

МРНТИ: 62.09.39

О.Н. ШЕМШУРА^{1*}, Ж.Б. СУЛЕЙМЕНОВА¹, Ж.К. РАХМЕТОВА¹,
Ж.Н. ШЕМШЕЕВА¹, Э.Т. ИСМАИЛОВА¹, П. СОБИЧЕВСКИ²

¹ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,
Алматы, Казахстан

²Научно-исследовательский институт садоводства, Скерневице, Польша
*olgashemshura@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ БИОСОВМЕСТИМОСТИ МУТАНТНЫХ ШТАММОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ И PGPR БАКТЕРИЙ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ

doi: 10.53729/MV-AS.2021.03.04

Аннотация

В статье приведены результаты исследования биосовместимости мутантных штаммов клубеньковых и PGPR бактерий (ризобактерий) с целью их совместного применения для культур маша и фасоли. По результатам проведенных исследований определены штаммы, проявившие контактную прогрессию и нейтралитет - *Pseudomonas putida* M-1 и *Phyllobacterium* sp. 35M; штаммы *Bacillus subtilis* M-2 и *Chryseobacterium rhizoplanae* 1M оказались наиболее перспективными в отношении совместного культивирования. Таким образом, подобраны консорциумы на основе мутантных штаммов азотфиксирующих и ростостимулирующих бактерий *Pseudomonas putida* M-1 и *Chryseobacterium rhizoplanae* для растений маша и *Bacillus subtilis* M-2 и *Phyllobacterium* sp. 35M - для растений фасоли.

Полученные результаты открывают возможность комбинирования мутантных штаммов PGPR с ростостимулирующей активностью (*Pseudomonas putida* M-1, *Bacillus subtilis* M-2) и клубеньковых бактерий (*Phyllobacterium* sp. 35M, *Chryseobacterium rhizoplanae*) с азотфиксирующей активностью с целью получения на их основе биопрепарата с сочетанными свойствами.

Ключевые слова: PGPR бактерии, клубеньковые бактерии, биосовместимость, препарат, маш, фасоль

Использование PGPR бактерий, способных стимулировать рост растений, широко вошло в практику современной агробиотехнологии [1].

Рынок биопрепаратов на основе штаммов PGPR является бурно растущим сегментом мировой экономики и оценивается в более чем один миллиард долларов США с прогнозами десятикратного роста в период до 2025 года [2].

С развитием новейших технологий в сельском хозяйстве одним из популярных направлений является создание комплексных биопрепаратов, состоящих из нескольких различных штаммов микроорганизмов [3-6]. Это направление становится перспективным, поскольку, дополняя друг друга, эти микроорганизмы имеют более эффективное действие по сравнению с монопрепаратами [7].

При создании многокомпонентных сухих препаратов не всегда учитывается биосовместимость и особенно, когда по технологии смешивают уже высушенные монокультуры. В этом случае невозможно прогнозировать поведение культур.

При создании же жидких многокомпонентных препаратов разработчики сталкиваются с проблемой отбора штаммов, испытанных на биосовместимость уже на этапе конструирования препарата. В связи с этим, нами была изучена

биосовместимость штаммов PGPR и клубеньковых бактерий для дальнейшей разработки консорциума микроорганизмов.

Для этой цели была поставлена задача изучения биосовместимости штаммов, выделенных из клубеньков сои и маша, и PGPR бактерий. Оценку биосовместимости исследуемых бактерий определяли методом перпендикулярных штрихов и методом лунок.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования явились мутантные штаммы PGPR бактерий *Pseudomonas putida* M-1, *Azotobacte chroococcum* M-1, *Bacillus subtilis* M-1, *Bacillus subtilis* M-2 и клубеньковых бактерий *Chryseobacterium rhizoplanae* 1M и *Phyllobacterium* sp. 35M, полученные в результате мутагенеза с использованием УФ-облучения. В качестве мутагена физической природы применяли ультрафиолетовые лучи длиной волны 260 нм, при которой наблюдается максимум поглощения УФ-света молекулами ДНК.

УФ-мутагенез проводили по методу, описанному KamalaKumari et al. [8]. Единичные колонии PGPR бактерий суспендировали в 3 мл жидкой питательной среды. После этого 0,5 мл каждого образца добавляли к 50 мл жидкой питательной среды и культивировали при температуре 30°C (200 об/мин) до тех пор, пока оптическая плотность не достигала 600 ед. Через 6 часов инкубации полученная культуральная жидкость должна соответствовать культуре средней фазы. После этого отбирали 20 мл культуральной жидкости и центрифугировали в течение 10 минут при 1700 об/мин. Осадок ресуспендировали в фосфатном буфере (pH - 7,0), после чего 15 мл суспензии подвергалось воздействию УФ-лучей с использованием УФ лампы (30 Вт) длиной волны 260 нм в течение 30, 45 и 60 минут (расстояние до лампы 10 см). Далее использовали серийные разведения для вычисления процента летальности.

Оценку биосовместимости исследуемых бактерий определяли методом лунок и методом перпендикулярных штрихов [9]. Определение КОЕ бактерий проводилось по методу Коха [10].

Полученные данные обрабатывали методом вариационно-статистического анализа, принимая критерием вероятности $P < 0.05$ [11].

Результаты и обсуждение

Для исследования были взяты мутантные штаммы PGPR бактерий с ростостимулирующей активностью [12] и мутантные штаммы клубеньковых бактерий с азотфиксирующей активностью [13]. Исследование биосовместимости штаммов PGPR и клубеньковых бактерий проводили методом перпендикулярных штрихов, основанном на анализе характера роста колоний бактерий при их совместном росте в чашках Петри, что предполагает совместное культивирование бактериальных штаммов на плотной питательной среде.

Это позволило нам разделить их на 4 группы:

- 1 - контактная регрессия (подавление роста исследуемого штамма подсеваемой культурой);
- 2 – нейтралитет (независимый рост исследуемого и подсеваемого штаммов);
- 3 - контактная прогрессия (стимулирование роста друг друга);
- 4 – антагонизм.

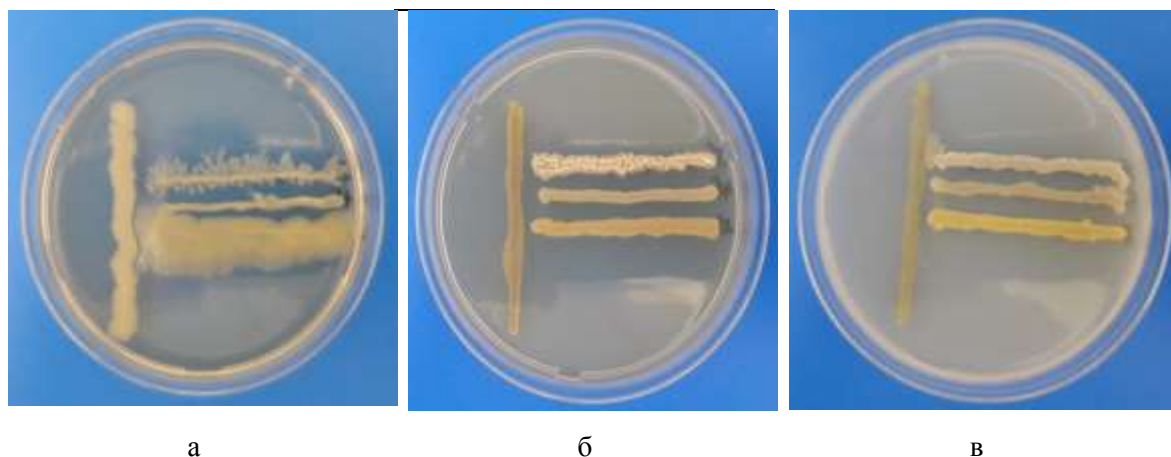
Условием для включения штамма в консорциум было наличие взаимодействия типа «нейтралитет» или «контактная прогрессия». При задержке роста одного штамма культуры принято считать несовместимыми. При условии

биосовместимости исследуемых штаммов зоны роста сливаются без образования четких границ.

Определение биосовместимости бактерий показало, что мутантные штаммы PGPR бактерий и клубеньковых бактерий обнаружили контактную регрессию и антагонизм по отношению ко всем исследуемым штаммам клубеньковых бактерий (Таблица 1, рисунок 1).

Таблица 1 - Биосовместимость мутантных штаммов клубеньковых и PGPR бактерий

PGPR бактерии	Клубеньковые бактерии (номера штаммов)					
	3М	19М	25М	35М	45М	1М
<i>Pseudomonas putida M-1</i>	4	4	4	2	1	3
<i>Azotobacter chroococcum M-1</i>	1	4	1	1	1	1
<i>Bacillus subtilis M-1</i>	1	1	1	4	4	4
<i>Bacillus subtilis M-2</i>	1	1	4	3	1	3



а

б

в

а - антагонизм; б - контактная регрессия; в - нейтралитет

Рисунок 1 – Оценка биосовместимости исследуемых культур методом перпендикулярных штрихов

Высокая антагонистическая активность наблюдалась у штамма *Pseudomonas putida M-1* по отношению к штаммам 3М, 19М и 25М и контактная регрессия - к штаммам 45М и 1М. Штамм *Bacillus subtilis M-2* оказался несовместимым со всеми исследуемыми штаммами PGPR бактерий за исключением штамма 1М.

Штаммы, проявившие контактную прогрессию и нейтралитет - *Pseudomonas putida M-1* и *Phyllobacterium sp.* 35М; штаммы *Bacillus subtilis M-2* и *Chryseobacterium rhizoplanae* 1М оказались наиболее перспективными в отношении совместного культивирования. Высокая степень биосовместимости этих штаммов, установленная нами в данном опыте, определила целесообразность их использования в составе консорциума для совместного культивирования.

Помимо метода перпендикулярных штрихов, нами проведена оценка биосовместимости мутантных штаммов клубеньковых и PGPR бактерий методом лунок. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 –Антагонистическая активность клубеньковых бактерий в отношении PGPR бактерий

PGPR бактерии	Клубеньковые бактерии					
	3М	19М	25М	45М	35М	1М
зоны подавления роста, мм						
<i>Pseudomonas putida M-1</i>	19,3±2,1	14,6±2,0	20,6±3,2	8,0±1,7	0	0
<i>Bacillus subtilis M-1</i>	0	0	0	12,3±2,1	16,0±1,0	14,3±4,0
<i>Azotobacter chroococcum M-1</i>	0	11,0±1,7	0	0	0	0

Для этой цели на свежесеянном газоне PGPR бактерий вырезали лунки диаметром 7 мм. В лунки вносили культуральную жидкость исследуемого штамма клубеньковых бактерий, после чего чашки Петри помещали в термостат при 28°C на 24 часа. По истечении этого времени измеряли зону ингибирования роста PGPR бактерий вокруг лунок. Так, на рисунке 2 показаны зоны подавления роста *Bacillus subtilis M-1* и *Pseudomonas putida M-1* штаммом *Phyllobacterium sp. 45M*.

Как видно из представленных в таблице 2 данных, рост *Pseudomonas putida M-1* практически полностью подавлялся мутантными штаммами клубеньковых бактерий *Agrobacterium tumefaciens* 3М, и *Phyllobacterium sp. 19М, 25М* и 45М (зоны подавления роста для них варьировали в пределах 8-20 мм).

Сравнительно высокие зоны задержки роста также продемонстрировали штаммы *Phyllobacterium sp. 35М, 45М* и *Chryseobacterium rhizoplanae 1М* по отношению к *Bacillus subtilis M-1* (12-16 мм), а штаммы *Agrobacterium tumefaciens 3М, Phyllobacterium sp. 19М, 35М, 45М* и *Chryseobacterium rhizoplanae 1М* не ингибировали рост *Bacillus subtilis M-2*, что говорит о совместимости данных культур. Более того, все исследуемые мутантные штаммы *Agrobacterium tumefaciens 3М, Phyllobacterium sp. 25М, 35М, 45М* и *Chryseobacterium rhizoplanae 1М* не подавляли рост культуры *Azotobacter chroococcum M-1*, что также говорит об их совместимости.

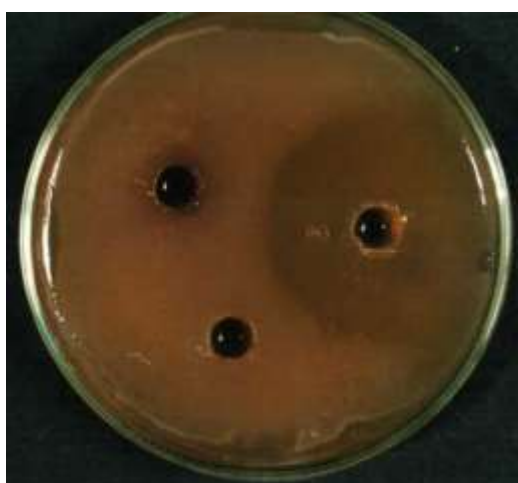
*Bacillus subtilis M-1**Pseudomonas putida M-1*

Рисунок 2 - Оценка биосовместимости исследуемых культур методом лунок (зоны подавления роста)

Таким образом, по результатам проведенных двумя методами исследований определены следующие консорциумы на основе мутантных штаммов азотфиксирующих и ростостимулирующих бактерий:

- *Pseudomonas putida* M-1 и *Chryseobacterium rhizoplanae* 1M (для маша);
- *Bacillus subtilis* M-2 и *Phyllobacterium* sp. 35M (для фасоли).

Полученные результаты открывают возможность комбинирования мутантных штаммов PGPR бактерий с ростостимулирующей активностью и клубеньковых бактерий с азотфиксирующей активностью с целью получения на их основе биопрепарата с сочетанными свойствами.

Литература:

- 1 Минаева О.М., Акимова Е.Е., Зюбанова Т.И., Терещенко Н.Н. Биопрепараты для защиты растений: оценка качества и эффективности. – Томск: Издательский Дом Томского государственного университета, 2018. – 130 с.
- 2 Lokko, Y. Biotechnology and the bioeconomy – Towards inclusive and sustainable industrial development / Y. Lokko, M. Heijde, K. Schebesta, P. Scholtès, M. Van Montagu, M. Giacca // New biotechnology. – 2017.
- Choong-Min Ryu Promoting Plant Protection by Root-Associated Microbes//Plant Pathol. J.- 2013. - Vol.29(2).- P.123-124.
- 3 Lily PeregMary, McMillan Scoping the potential uses of beneficial microorganisms for increasing productivity in cotton cropping systems// Soil Biology & Biochemistry 80.- 2015.- P.349-358.
- 4 Rifat Hayat, Safdar Ali, Ummay Amara, Rabia Khalid, Iftikhar Ahmed. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review// Ann Microbiol. -2010. –N. 60. – P.579–598.
- 5 Бурьгин Г.Л. Физиолого-биохимические основы защиты растений ризосферными бактериями// Современные подходы и методы в защите растений, Екатеринбург, 12–14 ноября 2018 г. – С.10-11.
- 6 Муродова С.С., Давранов К.Д. Комплексные микробные препараты. Применение в сельскохозяйственной практике// Biotechnologia Acta. – 2014. – No 6. – P.92-101.
- 7 KamalaKumari P. V., Sankar G. G., Prabhakar T. Strain improvement studies for the production of L-asparaginase by *Beauveria bassiana* SS18/41 // International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. – 2015. – Vol. 31(2). – P. 173-176.
- 8 Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: учебник / под ред. Н.С. Егорова. – Изд. 6-е, перер. и доп. – М.:МГУ, 2004. – 528 с.
- 9 Перт С. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. - М.: Мир, 1978. - 231 с.
- 10 Гланц С. Медико-биологическая статистика / пер.с англ. – М.: Практика. – 1998. – 459 с.
- 11 Шемшура О.Н., Сулейменова Ж.Б., Рахметова Ж.К., Шемшеева Ж.Н., Момбекова Г.А. Влияние состава питательной среды на ростостимулирующую активность мутантных штаммов PGPR бактерий// Микробиология және вирусология. – 2019. - №3(26). – С.11-19.
- 12 Шемшура О.Н., Сулейменова Ж.Б., Алимжанова М.Б., Рахметова Ж.К., Шемшеева Ж.Н., Момбекова Г.А. Подбор оптимальных питательных сред для культивирования мутантных штаммов азотфиксирующих бактерий// Микробиология және вирусология. – 2020. - №1(28). – С.72-81.

О.Н. ШЕМШУРА^{1*}, Ж.Б. СУЛЕЙМЕНОВА¹, Ж.К. РАХМЕТОВА¹,
Ж.Н. ШЕМШЕЕВА¹, Э.Т. ИСМАИЛОВА¹, П. СОБИЧЕВСКИ²

¹ЖШС «Микробиология және вирусология ғылыми – өндірістік орталығы,
Алматы, Қазақстан

²Бау-бақша шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты, Скерневице, Польша
*olgashemshura@mail.ru

МИКРОБТЫҚ ПРЕПАРАТТАРДЫҢ НЕГІЗІ БОЛЫП ТАБЫЛАТЫН ТҮЙНЕК БАКТЕРИЯЛАРЫ МЕН PGPR БАКТЕРИЯЛАРЫНЫҢ МУТАНТТЫ ШТАМДАРЫНЫҢ БИОСӘЙКЕСТІГІН ЗЕРТТЕУ

Түйін

Мақалада түйнек бактериялары мен PGPR бактерияларының мутантты штамдарын мәш пен бұршақ дақылдары үшін бірге қолдану мақсатында, олардың биосәйкестігі зерттеулері нәтижелері берілген. Зерттеу нәтижелері бойынша контактілі прогрессия мен бейтараптықты көрсеткен штамдар анықталды - *Pseudomonas putida* M-1 және *Phyllobacterium* sp. 35M; *Bacillus subtilis* M-2 және *Chryseobacterium rhizoplanea* 1M штамдары бірлесіп өсіру үшін ең перспективті екендігі анықталды. Осылайша, азотфиксациялаушы және өсуді стимулдеуші бактериялары мутантты штамдары негізінде консорциумдар іріктеліп алынды: мәш өсімдігі үшін *Pseudomonas putida* M-1 және *Chryseobacterium rhizoplanea*, бұршақ өсімдігі үшін *Bacillus subtilis* M-2 және *Phyllobacterium* sp. 35M.

Алынған нәтижелер мутантты PGPR штамдарын өсуді стимулдейтін белсенділікпен (*Pseudomonas putida* M-1, *Bacillus subtilis* M-2) және түйнек бактерияларын (*Phyllobacterium* sp. 35M, *Chryseobacterium rhizoplanea*) азотфиксациялау белсенділігімен біріктіру мүмкіндігін ашады, олардың негізінде аралас қасиеттерге ие биопрепараттар алу мақсаты жүзеге асады.

Кілтті сөздер: PGPR бактериялары, түйнек бактериялары, биосәйкестік, препарат, мәш, бұршақ.

IRSTI: 62.09.39

O.N. SHEMSHURA^{1*}, ZH.B. SULEIMENOVA¹, ZH.K. RAKHMETOVA¹,
ZH. N. SHEMSHEYEVA¹, E.T. ISMAILOVA¹, P. SOBICZEWSKI²

¹LLP “Research and Production Center for Microbiology and Virology”,
Almaty, Kazakhstan

²Research Institute of Horticulture, Skierniewice, Poland
*olgashemshura@mail.ru

STUDY OF THE BIOCOMPATIBILITY OF MUTANT STRAINS OF ROOT NODULE AND PGPR BACTERIA, PROMISING AS A BASIS OF MICROBIAL PREPARATIONS

doi: 10.53729/MV-AS.2021.03.04

Summary

The article presents the results of a study of the biocompatibility of mutant strains of nodule and PGPR bacteria with the aim of their combined use for mung bean and beans. According to the results of the studies, the strains that showed contact progression and neutrality were identified - *Pseudomonas putida* M-1 and *Phyllobacterium* sp. 35M; strains *Bacillus subtilis* M-2 and *Chryseobacterium rhizoplanea* 1M proved to be the most promising for co-cultivation. Thus, consortia were selected based on mutant strains of nitrogen-fixing and growth-stimulating

bacteria *Pseudomonas putida* M-1 and *Chryseobacterium rhizoplanæ* for mung bean and *Bacillus subtilis* M-2 and *Phyllobacterium* sp. 35M for bean plants.

The results obtained open up the possibility of combining mutant PGPR strains with growth-stimulating activity (*Pseudomonas putida* M-1, *Bacillus subtilis* M-2) and nodule bacteria with nitrogen-fixing activity (*Phyllobacterium* sp. 35M, *Chryseobacterium rhizoplanæ*) in order to obtain a biological product with combined properties on their basis.

Key words: PGPR bacteria, root nodule bacteria, biocompatibility, drug, mung bean, beans

The use of PGPR bacteria capable of stimulating plant growth has become widely practiced in modern agrobiotechnology [1].

The market for biologics based on PGPR strains is a rapidly growing segment of the global economy and is estimated at more than one billion US dollars with projections of tenfold growth in the period up to 2025 [2].

With the development of the latest technologies in agriculture, one of the popular directions is the creation of complex biological products, consisting of several different strains of microorganisms [3-6]. This direction is becoming promising, since, complementing each other, these microorganisms have a more effective effect in comparison with monopreparations [7].

When creating multicomponent dry preparations, biocompatibility is not always taken into account, and especially when already dried mono-cultures are mixed using technology. In this case, it is impossible to predict the behavior of crops.

When creating liquid multicomponent drugs, developers are faced with the problem of selecting strains that have been tested for biocompatibility already at the stage of drug design. In this regard, we studied the biocompatibility of PGPR strains and nodule bacteria for the further development of a consortium of microorganisms.

For this purpose, the task was set to study the biocompatibility of strains isolated from soybean and mung bean nodules and PGPR bacteria. The assessment of the biocompatibility of the bacteria under study was determined by the method of perpendicular streaks and the method of holes.

Materials and methods

The objects of the study were mutant PGPR strains of bacteria *Pseudomonas putida* M-1, *Azotobacte chroococcum* M-1, *Basillus subtilis* M-1, *Basillus subtilis* M-2, and nodule bacteria *Chryseobacterium rhizoplanæ* 1M and *Phyllobacterium* sp. 35M obtained by mutagenesis using UV irradiation. Ultraviolet rays with a wavelength of 260 nm were used as a mutagen of physical nature, at which the maximum absorption of UV light by DNA molecules is observed.

UV mutagenesis was performed according to the method described by KamalaKumari et al. [eight]. Single colonies of PGPR bacteria were suspended in 3 ml of liquid culture medium. After that, 0.5 ml of each sample was added to 50 ml of liquid nutrient medium and cultured at a temperature of 300C (200 rpm) until the optical density reached 600 units. After 6 hours of incubation, the resulting culture fluid should correspond to the culture of the middle phase. After that, 20 ml of the culture liquid was taken and centrifuged for 10 minutes at 1700 rpm. The precipitate was resuspended in phosphate buffer (pH - 7.0), after which 15 ml of the suspension was exposed to UV rays using a UV lamp (30 W) with a wavelength of 260 nm for 30, 45 and 60 minutes (distance to the lamp 10 cm) ... Next, serial dilutions were used to calculate the percentage of lethality.

Evaluation of the biocompatibility of the bacteria under study was determined by the method of holes and the method of perpendicular strokes [9]. Determination of CFU of bacteria was carried out according to the Koch method [10].

The data obtained were processed by the method of statistical variation analysis, taking the probability criterion $P < 0.05$ [11].

Results and discussion

For the study, we took mutant strains of PGPR bacteria with growth-stimulating activity [12] and mutant strains of nodule bacteria with nitrogen-fixing activity [13]. The study of the biocompatibility of PGPR strains and nodule bacteria was carried out by the method of perpendicular strokes, based on the analysis of the nature of the growth of bacterial colonies during their joint growth in Petri dishes, assumes the joint cultivation of bacterial strains on a solid nutrient medium.

This allowed us to divide them into 4 groups:

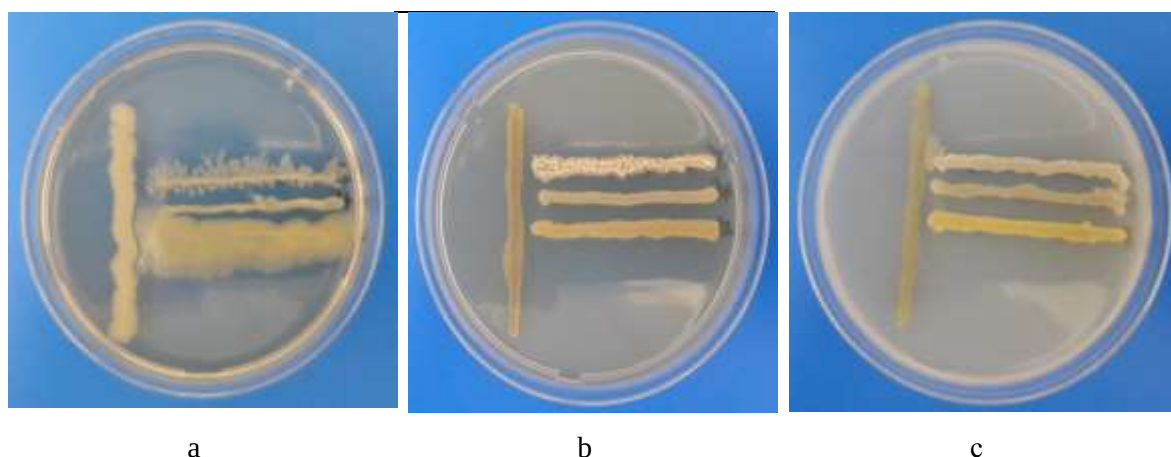
- 1 - contact regression (suppression of the growth of the studied strain by the sown crop);
- 2 - neutrality (independent growth of the studied and sown strains);
- 3 - contact progression (stimulating each other's growth);
- 4 - antagonism.

The condition for the inclusion of the strain in the consortium was the presence of an interaction of the "neutrality" or "contact progression" type. With a growth retardation of one strain, cultures are considered to be incompatible. Under the condition of biocompatibility of the studied strains, the growth zones merge without the formation of clear boundaries.

Determination of bacterial biocompatibility showed that mutant strains of PGPR bacteria and nodule bacteria showed contact regression and antagonism with respect to all studied strains of nodule bacteria (Table 1, Figure 1).

Table 1 - Biocompatibility of mutant strains of nodule and PGPR bacteria

PGPR bacteria	Nodule bacteria (strain numbers)					
	3M	19M	25M	35M	45M	1M
<i>Pseudomonas putida M-1</i>	4	4	4	2	1	3
<i>Azotobacter chroococcum M-1</i>	1	4	1	1	1	1
<i>Bacillus subtilis M-1</i>	1	1	1	4	4	4
<i>Bacillus subtilis M-2</i>	1	1	4	3	1	3



a - antagonism; b - contact regression; c - neutrality

Figure 1 - Assessment of the biocompatibility of the studied cultures by the method perpendicular strokes

High antagonistic activity was observed in the *Pseudomonas putida* M-1 strain in relation to strains 3M, 19M and 25M and contact regression to strains 45M and 1M. The *Bacillus subtilis* M-2 strain turned out to be incompatible with all the studied PGPR bacterial strains, with the exception of the 1M strain.

The strains showing contact progression and neutrality are *Pseudomonas putida* M-1 and *Phyllobacterium* sp. 35M; strains *Bacillus subtilis* M-2 and *Chryseobacterium rhizoplanae* 1M proved to be the most promising for co-cultivation. The high degree of biocompatibility of these strains, established by us in this experiment, determined the expediency of their use as part of a consortium for joint cultivation.

In addition to the method of perpendicular strokes, we evaluated the biocompatibility of mutant strains of nodule and PGPR bacteria using the well method. The results are shown in Table 2.

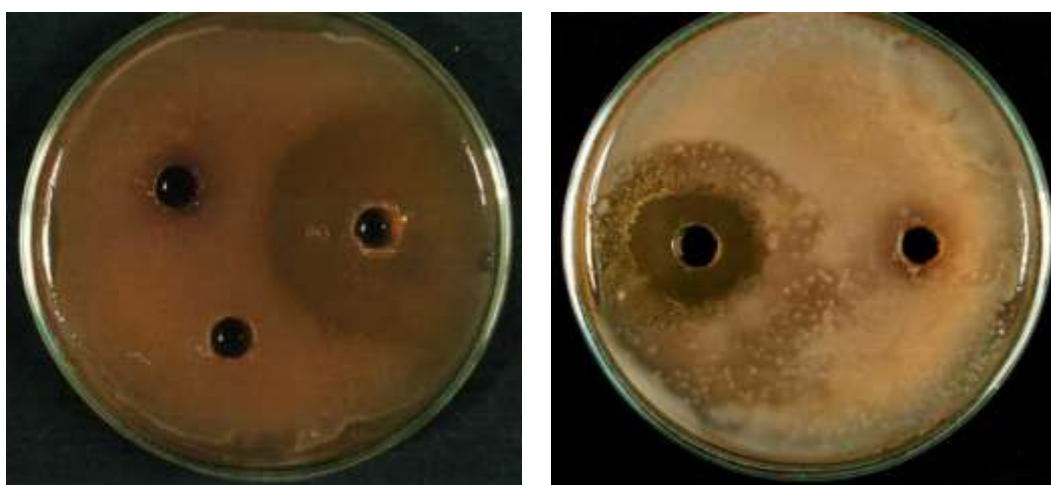
Table 2 - Antagonistic activity of nodule bacteria against PGPR bacteria

PGPR bacteria	Nodule bacteria					
	3M	19M	25M	45M	35M	1M
growth inhibition zones, mm						
<i>Pseudomonas putida</i> M-1	19.3 ± 2.1	14.6 ± 2.0	20.6 ± 3.2	8.0 ± 1.7	0	0
<i>Bacillus subtilis</i> M-1	0	0	0	12.3 ± 2.1	16.0 ± 1.0	14.3 ± 4.0
<i>Bacillus subtilis</i> M-2	0	0	11.3 ± 2.3	0	0	0
<i>Azotobacter Chroococcum</i> M-1	0	11.0 ± 1.7	0	0	0	0

For this purpose, 7 mm wells were cut out on a freshly seeded PGPR lawn of bacteria. The culture fluid of the studied strain of nodule bacteria was introduced into the wells, after which the dishes were placed in a thermostat at 28 ° C for 24 hours. After this time, the zone of inhibition of growth of PGPR bacteria around the wells was measured. Thus, Figure 2 shows the zones of inhibition of the growth of *Bacillus subtilis* M-1 and *Pseudomonas putida* M-1 by the *Phyllobacterium* sp. 45M.

As can be seen from the data presented in Table 2, the growth of *Pseudomonas putida* M-1 was almost completely inhibited by mutant strains of nodule bacteria *Agrobacterium tumefaciens* 3M, and *Phyllobacterium* sp. 19M, 25M and 45M (the growth inhibition zones for them varied within 8-20 mm).

Strains of *Phyllobacterium* sp. 35M, 45M and *Chryseobacterium rhizoplanae* 1M in relation to *Bacillus subtilis* M-1 (12-16 mm), and strains of *Agrobacterium tumefaciens* 3M, *Phyllobacterium* sp. 19M, 35M, 45M and *Chryseobacterium rhizoplanae* 1M did not inhibit the growth of *Bacillus subtilis* M-2, which indicates the compatibility of these cultures. Moreover, all studied mutant strains of *Agrobacterium tumefaciens* 3M, *Phyllobacterium* sp. 25M, 35M, 45M and *Chryseobacterium rhizoplanae* 1M did not suppress the growth of the *Azotobacter chroococcum* M-1 culture, which also indicates their compatibility.



Bacillus subtilis M-1

Pseudomonas putida M-1

Figure 2 - Evaluation of the biocompatibility of the studied cultures by the method of wells (growth inhibition zones)

Thus, according to the results of the studies carried out by two methods, the following consortia were identified based on mutant strains of nitrogen-fixing and growth-stimulating bacteria:

- *Pseudomonas putida* M-1 and *Chryseobacterium rhizoplanae* 1M (for mung bean);
- *Bacillus subtilis* M-2 and *Phyllobacterium* sp. 35M (for beans).

The results obtained open up the possibility of combining mutant PGPR strains with growth-stimulating activity and nodule bacteria with nitrogen-fixing activity in order to obtain a biological product with combined properties on their basis.

References:

- 1 Minaeva O.M., Akimova E.E., Ziubanova T.I., Tereshchenko N.N. Biopreparaty dlia zashchity rastenii: otsenka kachestva i effektivnosti. Tomsk: Izdatel'skii Dom Tomskogo gosudarstvennogo universiteta, 2018: 130.
- 2 Lokko, Y. Biotechnology and the bioeconomy – Towards inclusive and sustainable industrial development: Y. Lokko, M. Heijde, K. Schebesta, P. Scholtès, M. Van Montagu, M. Giacca. New biotechnology, 2017.

3 Choong-Min Ryu Promoting Plant Protection by Root-Associated Microbes. *Plant Pathol. J.*, 2013, Vol.29(2): 123-124.

4 Lily PeregMary, McMillan Scoping the potential uses of beneficial microorganisms for increasing productivity in cotton cropping systems. *Soil Biology & Biochemistry* 80, 2015: 349-358.

5 Rifat Hayat, Safdar Ali, Ummay Amara, Rabia Khalid, Iftikhar Ahmed. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Ann Microbiol*, 2010, 60: 579–598.

6 Burygin G.L. Fiziologo-biokhimicheskie osnovy zashchity rastenii rizofernymi bakteriyami. *Sovremennye podkhody i metody v zashchite rastenii*. Ekaterinburg, 2018: 10-11.

7 Murodova S.S., Davranov K.D. Kompleksnye mikrobye preparaty. *Primenenie v sel'skokhoziaistvennoi praktike*. *Biotechnologia Acta*, 2014, 6: 92-101.

8 KamalaKumari P. V., Sankar G. G., Prabhakar T. Strain improvement studies for the production of L-asparaginase by *Beauveria bassiana* SS18/41. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2015, Vol. 31(2): 173-176.

9 Egorov N.S. Osnovy ucheniia ob antibiotikakh: uchebnyk / pod red. N.S. Egorova. Izd. 6-e, perer. i dop. M.:MGU, 2004: 528.

10 Pert S. Osnovy kul'tivirovaniia mikroorganizmov i kletok. M.: Mir, 1978: 231.

11 Glants S. Mediko-biologicheskaya statistika / per.s angl. M.: Praktika, 1998: 459.

12 Shemshura O.N., Suleimenova Zh.B., Rakhmetova Zh.K., Shemsheeva Zh.N., Mombekova G.A. Vliianie sostava pitatel'noi sredy na rostostimuliruiushchuiu aktivnost' mutantnykh shtamov PGPR bakterii. *Mikrobiologiya zhane virusologiya*, 2019, 3(26): 11-19.

13 Shemshura O.N., Suleimenova Zh.B., Alimzhanova M.B., Rakhmetova Zh.K., Shemsheeva Zh.N., Mombekova G.A. Podbor optimal'nykh pitatel'nykh sred dlia kul'tivirovaniia mutantnykh shtamov azotfiksiruiushchikh bakterii. *Mikrobiologiya zhane virusologiya*, 2020, №1(28): 72-81.