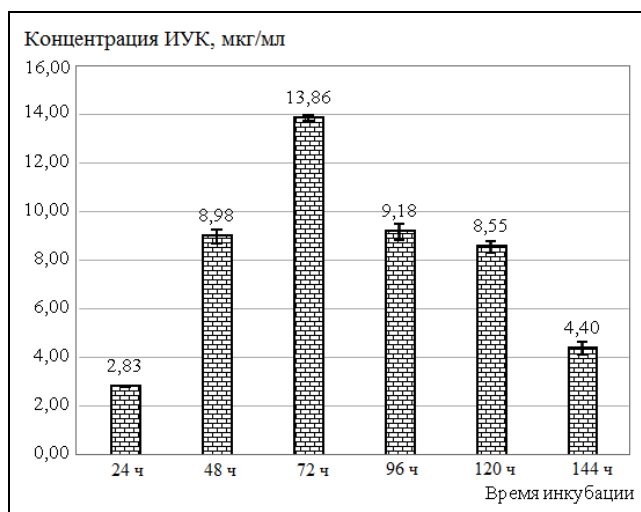


Рис. 3. Влияние времени инкубации на ИУК-продуктивность штамма *Klebsiella* RE3

Полученные результаты показывают, что максимальное количество ИУК получено в условиях выращивания штамма RE3 при температуре 30 °C (14,29 мкг/мл). В случае выращивания штамма при температуре ниже или выше 30 °C концентрация ИУК снижалась в 1,5–3 раза, ее значения находились в пределах 4,95–10,67 мкг/мл. Полученные результаты согласуются с данными ряда авторов. Однако следует отметить, что для разных штаммов бактерий температурные режимы, обеспечивающие максимальный выход ИУК, могут различаться. Например, Panigrahi с коллегами [5] указывают, что культивирование *Enterobacter cloacae* MG00145, выделенного из *Ocimum sanctum*, при температуре 37 °C приводит к получению самого высокого количества ИУК. В работах Chandra с коллегами [10]

также показано влияние температуры 37 °C на максимальный синтез ИУК штаммами CA1001 и CA2004. Экспериментально получено, что для культивирования штаммов *B. subtilis* DR2 (KP455653) оптимальная температура – 35 °C, а для штамма *Streptomyces* sp VSMGT1014 – 30 °C. В этих условиях наблюдали максимальный биосинтез ИУК [11, 13]. Следовательно, бактериальные штаммы, выделенные из разных образцов, проявляют различную способность к синтезу ИУК при разных температурных режимах выращивания. Это можно учитывать в случае использования микробных препаратов при выращивании растений в различных природно-климатических условиях.

Установленные экспериментальным путем оптимальные режимы выращивания (рН 7 и температура 30 °C) штамма *Klebsiella* RE3 на питательной среде Лурия–Бертани, дополненной L-триптофаном, были использованы в дальнейших исследованиях. Представлял интерес изучить динамику синтеза ИУК в процессе выращивания в оптимальных режимах. Измерения проводили каждые 24 ч по методике Glickmann и Dessaux [4]. Результаты приведены на рис. 3.

Полученные данные свидетельствуют о том, что синтез ИУК зависит от времени выращивания штамма RE3 при ранее определенных оптимальных условиях. Экспериментально установлено, что после 24 ч инкубации количество ИУК составило 2,83 мкг/мл, и этот показатель увеличивался в течение последующих 48 ч. При инкубации штамма *Klebsiella* RE3 72 ч количество ИУК достигло максимального значения – 13,86 мкг/мл. Последующее выращивание штамма в оптимальных условиях (до 144 ч) привело к снижению синтеза ИУК. Аналогичная зависимость количества ИУК от времени инкубации штамма получена и другими исследователями. Однако максимальные временные величины были различны и зависели от исследуемых штаммов. Так, Sridevi с коллегами [14], Bhargucha [12] и Kumari с коллегами [13] сделали вывод о том, что количество ИУК, синтезированное штаммом *Pseudomonas putida* UB1, оказалось максимальным через 96 ч культивирования, а Bhutani [15] показал, что для разных штаммов *Bacillus* spp, полученных из клубеньков *Vigna radiata*, максимальная ИУК-продуктивность отмечена в разные инкубационные периоды. Например, штамм MBN3 максимальную ИУК-продуктивность проявлял через 72 ч, изолят MJHN1 – через 24 ч, а штамм MJHN10 – через 72 ч культи-

вирования. Следует отметить, что максимальная ИУК-продуктивность может наступать и при более длительном культивировании исследуемых штаммов. Например, Panigrahi с коллегами [5] экспериментально установили, что *Enterobacter cloacae* MG00145, выделенный из *Ocimum sanctum*, синтезирует максимальное количество ИУК после 8 суток культивирования. Во всех работах сообщается, что после пика максимума наступает снижение количественного уровня ИУК, и при последующем культивировании бактериальных штаммов этот показатель может снижаться постепенно или довольно резко. Как сообщают Sasirekha с коллегами [16], Datta и Vasu [17], это может происходить из-за появления ферментов, разрушающих ИУК.

Помимо временной и температурной инкубации, биосинтез ИУК зависит и от углеродного питания. Поэтому представлял интерес изучение пяти различных источников углеродного питания (лактоза, сахароза, сорбит, манит и крахмал) на ИУК-продуктивность штамма *Klebsiella* RE3 (рис. 4).

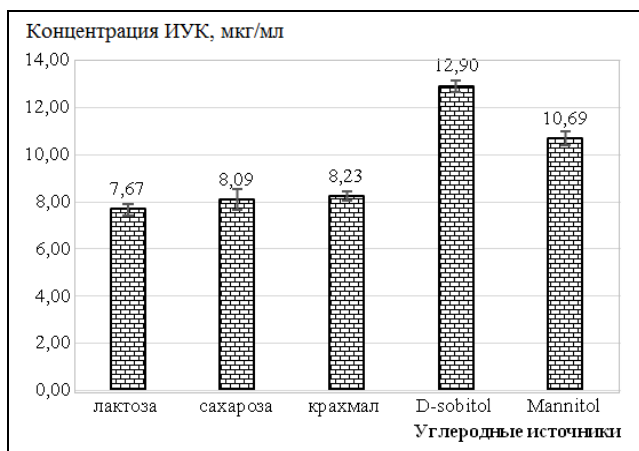


Рис. 4. Влияние углеродных источников на ИУК-продуктивность штамма *Klebsiella* RE3

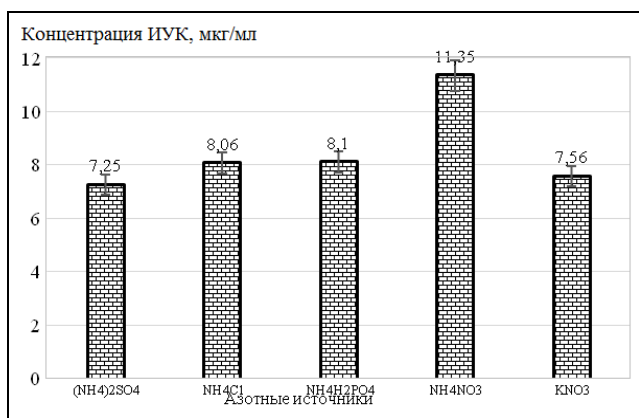


Рис. 5. Влияние азотных источников на ИУК-продуктивность штамма *Klebsiella* RE3

Экспериментально установлено, что исследуемые источники углеродного питания оказывают не одинаковое действие на ИУК-продуктивность исследуемого штамма. Так, существенное повышение биосинтеза ИУК получено при культивировании штамма *Klebsiella* RE3 на среде, содержащей сорбит; количество ИУК в этом варианте составило 12,9 мкг/мл. При использовании маннита ИУК-продуктивность незначительно снижалась, но оставалось на высоком уровне (10,69 мкг/мл). При использовании других источников углеродного питания (лактоза, сахароза и крахмал) содержание ИУК находилось в пределах 7,67–8,23 мкг/мл. Аналогичная зависимость количества ИУК от применяемого источника углеродного питания в составе питательной среды получена и другими исследователями. Например, Chandra с коллегами [10] заявили, что подходящий источник углерода для культивирования штамма CA1001 – декстроза. В работах Bhutani с коллегами [15] показано, что разные эндофитные штаммы *Bacillus* spp отдают предпочтение при культивировании *in vitro* различным источникам углерода. Например, для штамма MBN3 лучшим углеродом был маннит, для штамма MJHN1 – сахароза, а для штамма MJHN10 – глюкоза. Аналогичные результаты были получены для *B. subtilis* штамм WR-W2 [18], *Acetobacter diazotrophicus* штамм L1 [19], а также для штаммов *Rhizobium* spp. [14].

Источник азотного питания является важным фактором, регулирующим биосинтез и накопление ИУК. На рис. 5. приведены результаты влияния неорганических источников азота (NH₄H₂PO₄, NH₄NO₃, NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄, KNO₃) на способность штамма *Klebsiella* RE3 синтезировать ИУК.

Показано, что данный штамм эффективно использует все неорганические источники азота для синтеза ИУК, концентрация которой находилась в пределах от 7,25 до 11,35 мкг/мл. Однако следует отметить, что при использовании в составе питательной среды NH₄NO₃ наблюдается максимальное содержание ИУК (11,35 мкг/мл), в остальных вариантах учитываемый показатель существенно не различался по вариантам на 5%-ном уровне значимости. Некоторые авторы также отмечают зависимость ИУК-продуктивности от исследуемых источников азота. Так, Sridevi с коллегами [14] сообщают, что KNO₃, (NH₄)₂SO₄ и NaNO₃ оказывают существенное влияние на максимальную ИУК-продуктивность во всех исследуемых микробных изолятах, в то время как присутствие в со-

ставе питательной среды аминокислоты глицин как дополнительного источника азота приводит к замедлению роста микроорганизмов и снижению ИУК-продуктивности. Patil с коллегами [19] установили, что NH_4Cl является наиболее подходящим компонентом питательной среды для культивирования *A. diazotrophicus*, оказывающим стимулирующее влияние на максимальную ИУК-продуктивность. Аналогичные результаты были получены для *P. putida* штамма UB1 при культивировании его на среде с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ [12], для штамма CA 2004 – на среде с NH_4NO_3 [10]. В то же время в литературе имеются данные, свидетельствующие об ингибирующем влиянии источника азотного питания на рост микроорганизмов и продуктивность ИУК. Так, Mohite [6] установлено, что присутствие в составе питательной среде NaNO_3 приводит к замедлению роста *Bacillus megaterium* и накоплению ИУК. Схожие результаты были получены для *Lactobacillus casei*, *B. subtilis* и *B. cereus* при культивировании их на среде с KNO_3 в сочетании с пептоном, а для *L. acidophilus* ингибирующее влияние оказывают NaNO_3 и пептон. Кроме того, ранее проведенные исследования разных авторов, на *Rhizobium meliloti* показывают, что некоторые аминокислоты уменьшают концентрацию ИУК [20] из-за ингибирования процесса превращения ИУК из триптофана.

ВЫВОДЫ

Исследуемый штамм *Klebsiella* RE3, выделенный из корней чайного растения, обладает способностью синтезировать ИУК, концентрация которой зависит от условий выращивания данного штамма в условиях *in vitro*. Изменяя экзогенные факторы выращивания (pH среды, температурный режим, углеродное и азотное питание) можно управлять биосинтетическим потенциалом эндофитного бактериального штамма *Klebsiella* RE3.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tran Duc Manh, Nguyen Toan Thang, Hoang Thanh Son, et al. Golden Camellias: A Review. Archives of Current Research International. 2019. 16(2): 1–8.
2. Orel G., Curry A.S. Preliminary morphological assessment of six new, yellow flowering Camellia (Theaceae) species from Viet Nam. In book: International Camellia Journal. 2013; 45.
3. Tran N., Luong V.D. Camellia Dilinhensis: A New Yellow Species from Viet Nam. In book: International Camellia Journal. 2013;45.
4. Glickmann E., Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 1995;61: 793–796.
5. Panigrahi S., Mohanty S., Rath C. Characterization of endophytic bacteria *Enterobacter cloacae* G00145 isolated from *Ocimum sanctum* with Indole Acetic Acid (IAA) production and plant growth promoting capabilities against selected crops. South African Journal of Botany. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.09.017>.
6. Mohite B. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 2013;13(3): 638–649.
7. El-Abyad, M. S., El-Sayed, M. A., El-Shanshoury, A.-R., & Farid, M. Optimization of culture conditions for indole-3-pyruvic acid production by *Streptomyces griseoflavus*. Canadian Journal of Microbiology. 1994; 40(9): 754–760. doi:10.1139/m94-119.
8. Nguyễn Văn Giang, Trần Thị Đào, Trịnh Thị Thúy An. Phân lập và đánh giá đặc điểm sinh học của một số chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây nha đam. Tạp chí KH Nông nghiệp Việt Nam. 2016; 14(5): 772–778.
9. Santi M., Keshab C., Dey S., Pati B.R. Optimization of cultural and nutritional conditions for indole acetic acid production by a *Rhizobium* sp. isolated from root nodules of *Vigna mungo* (L.). Hepper. Res. J. Microbiol. 2007; 2: 239–246.
10. Chandra S., Askari K., Kumaria M. Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. J. Genet Eng. Biotechnol. 2018; 16(2): 581–586. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.09.001>
11. Harikrishnan H., Shanmugaiah V., Balasubramanian N. Optimization for production of Indole acetic acid (IAA) by plant growth promoting *Streptomyces* sp VSMGT1014 isolated from rice rhizosphere. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2014; 3(8): 158–171.
12. Bharucha U., Patel K., Trivedi U.B. Optimization of Indole Acetic Acid Production by *Pseudomonas putida* UB1 and its Effect as Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Mustard (*Brassica nigra*). Agricultural Research. 2013; 2(3): 215–221. <http://dx.doi.org/10.1007/s40003-013-0065-7>
13. Kumari S., Prabha C., Singh A., et al. Optimization of Indole-3-Acetic Acid Production by Diazotrophic *B. subtilis* DR2 (KP455653), Isolated from Rhizosphere of *Eragrostis cynosuroides*. International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences. 2018; 7(2): 20–27.
14. Sridevi M., Yadav N.C.S., Mallalah K.V. Production of indole acetic acid by *Rhizobium* isolates from *Crotalaria* species. Res. J. Microbiol. 2008; 3(4): 276–281.
15. Bhutani N., Maheshwari R., Negi R., Suneja P. 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; 65: 1–2. <http://dx.doi.org/10.1163/22238980-00001025>
16. Sasirekha B., Shivakumar S., Sullia S.B. Statistical optimization for improved indole-3-acetic acid (IAA) production by *pseudomonas aeruginosa* and demonstration of enhanced plant growth promotion. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 2012; 12: 863–873. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162012005000038>.

17. *Datta C., Basu P.* Indole acetic acid production by a Rhizobium species from root nodules of a leguminous shrub *Cajanus cajan*. *Microbiological Research*. 2000; 155: 123–127. [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(00\)80047-6](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(00)80047-6)
18. *Mishra V. K., Kumar A.* Plant growth promoting and phyto-stimulatory potential of *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *ARNP J. Agric. Bio. Sci.* 2012; 7(7): 509–518.
19. *Patil N.B., Gajbhiye M., Ahiwale S.S., et al.* Optimization of Indole 3-acetic acid (IAA) production by *Acetobacter diazotrophicus* L1 isolated from Sugarcane. *Int. J. Envir. Sci.* 2011; 2(1): 295–302.
20. *Garcia-Rodriguez T., Gutierrez-Navarro A.M., Jimenez R., Silva J. P.* Effects of legume root exudates in indole acetic acid production by *Rhizobium meliloti*. *Pol. J. Soil Sci.* 1981; 14: 45–52.

Поступила 6 августа 2020 г.

EFFECTS OF CULTURAL CONDITIONS ON IAA-PRODUCTIVITY OF ENDOPHYTIC BACTERIAL STRAIN *KLEBSIELLA* RE3 ISOLATED FROM ROOTS OF *CAMELLIA* (*CAMELLIA* sp)

© Authors, 2020

Nguyen Van Zhang

Ph.D. (Agricul.), Associate Professor,
Microbiological Biotechnology Department, Vietnam National University of Agriculture (Vietnam, Hanoi)
E-mail: nvgiang@vnua.edu.vn

Vu Thi Ngoc Diep

Junior Research Scientist,
Microbiological Biotechnology Department, Vietnam National University of Agriculture (Vietnam, Hanoi)
E-mail: vudiep2609@gmail.com

Pham Khanh Huyen

Junior Research Scientist,
Microbiological Biotechnology Department, Vietnam National University of Agriculture (Vietnam, Hanoi)
E-mail: phamkhanhhuyen8991@gmail.com

E.A. Kalashnikova

Dr.Sc. (Biol.), Professor,
Department of Genetics, Biotechnology, Breeding and Seed Production,
Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy (Moscow)
E-mail: kalash0407@mail.ru

R.N. Kirakosyan

Ph.D. (Biol.),
Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy (Moscow)
E-mail: mia41291@mail.ru

Relevance. *Camellia* (in Vietnam, the *camellia* is called tea with yellow flowers) is not only used as ordinary tea, but also as a medicinal one. *Camellia* helps prevent tumors, diabetes, reduce cholesterol. Nowadays, research projects with a *camellia* in Vietnam have mainly focused on the studying of morphological and biological characteristics and selection of *camellia*. Scientific research in connection with the endophytic microorganisms of *camellia* was limited.

Objective. The purpose of these studies was to assess the effect of cultural conditions and various carbon and nitrogen sources on the IAA producing activity of the strain *Klebsiella* RE3.

Material and methods. The strain *Klebsiella* RE3 was isolated from the roots of tea shrubs (*Camellia* sp.) Growing in the gardens of TĐ-GOLDEN TEAVIET (Trà Hoa vàng Tam Đảo), located in Quan Ngoai village, Tam Quan municipality, Tam Dao district (Tam Đảo), Vinh Phúc Province, Vietnam.

Results. The research results showed that strain RE3 synthesizes the maximum IAA after 72 hours of cultivation at pH 7 (13.95 µg / ml), temperature (14.28 µg / ml).

Conclusion. Of all the tested carbon and nitrogen sources, D-sorbitol and NH₄NO₃ are the best carbon and nitrogen sources for strain RE3 with IAA production of 12.9 µg / ml and 11.35 µg / ml, respectively.

Key words: *Camellia*, *Klebsiella* strain, IAA, productivity, roots, carbon and nitrogen sources, temperature and incubation time.

For citation: Nguyen Van Zhang, Vu Thi Ngoc Diep, Pham Khanh Huyen, Kalashnikova E.A., R.N. Kirakosyan. Effects of cultural conditions on IAA-productivity of endophytic bacterial strain *Klebsiella* RE3 isolated from roots of *Camellia* (*Camellia* sp). *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2020;23(11):47–53. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-11-08>