

МРНТИ: 62.09.39

Ж.Б. СУЛЕЙМЕНОВА*, О.Н. ШЕМШУРА, Г.А. МОМБЕКОВА, Ж.Н. ШЕМШЕЕВА
ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,
Алматы, Казахстан
* gnj40@inbox.ru

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА РОСТОСТИМУЛИРУЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ PGPR- БАКТЕРИЙ, СПОСОБСТВУЮЩИХ РОСТУ РАСТЕНИЙ

doi: 10.53729/MV-AS.2022.02.01

Аннотация

В статье приведены результаты исследования влияния мутантных штаммов ризобактерий, способствующих росту растений (PGPR- бактерий), подвергшихся ультрафиолетовому облучению, на всхожесть и энергию прорастания семян маша сорта «Победа-54» и фасоли сорта «Инжу - 077». В качестве объектов исследования использовались *Pseudomonas putida* 4/1, *Azotobacter chroococcum* P29 и *Bacillus subtilis*. В результате проведения УФ-облучения трех коллекционных штаммов PGPR-бактерий установлено, что 1%-ное выживание моноизолятов достигается при облучении УФ-лучами в течение 60 минут.

Обработка семян маша полученными мутантными штаммами оказала положительное влияние на всхожесть семян по сравнению с обработкой семян исходными вариантами ризобактерий и контролем. Однако увеличение ростостимулирующей активности по сравнению с исходными штаммами отмечено только у мутантного штамма *Pseudomonas putida* М-1. Длина стебля и корней при этом увеличилась в среднем в 1,2 раза (стебель) и в 1,08 раза (корень) по сравнению с этими показателями растений, семена которых были обработаны исходным штаммом, а по сравнению с контролем - в 2,9 и 2,6 раза, соответственно.

Обработка же семян фасоли мутантными штаммами исследуемых бактерий не оказала положительного влияния ни на всхожесть семян, ни на прирост корня и стебля по сравнению с исходными вариантами и контролем.

Ключевые слова: PGPR-бактерии, УФ-облучение, мутагенез, маш, фасоль

В мире постоянно растёт спрос на экологически чистую продукцию, и потребность сельского хозяйства в безопасных биологических препаратах увеличивается с каждым годом. В последнее время всё большее внимание ученых приковано к созданию биопрепаратов, основу которых составляют ризобактерии, стимулирующие рост растений – PGPR (plant growth promoting rhizobacteria). Использование в практике сельского хозяйства биологических препаратов, созданных на основе PGPR-бактерий, является одним из технологических приемов, способствующих повышению урожайности с/х культур [1, 2].

PGPR-бактерии положительно действуют на растения, а именно, обладают способностью фиксировать молекулярный азот атмосферы, синтезировать вещества гормональной природы (ауксины, гибберелины, цитокинины), витамины, вещества антибиотической и антифунгальной природы, а также способностью к разложению вредных химических соединений. Использование PGPR-бактерий способствует стимуляции прорастания семян и роста растений, улучшению азотного питания растений, образованию клубеньков у бобовых, подавляет развитие корневых гнилей растений и т.д. [3, 4].

В настоящее время источником многих генетических вариаций микроорганизмов является мутагенез, который позволяет повысить производительность штаммов-продуцентов и снизить затраты на их культивирование. Для получения высокоактивных штаммов ризобактерий используют методы физического и химического мутагенеза,

которые являются эффективным инструментом в повышении активности исследуемых культур и широко используются в биотехнологии [5, 6]. Известно, что индуцированные мутации - наследуемые изменения генома, возникающие в результате тех или иных мутагенных воздействий в искусственных (экспериментальных) условиях или при неблагоприятных воздействиях окружающей среды. Индуцирование мутации осуществляются с использованием мутагенных факторов физической и химической природы. Высокая мутабельность бактерий связана с особенностями организации генома, а также с высокой их скоростью размножения и роста. Поглощение света нуклеиновыми кислотами лежит в основе мутагенного и бактерицидного действия УФ-излучения. При этом повреждения возникают не только в молекуле ДНК, но и инактивируются ферменты репарации, что и приводит к возникновению мутаций [7, 8].

Известно, что индуцированный мутагенез является эффективным инструментом для достижения генетических и функциональных изменений организма. Так например, штаммы *Rhizobium*, выделенные из арахиса и пажитника, были подвержены УФ-мутагенезу, после чего полученные мутантные штаммы были обработаны мутагенами химической природы (EtBr, Acrylamide и Tetra Methyl Ethylene Diamine - TEMED). Далее было изучено влияние полученных мутантных штаммов на всхожесть и энергию прорастания семян арахиса и маша. Было установлено, что при обработке мутантными штаммами семян арахиса наблюдалась 50%-ная всхожесть, тогда как при обработке мутантными штаммами семян маша всхожесть была значительно выше – около 70–80% [8]. Таким образом, индуцированный мутагенез является удобным инструментом для достижения генетических и функциональных изменений организма.

Целью данного исследования было изучить влияние ультрафиолетового излучения на ростостимулирующую активность PGPR-бактерий.

Объекты и методы исследования

Объектами исследований служили бактерии из коллекции ТОО «НПЦ микробиологии и вирусологии»: *Pseudomonas putida* 4/1, *Azotobacter chroococcum* P29 и *Bacillus subtilis*. В качестве опытных растений использованы семена фасоли сорта «Инжу - 077» и маша сорта «Победа-54». В работе использовались общепринятые микробиологические и биохимические методы исследований [9-11]. Исходные культуры выращивали на следующих питательных средах: кинг Б (*Pseudomonas putida* 4/1), гороховая среда (*Azotobacter chroococcum* P29) и мясо-пептонный агар (*Bacillus subtilis*) при температуре 30°C.

В качестве источника УФ-излучения использована ртутно-кварцевая лампа, которая обеспечивала диапазон длин волн ультрафиолетового облучения $\lambda = 240-578$ нм. УФ-мутагенез проводили по методу, описанному Kamala Kumari et al. [12]. В качестве мутагена применяли ультрафиолетовые лучи длиной волны 260 нм, при которой наблюдается максимум поглощения УФ-света молекулами ДНК. 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 (рН - 7,0), после чего 15 мл суспензии подвергалось воздействию УФ-лучей. Облучение проводили в режимах 30-, 45- и 60-минутной экспозиции. Далее использовали серийные разведения для вычисления процента летальности.

Полученные данные обрабатывали методом вариационно-статистического анализа, принимая критерием вероятности $P < 0.05$ [13].

Результаты и обсуждение

Простым и удобным методом получения мутантов разного типа является УФ-облучение. Однако высокая частота мутаций достигается здесь при низкой выживаемости клеток. В ходе проведения эксперимента применяли ультрафиолетовые лучи длиной волны 260 нм, при которой наблюдается максимум поглощения УФ-лучей молекулами ДНК. В ходе исследований установлено, что облучение ультрафиолетом вызывает уменьшение жизнеспособности клеток бактерий (таблица 1).

Таблица 1 - Влияние ультрафиолетового облучения на колониеобразующую способность PGPR- бактерий

PGPR- бактерии	Время облучения, мин	Титр клеток до облучения, КОЕ/мл	Титр клеток после облучения, КОЕ/мл
<i>Pseudomonas putida</i> 4/1	30	$(8,8 \pm 3,28) \times 10^8$	$(6,5 \pm 2,11) \times 10^8$
	45		$(5,8 \pm 1,24) \times 10^7$
	60		$(9,0 \pm 1,26) \times 10^6$
<i>Azotobacter chroococcum</i> P29	30	$(9,7 \pm 3,21) \times 10^8$	$(5,3 \pm 3,21) \times 10^8$
	45		$(3,7 \pm 2,45) \times 10^7$
	60		$(9,1 \pm 2,28) \times 10^6$
<i>Bacillus subtilis</i>	30	$(8,5 \pm 2,18) \times 10^8$	$(6,8 \pm 3,08) \times 10^8$
	45		$(3,0 \pm 2,27) \times 10^7$
	60		$(8,3 \pm 2,16) \times 10^6$

При УФ-облучении в течение 60 минут наблюдался 1% выживания моноизолятов. Титр клеток составил для *Pseudomonas putida* 4/1 $9,0 \pm 1,26 \times 10^6$ КОЕ/мл, для *Azotobacter chroococcum* P29 - $9,1 \pm 2,28 \times 10^6$ КОЕ/мл, для *Bacillus subtilis* - $8,3 \pm 2,16 \times 10^6$ КОЕ/мл.

После этого изучали влияние полученных мутантных штаммов PGPR-бактерий на всхожесть и энергию прорастания семян маша сорта «Победа-54» и фасоли сорта «Инжу - 077». Энергия прорастания – это выраженное в процентах соотношение числа проросших семян к общему их количеству на определенный, условно принятый день проращивания. Этот показатель широко используется не только при определении качества семян (так как при низкой энергии прорастания всхожесть семян снижена), но и при изучении тех или иных воздействий на семена. Под всхожестью (жизнеспособностью) понимается способность семян давать нормальные проростки за определенный для каждого вида растений срок при оптимальных условиях проращивания. Процент всхожести – это отношение числа нормальных проросших семян к их количеству, взятому для проращивания.

Энергию прорастания определяли на 4-й день после обработки семян маша и фасоли культуральной жидкостью, тогда как всхожесть семян маша определяли на 7-е сутки, а семян фасоли - на 5-й день. Полученные данные приведены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2 – Влияние PGPR-бактерий на энергию прорастания и всхожесть семян фасоли до и после УФ- облучения

Наименование штамма		Количество семян, 100 шт.		Длина, см	
		энергия прорастания, % (4 сут.)	всхожесть, % (5 сут.)	корень	стебель
Исходные штаммы	<i>Pseudomonas putida</i> 4/1	75	81	6,3±0,2	20,0±0,3
	<i>Azotobacter chroococcum</i> P29	75	90	6,2±0,1	18,7±0,3
	<i>Bacillus subtilis</i>	81	90	7,2±0,2	21,3±0,2
Мутантные штаммы	<i>Pseudomonas putida</i> M-1	75	85	5,1±0,2	16,5±0,3
	<i>Azotobacter chroococcum</i> M-1	79	85	4,5±0,1	13,0±0,3
	<i>Bacillus subtilis</i> M-1	72	80	6,5±0,4	13,2±0,2
Контроль (вода)		62	70	5,8±0,2	18,7±0,2

Обработка семян фасоли мутантными штаммами *Pseudomonas putida* M-1, *Azotobacter chroococcum* M-1 и *Basillus subtilis* M-1 не оказала положительного влияния на энергию прорастания и всхожесть семян, а также на прирост корня и стебля по сравнению с обработкой семян исходными вариантами ризобактерий и контролем.

Таблица 3 – Влияние PGPR-бактерий на энергию прорастания и всхожесть семян маша до и после УФ- облучения

Наименование штамма		Количество семян, (100 шт.)		Длина, см	
		энергия прорастания, % (4 сут.)	всхожесть, % (7 сут.)	корень	стебель
Исходные штаммы	<i>Pseudomonas putida</i> 4/1	75	90	10,0±0,2	8,8±0,3
	<i>Azotobacter chroococcum</i> P29	75	100	5,1±0,3	8,9±0,2
	<i>Bacillus subtilis</i>	81,5	100	4,9±0,3	17,3±0,1
Мутант-ные штаммы	<i>Pseudomonas putida</i> M-1	75	95	10,8±0,1	10,6±0,2
	<i>Azotobacter chroococcum</i> M-1	79	100	4,0±0,3	8,2±0,3
	<i>Bacillus subtilis</i> M-1	72	95	4,8±0,2	11,1±0,1
Контроль (вода)		62	80	4,1±0,3	3,6±0,2

Обработка семян маша сорта «Победа-54» мутантными штаммами *Pseudomonas putida* M-1, *Azotobacter chroococcum* M-1 и *Basillus subtilis* M-1 оказала положительное влияние на всхожесть семян по сравнению с обработкой семян исходными вариантами ризобактерий и контролем. При этом увеличение ростостимулирующей активности по сравнению с исходными штаммами отмечено только у мутантного штамма *Pseudomonas putida* M-1. Длина стебля и корней в среднем увеличилась в этом случае по сравнению с исходным штаммом в 1,2 раза (стебель) и в 1,08 раза (корень), а по сравнению с контролем - в 2,9 и 2,6 раза, соответственно.

Таким образом, в результате проведения УФ-облучения трех коллекционных штаммов PGPR- бактерий установлено, что 1% выживания моноизолятов достигается при облучении УФ-лучами в течение 60 минут. Обработка семян маша полученными мутантными штаммами *Pseudomonas putid M-1*, *Azotobacter chroococcum M-1* и *Bacillus subtilis M-1* оказала положительное влияние на всхожесть семян маша по сравнению с обработкой семян исходными вариантами ризобактерий и контролем. При этом увеличение ростостимулирующей активности по сравнению с исходными штаммами отмечено только у мутантного штамма *Pseudomonas putida M-1*. Обработка же семян фасоли мутантными штаммами исследуемых бактерий не оказала положительного влияния ни на всхожесть семян, ни на прирост корня и стебля по сравнению с обработкой семян исходными вариантами ризобактерий и контролем.

Литература:

- 1 Tchakounté G.V.T., Berger B., Patz S., Fankem H., Ruppel S. Community structure and plant growth-promoting potential of cultivable bacteria isolated from Cameroon soil // Microbiological Research. – 2018. – Vol. 214. P. 47-59.
- 2 Song X., Liu M., Wu D, Griffiths B.S., Jiao J., Li H., Hu F. Interaction matters: Synergy between vermicompost and PGPR agents improves soil quality, crop quality and crop yield in the field // Applied Soil Ecology. – 2015. – Vol. 89. – P. 25-34.
- 3 Arif M.S., Riaz M., Shahzad S.M., Buttler A. Associative interplay of plant growth promoting rhizobacteria (*Pseudomonas aeruginosa* QS40) with nitrogen fertilizers improves sunflower (*Helianthus annuus* L.) productivity and fertility of aridisol // Applied Soil Ecology. – 2016. – Vol. 108. – P. 238-247.
- 4 Tabassum B., Khan A. Muhammad Tariq Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR // Applied Soil Ecology. – 2017. – Vol. 121. – P. 102-117.
- 5 Chauhan H., Bagyaraj D.J., Selvakumar G., Sundaram S.P. Novel plant growth promoting rhizobacteria - Prospects and potential // Applied Soil Ecology. – 2015. – Vol. 95. – P. 38-53.
- 6 Shrivastava P., Kumar R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2015. – Vol. 22, № 2. – P. 123-131.
- 7 Владимиров Ю.А. Инактивация ферментов ультрафиолетовым облучением // Соросовский образовательный журнал. -2001. -Т.7, №2. -С. 20–27.
- 8 Bhagwan H.V., Akkiraju P.C. Effect of physical and chemical mutagens on rhizobium and study of mutated rhizobium activity on seed germination and antibiotic sensitivity // International Journal of Advanced Research. – 2015. – Vol. 3, № 6. – P. 1045-1056.
- 9 Прунтова, О.В. Лабораторный практикум по общей микробиологии / О. В. Прунтова, О. Н. Сахно. – Владимир: Изд- во ВлГУ, 2005. – 76 с.
- 10 Лысак В. В. Микробиология : Учебное пособие. – Минск : БГУ, 2007. - 430 с.
- 11 Дерябина Г.И., Потапова И.А., Нечаева О.Н. Практикум по органической химии. Часть I. Методы очистки и идентификации органических соединений // Учебное пособие. – Самара: «Универс-Групп», 2005. – 84 с.
- 12 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.
- 13 Гланц С. Медико-биологическая статистика / пер.с англ. – М.: Практика. – 1998. – 459 с.

Ж.Б. СУЛЕЙМЕНОВА*, О.Н. ШЕМШУРА, Г.А. МОМБЕКОВА, Ж.Н. ШЕМШЕЕВА
ЖШС «Микробиология және вирусология ғылыми – өндірістік орталығы,
Алматы, Қазақстан
gnj40@inbox.ru

ӨСІМДІКТІҢ ӨСІРУІН ЖҮРГІЗЕТІН PGPR БАКТЕРИЯЛАРЫНЫҢ ӨСІРУІН АРҚЫЛАНДЫРУ ӘРЕКЕТІНЕ УЛЬТРАКҮЛГІН СӘУЛЕЛЕНУДІҢ ӘСЕРІ

Түйін

Мақалада ультракүлгін сәулеленуге ұшыраған Өсімдіктердің өсуіне ықпал ететін ризобактериялардың мутантты штамдарының (PGPR - бактериялар) "Победа-54" мәш және Инжу - 077 бұршақ тұқымдарының өнгіштігі мен өну энергиясына әсерін зерттеу нәтижелері келтірілген. Зерттеу нысаны ретінде *Pseudomonas putida* 4/1, *Azotobacter chroococcum* P29 және *Bacillus subtilis* қолданылды. PGPR-бактериялардың үш коллекциялық штаммының УК-сәулеленуін жүргізу нәтижесінде моноизолаттардың 1%-дық өмір сүруіне УК-сәулелермен 60 минут сәулелендіру кезінде қол жеткізілетіні анықталды.

Алынған мутантты штамдармен мәш тұқымын өңдеу тұқымның өнуіне ризобактериялардың бастапқы нұсқаларымен және бақылаумен салыстырғанда оң әсер етті. Алайда, бастапқы штамдармен салыстырғанда өсуді ынталандыру белсенділігінің артуы тек *Pseudomonas putida* M-1 мутантты штаммында байқалды. Бұл жағдайда сабақтар мен тамырлардың ұзындығы тұқымдары бастапқы штамммен өңделген өсімдіктердің осы көрсеткіштерімен салыстырғанда орташа есеппен 1,2 есе (сабағы) және 1,08 есе (тамыры), ал бақылаумен салыстырғанда сәйкесінше 2,9 және 2,6 есе өсті.

Бұршақ тұқымдарын зерттелген бактериялардың мутантты штамдарымен емдеу тұқымның өнуіне де, тамыр мен сабақтың өсуіне де бастапқы нұсқалармен және бақылаумен салыстырғанда оң әсер етпеді.

Кілтті сөздер: PGPR бактериялары, ультракүлгін сәулелену, мутагенез, мәш, бұршақ

IRSTI: 62.09.39

ZH.B. SULEIMENOVA*, O.N. SHEMSHURA, G.A. MOMBEKOVA,
ZH.N. SHEMSHEYEVA
LLP "Research and Production Center for Microbiology and Virology",
Almaty, Kazakhstan
*gnj40@inbox.ru

EFFECT OF ULTRAVIOLET IRRADIATION ON THE GROWTH-STIMULATING ACTIVITY OF PGPR BACTERIA THAT PROMOTES PLANT GROWTH

doi: 10.53729/MV-AS.2022.02.01

Summary

The article presents the results of a study of the effect of mutant strains of rhizobacteria that promote plant growth (PGPR bacteria) exposed to ultraviolet irradiation on the germination and germination energy of "Pobeda-54" mung bean seeds and "Inju-077" beans. *Pseudomonas putida* 4/1, *Azotobacter chroococcum* P29 and *Bacillus subtilis* were used as research objects. As a result of UV irradiation of three collection strains of PGPR bacteria, it was found that 1% survival of mono-isolates is achieved when irradiated with UV rays for 60 minutes.

The treatment of mash seeds with the obtained mutant strains had a positive effect on seed germination compared to the treatment of seeds with the initial variants of rhizobacteria and control. However, an increase in growth-stimulating activity compared to the original strains was noted only in the mutant strain *Pseudomonas putida* M-1. The length of the stem and roots increased by 1.2 times

(stem) and 1.08 times (root) compared to stems and roots length of seeds treated with the original strain and control - by 2.9 and 2.6 times, respectively.

The treatment of bean seeds with bacterial mutant strains did not have a positive effect neither on seed germination nor on the growth of the root and stem compared to the initial variants and control.

Key words: PGPR bacteria, UV irradiation, mutagenesis, mung bean, beans

The demand for environmentally friendly products is constantly growing in the world, and the need of agriculture for safe biological preparations is increasing every year. Recently, more and more attention of scientists has been focused on the creation of biological products based on rhizobacteria that stimulate plant growth - PGPR (plant growth promoting rhizobacteria). The use of biological preparations based on PGPR bacteria in agricultural practice is one of the technological methods that contribute to increasing the yield of agricultural crops [1, 2].

PGPR bacteria have a positive effect on plants, namely, they have the ability to fix the molecular nitrogen of the atmosphere, synthesize substances of hormonal nature (auxins, gibberelins, cytokinins), vitamins, substances of antibiotic and antifungal nature, as well as the ability to decompose harmful chemical compounds. The use of PGPR bacteria promotes the stimulation of seed germination and plant growth, improves nitrogen nutrition of plants, the formation of nodules in legumes, suppresses the development of root rot of plants, etc. [3, 4].

Currently, the source of many genetic variations of microorganisms is mutagenesis, which allows to increase the productivity of producing strains and reduce the cost of their cultivation. To obtain highly active strains of rhizobacteria, methods of physical and chemical mutagenesis are used, which are an effective tool in increasing the activity of the studied cultures and are widely used in biotechnology [5, 6]. It is known that induced mutations are inherited genome changes resulting from certain mutagenic effects under artificial (experimental) conditions or under adverse environmental influences. The mutation is induced using mutagenic factors of physical and chemical nature. The high mutability of bacteria is associated with the peculiarities of the organization of the genome, as well as with their high rate of reproduction and growth. The absorption of light by nucleic acids underlies the mutagenic and bactericidal effects of UV radiation. In this case, damage occurs not only in the DNA molecule, but also repair enzymes are inactivated, which leads to mutations [7, 8].

It is known that induced mutagenesis is an effective tool for achieving genetic and functional changes in the body. For example, *Rhizobium* strains isolated from peanuts and fenugreek were subjected to UV mutagenesis, after which the resulting mutant strains were treated with mutagens of chemical nature (EtBr, Acrylamide and Tetra Methyl Ethylene Diamine - TEMED). Further, the effect of the obtained mutant strains on the germination and germination energy of peanut and mash seeds was studied. It was found that when treated with mutant strains of peanut seeds, 50% germination was observed, whereas when treated with mutant strains of masha seeds, germination was significantly higher - about 70-80% [8]. Thus, induced mutagenesis is a convenient tool for achieving genetic and functional changes in the body.

The purpose of this study was to study the effect of ultraviolet radiation on the growth-stimulating activity of PGPR bacteria.

Materials and methods

The objects of research were bacteria from the collection of LLP "SPC Microbiology and Virology": *Pseudomonas putida* 4/1, *Azotobacter chroococcum* P29 and *Bacillus subtilis*. "Inzhu-077" bean seeds and "Pobeda-54" mung bean seeds were used as experimental plants. Standard microbiological and biochemical research methods were used in this study [9-11]. The initial cultures were grown on the following nutrient media: king B (*Pseudomonas putida* 4/1),

pea medium (*Azotobacter chroococcum* P29), and meat-peptone agar (*Bacillus subtilis*) at a temperature of 300C.

UV mutagenesis was performed according to the method described by Kamala Kumari et al. [12]. As a mutagen, ultraviolet rays with a wavelength of 260 nm were used, at which the maximum absorption of UV light by DNA molecules is observed. Single colonies of PGPR bacteria were suspended in 3 ml of liquid nutrient medium. After that, 0.5 ml of each sample was added to 50 ml of liquid nutrient medium and cultured at 30°C (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 pellet 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 used serial dilutions to calculate the percentage of lethality.

The obtained data were processed by the method of variance-statistical analysis, taking $P < 0.05$ as the probability criterion [13].

Results and discussion

A simple and convenient method of obtaining mutants of different types is UV irradiation. However, a high mutation rate is achieved here with low cell survival. During the experiment, ultraviolet rays with a wavelength of 260 nm were used, at which the maximum absorption of UV rays by DNA molecules is observed. In the course of research, it was found that ultraviolet irradiation causes a decrease in the viability of bacterial cells (Table 1).

Table 1 - The effect of ultraviolet irradiation on the colony-forming ability of PGPR bacteria

PGPR-bacteria	Irradiation time, min	Cell titer before irradiation, CFU/ml	Cell titer after irradiation, CFU/ml
<i>Pseudomonas putida</i> 4/1	30	$(8,8 \pm 3,28) \times 10^8$	$(6,5 \pm 2,11) \times 10^8$
	45		$(5,8 \pm 1,24) \times 10^7$
	60		$(9,0 \pm 1,26) \times 10^6$
<i>Azotobacter chroococcum</i> P29	30	$(9,7 \pm 3,21) \times 10^8$	$(5,3 \pm 3,21) \times 10^8$
	45		$(3,7 \pm 2,45) \times 10^7$
	60		$(9,1 \pm 2,28) \times 10^6$
<i>Bacillus subtilis</i>	30	$(8,5 \pm 2,18) \times 10^8$	$(6,8 \pm 3,08) \times 10^8$
	45		$(3,0 \pm 2,27) \times 10^7$
	60		$(8,3 \pm 2,16) \times 10^6$

As can be seen from the data presented in Table 1, 1% of the survival of mono-isolates was observed under UV irradiation for 60 minutes. The cell titer was $9.0 \pm 1.26 \times 10^6$ CFU/ml for *Pseudomonas putida* 4/1, $9.1 \pm 2.28 \times 10^6$ CFU/ml for *Azotobacter chroococcum* P29, and $8.3 \pm 2.16 \times 10^6$ CFU/ml for *Bacillus subtilis*.

After that, the effect of the obtained mutant strains of PGPR bacteria on the germination and germination energy of “Pobeda-54” mung bean seeds and “Inju -077” bean seeds was studied. The germination energy is the percentage ratio of the number of germinated seeds to their total number on a certain, conditionally accepted germination day. This indicator is widely used not only in determining the quality of seeds (since seed germination is reduced at low germination energy), but also in studying various effects on seeds. Germination (viability) refers to the ability of seeds to produce normal seedlings for a certain period of time for each plant species under optimal germination conditions. Germination percentage is the ratio of the number of normal germinated seeds to their number taken for germination.

The germination energy was determined on the 4th day after the treatment of mash seeds and beans with culture liquid, while the germination of mash seeds was determined on the 7th day, and bean seeds - on the 5th day. The data obtained are shown in Tables 2 and 3.

Table 2 - Effect of PGPR bacteria on the germination energy and germination of bean seeds before and after UV irradiation

Strain		Number of seeds, 100 pcs		Length, cm	
		germination energy, % (4 days)	germination, % (5 days)	root	stem
Initial strain	<i>Pseudomonas putida</i> 4/1	75	81	6,3±0,2	20,0±0,3
	<i>Azotobacter chroococcum</i> P29	75	90	6,2±0,1	18,7±0,3
	<i>Bacillus subtilis</i>	81	90	7,2±0,2	21,3±0,2
Mutant strain	<i>Pseudomonas putida</i> M-1	75	85	5,1±0,2	16,5±0,3
	<i>Azotobacter chroococcum</i> M-1	79	85	4,5±0,1	13,0±0,3
	<i>Bacillus subtilis</i> M-1	72	80	6,5±0,4	13,2±0,2
Control		62	70	5,8±0,2	18,7±0,2

As can be seen from the data presented in Table 2, the treatment of bean seeds with mutant strains of *Pseudomonas putida* M-1, *Azotobacter chroococcum* M-1 and *Bacillus subtilis* M-1 did not have a positive effect neither on the germination energy and seed germination, nor on root and stem growth compared to control.

Table 3 - Effect of PGPR bacteria on germination energy and germination of mung bean seeds before and after UV irradiation

Strain		Quantity, 100 pcs.		Length, cm	
		germination energy, % (4 days)	germination, % (7 days)	root	stem
Initial strain	<i>Pseudomonas putida</i> 4/1	75	90	10,0±0,2	8,8±0,3
	<i>Azotobacter chroococcum</i> P29	75	100	5,1±0,3	8,9±0,2
	<i>Bacillus subtilis</i>	81,5	100	4,9±0,3	17,3±0,1
Mutant Strain	<i>Pseudomonas putida</i> M-1	75	95	10,8±0,1	10,6±0,2
	<i>Azotobacter chroococcum</i> M-1	79	100	4,0±0,3	8,2±0,3
	<i>Bacillus subtilis</i> M-1	72	95	4,8±0,2	11,1±0,1
Control		62	80	4,1±0,3	3,6±0,2

As can be seen from the data presented in Table 3, the treatment of Pobeda-54 mung bean seeds with mutant strains of *Pseudomonas putida* M-1, *Azotobacter chroococcum* M-1 and *Bacillus subtilis* M-1 had a positive effect on seed germination compared with seed treatment with the initial variants of rhizobacteria and control. At the same time, an increase in growth-stimulating activity compared to the Initial strains was noted only in the mutant strain

Pseudomonas putida M-1. The length of the stem and roots increased in this case compared to the original strain by 1.2 times (stem) and 1.08 times (root), and compared to the control - by 2.9 and 2.6 times, respectively.

Thus, as a result of UV irradiation of three collection strains of PGPR bacteria, it was found that 1% of the survival of mono-isolates is achieved when irradiated with UV rays for 60 minutes. The treatment of mung bean seeds with the obtained mutant strains *Pseudomonas putida* M-1, *Azotobacter chroococcum* M-1 and *Bacillus subtilis* M-1 had a positive effect on the germination of mung bean seeds compared with the treatment of seeds with the initial variants of rhizobacteria and control. At the same time, an increase in growth-stimulating activity compared to the original strains was noted only in the mutant strain *Pseudomonas putida* M-1. The treatment of bean seeds with mutant strains of the studied bacteria did not have a positive effect neither on seed germination nor on the growth of the root and stem compared to the treatment of seeds with the initial variants of rhizobacteria and control.

References:

- 1 Tchakounté G.V.T., Berger B., Patz S., Fankem H., Ruppel S. Community structure and plant growth-promoting potential of cultivable bacteria isolated from Cameroon soil // Microbiological Research. – 2018. – Vol. 214. P. 47-59.
- 2 Song X., Liu M., Wu D, Griffiths B.S., Jiao J., Li H., Hu F. Interaction matters: Synergy between vermicompost and PGPR agents improves soil quality, crop quality and crop yield in the field // Applied Soil Ecology. – 2015. – Vol. 89. – P. 25-34.
- 3 Arif M.S., Riaz M., Shahzad S.M., Buttler A. Associative interplay of plant growth promoting rhizobacteria (*Pseudomonas aeruginosa* QS40) with nitrogen fertilizers improves sunflower (*Helianthus annuus* L.) productivity and fertility of aridisol // Applied Soil Ecology. – 2016. – Vol. 108. – P. 238-247.
- 4 Tabassum B., Khan A. Muhammad Tariq Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR // Applied Soil Ecology. – 2017. – Vol. 121. – P. 102-117.
- 5 Chauhan H., Bagyaraj D.J., Selvakumar G., Sundaram S.P. Novel plant growth promoting rhizobacteria - Prospects and potential // Applied Soil Ecology. – 2015. – Vol. 95. – P. 38-53.
- 6 Shrivastava P., Kumar R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2015. – Vol. 22, № 2. – P. 123-131.
- 7 Vladimirov Iu.A. Inaktivatsiia fermentov ultrafioletovym oblucheniem // Sorosovskii obrazovatelnyi zhurnal. -2001. -T.7, №2. -S. 20–27.
- 8 Bhagwan H.V., Akkiraju P.C. Effect of physical and chemical mutagens on rhizobium and study of mutated rhizobium activity on seed germination and antibiotic sensitivity // International Journal of Advanced Research. – 2015. – Vol. 3, № 6. – P. 1045-1056.
- 9 Pruntova, O.V. Laboratornyj praktikum po obshchej mikrobiologii / O. V. Pruntova, O. N. Sahno. – Vladimir: Izd- vo VIGU, 2005. – 76 s.
- 10 Lysak V. V. Mikrobiologiya : Uchebnoe posobie. – Minsk: BGU, 2007.- 430 s.
- 11 Deryabina G.I., Potapova I.A., Nechaeva O.N. Praktikum po organicheskoy himii. CHast' I. Metody ochistki i identifikatsii organicheskikh soedinenij // Uchebnoe posobie. –Samara: «Univers-Grupp», 2005. – 84 s.
- 12 Kamala Kumari 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.
- 13 Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika / per.s angl. – M.: Praktika. – 1998. – 459 s.