РОСТОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ДЕЙСТВИЕ ДЕЛЬТА-ЭНДОТОКСИНА BACILLUS THURINGIENSIS НА ПШЕНИЦУ И ЯЧМЕНЯ ПРОИЗРОСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ УЗБЕКИСТАНА

Нормаматова Ф.С.

Факультет биологии Национального университета Узбекистана имени Мирзо Улугбека

E-mail: fatimabonu150@gmail.com

Ташмухамедова Ш.С.

Факультет биологии Национального университета Узбекистана имени Мирзо Улугбека

Abstract. This study investigates the effect of Bacillus thuringiensis delta-endotoxin on the development of wheat (Andijan-2 variety) and barley (Ikhtiyor variety). The experiment was conducted using different concentrations of delta-endotoxin to determine its impact on seed germination energy and germination rate. The optimal concentration (0.7%) increased germination energy by 18% and laboratory germination by 15% compared to control samples. It was found that the application of delta-endotoxin stimulates the synthesis of heteroauxin and ascorbic acid, positively affecting the biometric characteristics of seedlings. Specifically, root length increased by 43.2%, stem length by 75%, seedling mass by 45-56%, and stem diameter by 55-60%. The identified growth- stimulating effect is due to both the direct impact of endotoxin on plants and its protective effect against phytopathogens. The obtained results can be used for the development of biopreparations aimed at increasing the productivity of agricultural crops.

Keywords: Delta-endotoxin, Bacillus thuringiensis, heteroauxin, ascorbic acid, growth stimulation, germination energy, Salkowski reagent, Giroux reagent.

Annotatsiya. Ushbu tadqiqot Bacillus thuringiensis bakteriyasining delta-endotoksinining bug‘doy «Andijon-2 navi» va arpa «Ixtiyor navi» o‘sishiga ta’sirini o‘rganadi. Tajribada urug‘larning unish energiyasi va unuvchanligiga ta’sirini aniqlash uchun delta-endotoksinning turli konsentratsiyalari qo‘llanildi. Optimal konsentratsiya (0,7%) nazorat namunalariga nisbatan unish energiyasini 18% ga, laboratoriya unuvchanligini esa 15% ga oshirdi. Delta-endotoksin qo‘llanishi heteroauksin va askorbin kislotasi sintezini faollashtirishi, natijada ko‘chatlarning biometrik ko‘rsatkichlariga ijobiy ta’sir ko‘rsatishi aniqlandi. Xususan, ildiz uzunligi 43,2% ga, poya uzunligi 75% ga, ko‘chat massasi 45–56% ga, poya diametri esa 55–60% ga oshdi. Aniqlangan o‘sishni rag‘batlantiruvchi ta’sir endotoksinning o‘simliklarga to‘g‘ridan-to‘g‘ri ta’siri hamda fitopatogenlarga qarshi himoya xususiyati bilan bog‘liqdir. Olingan natijalar qishloq xo‘jaligi ekinlari hosildorligini oshirishga qaratilgan biopreparatlar ishlab chiqishda qo‘llanilishi mumkin.

ISSN 3030-3907

Kalit so‘zlar: Delta-endotoksin, Bacillus thuringiensis, geteroauksin, askorbin kislotasi, o‘sishni rag‘batlantirish, unish energiyasi, Salkovskiy reaktivi, Giro reaktsiyasi.

Аннотация: В данной работе исследуется влияние дельта-эндотоксина бактерии Bacillus thuringiensis на развитие пшеницы сорта «Андижан-2» и ячменя «Ихтиёр». Эксперимент проводился с использованием различных концентраций дельта-эндотоксина для определения его воздействия на энергию прорастания и всхожесть семян. Оптимальная концентрация (0,7 %) способствовала повышению энергии прорастания на 18 % и лабораторной всхожести на 15 % по сравнению с контрольными образцами. Установлено, что применение дельта- эндотоксина стимулирует синтез гетероауксина и аскорбиновой кислоты, что положительно влияет на морфометрические показатели проростков. В частности, наблюдалось увеличение длины корней на 43,2 %, длины стебля на 75 %, массы проростков на 45-56 % и диаметра стебля на 55-60 %. Выявленный ростостимулирующий эффект обусловлен как непосредственным воздействием эндотоксина на растения, так и его защитным эффектом против фитопатогенов. Полученные результаты могут быть использованы для разработки биопрепаратов, способствующих повышению продуктивности сельскохозяйственных культур.

Ключевые слова: дельта-эндотоксин, Bacillus thuringiensis, гетероауксин, аскорбиновая кислота, стимуляция роста, энергия прорастания, реактив Сальковского, реактив Жиру.

Цель исследования. Определить, как дельта-эндотоксин бактерии Bacillus thuringiensis влияет на развитие пшеницы сорта «Андижан-2» и ячменя «Ихтиёр».

Введение.

Сорт "Андижан-2" характеризуется средней длиной колоса и хорошей устойчивостью к полеганию, не склонен к осыпанию зерна. Урожайность составляет от 80 до 90 центнеров с гектара при условии выращивания в верхнем агрофирме. В Хорезмской области урожай колеблется от 56,3 до 60,1 центнера, в Бухарской области – от 62,3 до 67,6 центнера, а в Ферганской области – от 65,2 до 70,5 центнера. Средняя урожайность составляет 60-65 центнеров. Масса 1000 зерен составляет 42-43 грамма, а натура – 780-815 г/л. Зерно пшеницы характеризуется следующим составом: протеины составляют 13,9%, углеводы – около 79,9%, липиды – 2,1%, пищевые волокна –2,6%, а зольные элементы – 1,8%. При правильном использовании минеральных удобрений можно получить "ценное" зерно. Сорт «Ихтиёр» – значимая культура для пищевой промышленности, животноводства и различных производств. Благодаря своей высокой питательной ценности, он занимает

ISSN 3030-3907

важное место в рационе. Зерно ячменя характеризуется следующим составом: протеины составляют 7-15%, углеводы – около 65%, липиды – 2%, пищевые волокна – 5-5,5%, а зольные элементы – 2,5-2,8%. Белок ячменя содержит полный набор незаменимых аминокислот, включая лизин и триптофан.

Один килограмм зерна ячменя эквивалентен 1,27 кормовым единицам и содержит 100 грамм усваиваемого протеина. Из ячменного зерна производят муку, перловую и ячневую крупы. Ячневая крупа представляет собой дробленые ядра ячменя, очищенные от оболочек. В отличие от перловой крупы, ячневая крупа не шлифуется, что обеспечивает большее содержание клетчатки.

Современные агротехнологии стремятся к экологизации сельского хозяйства, включая использование биологических агентов для защиты и стимуляции роста растений. Одним из направлений является иммунизация растений и повышение их устойчивости к неблагоприятным факторам. Предпосевная обработка семян биологическими препаратами способствует ускоренному накоплению биомассы, повышенному синтезу витаминов и фитогормонов, а также улучшает устойчивость растений к патогенам.

Материалы и методы

В данном исследовании применялся штамм B. thuringiensis в роли продуцента дельта- эндотоксина. Культура была получена из природных источников коллекционированных на факультета биологии и экологии Национального Университета им. Мирзо Улугбека. В качестве объектов исследования использовали семена пшеницы сорта «Андижан-2» и ячменя «Ихтиёр». Поверхностное культивирование B. thuringiensis проводилось в термостатах при температуре 27 °C в чашках Петри на питательной среде РПА. Биомассу

B. thuringiensis, которая содержит кристаллы эндотоксина и споры данного микроорганизма, очищали от водорастворимых токсинов с помощью дистиллированной воды. Суспензия подлежала центрифугированию при 3000 об/мин на протяжении 15 минут, что позволяло отделить кристаллы и споры. Осадок, образовавшийся в результате, повторно ресуспендировали и удаляли остатки твердой питательной среды, используя центрифугирование при 500 об/мин в течение 5 минут. В итоге полученный супернатант включал спорово-кристаллический комплекс. Для отделения кристаллов от спор применяли последовательно флотацию и экстракцию в двухфазной системе хлороформ-водный раствор Na2SO4. Щелочной гидролиз кристаллов проводился по методу Cooksey [9]. Далее раствор подвергали диализу и доводили до необходимой концентрации с помощью воды. pH

ISSN 3030-3907

раствора регулировали до 7,8, используя титрование 0,1 н. HCl. Финальную очистку дельта-эндотоксина осуществляли с помощью микрофильтрации с диаметром пор 0,4 мкм. Концентрацию белкового дельта-эндотоксина определяли по методу Лоури [10]. Влияние концентрации дельта-эндотоксина на всхожесть и энергию прорастания семян оценивали в ходе проращивания семян в чашках Петри на бумажной подложке, обработанной растворами дельта-эндотоксина в концентрации от 0,1 до 1,3 %.

Полученные результаты показали, что дельта-эндотоксин оказывает концентрационно- зависимое влияние на всхожесть и энергию прорастания семян. Низкие концентрации (0,1- 1,3%) могут стимулировать прорастание, тогда как высокие концентрации (2,0-2,5%) ингибируют этот процесс. Это может быть связано с различными механизмами действия дельта-эндотоксина на клеточном уровне, включая влияние на гормональный баланс и активность ферментов. После этого опытные образцы обрабатывали в 0,7 % растворе дельта-эндотоксина в течение 30 мин, а контрольные – в воде. Дальнейшее проращивание семян осуществляли в пробирках на стерильном увлажненном песке при 28–30º С в условиях шестнадцатичасового светового дня. Полив осуществляли с интервалом в 24 ч в течение 10 сут. В варианте с предварительной обработкой полив осуществлялся водой, в варианте с постоянной обработкой – 0,7 % раствором дельта-эндотоксина. В каждом варианте оценивали по 20 растений в соответствии с Uz DSt 3356:2018. Семена сельскохозяйственных культур. Методы отбора проб при определении качества.

Для определения гетероауксина и аскорбиновой кислоты растения фиксировали, проводя через серию спиртовых растворов: 30, 50, 70, 90 % – по 30 мин, 96 и 100 % – в течение 1 ч в каждом. Полученный материал пропитывали последовательно смесью абсолютного спирта и ксилола в соотношениях 3:1, 2:2 и 1:3 по 1 ч в каждом. Фиксацию заканчивали замещением промежуточной жидкости парафином: использовали ксилол и парафин при температуре 56º С до полного испарения ксилола (в течение 3–6 сут) с последующей заливкой материала в парафин. При помощи микротома получали срезы толщиной 8 мкм и наклеивали их на предметные стекла. Препарат просушивали при 40–50о С, удаляли парафин последовательно ксилолом, 96 % спиртом и дистиллированной водой, обезвоживали 96 и 100 % растворами этилового спирта в течение 2 ч. Спирт в срезах замещали на ксилол. Срезы заключали в канадский бальзам и просушивали [11].

Определение гетероауксина осуществляли с использованием реактива Сальковского, состоящего из 0,1 г железоаммонийных квасцов и 100 мл 50 %

ISSN 3030-3907

раствора серной кислоты, в течение 20 мин при комнатной температуре [11]. При этом энергия прорастания семян увеличивается на 18 %, а лабораторная всхожесть – на 15 % по сравнению с контролем.

В то же время, повышение концентрации дельта-эндотоксина до 0,8 % приводит к снижению энергии прорастания и лабораторной всхожести семян, что может быть связано с токсическим действием высоких концентраций препарата на зародыш.

Результаты обсуждения

Анализ влияния дельта-эндотоксина на ростовые процессы проростков пшеницы показал, что обработка семян концентрацией 0,7% оказывает стимулирующее действие на рост корней и стеблей. Длина корней проростков увеличивается на 30 %, а длина стеблей – на 25 % по сравнению с контролем.

Полученные данные демонстрируют возрастание энергии прорастания семян при увеличении концентрации раствора дельта-эндотоксина от 0,1 до 0,7 %. Далее при увеличении концентрации дельта-эндотоксина от 0,7 до 1,3 % наблюдается снижение энергии прорастания (рис 1).

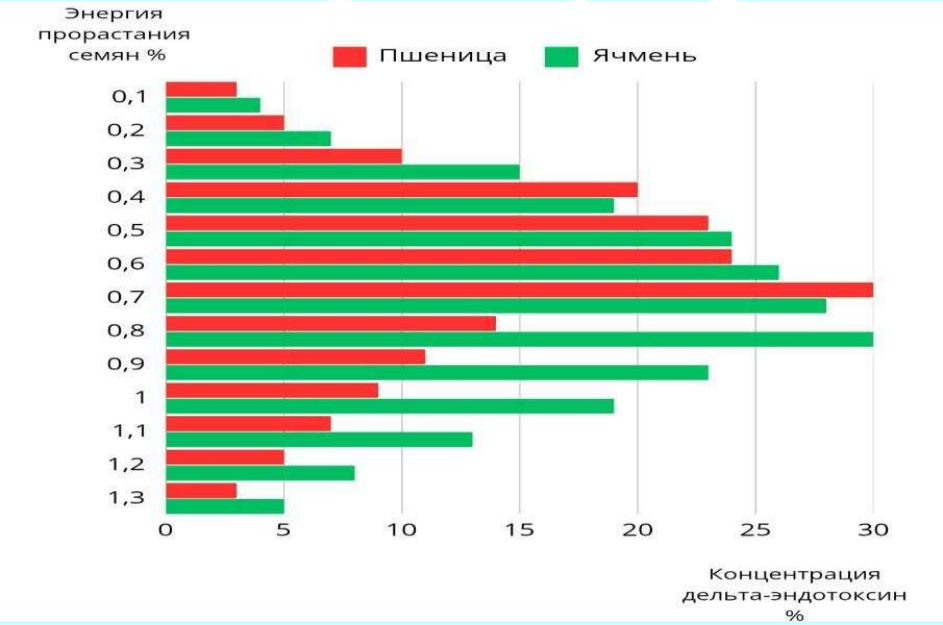


Рис. 1. Влияние дельта-эндотоксина на энергию прорастания семян сорта «Андижан-2» пшеницы и ячменя «Ихтиёр».

ISSN 3030-3907

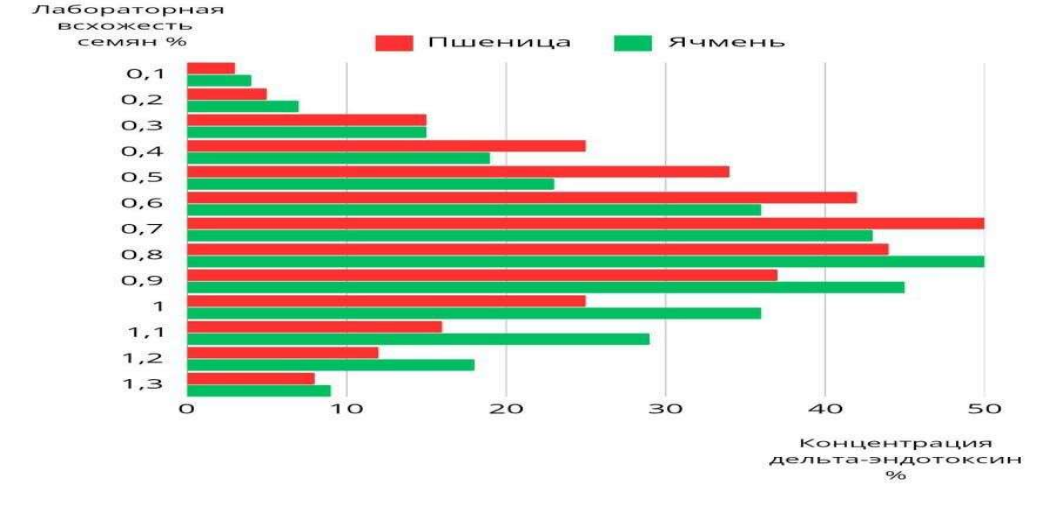


Рис. 2. Влияние дельта-эндотоксина на лабораторную всхожесть семян сорта семян сорта «Андижан-2» пшеницы и ячменя «Ихтиёр».

Анализ лабораторной всхожести семян показал, что при росте концентрации раствора дельта-эндотоксина от 0,1 до 0,7 % происходит увеличение всхожести (рис. 2), при увеличении концентрации дельта-эндотоксина от 0,7 до 1,3 % – уменьшение.

Полученные результаты позволяют предположить, что малые концентрации дельта- эндотоксина могут оказывать стимулирующее воздействие на процессы прорастания и всхожести семян. Вероятно, это связано с активацией определенных физиологических механизмов, способствующих более эффективному использованию запасных питательных веществ семени. Однако, при превышении определенного порога концентрации, дельта- эндотоксин начинает оказывать токсическое воздействие, ингибируя процессы прорастания и приводя к снижению всхожести. Необходимы дальнейшие исследования для выявления конкретных механизмов влияния дельта-эндотоксина на процессы прорастания семян.

Таблица Влияние дельта-эндотоксина на морфологические показатели (n=200)

Вариант опыта	**Сырая масса проростка, г**	**Длина стебля, мм**	**Длина корня, мм**	**Длина листа по средней жилке, мм**	**Обхват стебля, мм**
Дельта-эндотоксин (предварительная обработка) пшеница	0,275±0,008	168,0±0,6	63,0±0,5	128,0±0,5	4,0±0,1

ISSN 3030-3907

Дельта-эндотоксин (предварительная обработка) ячмень		0,200±0,005	149,0±0,4	55,0±0,3	111,0±0,2	2,0±0,1
Контроль пшеница		0,202±0,005	101,0±0,3	42,0±0,3	71,0±0,4	5,0±0,1
Контроль ячмень		0,206±0,008	108,0±0,7	62,0±0,5	81,0±0,5	6,0±0,1
Разница по сравнению с контролем, %	пшеница	45	75	43,2	120	55
	ячмень	56	80	50	101,3	60

В таблице 1 приведены данные, иллюстрирующие изменения морфометрических характеристик проростков растений: масса проростков пшеницы возросла на 45 %, ячменя 56% относительно контрольных образцов. Длина корней пшеницы увеличилась на 43,2 %, ячменя 50% при предварительной обработке дельта-эндотоксином и на 7,8 %. Также наблюдается рост диаметра стебля пшеницы на 55 %, ячменя 60%, после предварительной обработки. Длина стебля пшеницы возросла на 75 %, ячменя 80% в сравнении с контролем при предварительной обработке. Длина листа по средней жилке увеличилась на 120 % и 101,3 % соответственно. Ключевым показателем, отражающим развитие растений и их устойчивость к неблагоприятным условиям окружающей среды, является уровень гетероауксина и аскорбиновой кислоты в растительных тканях.

Гетероауксин (или р-индолилуксусная кислота, ИУК), который представляет собой производное индола, образуется в растении из аминокислоты триптофана. Процесс синтеза ИУК зависит от поступления питательных веществ в растение, в частности азота и влаги.

При этом ИУК производится в незначительных количествах.
У высших растений основное количество ИУК синтезируется в верхушечной меристеме, а также в молоденьких листьях, развивающихся зачатках, семяпочках и семядолях, а также в концах корней.

Гетероауксин, представляя собой растительный гормон, регулирует различные обменные процессы в растительных тканях, включая как анаболизм, так и катаболизм, способствуя росту тканей и всего растения [13]. На микрографии демонстрируется типичная картина изменения уровня

ISSN 3030-3907

гетероауксина. Площадь окрашенных кристаллов гетероауксина в меристеме мягкой пшеницы в контрольном образце составляет 50±1 мкм, в то время как в образце с дельта-эндотоксином – 70±2 мкм. В настоящее время считается, что аскорбиновая кислота образуется в растениях из Д-глюкозы и Д-галактозы через независимые пути. Наибольшее количество аскорбиновой кислоты образуется в листьях растений, особенно на солнечной стороне. В преддверии цветения уровень аскорбиновой кислоты достигает своего пика. Растения, обладающие высоким содержанием аскорбиновой кислоты, демонстрируют улучшенную морозо- и газоустойчивость. Участвуя в реакциях окислительно-восстановительного характера, аскорбиновая кислота активирует ферменты и, будучи коферментом, содействует нормальному развитию и укреплению иммунитета против неблагоприятных условий окружающей среды [14]. На микрографии изображено типичное распределение аскорбиновой кислоты. Площадь окрашенных кристаллов аскорбиновой кислоты в тканях мягкой пшеницы в контрольном образце составляет 50±1 мкм, а в образце с дельта-эндотоксином – 85±2 мкм. Таким образом, было установлено, что в тканях мягкой пшеницы наблюдается возрастание синтеза гетероауксина и аскорбиновой кислоты, что в свою очередь приводит к увеличению морфометрических показателей.

Выявленный ростостимулирующий эффект может быть обусловлен как непосредственным воздействием дельта-эндотоксина на растения, так и общим улучшением состояния растений, вызванным подавлением фитопатогенов, которые могут присутствовать на семенах [15].

Выводы: 1. Предварительная обработка семян мягкой пшеницы раствором кристаллов дельта- эндотоксина B. thuringiensis с концентрацией 0,6 %, а также лечение растений в течение всего эксперимента обеспечивает значительное увеличение морфометрических показателей (длиной листа по средней жилке, обхватом стебля, массой растения, длиной корня).

Обработка дельта-эндотоксином Bacillus thuringiensis вызывает значительное увеличение синтеза гетероауксина (на 50 %) и аскорбиновой кислоты (на 70 %).

ЛИТЕРАТУРА

1. Мелехина Т.С., Пинчук Л.Г. Урожайность и адаптивность сортов озимой пшеницы в условиях юго-востока Западной Сибири. Вестник АГАУ. 2015; 6: 5–8.

2. Ефимов В.Н. Система удобрений. М.: Колос; 2002. 32.

3. Менликеев М.Я., Смирнов В.В., Байгузина Ф.А. Фитоспорин – биологический препарат для защи- ты растений от болезней. Уфа; 1991: 21–23.

ISSN 3030-3907

4. Чулкина В.А. Управление агроэкосистемами в защите растений. Новосибирск; 1995. 201.
5. Гилязетдинов Ш.Я., Нугуманов А.Х., Пусенкова Л.И. Эффективность антистрессовых препаратов и биофунгицидов в системе защиты сельскохозяйственных культур от неблагоприятных абиоти- ческих и биотических факторов. Уфа; 2008. 372.
6. Физиология растений / На основе учебника Э. Страсбургера [и др.] 35-е издание, Издание переработано П. Зитте, Э.В. Вайлер, Й.В. Кадерайт, А. Брезинский, К. Кёрнер; пер. с нем. О.В. Артемьевой, Т.А. Власовой, И.Г. Карнаухова, Н.Б. Колесовой, М.Ю. Чередниченко. – М.: Издательский центр "Академия", 2008. – 496 с.Т.2. Физиология растений / под ред. В.В. ЧубаISBN 978-5-7695-2745-6 (Т.2. рус.)
7. Юдина Т.Т., Бурцева Л.И. Действие эндотоксинов четырех подвидов Bacillus thuringiensisна различных прокариот. Микробиология. 1997; 1: 25–31.
8. Каменек Л.К., Климентова Е.Г. Действие дельта-эндотоксина Bacillus thuringiensis в отношении фитопатогенных грибов родов Phytophthora и Fusarium. Биотехнология. 2005; 1: 76–83.
9. Cooksey K.E. Purification of a protein from Bacillus thuringiensis toxic to a larvae of Lepidoptera. Biochem. J. 1968; 106: 445–454.
10. Каменек Л.К. Выделение и очистка кристаллов эндотоксина Bacillus thuringiensis. Бюл. научно- техн. информации. 1981; 2: 14–15.
11. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М.: Агропромиздат; 1988: 111–112.
12. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат; 1985: 193–196.
13. Кузнецов В.В. Физиология растений. М.: Высшая школа; 2006: 742–743.
14. Г.-В. Хелдт. Биохимия растений. Пер. с англ. под ред. А.М. Носова, В.В. Чуба. — М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. — 471 с.: ил. ISBN 978-5-94774-795-9
15. Рена Ахад Гызы Асадова Применение стимуляторов роста растений // Вестник Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы.

ISSN 3030-3907