

Ф.А.КАРИМОВА, Л.И.АБДУЛЬМЯНОВА, Ф.Х.ФАЙЗИЕВА, Т.Г.ГУЛЯМОВА

*Институт микробиологии АН РУз, Ташкент*

## ЭНДОФИТНЫЕ ГРИБЫ РАСТЕНИЙ УЗБЕКИСТАНА КАК ПРОДУЦЕНТЫ ФИТОГОРМОНОВ

### Аннотация

Спектрофотометрическим методом показано наличие синтеза индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) и гиббереловой кислоты (ГК) в культуральной жидкости 11 штаммов грибов-эндофитов класса *Hyphomycetes*. Наибольшее содержание фитогормонов отмечено у 4 штаммов грибов-эндофитов: *Fusarium sp.* - FF59S, *Alternaria sp.* - FF63L, *Aspergillus terreus* - FF65L, выделенных из стебля и листа ферулы вонючей (*Ferula foetida*), а также *Fusarium sp.* - TSch72L, выделенного из листа тюльпана Шарипова (*Tulipa scharipovii*).

**Ключевые слова:** Эндوفитные грибы, продуценты, фитогормоны

Роль фитогормонов - ауксинов и гиббереллинов неоспоримо доказана не только в разнообразных процессах роста и развития высших растений, но и в развитии защитных реакций в ответ на стрессовое воздействие, такие как засуха, засоление, УФ-излучение, резкий перепад температур [1-4]. Именно такому стрессовому воздействию подвергаются растения пустынных, степных и горных зон республики Узбекистан.

Согласно сформировавшимся в последние годы представлениям, грибы-эндофиты способны продуцировать те же самые биологически активные вещества, что и растение-хозяин [5,6]. Исследование роли эндофитов в растении тесно связано с изучением биохимии и физиологии взаимодействия эндофита с растением-хозяином. Многие факторы, изменяющиеся в растении в зависимости от сезона и возраста, среды и расположения могут влиять на биологию эндофита.

Учитывая, что на настоящий момент практически не изучены процессы синтеза фитогормонов у микроскопических грибов класса *Hyphomycetes*, в частности гетероауксина индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), участвующей в процессах роста и формирования мицелия, исследования способности эндофитных грибов к синтезу ауксинов и гиббереллинов представляют фундаментальный интерес [7-11].

В этой связи целью данной работы явилось изучение гормон-синтезирующей способности грибов-эндофитов, отнесенных к родам *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* класса *Hyphomycetes*, выделенных из ферулы вонючей (*Ferula foetida*) и тюльпана Шарипова (*Tulipa scharipovii*).

### Материалы и методы

Выделение эндофитных грибов проводили по Nazalinetal. [5]. Для этого растения тщательно промывали в проточной воде в течение 10 часов. Для удаления эпифитной микрофлоры поверхность растений дезинфицировали 70% спиртом в течение 1 минуты и фламбировали в течение 10 секунд. Затем растения промывали стерильной водой и асептически измельчали скальпелем на кусочки размером не более 0,5 см, помещали на чашки Петри с агаризованной средой Чапека-Докса, содержащей хлортетрациклин в концентрации 50 мг/мл и сульфат стрептомицина в концентрации 250 мг/мл для подавления роста бактериальной микрофлоры и инкубировали в течение 7-14 дней при температуре 28°C. Выросшие грибные изоляты пересевали на среду Чапека-Докса, не содержащую антибиотики.

Родовую принадлежность выделенных изолятов грибов-эндофитов устанавливали согласно «Определителю микроскопических грибов» Литвинова М.А. [12].

Выделенные грибы-эндофиты выращивали на жидкой среде Чапека-Докса на качалке при 180 об/мин, температуре 28°C в течение 5 суток. Культуральную жидкость отделяли центрифугированием при 6 тыс. об/мин в течение 15 минут.

ИУК и ГК определяли спектрофотометрически на СФ Specol-1300. Калибровочные кривые строили по стандартам ИУК и ГК (Sigma, США). Контроль - дистиллированная вода, культуральную жидкость разводили в соотношении 1:20 дистиллированной водой. Определение ИУК и ГК проводили по методу Сальковского [13] и методу Муромцева [14], соответственно.

### Результаты исследований и обсуждение

Для исследования гормон-синтезирующей способности были отобраны 11 штаммов грибов-эндофитов, выделенных из ферулы вонючей (*Ferula foetita*) и тюльпана Шарипова (*Tulipa scharipovii*) – ярких представителей климатических зон со стрессовыми условиями окружающей среды, собранных на территории юго-западного Кызылкума (предгорья горы Кулжунтог) и Наманганской области (Папские адыры) (Табл.1).

Необходимо отметить, что ферулу и тюльпан, произрастающие на песках, с ничтожным количеством осадков, издревле применяют как общеукрепляющие, антитоксические, противовоспалительные и тонизирующие средства в медицине Китая и Средней Азии. Авиценна успешно применял препараты этих растений при лечении заболеваний верхних дыхательных путей, ЖКТ, инфекционных, нервно-психических, кожных. Ферула и тюльпан обладают противоопухолевой активностью. Современные исследования выявили у ферулы вонючей иммуностимулирующие и детоксикационные свойства. Как было установлено, эти свойства растений позволяют предотвращать развитие иммуносупрессивного (ослабленного) состояния онкологических больных и улучшают их общее самочувствие, продлевая жизнь в среднем на 50%.

Таблица 1 - Грибы-эндофиты, продуценты фитогормонов

| Растение-хозяин                                | Грибы-эндофиты                     | Часть растения | ГК, мкг/мл | ИУК, мкг/мл |
|--|------------------------------------|----------------|------------|-------------|
| Ферула вонючая ( <i>Ferula foetita</i> )       | <i>Fusarium sp.</i> - FF59S        | стебель        | 50         | 300         |
|  | <i>Fusarium sp.</i> - FF60S        |                | 10         | 50          |
|  | <i>Alternaria sp.</i> - FF61S      |                | 30         | 190         |
|  | <i>Alternaria sp.</i> -FF62L       | лист           | 30         | 210         |
|  | <i>Alternaria sp.</i> -FF63L       |                | 40         | 280         |
|  | <i>Drechslera sp.</i> - FF64L      |                | 20         | 150         |
|  | <i>Aspergillus terreus</i> - FF65L |                | 40         | 250         |
| Тюльпан Шарипова ( <i>Tulipa scharipovii</i> ) | <i>Fusarium sp.</i> -TSch70        | луковица       | 30         | 110         |
|  | <i>Fusarium sp.</i> -TSch71        |                | 40         | 160         |
|  | <i>Aspergillus niger</i> - TSch73  |                | 10         | 90          |
|  | <i>Fusarium sp.</i> - TSch72L      | лист           | 50         | 260         |

Как видно из данных, представленных в таблице, культуральная жидкость всех исследованных штаммов грибов-эндофитов содержит ИУК и ГК в различных количествах. Высокое содержание ИУК и ГК отмечено у 4 штаммов: *Fusarium sp.* - FF59S, *Alternaria sp.* - FF63L, *Aspergillus terreus* - FF65L, выделенных из стебля и листа ферулы вонючей (*Ferula foetita*), а также *Fusarium sp.*- TSch72L, выделенного из листа тюльпана Шарипова (*Tulipa scharipovii*). При этом уровень ИУК в отобранных штаммах грибов-эндофитов в 6-7 раз больше уровня ГК.

Известно, что под влиянием одного и того же фактора окружающей среды содержание ауксинов и гиббереллинов изменяется противоположным образом. Так, например, улучшение питания растений азотом увеличивает содержание ауксинов, а содержание гиббереллинов при этом снижается. Освещение же, наоборот, увеличивает содержание гиббереллинов и уменьшает содержание ауксинов. Однако при этом большее влияние на содержание гиббереллинов оказывает качество света: при выращивании растений на красном свете синтезируется больше гиббереллинов по сравнению с

выращиванием на синем свете [1,2]. Необходимо отметить, что сбор исследуемых растений и выделение грибов-эндофитов из них проводили в мае – в период удлинения светового дня и быстрого увеличения мощности УФ-излучения солнца, что, по-видимому, оказало непосредственное влияние на уровень синтезируемых грибами-эндофитами гормонов.

Известно, что оба гормона синтезируются в листьях: ИУК образуется из аминокислоты триптофана, ГК - из мевалоновой кислоты, затем гормоны проникают в растущие стебли и корни. Отобранные 3 штамма грибов-эндофитов, синтезирующие 250-280 мкг/мл ИУК и 40-50 мкг/мл ГК, выделены именно из листьев растений. При этом обратно пропорциональный уровень содержания ауксинов и гиббереллинов обусловлен общим предшественником - ацетил-КоА, при участии которого образуется как мевалоновая, так и *b*-кетоглутаровая кислота, являющаяся одним из предшественников при образовании ауксина через триптофан [3,4]. Полученные данные свидетельствуют, что в целом относительно более высокое содержание гормонов наблюдается в эндофитах, выделенных из листьев. Тем не менее, штамм *Fusarium sp.*- *FF59S*, выделенный из стебля ферулы вонючей, также продуцирует большое количество ИУК (300 мкг/мл).

Таким образом, выявлена способность к синтезу значительных количеств фитогормонов у местных штаммов эндофитных грибов класса *Hyphomycetes*. Очевидно, синтез фитогормонов грибами-эндофитами является одним из звеньев физиологии роста и развития растения-хозяина. Учитывая, что в настоящее время фитогормоны активно применяются в сельском хозяйстве и биотехнологии, эндофитные грибы *Alternaria sp.*- *FF63L*, *Aspergillus terreus*- *FF65*, *Fusarium sp.*- *FF59S*, выделенные из ферулы вонючей (*Ferula foetida*), а также *Fusarium sp.*- *TSch72L*, выделенный из тюльпана Шарипова (*Tulipa scharipovii*), отличающиеся высоким уровнем синтеза ИУК и ГК, являются перспективными объектами для разработки новых технологий получения ростстимулирующих препаратов.

#### Литература:

- 1 Веселов А.П., Лобов В.П., Олюнина Л.Н. Изменение содержания фитогормонов в ответной реакции растений при тепловом шоке и в период его последствия // Физиология растений. - 1998. - Т.45, №5. - С.709-718.
- 2 Полевой В.В. Механизм действия ауксина и его роль в системах регуляции и интеграции у растений // Вестн. СПбГУ. -1998. - Вып. 2, №10. -С.34-41.
- 3 Кудоярова Г.Р. Иммунохимические исследования гормональной системы растений: регуляция роста и ответа на внешнее воздействие: Автореф. ... дисс. СПб.- 1996.- 48с.
- 4 Bandurski R.S., Cohen J.D., Slovin J.S., Reineske D.M. Auxin biosynthesis and metabolism // Plant Hormones / Ed. P.J. Davies. Amsterdam: KluwerAcademicPublishers. - 1995. - P.38-65.
- 5 Hazalin N.A., Ramasamy K., Lim S.M., Wahab I.A., Cole A.Lj, Majeed A.A. Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. BMC Complementary and alternative medicine. -2009.- 9:46.
- 6 Zubek S., Nobis M., Blaszkowski J., Mleczko P., Nowak A. Fungal root endophyte associations of plants endemic to the Pamir Alay Mountains of Central Asia. Symbiosis, 2011, 54:139-149.
- 7 Симко М.В.Скрининг экологически безопасных средств защиты ПВХ-материалов от биоповреждений микромицетами на основе изучения продукции индолил-3-уксусной кислоты. Автореф. канд. дис.: 2002.- 124с.
- 8 Кацы Е.И. Участие ауксинов в регуляции экспрессии генов бактерий и растений // Генетика. -1997.- Т.33, №5. - С.565-576.
- 9 Tomita K., Suzuki M., Takashiro Y., Nakamura T.Z., Nakamura T. The effects of auxin and gibberellin on the plasma streaming in *Neusporacrassa* // 15th Int. Bot. Congr., Yokodama, Aud. 28-sept. -1993. -P. 458.
- 10 Lebuhn Michael, Thierry Hartmann Anton. Production of auxin and over indolic and phenolic compounds by *Paenibacilluspolymyxa* to plant roots // FEMS Microbiol. Ecol.- 1997.-Vol. 22, № 4. -P. 325-334.
- 11 Кобыльский Г.И., Алипбеков О.А., Герцог Н.М. Биосинтез ИУК фитопатогенными грибами *Septorianaodorum* (Berk) // Вестник сельхоз наук Казахстана. - 1990. - №8. - С.37-39.

12 Литвинов М.А. Чумаков М.И., Горбань В.В., Ковлер Л.Е. Определитель микроскопических грибов. Изд-во «Наука» Ленинград. 1967.

13 Новый ассоциативный diaзотроф *Agrobacterium radiobacter* из гистосферы пшеницы. Микробиология. 1992. –Т.61, вып.1.- С. 92-102.

### Түйін

КАРИМОВА Ф.А., АБДУЛЬМЯНОВА Л.И., ФАЙЗИЕВА Ф.Х., ГУЛЯМОВА Т.Г.

*Микробиология институты ӨзР FA, Ташкент*

## ФИТОГОРМОНДАРДЫҢ ПРОДУЦЕНТТЕРІ РЕТІНДЕ ӨЗБЕКСТАННЫҢ ЭНДОФИТТІК САҢЫРАУҚҰЛАҚ ӨСІМДІКТЕРІ

*Hyphomycetes* класына жататын эндофиттік–саңырауқұлақтардың 11 штамдарының культуралық сұйықтығына ниндолил-3-сіркеқышқылы (ИСК) және гибберелді қышқылы (ГК) синтезі бар екендігі спектрофотометрлік әдіспен анықталды. Құрамында фитогормондардың анағұрлым көбірек болуы эндофиттік–саңырауқұлақтардың 4 штамында белгіленді: *Fusarium sp.* - FF59S, *Alternaria sp.* - FF63L, *Aspergillus terreus* - FF65L, сасық сасырдың жапырағы мен сабағынан бөлініп алынған (*Ferula foetita*), сонымен қатар *Fusarium sp.*- TSch72L, Шарипов кызғалдақ жапырағынан бөлініп алынған (*Tulipa scharipovii*).

KARIMOVA F.A., ABDULMYANOVA L.I., FAYZIEVA F.KH., GULYAMOVA T.G.

*Institute of Microbiology, Tashkent*

## PLANTS AS PHYTOHORMONES-PRODUCERS

### Summary

Presence of synthesis of indoleacetic acid and gibberellic acid in cultural broth of 11 stains of fungi-endophytes belonging to class *Hyphomycetes* was established by spectrophotometric method. The highest content of phytohormones was observed at 4 strains of fungi-endophytes: *Fusarium sp.* - FF59S, *Alternaria sp.* - FF63L, *Aspergillus terreus* - FF65L (all isolated from stem and leaf of stinky ferula - *Ferula foetita*), and *Fusarium sp.*- TSch72L (isolated from leaf of Sharipov's tulip - *Tulipa scharipovii*).

**Key words:** Endophytic fungi, phytohormones

Role of phytohormones – auxins and gibberellins – is indisputably proven not only in different processes of growth and development of higher plants, but also in development of defensive reactions in response towards stress impact, such as draught, salinity, UV-radiation, sharp drop of temperature [1-4]. This is exactly the stress impact that affects plants of desert, steppe and highland zones of Uzbekistan.

According to current understandings, fungi-endophytes are capable to produce same biologically active compounds as plant-host [5,6]. Study of endophytes' role in host is tightly bound with study of biochemistry and physiology of interaction between endophyte and plant-host. Many factors, varying in plant depending on season, age, medium and position, may affect biology of endophyte.

Considering that processes of phytohormones' synthesis in microscopic fungi belonging to the class *Hyphomycetes*, in particular of heteroauxin indoleacetic acid participating in process of growth and formation of mycelium, are practically not studied yet, the study of ability of endophytic fungi to synthesize auxins and gibberellins represent fundamental interest [7-11].

In these regards, the aim of this work was to study hormone-synthesizing ability of fungi-endophytes belonging to genera *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* of class *Hyphomycetes* isolated from stinky ferula (*Ferula foetita*) and Sharipov's tulip (*Tulipa scharipovii*).

## Materials and methods

Isolation of endophytic fungi was conducted according to Hazalin et al. [5]. To do this plants were thoroughly washed under running water for 10 h. To remove epiphyte microflora the surface of plants was disinfected by 70% ethanol for 1 min and flamed for 10 sec. Then plants were washed in sterile water, aseptically chopped by scalpel on pieces with size no more than 5 mm, which were placed on Petri dishes with Czapek-Dox agar containing chlortetracycline (50 mg/ml) and streptomycin sulfate (250 mg/ml) to suppress growth of bacteria and then incubated for 7-14 days at 28°C. Grown fungal isolates were transferred on Czapek-Dox medium without antibiotics.

Identification of isolated fungal strains to genera was conducted according to guidebook [12].

Isolated fungi-endophytes were cultivated on Czapek-Dox broth on rotary shaker (180 rpm, t 28°C) for 5 days. Cultural broth was separated by centrifugation (6000 rpm) for 15 min.

Presence of indoleacetic (IAA) and gibberellic acids (GA) were determined on spectrophotometer Specol-1300 (Germany). Calibrating curves were built according to standards of IAA and GA (Sigma, USA). Control was distilled water. Cultural broth was diluted at ratio 1:20 by distilled water. Determination of IAA and GA was done according to Salkovskiy[13] and Muromtsev[14], respectively.

## Results of study and discussion

To study hormone synthesizing ability 11 strains of fungi-endophytes were selected. They were isolated from stinky ferula (*Ferula foetita*) and Sharipov's tulip (*Tulipa scharipovii*) – the best representatives of soil-climatic zones with stress environmental conditions – collected on territory of Southern-Western Kyzyl-Kum (foothills of Kuljuntog mountain) and Namangan region (Pap adyr) (table 1).

It is necessary to note that ferula and tulip growing on sand with minimal level of precipitation from of old are used as general health-improving, antitoxic, anti-inflammatory and tonic remedy in medicine of China and Central Asia. Avicenna successfully used preparations from these plants at cure of diseases of upper respiratory tract, gastrointestinal tract, infections, and so on. Ferula and tulip possess anti-tumor activity. Modern study revealed that stinky ferula has immunostimulating and detoxicating features. It was established that this feature of ferula allows to prevent development of immunosuppressive state of cancer patients and to improve their general state, extending their life in average by 50%.

Table 1 - Fungi-endophytes – phytohormones-producers

| Plant-host                                    | Fungi-endophytes                   | Plant's part | GA, µg/ml | IAA, µg/ml |
|---|------------------------------------|--------------|-----------|------------|
| Stinky ferula ( <i>Ferula foetita</i> )       | <i>Fusarium sp.</i> - FF59S        | Stem         | 50        | 300        |
|   | <i>Fusarium sp.</i> - FF60S        |              | 10        | 50         |
|   | <i>Alternaria sp.</i> - FF61S      |              | 30        | 190        |
|   | <i>Alternaria sp.</i> -FF62L       | Leaf         | 30        | 210        |
|   | <i>Alternaria sp.</i> -FF63L       |              | 40        | 280        |
|   | <i>Drechslera sp.</i> - FF64L      |              | 20        | 150        |
|   | <i>Aspergillus terreus</i> - FF65L |              | 40        | 250        |
| Sharipov's tulip( <i>Tulipa scharipovii</i> ) | <i>Fusarium sp.</i> -TSch70        | Bulb         | 30        | 110        |
|   | <i>Fusarium sp.</i> -TSch71        |              | 40        | 160        |
|   | <i>Aspergillus niger</i> - TSch73  |              | 10        | 90         |
|   | <i>Fusarium sp.</i> - TSch72L      | Leaf         | 50        | 260        |

Data presented in table testifies that cultural broth of all studied strains of fungi-endophytes contains IAA and GA in different quantities. High content of IAA and GA was observed at 4 strains: *Fusarium sp.* - FF59S, *Alternaria sp.* - FF63L, *Aspergillus terreus* - FF65L (isolated from stem and leaf of stinky ferula – *Ferula foetita*), and *Fusarium sp.*- TSch72L (isolated from leaf of Sharipov's tulip – *Tulipa scharipovii*). The IAA level in selected strains of fungi-endophytes was in 6-7 times higher than the GA level.

It is known, that under action of one piece of environmental factor the content of auxins and gibberellins changes in opposite way. E.g., improve in nutrition of plants with nitrogen increases auxins content and gibberellins content decreases. Exposition to light in contrary, increases gibberellins content and decreases content of auxins. But, quality of light greatly impacts content of gibberellins: plants' cultivation at red light results in higher yield of gibberellins rather than blue light [1,2]. It is necessary to note that collection of studied plants and isolation of fungi-endophytes was conducted in May – during period of extending daylight hours and fast increase of power of sun UV-radiation, which apparently affected directly the level of synthesized hormones by fungi-endophytes.

It is known that both hormones are synthesized in leaves: IAA is formed from tryptophan amino acid and GA from mevalonic acid, then hormones penetrate growing stem and roots. Three selected strains of fungi-endophytes synthesizing 250-280 µg/ml of IAA and 40-50 µg/ml of GA were isolated exactly from leaves. At the same time inversely proportional level of auxins and gibberellins' content is stipulated by common precursor – acetyl-CoA, at presence of which are formed both mevalonic and *b*-ketoglutaric acid, which is one of precursors at auxin synthesis via tryptophan [3,4]. Obtained data testifies that in general the higher content of hormones is observed in endophytes isolated from leaves. Nevertheless, strain *Fusarium sp.-FF59S* isolated from stem of stinky ferula also produces high quantity of IAA (300 µg/ml).

Thus, we have established ability at indigenous strains of endophytic fungi from class *Hyphomycetes* to synthesize considerable quantities of phytohormones. Apparently, synthesis of phytohormones by fungi-endophytes is one of links in physiology of growth and development of plant-host. Considering that currently phytohormones are widely used in agriculture and biotechnology, endophytic fungi *Alternaria sp.-FF63L*, *Aspergillus terreus-FF65*, *Fusarium sp.-FF59S*, and *Fusarium sp.-TSch72L*, possessing high level of synthesis of IAA and GA, are perspective objects for development of new technologies for production of growth promoting preparations.

#### References:

- 1 Veselov A.P., Lobov V.P., Olyunina L.N. Change of phytohormones' content in response to action of plants at the malshock and in period of its consequence // *Fiziologiya rasteniy*, 1998, v.45, №5, p.709-718.
- 2 Polevoy V.V. Mechanism of auxin action and its role in systems of regulation and integration of plants // *Vestnik SpbGU*, 1998, is.2, №10, p. 34-41.
- 3 Kudoyarova G.R. Immunochemical study of hormone system of plants: regulation of growth and response on external impact // *Avtoreferat doktorskoy dissertatsii*, Spb, 1996, 48 p.
- 4 Bandurski R.S., Cohen J.D., Slovin J.S., Reineske D.M. Auxin biosynthesis and metabolism // *Plant Hormones* / Ed. P.J. Davies. Amsterdam: Kluwer Academic Publishers, 1995, p. 38-65.
- 5 Hazalin N.A., Ramasamy K., Lim S.M., Wahab I.A., Cole A.Lj, Majeed A.A. Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. *BMC Complementary and alternative medicine*, 2009, 9:46.
- 6 Zubek S., Nobis M., Blaszkowski J., Mleczko P., Nowak A. Fungal root endophyte associations of plants endemic to the Pamir Alay Mountains of Central Asia. *Symbiosis*, 2011, 54:139-149.
- 7 Simko M.V. Screening of ecologically safe means of protection of PVC-materials from biodeterioration by micromycetes on basis of study of production of indoleacetic acid. *Avtoreferat kandidatskoy dissertatsii*, 2002, 124 p.
- 8 Katsy E.I. Auxins' participation in regulation of expression of genes of bacteria and plants // *Genetika*, 1997, v. 33, №5, p. 565-576.
- 9 Tomita K., Suzuki M., Takashiro Y., Nakamura T.Z., Nakamura T. The effects of auxin and gibberellin on the plasma streaming in *Neosporocrassa* // 15th Int. Bot. Congr., Yokodama, Aud. 28 September 1993, p. 458.
- 10 Lebuhn M., Thierry H.A. Production of auxin and over indolic and phenolic compounds by *Paenibacillus polymyxa* to plant roots // *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1997, V. 22, № 4, p. 325-334.
- 11 Kobylskiy G.I., Alipbeko O.A., Gertsog N.M. IAA biosynthesis by phytopathogenic fungi *Septoriana odorum* (Berk) // *Vestnik sel'hoz nauk Kazakhstana*, 1990, №8, p. 37-39.
- 12 Litvinov M.A. Guidebook to determination of microscopic fungi // Leningrad, Nauka, 1967.

- 13 Chumakov M.I., Gorban V.V., Kovler L.E. A new associative diazotroph *Agrobacterium radiobacter* from histosphere of wheat // Mikrobiologiya, 1992, v.61, p.92-102.
- 14 Muromtsev G.S., Nestyuk M.N. Quantitative colorimetric determination of gibberellic acid // Vestniksel'hoznauk, 1960, №2, p.119-122.