

Научная статья

УДК 579.26:579.6

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-557-565>



## Влияние штаммов *Bacillus thuringiensis* на ростовые и метаболические процессы в проростках *Pisum sativum* L.

Анастасия Владимировна Крыжко, Наталья Николаевна Смаглий

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,

г. Симферополь, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Крыжко Анастасия Владимировна, kryzhko\_a@niishk.ru

**Аннотация.** Энтомопатогенные бактерии *Bacillus thuringiensis* Berliner являются широко известным биоагентом препаратов для регуляции численности листогрызущих насекомых-вредителей сельскохозяйственных и декоративных культур. Помимо энтомопатогенных свойств, перспективно изучение и других агрономически полезных свойств данного микроорганизма. Целью наших исследований было рассмотрение ростстимулирующего эффекта энтомопатогенных штаммов *B. thuringiensis* на растения гороха сорта Девиз. Материалом для исследований послужили энтомопатогенные штаммы *B. thuringiensis* 685, 926 и 109-С, полученные из Крымской коллекции микроорганизмов Научно-исследовательского института сельского хозяйства Крыма, зарегистрированной на сайте (<http://www.ckp-rf.ru>) под номером 507484. Морфометрические параметры проростков гороха оценивали согласно стандартным методикам. Биохимические показатели проростков гороха определяли в 10-суточных проростках. Активность амилазы проростков гороха определяли фотокалориметрически, общую кислотность – титрованием с 0,1 н раствора NaOH, суммарное содержание водорастворимых фенольных соединений – титриметрическим методом Левенталя. Установлено, что жидкая споровая культура штаммов *B. thuringiensis* 685, 926 и 109-С оказывала стимулирующее воздействие на длину корня и стебля проростка, на вес 10-суточных проростков гороха сорта Девиз. Обработка споровой суспензией всех исследованных штаммов *B. thuringiensis* способствовала увеличению содержания органических кислот в проростках в среднем на 12,4% в сравнении с контролем. Максимальное стимулирующее действие на амилитическую активность и синтез фенольных соединений в проростках гороха сорта Девиз оказывала обработка споровой суспензией штамма *B. thuringiensis* 926. Активность амилаз увеличивалась в среднем на 41,5% к контролю, а суммарное содержание фенольных соединений в данном варианте было в 2,3 раза выше, чем в контроле. Таким образом, принимая во внимание энтомопатогенные свойства и полученные данные о ростстимулирующей активности штаммов *B. thuringiensis* можно заключить, что данные бактерии имеют дополнительный потенциал для их использования в сельском хозяйстве в качестве агента биопрепарата для защиты растений комплексного действия.

**Ключевые слова:** *Bacillus thuringiensis*, ростстимуляция, горох, морфометрические параметры, амилаза, общая кислотность, фенольные соединения

**Для цитирования:** Крыжко А. В., Смаглий Н. Н. Влияние штаммов *Bacillus thuringiensis* на ростовые и метаболические процессы в проростках *Pisum sativum* L. // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 4. С. 557–565. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-557-565>.

### PHYSICO-CHEMICAL BIOLOGY

Original article

## Effect of *Bacillus thuringiensis* strains on growth and metabolic processes in *Pisum sativum* L. sprouts

Anastasiia V. Kryzhko, Natalia N. Smaglyi

Institute of Agriculture of Crimea, Simferopol, Russian Federation

Corresponding author: Anastasiia V. Kryzhko, kryzhko\_a@niishk.ru

**Abstract.** Although the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* Berliner are well-known bio-agents for regulating the population of leaf-eating pests of agricultural and ornamental crops, other agricultural properties of this microorganism are promising. In this work, the growth-stimulating effect of entomopathogenic strains of *B. thuringiensis* on Deviz pea plants was studied. The entomopathogenic strains *B. thuringiensis* 685, 926 and 109-C obtained from the Crimean Collection of Microorganisms of the Crimean Agricultural Research Institute, registered online (<http://www.ckp-rf.ru>) with number 507484, were used as research material. The morphometric parameters of pea sprouts were evaluated following standard methods. Biochemical parameters

of pea sprouts were determined for 10-day-old sprouts. The amylase activity of pea sprouts was determined by photocalorimetry; total acidity was measured by titration using 0.1 n NaOH solution; total water-soluble phenolic compounds were determined by Leventhal titrimetric method. It was found that liquid spore culture of strains *B. thuringiensis* 685, 926 and 109-C had a stimulating effect on the length of root and stem and the weight of 10-day-old sprouts of Deviz pea variety. Treatment with a spore suspension of all tested strains *B. thuringiensis* led to an increase in the content of organic acids in the sprouts by an average of 12.4% compared with that of the control. Maximum stimulating effect on amylolytic activity and synthesis of phenolic compounds in Deviz pea sprouts was achieved by treating with a spore suspension of the strain *B. thuringiensis* 926. The amylase activity increased on average by 41.5% when compared to that of the control, while the total content of phenolic compounds in this experiment was 2.3 times higher than that of the control. Therefore, in light of the entomopathogenic properties and the obtained data on the growth-stimulating activity of the strains of *B. thuringiensis*, it can be concluded that these bacteria have additional potential for their use in agriculture as a bio-agent for plant protection having a complex action.

**Keywords:** *Bacillus thuringiensis*, growth stimulation, peas, morphometric parameters, amylase, total acidity, phenolic compounds

**For citation:** Kryzhko A. V., Smaglyi N. N. Effect of *Bacillus thuringiensis* strains on growth and metabolic processes in *Pisum sativum* L. sprouts. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(4):557-565. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-4-557-565>.

## ВВЕДЕНИЕ

Энтомопатогенные бактерии *Bacillus thuringiensis* являются широко известным биоагентом препаратов для регуляции численности листогрызущих насекомых-вредителей сельскохозяйственных и декоративных культур. Известно, что препараты на основе *B. thuringiensis* безопасны для компонентов агробиоценоза, их можно применять в любую фазу вегетации как на вегетативных, так и на генеративных органах растений [1]. Широким спектром исследований [2–4] установлена безопасность таких биоинсектицидов для теплокровных животных, человека [5], энтомофагов, а также способность быстро (в течение 3–4 недель) разрушаться в естественных условиях [6, 7]. Помимо энтомопатогенных, перспективно изучение и других агрономически полезных свойств данного микроорганизма.

Бактерии, принадлежащие к роду *Bacillus*, в частности *B. thuringiensis*, в настоящее время считают ассоциированными с растениями и относят к группе PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) [8, 9]. *B. thuringiensis* выступает распространенным эндофитом [10], также индуцирует устойчивость растений к патогенам, взаимодействуя с корневой системой [11]. Некоторые штаммы *B. thuringiensis*, колонизируя корни, способствуют стимуляции роста растений [12]. Предполагается, что ростстимулирующее воздействие оказывается через продукцию индол-3-уксусной кислоты (ИУК) [13], АСС-дезаминазы, фосфатосолюбилизирующего фермента (PSE) [14] и сидерофора (SD) [15].

Среди токсинов, которые продуцируют штаммы *B. thuringiensis* всех серотипов, особый интерес вызывает белковый термолабильный  $\delta$ -эндотоксин, который обладает фунгицидной активностью, влияет на показатели роста и развития отдельных сельскохозяйственных культур [16, 17]. Анализ литературных источников показал, что обработ-

ка  $\delta$ -эндотоксином ювенильных растений огурца и фасоли положительно влияет на всхожесть семян, интенсивность роста побега, увеличение содержания хлорофилла в проростках [18, 19].  $\delta$ -эндотоксин *B. thuringiensis* стимулирует рост проростков перца стручкового по таким морфометрическими показателям, как длина корня, длина листа по средней жилке, обхват стебля, масса растения<sup>1</sup>.

В качестве биохимических показателей устойчивости и интенсивности ростовых процессов в проростках в литературе рассматриваются метаболиты основного (амилазы, редуцирующие сахара, общая кислотность) и вторичного обмена (фенольные вещества). Фенольные соединения образуются во всех растительных тканях. Они чрезвычайно разнообразны по строению и химическим свойствам. Их функциональная роль чрезвычайно разнообразна и связана с процессами фотосинтеза, дыхания, аллелопатии, защиты от стрессовых воздействий [20, 21]. Фенольные соединения участвуют в регуляции роста растений, проявляя ингибирующее или стимулирующее ростовое воздействие [22]. Накопление указанных вторичных метаболитов зависит от вида растений, стадии их развития и условий произрастания [23]. Органические кислоты являются неперенными участниками механизмов адаптации растений. Имеются сведения, что изучение обмена органических кислот у растений в условиях стресса представляет интерес с точки зрения связующего звена между углеводным и азотным обменом [24]. Известно, что содержание углеводов в прорастающем семени положительно коррелирует с общей аминополитической активностью [25], а значит, по активности амилаз можно судить об активности ростовых процессов [26].

Необходимо отметить, что исследования по поводу ростстимулирующей активности *B. thuringiensis* представлены единичными публикациями, в ос-

<sup>1</sup> Коробов Я. А. Ростстимулирующее действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* на *Capsicum annuum* L. // Естественно-научные исследования в Симбирском-Ульяновском крае: сб. научных трудов XII Межрегиональной науч.-практ. конф. Ульяновск: УлГПУ им. И. Н. Ульянова, 2010. Вып. 11. 216 с.

новном результатами работ зарубежных авторов.

Цель исследований – изучение влияния энтомопатогенных штаммов *B. thuringiensis* на рост и основные биохимические показатели развития и устойчивости растений гороха сорта Девиз.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводились на базе лаборатории молекулярной генетики, протеомики и биоинформатики отдела сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» в 2020–2021 гг. Материалом для исследований послужили энтомопатогенные штаммы *B. thuringiensis* 685, 926 и 109-С. Штаммы получены из Крымской коллекции микроорганизмов ФГБУН «НИИСХ Крыма», зарегистрированной на сайте (<http://www.ckr-rf.ru>) под номером 507484. По физиолого-биохимическим свойствам штамм *B. thuringiensis* 685 отнесен к 1-му серотипу (var. *thuringiensis*), штамм *B. thuringiensis* 926 – к 3-му серотипу (var. *kurstaki*), а штамм *B. thuringiensis* 109-С – к 8-му серотипу (var. *morrisoni*). Действие исследуемых штаммов сравнивалось с действием штамма *B. thuringiensis* Z-52 3-го серотипа (var. *kurstaki*), у которого установлено наличие ростстимулирующих свойств для растений фасоли и огурца [18].

Споровую культуру штаммов *B. thuringiensis* получали на картофельном агаре культивированием бактерий в термостате при 27–28 °С в течение 7 суток.

Семена гороха стерилизовали поверхностно 0,5%-м раствором  $\text{KMnO}_4$  (15 мин) с последующим многократным промыванием стерильной дистиллированной водой. Опытные образцы раскладывали в чашки Петри на стерильный увлажненный (до 60 % влагоемкости) песок и выдерживали при температуре 5 °С в течение 4-х суток, а затем помещали в термостат при 20 °С на 6 суток. В чашки добавляли смыв со скошенного агара в виде споровой суспензии с титром  $3,5 \cdot 10^6$ . В качестве контроля использовали дистиллированную воду. Исследования проводились в условиях лабораторного опыта.

Морфометрические параметры оценивали согласно стандартным методикам, определяли длину корня и побега проростка, сырой вес проростка<sup>2</sup>. Биохимические показатели определяли у 10-суточных проростков гороха. Активность амилазы устанавливали в сырой массе целых проростков фотокалориметрически и выражали в мг/г<sup>3</sup>. Общую кислотность сырой массы проростков гороха определяли титрованием с 0,1 н раствором NaOH и выражали в мэкв/100 г.<sup>4</sup> Определение суммарного содержания фенольных соединений проводили в водных экстрактах титриметрическим перманганатным методом в присутствии индигокармина по Левенталю<sup>3</sup> и выражали в процентах от сухой массы. Пересчетный коэффициент рассчитан для фенолов чая и составляет 4,16.

Достоверность различий между контрольными и опытными вариантами оценивали с помощью критерия Стьюдента, статистический анализ морфометрических показателей и веса проростков проводили с помощью критерия Дункана [27].

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Жидкая споровая культура всех исследованных штаммов *B. thuringiensis* оказывала стимулирующее воздействие на изученные морфометрические параметры 10-суточных проростков гороха сорта Девиз (рис. 1).

Обработка семян гороха споровой суспензией штаммов 685 и 926 способствовала увеличению длины корня проростка в среднем на 27,5 % к контролю (см. рис. 1). Споровая культура штаммов *B. thuringiensis* Z-52 и 109-С не оказывала стимулирующего воздействия на ростовые процессы в корне.

Анализ полученных экспериментальных данных свидетельствует о незначительном влиянии исследованных штаммов *B. thuringiensis* на изменение веса проростков. Обработка споровыми культурами способствовала увеличению веса проростков семян гороха посевного не более чем на 12,1 % в сравнении с контролем.

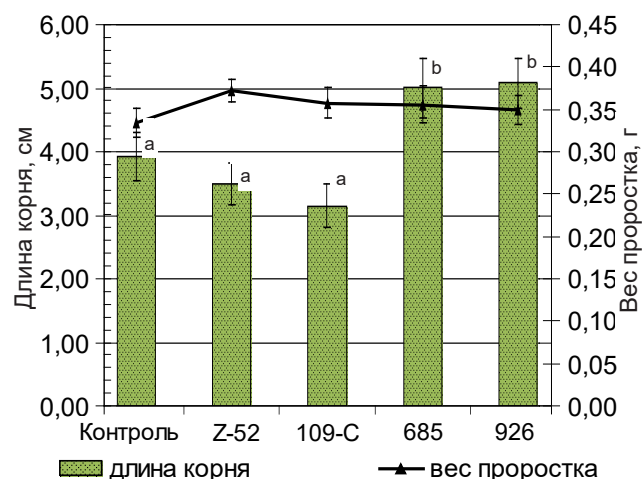


Рис. 1. Влияние жидких споровых культур штаммов *B. thuringiensis* на длину корня и вес проростка 10-суточных проростков гороха сорта Девиз (средние, обозначенные одними и теми же буквами, достоверно не различаются согласно критерию Дункана при уровне значимости 5%)

Fig. 1. Liquid spore culture of *B. thuringiensis* strains influence on root length and weight of the 10-day sprouts of Deviz peas (Mean values, followed by the same letters in each column are not significantly different by Duncan multiple range test at 5%)

<sup>2</sup> Дука М. Физиология растений: практикум для студентов биолого-почвенного факультета. Кишинев: Central Editorial al USM, 2003. 134 с.

<sup>3</sup> Авксентьева О. О., Красильникова Л. О., Жмурко В. В. Біохімія рослин. Малий практикум. Харків: ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2006. 68 с.

<sup>4</sup> Физиология и биохимия растений: методические указания. Белорусская государственная сельскохозяйственная академия / сост. Н. П. Решецкий, О. С. Кильчевская, Н. С. Вагина, Р. М. Латыпова, В. П. Моисеев. Горки, 2000. 144 с.



Выявлено увеличение длины побега при обработке семян культурой штаммов *B. thuringiensis* Z-52, 109-С и 685 в среднем в 4,1 раза, а при обработке культурой штамма *B. thuringiensis* 926 – в 2,6 раза к контролю (рис. 2).

Анализ полученных данных позволяет установить наличие стимулирующего влияния штамма *B. thuringiensis* 685 на формирование боковых корней проростков гороха сорта Девиз. В данном варианте наблюдали увеличение количества боковых корней соответственно на 78,2% относительно контроля (рис. 3).

Штаммы *B. thuringiensis* 926 и Z-52 не оказывали стимулирующего воздействия на развитие корневой системы. По отношению к контролю количество боковых корней уменьшилось на 40,0 и 36,2% соответственно.

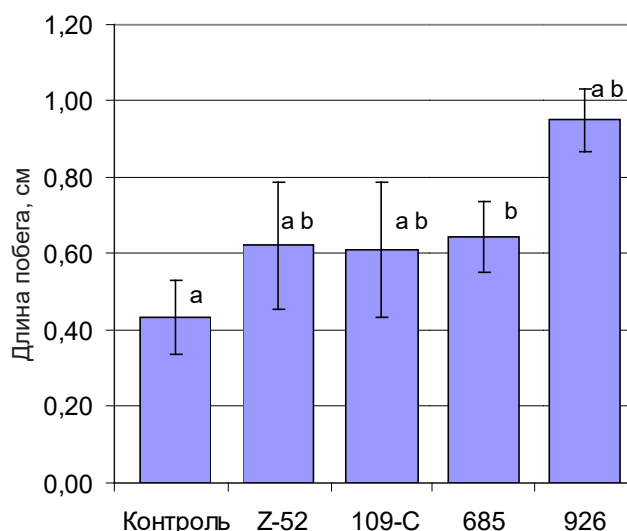
Содержание органических кислот в семенах составляет всего до 0,5%, однако при этом они выполняют крайне важную роль в обмене веществ, являясь биологически активными веществами и управляя катаболизмом [28]. Достоверно известно, что органические кислоты участвуют в биосинтезе пигментов, пектина, некоторых аминокислот [29]. Общая кислотность семян оказывает влияние на энергию прорастания семян и активность ряда ферментов, в том числе амилаз [30].

Обработка споровой суспензией исследуемых штаммов *B. thuringiensis* Z-52, 109-С, 685 и 926 способствовала увеличению содержания органических кислот в проростках не более чем на 18,0% в сравнении с контролем (таблица).

Один из важнейших процессов при прорастании семян – активация питательных веществ из эндосперма, в первую очередь крахмала. Этот процесс обеспечивается за счет гидролитических реакций с участием фермента амилазы, локализованного в основном в зародыше. Позже амилаза диффундирует в эндосперм, где осуществляет расщепление крахмала до простых сахаров, используемых проростком на ранних этапах онтогенеза как источник энергии [31, 32]. Поэтому активность амилазы напрямую влияет на такие показатели, как всхожесть и энергия прорастания.

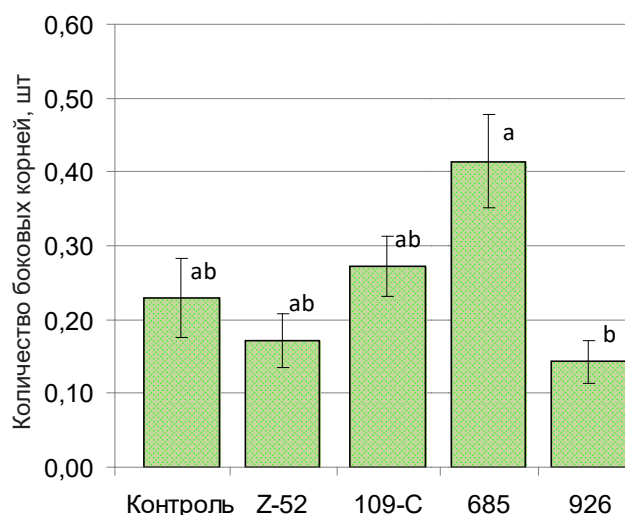
Исследование амилазной активности проростков гороха сорта Девиз позволило установить увеличение активности фермента в вариантах, обработанных спорowymi суспензиями штаммов *B. thuringiensis* 926 и 685 на 41,5 и 66,0% к контролю соответственно (см. таблицу). Штаммы *B. thuringiensis* 109-С и Z-52 существенного влияния на амилазную активность в проростках гороха не оказывали.

Большинство фенольных соединений растений синтезируется из шикимовой кислоты в ходе шикиматного пути, который дает до 60% углерода всей биомассы. Общеизвестно, что фенольные соединения являются составной частью лигнинов, которые образуют структурные элементы опорных тканей растения, обеспечивая защиту от полегания [33]. Фенольные соединения выполняют барьерную функцию при облучении растения УФ-лучами 280–320 нм [34]. Флавоногликозиды в клетках эпидермиса эффективно защищают фотосинтетический аппарат мезофилла и препятствуют де-



**Рис. 2.** Влияние жидких споровых культур штаммов *B. thuringiensis* на длину побега проростка 10-суточных проростков гороха сорта Девиз (средние, обозначенные одними и теми же буквами, достоверно не различаются согласно критерию Дункана при уровне значимости 5%)

**Fig. 2.** Liquid spore culture of *B. thuringiensis* strains influence on shoot length of the 10-day sprouts of Deviz peas (Mean values, followed by the same letters in each column are not significantly different by Duncan multiple range test at 5%)



**Рис. 3.** Влияние жидкой споровой культуры штаммов *B. thuringiensis* на формирование боковых корней 10-суточных проростков гороха сорта Девиз ( $p < 0,05$ ) (средние, обозначенные одними и теми же буквами, достоверно не различаются согласно критерию Дункана при уровне значимости 5%)

**Fig. 3.** Liquid spore culture of *B. thuringiensis* strains influence on the lateral roots formation of 10-day sprouts of Deviz peas (Mean values, followed by the same letters in each column are not significantly different by Duncan multiple range test at 5%)

Влияние штаммов *B. thuringiensis* на метаболические процессы в проростках *Pisum sativum* L.  
*B. thuringiensis* strains influence on metabolic processes in *Pisum sativum* L. sprouts

Вариант опыта	Активность амилазы, мг/г*ч	Общая кислотность, мэкв/100 г сырой массы	Суммарное содержание фенольных соединений, %, от сухой массы
Контроль (вода)	0,0106±0,0017	14,71±0,47	4,9±0,08
<i>B. thuringiensis</i> Z-52	0,0067±0,0009	17,36±0,25*	5,7±0,1
<i>B. thuringiensis</i> 109-C	0,0097±0,0034	16,53±0,12*	5,5±0,5
<i>B. thuringiensis</i> 685	0,0150±0,0016*	16,33±0,17*	6,8±1,9*
<i>B. thuringiensis</i> 926	0,0176±0,0011*	16,34±0,13*	11,3±1,2*

Примечание. \* – варианты, статистически достоверно отличающиеся от контроля согласно критерию Стьюдента.

градации ДНК [35, 36]. Ряд исследований также подтверждает гипотезу о том, что фенольные соединения выполняют роль мессенджеров между растением и микрофлорой, регулируя экспрессию генов и биосинтез ферментов [37].

Анализируя полученные экспериментальные данные, отметим, что все изученные штаммы *B. thuringiensis* оказывали стимулирующее влияние на синтез фенольных соединений в проростках гороха сорта Девиз (см. таблицу). Максимальным оно оказалось в варианте с обработкой семян гороха споровой суспензией штамма 926 и составило 11,3 %, что в 2,3 раза выше, чем в контроле. Культура штамма 685 способствовала увеличению содержания фенольных соединений на 38,7 % к контролю. Обработка семян гороха споровой суспензией штаммов *B. thuringiensis* 109-C и Z-52 показала тенденции к увеличению изучаемого показателя.

## ВЫВОДЫ

Установлено, что жидкая споровая культура штаммов *B. thuringiensis* 685, 926 и 109-C оказывала стимулирующее воздействие на изученные морфометрические параметры 10-суточных проростков гороха сорта Девиз.

Отмечено, что по сравнению с контролем споровые суспензии всех изученных штаммов способствовали стимуляции корнеобразования, превышающей эталон не менее чем в 2 раза.

Показано, что обработка семян гороха споровой суспензией штаммов 685 и 926 способствовала увеличению длины корня проростка в среднем на 27,5 % к контролю.

Установлено, что обработка споровой суспензией исследуемых штаммов *B. thuringiensis* 109-C, 685 и 926 способствовала увеличению содержания органических кислот в проростках не более чем на 12,4 % в сравнении с контролем.

Показано, что максимальное стимулирующее действие на амилалитическую активность (на 41,5 % к контролю) и синтез фенольных соединений (в 2,3 раза к контролю) в проростках гороха сорта Девиз оказывала обработка споровой суспензией штамма *B. thuringiensis* 926.

Таким образом, если принимать во внимание энтомопатогенные свойства и полученные данные о ростстимулирующей активности штаммов *B. thuringiensis*, можно заключить, что данные бактерии имеют дополнительный потенциал для их использования в сельском хозяйстве.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Espinasse S., Chaufaux J., Buisson C., Perchat S., Gohar M., Bourguet D., et al. Occurrence and linkage between secreted insecticidal toxins in natural isolates of *Bacillus thuringiensis* // *Current Microbiology*. 2003. Vol. 47. P. 501–507. <https://doi.org/10.1007/s00284-003-4097-2>.
2. Кандыбин Н. В. Бактериальные средства борьбы с грызунами и вредными насекомыми: теория и практика. М.: Агропромиздат, 1989. 172 с.
3. Мельникова Е. А. О патогенности *B. thuringiensis* и препаратов на их основе для теплокровных организмов // Энтомопатогенные бактерии и их роль в защите растений. Новосибирск, 1987. С. 118–130.
4. Коростель С. И., Капустина О. В. Влияние термостабильного экзотоксина *Bacillus thuringiensis* на трихограмму (*Trichogramma* sp.) и агениасписа (*Ageniaspis tusciollus* Dalm.) // Труды ВНИИ защиты растений. 1975. 44 с.
5. Deshayes C., Siegwart M., Pauron D., Froger J.-A., Lapied B., Apaire-Marchais V. Microbial pest control agents: are they a specific and safe tool for insect pest management // *Current Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 24. P. 2959–2973. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170314144311>.
6. Baranek J., Pogodziński B., Szipluk N., Zielezinski A. TOXITAXi: a web resource for toxicity of *Bacillus thuringiensis* protein compositions towards species of various taxonomic groups // *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10. P. 19767. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75932-7>.
7. Rubio-Infante N., Moreno-Fierros L. An overview of the safety and biological effects of *Bacillus thuringiensis* cry toxins in mammals // *Journal of Applied Toxicology*. 2016. Vol. 36. P. 630–648. <https://doi.org/10.1002/jat.3252>.
8. Nazari M., Smith D. L. A PGPR-produced bacteriocin for sustainable agriculture: a review of thuricin 17 characteristics and applications // *Frontiers in Plant Science*. 2020. Vol. 11. <https://doi.org/10.3389/Fpls.2020.00916>.
9. Гришечкина С. Д., Ермолова В. П., Коваленко Т. К.,

- Антонец К. С., Белоусова М. Е., Яхно В. В. [и др.]. Полифункциональные свойства производственного штамма *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* 800/15 // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54. N 3. С. 494–504. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.3.494rus>.
10. Berg G., Muller H., Zachow C., Opelt K., Scherwinski K., Tilcher R., et al. Endophytes: structural and functional diversity and biotechnological applications in control of plant pathogens // *Ecological Genetics*. 2008. Vol. 6, no. 2. P. 17–26. <https://doi.org/10.17816/ecogen6217-26>.
11. Vyas P., Kaur R. Culturable stress-tolerant plant growth-promoting bacterial endophytes associated with *Adhatoda vasica* // *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2019. Vol. 19. P. 290–298. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00028-9>.
12. Jo H., Tagele S. B., Pham H. Q., Kim M. C., Choi S. D., Kim M. J., et al. Response of soil bacterial community and pepper plant growth to application of *Bacillus thuringiensis* KNU-07 // *Agronomy-Basel*. 2020. Vol. 10, no. 4. P. 551. <https://doi.org/10.3390/Agronomy10040551>.
13. Raheem A., Shaposhnikov A., Belimov A. A., Dodd I. C., Ali B. Auxin production by rhizobacteria was associated with improved yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress // *Archives of Agronomy and Soil Science*. 2018. Vol. 64. P. 574–587. <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1362105>.
14. Ambreen S., Yasmin A., Aziz S. Isolation and characterization of organophosphorus phosphatases from *Bacillus thuringiensis* MB497 capable of degrading chlorpyrifos, triazophos and dimethoate // *Heliyon*. 2020. Vol. 6, no. 7. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04221>.
15. Garner B., Brown E., Taplin M., Garcia A., Williams-Mapp B. Transferrin Impacts *Bacillus thuringiensis* biofilm levels // *Biomed Research International*. 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3628268>.
16. De Mandal S., Singh S. S., Kumar N. S. Analyzing plant growth promoting *Bacillus* sp. and related genera in Mizoram, Indo-Burma biodiversity hotspot // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2018. Vol. 15. P. 370–376. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.026>.
17. Raddadi N., Cherif A., Boudabous A., Daffonchio D. Screening of plant growth promoting traits of *Bacillus thuringiensis* // *Annals of Microbiology*. 2008. Vol. 58. P. 47–52. <https://doi.org/10.1007/Bf03179444>.
18. Симонова А. А., Терехин Д. А., Терехина Л. Д., Каменек Л. К. Стимулирующее действие дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* *kurstaki* штамм Z-52 на ювенильные растения // Постгеномная эра в биологии и проблемы: материалы II Международной научно-практической конференции. Казань, 2008. С. 119–120.
19. Терехин Д. А., Терехина Л. Д., Симонова А. А., Каменек Л. К. Характер действия дельта-эндотоксина *Bacillus thuringiensis* *kurstaki* штамм Z-52 на огурец в условиях низких температур *in vitro* // Постгеномная эра в биологии и проблемы: материалы II Международной научно-практической конференции. Казань, 2008. С. 131–132.
20. Cheynier V., Comte G., Davis K. M., Lattanzio V., Martens S. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013. Vol. 72. P. 1–20. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23774057/>.
21. Lattanzio V., Kroon P. A., Quideau S., Treutter D. Plant phenolics – secondary metabolites with diverse functions // *Recent advances in Polyphenol Research*. F. Daayf, V. Lattanzio (eds.). Oxford, UK, Wiley-Blackwell, 2008. Vol. 1. P. 1–35.
22. Демиденко Г. А. Влияние свинца на рост и развитие семян и проростков гороха овощного // Вестник КрасГАУ. 2019. N 4. С. 16–23.
23. Chacon I., Riley-Saldana Ch., Gonzalez A. Secondary metabolites during early development in plants // *Phytochemistry Reviews*. 2013. Vol. 12. P. 47–64. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9250-8>.
24. Казанцева В. В., Гончарук Е. А., Фесенко А. Н., Широкова А. В., Загоскина Н. В. Особенности образования фенольных соединений в проростках гречихи (*Fagopyrum esculentum* Moench) различных сортов // Сельскохозяйственная биология. 2015. Т. 50. N 5. С. 611–619. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2015.5.611rus>.
25. Pompeiano A., Fanucchi F., Guglielminetti L. Amylolytic activity and carbohydrate levels in relation to coleoptile anoxic elongation in *Oryza sativa* genotypes // *Journal of Plant Research*. 2013. Vol. 126, no. 6. P. 787–794. <https://doi.org/10.1007/s10265-013-0567-1>.
26. Liu X., Zhang S., Shan X. Q., Christie P. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate co-contamination // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2007. Vol. 68, no. 2. P. 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.11.001>.
27. Хайлафян А. А. Современные статистические методы медицинских исследований. М.: ЛЕНАРД, 2014. 320 с.
28. Deore G. B., Limaye A. S., Dushing Y. A., Dhobale S. B., Kale S., Laware S. L. Screening of protease producing fungi for microbial digestion of seed proteins and synthesis of amino acids-metalnutrient chelates // *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2013. Vol. 16. P. 86–91. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.86.91>.
29. Carré B., Gomez J., Chagneau A. M. Contribution of oligosaccharide and polysaccharide digestion, and excreta losses of lactic acid and short chain fatty acids, to dietary metabolisable energy values in broiler chickens and adult cockerels // *British Poultry Science*. 1995. Vol. 36. P. 611–629. <https://doi.org/10.1080/00071669508417807>.
30. Khemakhem M., Zarroug Y., Jabou K., Selmi S., Bouzouita N. Physicochemical characterization of oil,



antioxidant potential, and phenolic profile of seeds isolated from Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars // *Journal of Food Science*. 2021. Vol. 86, no. 3. P. 852–859. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15636>.

31. Schepper C. F., Michiels P., Buvé C., van Loey A. M., Courtin C. M. Starch hydrolysis during mashing: a study of the activity and thermal inactivation kinetics of barley malt  $\alpha$ -amylase and  $\beta$ -amylase // *Carbohydrate Polymers*. 2021. Vol. 255. P. 117494. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117494>.

32. Andriotis V. M. E., Rejzek M., Barclay E., Michael D. M., Robert A. F., Alison M. A. Cell wall degradation is required for normal starch mobilisation in barley endosperm // *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. P. 33215. <https://doi.org/10.1038/srep33215>.

33. Ahmed Z., Manzoor M. F., Ahmad N., Zeng X.-A., Din Z. U., Roobab U. Impact of pulsed electric field treatments on the growth parameters of wheat seeds and nutritional properties of their wheat plantlets juice // *Food Science & Nutrition*. 2020. Vol. 8, no. 5. P. 2490–2500. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1540>.

34. Díaz-Guerra L., Llorens L., Julkunen-Tiitto R., Nogués I., Font J., González J. A., et al. Leaf biochem-

ical adjustments in two Mediterranean resprouter species facing enhanced UV levels and reduced water availability before and after aerial biomass removal // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019. Vol. 137. P. 130–143. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.01.031>.

35. Ahmadi T., Shabani L., Sabzalian M. R. LED light mediates phenolic accumulation and enhances antioxidant activity in *Melissa officinalis* L. under drought stress condition // *Protoplasma*. 2020. Vol. 257, no. 4. P. 1231–1242. <https://doi.org/10.1007/s00709-020-01501-4>.

36. Beshamgan E. S., Sharifi M., Zarinkamar F. Crosstalk among polyamines, phytohormones, hydrogen peroxide, and phenylethanoid glycosides responses in *Scrophularia striata* to Cd stress // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019. Vol. 143. P. 129–141. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.08.028>.

37. Ayuso-Calles M., García-Estévez I., Jiménez-Gómez A., Flores-Félix J. D., Escribano-Bailón M. T., Rivas R. *Rhizobium laguerreae* improves productivity and phenolic compound content of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under saline stress conditions // *Foods*. 2020. Vol. 9, no. 9. P. 1166. <https://doi.org/10.3390/foods9091166>.

## REFERENCES

1. Espinasse S., Chaufaux J., Buisson C., Perchat S., Gohar M., Bourguet D., et al. Occurrence and linkage between secreted insecticidal toxins in natural isolates of *Bacillus thuringiensis*. *Current Microbiology*. 2003;47:501–507. <https://doi.org/10.1007/s00284-003-4097-2>.

2. Kandybin N. V. *Bacterial means of rodents and harmful insects control: theory and practice*. Moscow: Agropromizdat; 1989. 172 p. (In Russian).

3. Mel'nikova E. A. On the pathogenicity of *B. thuringiensis* and preparations based on them for warm-blooded organisms. In: *Entomopathogenic bacteria and their role in plant protection*. Novosibirsk, 1987. P. 118–130. (In Russian).

4. Korostel' S. I., Kapustina O. V. Effect of thermostable *Bacillus thuringiensis* exotoxin on trichogramma (*Trichogramma* sp.) and ageniaspis (*Ageniaspis tus-cicollus* Dalm.). *Trudy VNII zashchity rastenii*. 1975. 44 p. (In Russian).

5. Deshayes C., Siegwart M., Pauron D., Froger J.-A., Lapied B., Aparaire-Marchais V. Microbial pest control agents: are they a specific and safe tool for insect pest management. *Current Medicinal Chemistry*. 2017;24:2959–2973. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170314144311>.

6. Baranek J., Pogodziński B., Szipluk N., Zielezinski A. TOXiTAXi: a web resource for toxicity of *Bacillus thuringiensis* protein compositions towards species of various taxonomic groups. *Scientific Reports*. 2020;10:19767. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75932-7>.

7. Rubio-Infante N., Moreno-Fierros L. An overview of the safety and biological effects of *Bacillus thuringiensis* cry toxins in mammals. *Journal of Applied Toxicology*. 2016;36:630–648. <https://doi.org/10.1002/jat.3252>.

8. Nazari M., Smith D. L. A PGPR-produced bacteriocin for sustainable agriculture: a review of thuricin 17 characteristics and applications. *Frontiers*

in *Plant Science*. 2020;11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00916>.

9. Grishechkina S. D., Ermolova V. P., Kovalenko T. K., Antonets K. S., Belousova M. E., Yakhno V. V., et al. Polyfunctional properties of the *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* industrial strain 800/15. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*. 2019;54(3):494–504. (In Russian). <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.3.494rus>.

10. Berg G., Muller H., Zachow C., Opelt K., Scherwinski K., Tilcher R., et al. Endophytes: structural and functional diversity and biotechnological applications in control of plant pathogens. *Ecological Genetics*. 2008;6(2):17–26. <https://doi.org/10.17816/ecogen6217-26>.

11. Vyas P., Kaur R. Culturable stress-tolerant plant growth-promoting bacterial endophytes associated with *Adhatoda vasica*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2019;19:290–298. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00028-9>.

12. Jo H., Tagele S. B., Pham H. Q., Kim M. C., Choi S. D., Kim M. J., et al. Response of soil bacterial community and pepper plant growth to application of *Bacillus thuringiensis* KNU-07. *Agronomy-Basel*. 2020;10(4):551. <https://doi.org/10.3390/Agronomy10040551>.

13. Raheem A., Shaposhnikov A., Belimov A. A., Dodd I. C., Ali B. Auxin production by rhizobacteria was associated with improved yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 2018;64:574–587. <https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1362105>.

14. Ambreen S., Yasmin A., Aziz S. Isolation and characterization of organophosphorus phosphatases from *Bacillus thuringiensis* MB497 capable of degrading chlorpyrifos, triazophos and dimethoate. *Heliyon*. 2020;6(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04221>.

15. Garner B., Brown E., Taplin M., Garcia A., Williams-Mapp B. Transferrin Impacts *Bacillus thuringien-*

- sis biofilm levels. *Biomed Research International*. 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3628268>.
16. De Mandal S., Singh S. S., Kumar N. S. Analyzing plant growth promoting *Bacillus* sp. and related genera in Mizoram, Indo-Burma biodiversity hotspot. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2018;15:370-376. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.07.026>.
17. Raddadi N., Cherif A., Boudabous A., Daffonchio D. Screening of plant growth promoting traits of *Bacillus thuringiensis*. *Annals of Microbiology*. 2008;58:47-52. <https://doi.org/10.1007/Bf03179444>.
18. Simonova A. A., Terehin D. A., Terehina L. D., Kamenek L. K. Stimulating effect of *Bacillus thuringiensis* kurstaki delta-endotoxin strain Z-52 on juvenile plants. In: *Postgenomnaja jera v biologii i problemy: materialy II Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii = Postgenomic Era in Biology and Problems: Materials of the II International Scientific and Practical Conference*. Kazan; 2008, p. 119-120. (In Russian).
19. Terehin D. A., Terehina L. D., Simonova A. A., Kamenek L. K. The nature of the action of *Bacillus thuringiensis* kurstaki delta-endotoxin strain Z-52 on cucumber at low temperatures *in vitro*. In: *Postgenomnaja jera v biologii i problemy: materialy II Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii = Postgenomic Era in Biology and Problems: Materials of the II International Scientific and Practical Conference*. Kazan; 2008, p. 131-132. (In Russian).
20. Cheynier V., Comte G., Davis K. M., Lattanzio V., Martens S. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2013;72:1-20. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23774057/>.
21. Lattanzio V., Kroon P. A., Quideau S., Treutter D. Plant phenolics – secondary metabolites with diverse functions. In: *Recent Advances in Polyphenol Research*. F. Daayf, V. Lattanzio (eds.). Oxford, UK, Wiley-Blackwell; 2008, vol. 1, p. 1-35.
22. Demidenko G. A. The influence of lead on growth and development of seeds and seed growth of vegetable pea. *Vestnik KrasGAU = Bulletin of KSAU*. 2019;(4):16-23. (In Russian).
23. Chacon I., Riley-Saldana Ch., Gonzalez A. Secondary metabolites during early development in plants. *Phytochemistry Reviews*. 2013;12:47-64. <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9250-8>.
24. Kazantseva V. V., Goncharuk E. A., Fesenko A. N., Shirokova A. V., Zagoskina N. V. Features of the phenolics' formation in seedlings of different varieties of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Sel'skhozjajstvennaja biologija = Agricultural Biology*. 2015;50(5):611-619. (In Russian). <https://doi.org/10.15389/agrobiologiya.2015.5.611rus>.
25. Pompeiano A., Fanucchi F., Guglielminetti L. Amylolytic activity and carbohydrate levels in relation to coleoptile anoxic elongation in *Oryza sativa* genotypes. *Journal of Plant Research*. 2013;126(6):787-794. <https://doi.org/10.1007/s10265-013-0567-1>.
26. Liu X., Zhang S., Shan X. Q., Christie P. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate co-contamination. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2007;68(2):305-313. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.11.001>.
27. Hajlajfan A. A. *Modern statistical methods of medical research*. Moscow: LENARD; 2014. 320 p. (In Russian).
28. Deore G. B., Limaye A. S., Dushing Y. A., Dhobale S. B., Kale S., Laware S. L. Screening of protease producing fungi for microbial digestion of seed proteins and synthesis of amino acids-metalnutrient chelates. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2013;16:86-91. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2013.86.91>.
29. Carré B., Gomez J., Chagneau A. M. Contribution of oligosaccharide and polysaccharide digestion, and excreta losses of lactic acid and short chain fatty acids, to dietary metabolisable energy values in broiler chickens and adult cockerels. *British Poultry Science*. 1995;36:611-629. <https://doi.org/10.1080/00071669508417807>.
30. Khemakhem M., Zarroug Y., Jabou K., Selmi S., Bouzouita N. Physicochemical characterization of oil, antioxidant potential, and phenolic profile of seeds isolated from Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Journal of Food Science*. 2021;86(3):852-859. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15636>.
31. Schepper C. F., Michiels P., Buvé C., van Loey A. M., Courtin C. M. Starch hydrolysis during mashing: a study of the activity and thermal inactivation kinetics of barley malt  $\alpha$ -amylase and  $\beta$ -amylase. *Carbohydrate Polymers*. 2021;255:117494. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117494>.
32. Andriotis V. M. E., Rejzek M., Barclay E., Michael D. M., Robert A. F., Alison M. A. Cell wall degradation is required for normal starch mobilisation in barley endosperm. *Scientific Reports*. 2016;6:33215. <https://doi.org/10.1038/srep33215>.
33. Ahmed Z., Manzoor M. F., Ahmad N., Zeng X.-A., Din Z. U., Roobab U. Impact of pulsed electric field treatments on the growth parameters of wheat seeds and nutritional properties of their wheat plantlets juice. *Food Science & Nutrition*. 2020;8(5):2490-2500. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1540>.
34. Díaz-Guerra L., Llorens L., Julkunen-Tiitto R., Nogués I., Font J., González J. A., et al. Leaf biochemical adjustments in two Mediterranean resprouter species facing enhanced UV levels and reduced water availability before and after aerial biomass removal. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;137:130-143. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.01.031>.
35. Ahmadi T., Shabani L., Sabzalim M. R. LED light mediates phenolic accumulation and enhances antioxidant activity in *Melissa officinalis* L. under drought stress condition. *Protoplasma*. 2020;257(4):1231-1242. <https://doi.org/10.1007/s00709-020-01501-4>.
36. Beshamgan E. S., Sharifi M., Zarinkamar F. Crosstalk among polyamines, phytohormones, hydrogen peroxide, and phenylethanoid glycosides responses in *Scrophularia striata* to Cd stress. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019;143:129-141. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.08.028>.
37. Ayuso-Calles M., García-Estévez I., Jiménez-Gómez A., Flores-Félix J. D., Escribano-Bailón M. T., Rivas R. *Rhizobium laguerreae* improves productivity and phenolic compound content of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under saline stress conditions. *Foods*. 2020;9(9):1166. <https://doi.org/10.3390/foods9091166>.



#### **ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ**

##### **А. В. Крыжко,**

к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник  
лаборатории молекулярной генетики,  
протеомики и биоинформатики  
в сельском хозяйстве,  
Научно-исследовательский институт сельского  
хозяйства Крыма,  
295453, г. Симферополь, ул. Киевская, 150,  
Российская Федерация,  
kryzhko\_a@niishk.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-5401-0579>

##### **Н. Н. Смаглий,**

лаборант лаборатории молекулярной  
и клеточной биологии,  
Научно-исследовательский институт сельского  
хозяйства Крыма,  
295453, г. Симферополь, ул. Киевская, 150,  
Российская Федерация,  
scarletsun7991@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-5931-0412>

##### **Вклад авторов**

Все авторы сделали эквивалентный вклад  
в подготовку публикации.

##### **Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта  
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили  
окончательный вариант рукописи.*

##### **Информация о статье**

Поступила в редакцию 14.05.2022.  
Одобрена после рецензирования 02.08.2022.  
Принята к публикации 30.11.2022.

#### **INFORMATION ABOUT THE AUTHORS**

##### **Anastasiia V. Kryzhko,**

Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher,  
Laboratory of Molecular Genetics, Proteomics  
and Bioinformatics in Agriculture,  
Research Institute of Agriculture of Crimea,  
150, Kievskaya St., Simferopol, 295453,  
Russian Federation,  
kryzhko\_a@niishk.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-5401-0579>

##### **Natalia N. Smaglyi,**

Assistant,  
Laboratory of Molecular and Cellular Biology,  
Research Institute of Agriculture of Crimea,  
150, Kievskaya St., Simferopol, 295453,  
Russian Federation,  
scarletsun7991@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-5931-0412>

##### **Contribution of the authors**

The authors contributed equally to this article.

##### **Conflict interests**

The authors declare no conflict of interests  
regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved  
by all the co-authors.*

##### **Information about the article**

The article was submitted 14.05.2022.  
Approved after reviewing 02.08.2022.  
Accepted for publication 30.11.2022.