

ВЛИЯНИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА АНТИМИКРОБНУЮ АКТИВНОСТЬ ЭНДОФИТНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ ВЕРЕСКОВЫХ

О.Н. Жук, Я.С. Камельчук, Д.А. Слиж

Полесский государственный университет, Пинск

Аннотация. Изучено влияние brassinosteroidов 28-ГК и 28-ГБ на антимикробную активность эндофитных микромицетов вересковых – *Phialocephala fortinii* и *Pezicula* sp. Brassinosteroidы 28-ГК и 28-ГБ дозозависимо влияют на метаболизм изученных микромицетов, повышая или снижая антимикробную активность как мицелия, так и культуральной жидкости.

Ключевые слова: эндофитные микромицеты, антимикробная активность, brassinosteroidы.

Введение. Жизнедеятельность растений неразрывно связана с микробиомом почвы, представители которого влияют на растения по-разному. Одни являются полезными, приводя в усвояемую форму почвенный субстрат, за счет гифов эндофитных микромицетов расширяется площадь питательной среды, микроорганизмы синтезируют и поставляют в доступной форме свои метаболиты, другие являются фитопатогенами. При изучении микрофлоры растений в данной работе внимание уделено исследованию антимикробной активности эндофитных грибов-микромицетов, что представляет практический интерес в выявлении взаимосвязей между этими грибами и растениями, с одной стороны, и перспектива целенаправленного влияния как на микромицеты, так и на растения [1]. Как всякая живая система, грибы, оказывая мощное влияние на окружающую среду, сами зависимы от нее, в частности, от вторичных метаболитов, синтезируемых растениями и/или микроорганизмами. В этом аспекте интерес представляют brassinosteroidы (БС) – широко распространенные в растительном мире фитогормоны класса стероидов [2].

Целью данного исследования явилось выяснение воздействия БС на антимикробную активность микромицетов *Phialocephala fortinii* и *Pezicula* sp.

Материалы и методы. Микромицеты *Phialocephala fortinii* и *Pezicula* sp. выделены нами из корней представителей семейства вересковых – аборигенного вида черники и культурного вида – голубики высокорослой, зарегистрированы в базе данных GeneBank NCBI, депонированы в коллекции микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси. Brassinosteroidы 28-гомокастастерон (28-ГК) и 28-гомобрасинолид (28-ГБ) синтезированы в Лаборатории химии стероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Глубинное культивирование микромицетов проводили по ранее описанной методике на шейкере WiseShake SHO в течение 10 суток при 100 об/мин [3]. Концентрации добавляемых в питательную среду 28-ГБ и 28-ГК составили 10^{-7} М, 10^{-9} М и 10^{-12} М.

В исследовании антимикробной активности микромицетов были использованы микроорганизмы *Pseudomonas fluorescens* и *Bacillus pumilus*.

Чувствительность микроорганизмов к метаболитам микромицетов определяли диско-диффузионным методом [4]. В качестве контрольного определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам использовали индикаторные стандартизированные коммерческие диски (НИЦФ, Санкт-Петербург), пропитанные антибиотиками рифампицином, бензилпеницилином, гентамицином, левомицитином и стрептомицином.

Эксперименты выполнены в трех повторях. Полученные результаты обрабатывали статистически с применением однофакторного дисперсионного анализа с помощью пакета анализа данных в

MS Excel. Достоверность влияния фактора определяли по критерию Фишера. Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Все исследуемые контрольные антибиотики формировали зону подавления роста *Ps. fluorescens* и *B. pumilus* в разной, характерной для данного антибиотика и данного микроорганизма степени от $254,5 \pm 3,3$ мм² до $1963,5 \pm 6,8$ мм². Выявлена антимикробная активность микромицетов по отношению к данным тестовым микроорганизмам – активность мицелия *Ph. fortinii* к бактериям *Ps. fluorescens* оказалась выше, чем к бактериям *B. pumilus* и составила $33,4 \pm 2,9$ мм² против $23,9 \pm 3,1$ мм². Добавление в питательную среду 28-ГБ во всех концентрациях, на которой выращивали *Ph. fortinii*, привело к снижению антимикробной активности мицелия этого микромицета к *Ps. fluorescens* по сравнению с контролем с $33,4 \pm 2,9$ мм² до $30,8 \pm 2,6$ мм². Антимикробная активность мицелия *Ph. fortinii*, выращенного в присутствии гормона 28-ГК в концентрации 10^{-7} М и 10^{-12} М оказалась ниже контроля в $1,4 \div 1,5$ раза, но активность мицелия, выращенного с 28-ГК 10^{-9} М, увеличилась, и площадь зоны подавления роста при этом была больше контрольных значений в 2 раза и составила $67,4 \pm 3,7$ мм². Этот же эффект наблюдался и у культуральной жидкости *Ph. fortinii*, где 28-ГК 10^{-9} М антимикробную активность по отношению к контролю превысил в 1,8 раза ($71,1 \pm 4,3$ мм²). С другими концентрациями гормона 28-ГК выявлено снижение антимикробной активности культуральной жидкости.

Культуральная жидкость *Pezicula sp.* при добавлении в питательную среду 28-ГБ 10^{-7} М увеличивала зону подавления роста *B. pumilus* в 1,2 раза, но при 28-ГБ 10^{-9} М и 28-ГБ 10^{-12} М – активность упала. Достоверного изменения антимикробной активности по отношению к *B. pumilus* у мицелия *Ph. fortinii* при добавлении 28-ГБ в исследуемых концентрациях не наблюдалась. Антимикробная активность культуральной жидкости микромицетов *Pezicula sp.* к *Ps. fluorescens* была несколько выше, чем у мицелия, хотя отличия не были статистически значимыми (площадь зоны подавления ростом мицелия $28,3 \pm 0,1$ мм², культуральной жидкости – $36,3 \pm 5,2$ мм²), аналогичная ситуация и по отношению к *B. pumilus* (площадь зоны подавления ростом мицелия $28,3 \pm 0,1$ мм², культуральной жидкости – $39,7 \pm 6,3$ мм²). Добавление 28-ГК 10^{-12} М в питательную среду значительно повысило антимикробную активность метаболитов мицелия и культуральной жидкости к *Ps. fluorescens* – на 26,9 % и 30 %, соответственно. По отношению к *B. pumilus* значительное подавление роста микроорганизма вызвало добавление в питательную среду 28-ГБ 10^{-9} М, которое превысило показатели контроля на 36 %.

Закключение. Исследованные эндофитные микромицеты *Phialocephala fortinii* и *Pezicula sp.* при глубинном культивировании синтезируют и секретируют метаболиты, обладающие антимикробной активностью. Брассиностероиды 28-ГК и 28-ГБ дозозависимо влияют на метаболизм изученных микромицетов, повышая или снижая антимикробную активность как мицелия, так и культуральной жидкости. Требуется дальнейшие исследования для уяснения тонких механизмов данного процесса, поскольку их понимание позволит не только оказывать действие на рост микромицетов *in vitro*, но и разработать биотехнологические приемы культивирования микромицет для целенаправленного воздействия на рост и развитие растений при выращивании последних как *in vitro*, так и создавать композиты, благоприятно влияющие на растения *in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственной программы научных исследований Республики Беларусь «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорхимия» на 2021-2025 годы (подпрограмма «Химические основы процессов жизнедеятельности» (Биоорхимия), задание 2.3.3.4 «Изучить роль брассиностероидов в реализации биологической активности макро- и микромицетов») (№ гос.регистрации 20212982).

Список использованных источников

1. Булах, Е.М. Грибы – источник жизненной силы/ Е.М. Булах // Владивосток: Русский остров, 2001. – 64 с.
2. Khripach, V.A. Brassinosteroids: A new class of plant hormones / V.A. Khripach, V.N. Zhabinskii, A.E. De Groot. – San Diego : Academic Press, 1998. – P. 152.
3. Камельчук, Я.С. Особенности выделения и культивирования *in vitro* эндомикоризных грибов из корней представителей семейства Вересковых (Ericaceae juss.) / Я.С. Камельчук, Н.А. Ламан // Ботаника (исследования) : сборник научных трудов / Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича НАН Беларуси; ред. кол.: Н.А. Ламан [и др.]. - Минск : Коллоград, 2018. - Вып. 47. - С. 110-115.
2. Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам

[Электронный ресурс] / Руководство по учету результатов. Определение чувствительности к антимикробным препаратам. Дisko-диффузионный метод EUCAST. – Москва, 2017. – Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru/iacmac/ru/docs/eucast/eucast-disk-diffusion-reading-guide-5.0-rus.pdf>. – Дата доступа: 20.10.2025.