

ВЛИЯНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ НА ПИГМЕНТНЫЙ АППАРАТ ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО

Н.Н. Волынчук¹, Л.Ф. Кабашникова²

¹Полесский государственный университет, Пинск

²Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск

Актуальность. Виноградная лоза (*Vitis spp.*) – одна из основных и наиболее экономически важных плодовых культур во всем мире. Биологизация виноградарства, как важной отрасли сельскохозяйственного производства, базируется на принципах, сохраняющих природные ресурсы и сберегающих целостность экосистемы в долгосрочной перспективе. Одна из групп средств биоконтроля фитопатогенных грибов, которая в последнее время привлекает повышенное внимание ученых и промышленности – это дрожжевые грибы. Часто используемые дрожжи-антагонисты включают главным образом штаммы, принадлежащие к роду *Pichia* [2], *Meyerozyma*, [5],

Rhodotorula [4], *Hanseniaspora* [7], *Metschnikowia* [6], *Saccharomyces* и дрожжеподобного гриба *Aureobasidium* [7].

Aureobasidium pullulans (черные дрожжи) представляют собой олиготрофный, сапрофитный и полиморфный дрожжеподобный гриб, естественным образом присутствующий как эпифит и эндофит в филлосфере и карпосфере различных видов растений, включая как больные, так и здоровые виноградные лозы. Широкое распространение *A. pullulans* связано с его повышенной устойчивостью к различным экологическим стрессам и высокой антагонистической активностью в отношении бактерий и грибов [3]. Диморфные грибы хорошо адаптируются к условиям окружающей среды благодаря таким свойствам, как наличие меланина, толстые клеточные стенки и меристематический рост, термо- и осмотолерантность, капсулообразование и т.д.

Hanseniaspora uvarum (*Kloeckera apiculata*) – вид дрожжевых грибов, относящихся к классу *Saccharomycetes*. Наиболее распространённый на плодах винограда немикелиальный гриб, участвующий в первичной ферментации. Иногда данный вид грибов используется для успешного усиления брожения вина при совместной инокуляции с дрожжами *S. cerevisiae*. При доминировании в течение всего процесса ферментации данные дрожжевые грибы могут привести к незначительному накоплению уксусной кислоты и этилацетата [7].

Биологический контроль представляет собой устойчивый подход к производству высококачественного винограда и вин с высокими стандартами пищевой безопасности без остатков синтетических фунгицидов. Более того, некоторые дрожжевые биоагенты улучшают вкусовые качества вина, аромат, играют важную роль в ферментации в качестве ингибитора немикелиальных грибов. Также известно, что успешное применение биоагентов против микопатогенов может быть альтернативой снижения дозы применения диоксида серы, способствуя тем самым уменьшению потенциальных аллергических реакций на сульфиты у потребителей вина.

Материалы и методы. Объектом исследования служили виноградные лозы сорта Альфа, обработанные аборигенными перспективными штаммами дрожжевых грибов, которые демонстрировали высокие показатели ингибирования роста фитопатогенных грибов *Botrytis cinerea* БИМ F-71 и *Fusarium oxysporum* БИМ F-609. Выделение и исследования антагонистической активности дрожжеподобных грибов проводили на базе кафедры биотехнологии ПолесГУ. Образцы тканей винограда сорта Альфа без видимых повреждений и поражений асептически были отобраны весной-летом 2022 г. на плантации ОАО «Пинский винодельческий завод» пос. Садовый. Система ведения на винограднике – шпалерная. Расстояние между кустами – 1,2 м, ширина между рядами – 2,5 м. Покровные культуры состоят из смеси многолетних трав. Виноградник – неорошаемый, неукрывной. Обработку растений проводили водной суспензией штаммов с титром не менее 10^6 КОЕ/мл на стадии цветения, формирования и роста ягод, веризона. Контролем служили растения, не обработанные дрожжевыми грибами.

Для экстракции пигментов использовали навеску листьев (20-30 мг). Хлорофилл (Хл) и каротиноиды экстрагировали 99,5% ацетоном в трехкратной повторности. Количество пигментов в экстрактах определяли по спектрам поглощения на спектрофотометре «Shimadzu UV – 2401 PC» (Shimadzu, Япония) при трех длинах волн: 662 нм (Хл *a*), 644 нм (Хл *b*) и 440,5 нм (каротиноиды). Количество пигментов рассчитывали по формулам [1]. Содержание фотосинтетических пигментов выражали в расчете на единицу сырой биомассы листа.

Все исследования проводили в трехкратной биологической повторности. Достоверность различий средних значений определяли с использованием компьютерных программ *Statistica* (версия 10.0) (*StatSoft*) и *Excel 2010* (*Microsoft*). Статистически достоверными считались различия между показателями при $p \leq 0,05$ (в таблицах отмечены звездочкой).

Результаты исследования. Пигменты фотосинтеза в ассимилирующих органах являются одним из основных показателей потенциальной продуктивности растений. Имея сведения о содержании Хл, можно оценить потенциальную фотохимическую активность листьев винограда. На первом этапе исследования был проведен количественный анализ содержания фотосинтетических пигментов в листьях винограда (рисунок 1).

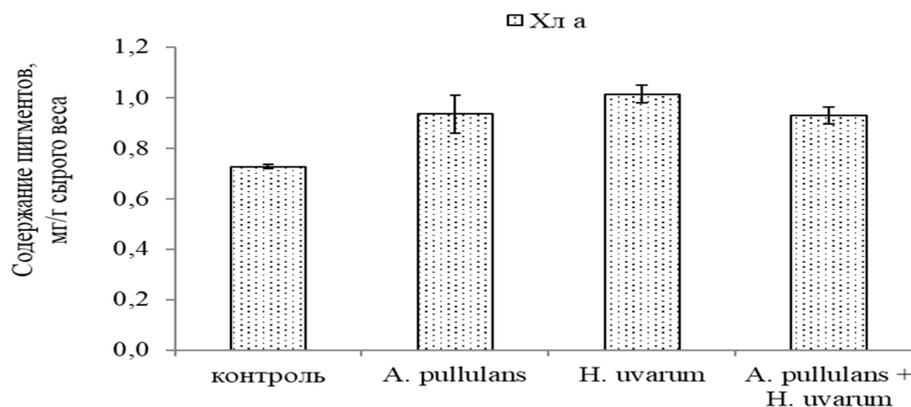


Рисунок 1 – Содержание Хл *a* в листьях винограда сорта Альфа, обработанного дрожжевыми грибами

Как видно из представленных результатов, грибная инокуляция вызвала достоверное увеличение содержания Хл *a* в опытных растениях. Среднее содержание Хл *a*, обработанных растений, составило 0,960 мг/г сырого веса, что на 31,7 % больше относительно необработанных растений. Максимальное его увеличение на 39,2 % в сравнении с контрольными данными наблюдалось при обработке дрожжевым грибом вида *Hanseniaspora uvarum*.

Такая же тенденция наблюдалась при количественном определении содержания Хл *b*, который присутствует в составе светособирающих комплексов фотосинтетических мембран (рисунок 2).

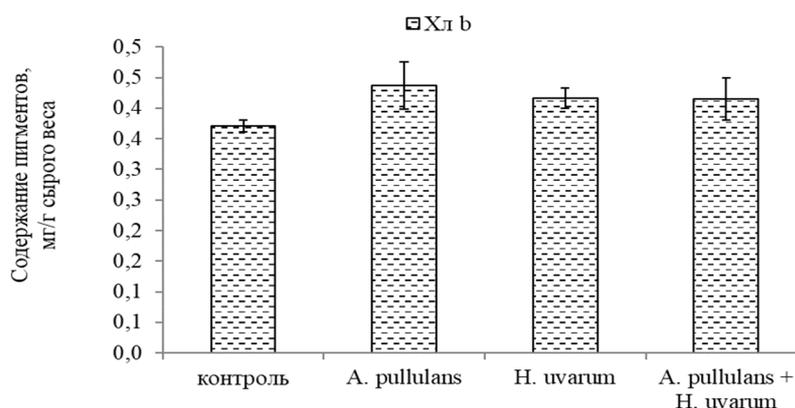


Рисунок 2. – Содержание Хл *b* в листьях винограда сорта Альфа, обработанного дрожжевыми грибами

Для опытных вариантов уровень содержания данного пигмента составлял от 0,415 до 0,437 мг/г сырой массы листьев винограда. Обработка дрожжевым грибом рода *Aureobasidium* увеличила содержание Хл *b* на 17,8 % по сравнению с контролем, в то время как обработка штаммом *Hanseniaspora* и комбинированная обработка – на 12,1%. Известно, что Хл *b* обладает уникальным физико-химическим свойством поглощать свет в коротковолновой области (425–475 нм), в которой слабо поглощает Хл *a*, тем самым повышение содержания Хл *b* значительно увеличивает светосбор, что особенно важно при пониженной освещенности, которая характерна для условий Беларуси.

На основе полученных данных по содержанию Хл *a* и Хл *b* в листьях винограда было рассчитано соотношение между ними (рисунок 3). Обработка штаммом *Hanseniaspora* привела к максимальному повышению данного показателя в среднем на 30,1%.

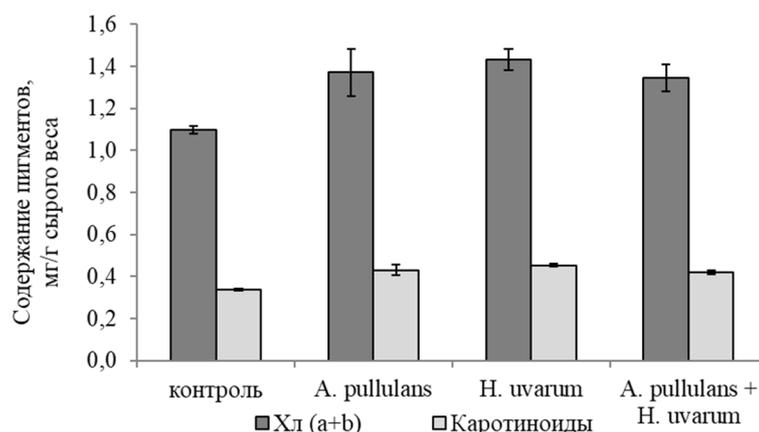


Рисунок 3. – Содержание Хл (a+b) и каротиноидов в листьях винограда сорта Альфа, обработанного дрожжевыми грибами

Экспериментально показано и достоверное увеличение содержания каротиноидов в листьях винограда при всех вариантах обработки на 24,6-34,3%. Известно, что каротиноиды играют важную роль в механизмах защиты фотосинтетического аппарата (ФСА) от различных повреждающих факторов окружающей среды. Функции каротиноидов в растении весьма многообразны: они вносят свой вклад в формирование структуры ФСА растений, участвуют в поглощении световой энергии и защите молекул Хл от активных форм кислорода (АФК) и выполняют роль антиоксидантов в липидной фазе мембран.

Выводы. Дрожжевые грибы *Aureobasidium pullulans* и *Hanseniaspora uvarum*, а также их комбинации показали свою высокую эффективность в отношении фитопатогенных грибов *Botrytis cinerea* и *Fusarium oxysporum*, что делает их весьма полезными для потенциального применения в биологической борьбе. Содержание Хл а, Хл b, их суммы и каротиноидов в листьях повышалось, что указывает на положительную реакцию пигментного аппарата листьев винограда при обработке дрожжевыми биоагентами. Полученные результаты могут создать научную основу для разработки средств биологической защиты растений винограда с использованием дрожжевых грибов в качестве альтернативы использованию химических фунгицидов, что позволит снизить потери урожая из-за фитопатогенов и обеспечить более высокую экологическую безопасность индустрии винограда.

Список использованных источников

1. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листьев // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука. 1971:154-170.
2. Abdel-Kareem M.M., Zohri A.N., Elmohsen S. Novel marine yeast strains as plant growth-promoting agents improve defense in wheat (*Triticum aestivum*) against *Fusarium oxysporum* // Journal of Plant Diseases and Protection. 2021; 128:973-988. DOI 10.1007/s41348-021-00461-y
3. Fernandez San Millan A., Larraya L., Farran I., Ancin M., Veramendi J. Successful biocontrol of major postharvest and soil-borne plant pathogenic fungi by antagonistic yeasts // Biological Control. 2021; 160:267-278. DOI 10.1016/j.biocontrol.2021.104683.
4. Matic S., Spadaro D., Garibaldi A., Gullino M. Antagonistic yeasts and thermotherapy as seed treatments to control *Fusarium fujikuroi* on rice // Biological Control. 2014; 73:59-67. DOI 10.1016/j.biocontrol.2014.03.008.
5. Rossetti A., Perpetuini G., Battistelli N., Zulli C., Arfelli G., Suzzi G., Cichelli A., Tofalo R. Capturing the fungal community associated with conventional and organic Trebbiano Abruzzese grapes and its influence on wine characteristics // Food Bioscience. 2023; 52:352-364. DOI 10.1016/j.fbio.2023.102382.
6. Sipiczki M. *Metschnikowia pulcherrima* and related pulcherrimin-producing yeasts: fuzzy species boundaries and complex antimicrobial antagonism // Microorganisms. 2020; 8:186-194. DOI 10.3390/microorganisms8071029.
7. Zhang Q., Zhao L., Li Z., Li C., Li B., Gu X., Zhang X., Zhang H. Screening and identification of an antagonistic yeast controlling postharvest blue mold decay of pears and the possible mechanisms involved // Biological Control. 2019; 133:26-33. DOI 10.1016/j.biocontrol.2019.03.002.