

УДК 577:579.64:634

**Н.Н. ВОЛЫНЧУК**

аспірант

Полесский государственный университет,  
г. Пинск, Республика Беларусь

**Л.Ф. КАБАШНИКОВА**, д-р биол. наук, доцент  
член-корреспондент Национальной академии наук Беларуси,  
зав. лабораторией прикладной биофизики и биохимии<sup>1</sup>

**В.И. ЛУКША**, канд. биол. наук,  
старший научный сотрудник лаборатории прикладной биофизики и биохимии<sup>1</sup>

**Л.В. ПАШКЕВИЧ**, канд. биол. наук,  
старший научный сотрудник лаборатории прикладной биофизики и биохимии<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,  
г. Минск, Республика Беларусь

Статья поступила 8 апреля 2024 г.

**ВЛИЯНИЕ АБОРИГЕННЫХ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ НА  
ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИСТЬЕВ ВИНОГРАДА  
КУЛЬТУРНОГО (*VITIS VINIFERA*)**

*В исследовании приведены результаты оценки функционального состояния листьев винограда культурного (*Vitis vinifera*) сорта Альфа, подвергнутого обработке перспективными аборигенными штаммами дрожжевых грибов *Aureobasidium pullulans* и *Hanseniaspora uvarum*. Установлено, что обработка многолетних кустарниковых лян аборигенными штаммами немикелиальных грибов оказывала стимулирующее влияние на метаболические процессы, увеличивая содержание хлорофилла (Хл) *a*, *b* и каротиноидов в листьях винограда культурного на 33,10%, 13,92% и 28,79% соответственно относительно физиологических значений. Монообработка «черными» дрожжевыми грибами *A. pullulans* и комбинированная обработка *A. pullulans* и *H. uvarum* демонстрировали снижение содержания малонового диальдегида от 7,68 до 16,68% по сравнению с контрольными значениями. Содержание неферментативных антиоксидантов–фенолов как компонентов антиоксидантной защиты в наших опытах показало тенденцию к снижению после одиночных вариантов обработки дрожжевыми биоагентами от 11,72 до 15,31%, а при комбинированной – до 24,77%.*

**Ключевые слова:** *Vitis vinifera*, дрожжевые грибы, фитопатогены, хлорофилл, фотосинтез, полифенолы.

**VOLYNCHUK N.N.**, Postgraduate Student  
Polessky State University, Pinsk, Republic of Belarus

**KABASHNIKOVA L.F.**, Doctor of Biol. Sc.,  
chl.-cor. National Academy of Sciences of Belarus, Associate Professor,  
Head of the Laboratory of Applied Biophysics and Biochemistry<sup>1</sup>

**LUKSHA V.I.**, PhD in Biol. Sc.,  
Senior Staff Scientist, Laboratory of Applied Biophysics and Biochemistry<sup>1</sup>

**PASHKEVICH L.V.**, PhD in Biol. Sci., Staff Scientist,  
Laboratory of Applied Biophysics and Biochemistry<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus,  
Minsk, Republic of Belarus

## EFFECT OF ABORIGINAL YEAST FUNGI ON THE PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL STATE OF LEAVES OF CULTURED GRAPES (VITIS VINIFERA)

*The study presents the results of assessing the functional state of the leaves of cultivated grapes (Vitis vinifera) of the Alpha variety, treated with promising native strains of yeast fungi Aureobasidium pullulans and Hanseniaspora uvarum. It was found that the treatment of perennial shrub vines with native strains of non-mycelial fungi had a stimulating effect on metabolic processes, increasing the content of chlorophyll (Chl) a, b and carotenoids in the leaves of cultivated grapes by 33.10%, 13.92% and 28.79%, respectively, relative to physiological values. Monotreatment with "black" yeast fungi A. pullulans and combined treatment with A. pullulans and H. uvarum demonstrated a decrease in the content of malondialdehyde from 7.68 to 16.68% compared to the control values. Content of non-enzymatic antioxidants – phenols, as components of antioxidant protection, in our experiments showed a tendency to decrease after single treatment options with yeast bioagents from 11.72 to 15.31%, and with combined treatment – up to 24.77%.*

**Keywords:** *Vitis vinifera, yeast fungi, phytopathogens, chlorophyll, photosynthesis, polyphenols.*

**Введение.** Среди биотических факторов большое влияние на растительный организм оказывают микроорганизмы, воздействие которых может быть как отрицательным, так и положительным [1]. Фитопатогенные микроорганизмы синтезируют фитотоксины, подавляющие или задерживающие рост растений, а иногда и вовсе приводящие к их гибели. Растительное же взаимодействие с полезными микроорганизмами, обладающими высокой физиологической активностью и угнетающими рост целого ряда фитопатогенных грибов и бактерий, позволяет им достаточно быстро вытеснять патогенную микрофлору [2]. Их антагонистические свойства применяются в сельскохозяйственной биотехнологии для разработки и производства биологических средств защиты растений против ряда заболеваний [3].

Несовершенная стадия (анаморфа) плесневого гриба *Botrytis cinerea* Pers., возбудителя серой гнили многих растений, особо актуальна в виноделии по двум принципиально различным причинам: вызывает заболевания винограда и также используется в технологии изготовления вина [4]. Более того, *B. cinerea* во время инфекции продуцирует поликетидный микотоксин – ботциновую кислоту. Грибы рода *Fusarium* являются широко распространенными факультативными паразитами не только винограда, но и других сельскохозяйственных культур. За последние годы отмечено усиление вредоносности фузариоза во многих районах возделывания ви-

нограда [5]. Рост фитопатогенных микромицетов обычно контролируют путем сочетания обработки фунгицидами с определенными агрономическими приемами.

Микроорганизмы-антагонисты фитопатогенов способны оказывать положительное влияние на комплекс физиолого-биохимических программ, которые протекают в растительном организме. Исследование потенциальных стратегий, которые предоставляют фотосинтетические пигменты, в сочетании с разработкой биологических методов повышения урожайности сельскохозяйственных культур за счет улучшения светосбора, усиления фотозащиты и повышения эффективности фотосинтеза является одним из актуальных вопросов биологии.

В норме в клетках растений наблюдается прооксидантноантиоксидантное равновесие, которое определяется соотношением уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) и активностью антиоксидантной системы. Под воздействием стрессовых факторов возникает дисбаланс между образованием активных форм кислорода (АФК) и их ликвидацией. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что АФК являются не только причиной окислительного стресса и повреждений мембранных структур в клетке, но также участвуют в передаче стрессовых сигналов, запускающих комплекс защитных реакций организма. Антиоксидантные и антирадикальные свойства таких вторичных метаболитов растений как фенольные соединения

(полифенолы) позволяют им «обезвреживать» активные формы кислорода. Это обусловлено наличием в их структуре гидроксильных групп, которые легко взаимодействуют с различными активными формами кислорода, в том числе со свободными радикалами разного происхождения. На полифенольный профиль влияют различные факторы, такие как сорт, климатические условия и сезонная погода, состояние здоровья виноградной лозы, а также технология ее возделывания. Учитывая значение фенольного профиля для растения, а также многочисленные факторы, влияющие на него, наш интерес при обработке дрожжевыми грибами к этим соединениям вполне оправдан.

Изучение механизма взаимодействия высших растений с микроорганизмами-антагонистами фитопатогенов открывает перспективы их использования в регуляции ростовых процессов растительных организмов и требует более детального рассмотрения. Принципиально новым является изучение физиолого-биохимических процессов, происходящих в растении под действием дрожжевых грибов антагонистов фитопатогенов [6]. Во всем мире с 2009 по 2022 год в базе данных Derwent Innovation было зарегистрировано 163 патента, связанных с дрожжевыми грибами как агентами биологической борьбы с фитопатогенами. Из них 32,89% относится к *Metschnikowia fructicola*; 11,18% – *Candida sp.*; 11,18% – смесь *Candida oleophila*, *Metschnikowia fructicola* и *Pichia anomala*; 9,86% – *Pichia sp.*; 7,89% –

*Rhodotorula sp.*; 5,92% – *Cryptococcus sp.* отдельно или в смеси с *Rhodotorula sp.*; 1,97% – *Debaryomyces sp.*

Цель данной работы – оценка влияния аборигенных дрожжевых грибов на физиолого-биохимическое состояние листьев винограда.

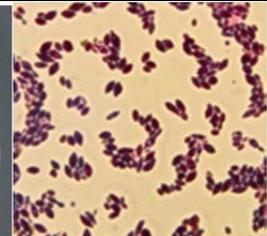
**Материалы и методы исследования.**

Объектом исследования служили виноградные лозы сорта Альфа, произрастающие на плантации Пинского винодельческого завода, обработанные аборигенными дрожжевыми грибами *A. pullulans*, *H. uvarum*, комбинацией *A. pullulans*+*H. uvarum*. Изоляты дрожжевых грибов были выделены в 2022 году из винограда того же сорта. Идентификация немикелиальных грибов проведена на основании морфологических, физиолого-биохимических и молекулярно-генетических данных (таблица 1).

Полевую обработку растений проводили водной суспензией штаммов дрожжевых грибов с титром не менее 10<sup>6</sup> КОЕ/мл на стадии созревания, веризона (смена цвета ягод) и технической зрелости. Контролем служили растения, не обработанные дрожжевыми грибами.

Антагонистическую активность изолятов дрожжевых грибов исследовали в отношении двух микопатогенов винограда и других сельскохозяйственных растений – *B. cinerea* БИМ F-71 и *F. oxysporum* БИМ F-609Г из коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси.

Таблица 1. – Морфология и систематические данные выделенных штаммов дрожжевых грибов

			
Отдел:	<i>Ascomycota</i>	Отдел:	<i>Ascomycota</i>
Класс:	<i>Dothideomycetes</i>	Класс:	<i>Saccharomycetes</i>
Порядок:	<i>Dothideales</i>	Порядок:	<i>Saccharomycetales</i>
Семейство:	<i>Saccotheciaceae</i>	Семейство:	<i>Saccharomycodaceae</i>
Род:	<i>Aureobasidium</i>	Род:	<i>Hanseniaspora</i>
Вид:	<i>A. pullulans</i>	Вид:	<i>H. uvarum</i>
(de Bary & Löwenthal) G. Arnaud		(Niehaus) Shehata et al.	

Их вирулентность также была подтверждена путем искусственной инокуляции на поврежденном винограде.

Культуры микромицетов высевали на картофельно-сахарозную агаризованную (КСА) среду. Чашки Петри инкубировали при температуре 25 °С под постоянным белым светом не менее 10 сут. После этого споры собирали в растворе Tween-20 (0,1 об. %). Концентрацию конидиальной суспензии доводили до  $6 \times 10^6$  спор на 1 мл. В чашку Петри добавляли сначала 10 мл среды КСА, затем 5 мл мягкой среды КСА (7 г/л агара) с конечной концентрацией дрожжевых клеток  $10^6$  КОЕ/мл. Когда агар застывал, в чашки инокулировали 5 мкл свежей конидиальной суспензии тестируемых грибов. Далее чашки Петри инкубировали при температуре 25 °С под постоянным белым светом в течение 10 сут. После инкубации измеряли площадь колоний грибных патогенов с помощью программы *ImageJ* и рассчитывали процент ингибирования фитопатогена дрожжевыми грибами как разность площади колонии в контрольном и опытном вариантах, деленную на площадь колонии в контроле и умноженную на 100. Эксперименты повторяли трижды для подтверждения воспроизводимости результатов.

Для экстракции пигментов использовали навеску листьев (20-30 мг). Хл и каротиноиды экстрагировали 99,5 % ацетоном. Количество пигментов в экстрактах определяли по спектрам поглощения на спектрофотометре «*Shimadzu UV-2401 PC*» (Япония) при трех длинах волн: 662 нм (Хл *a*), 644 нм (Хл *b*) и 440,5 нм (каротиноиды). Количество пигментов рассчитывали по формулам [7]. Содержание фотосинтетических пигментов выражали в расчете на единицу сырой биомассы листа. ПОЛ тестировали по количеству малонового диальдегида (МДА), содержание которого определяли спектрофотометрическим методом по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [8]. Навески листьев (0,15 г) в трехкратной повторности для каждого варианта гомогенизировали в 5 мл фосфатного буфера 0,005 М (рН 7,2–7,4). К полученному гомогенату добавляли равный объем 0,5 %-го раствора ТБК в 20 % трихлоруксусной кислоте. Полученные образцы нагревали на кипящей водяной бане в тече-

ние 20 мин, охлаждали и центрифугировали 10 мин при 7000 об/мин. Оптическую плотность супернатанта регистрировали фотометрически при 532 нм с поправкой на неспецифическое поглощение при 650 нм на спектрофотометре «*Shimadzu-UV 2401 PC*». Количество МДА рассчитывали с учетом миллимолярного коэффициента экстинкции комплекса МДА с ТБК, который с поправкой на неспецифическое поглощение при  $\lambda=650$  нм ( $1,5 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ ) составил  $1,55 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Для определения общего содержания полифенолов использовали спектрофотометрический метод определения суммы фенольных соединений (при длине волны 760 нм) с помощью комплексообразующих реагентов. Метод основан на реакции полифенольных соединений с реактивом Фолина-Чокальтеу, содержащим фосфомолибдат и вольфрамат натрия, которые при восстановлении фенольными соединениями в щелочной среде образуют комплекс синего цвета (вольфрам-синь), интенсивность окраски которого пропорциональна количеству фенольных соединений [9]. Для расчета суммарного содержания фенольных соединений в растительном материале необходимо было провести построение калибровочного графика, отражающего зависимость оптической плотности раствора от концентрации вещества в нем. Для этой цели использовали галловую кислоту, которая принята в качестве стандарта для расчетов в большинстве научных работ (особенно зарубежных). Суммарное содержание фенольных соединений выражали в мг-эквивалентах галловой кислоты (ГК) на г сырой массы листьев винограда.

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 и их обсуждение.** Результаты исследования антифунгальной активности аборигенных дрожжевых грибов представлены на рисунке 1. Степень ингибирования варьировала в зависимости от патогена и дрожжевого антагониста. Средний показа-

тель антагонистической активности выделенных штаммов дрожжевых грибов против серой гнили винограда *B. cinerea* БИМ F-71 был выше, чем против фузариоза, и составил 74,05 %. Эти данные превышают средний процент ингибирования роста *F. oxysporum* БИМ F-609Г дрожжевыми грибами на 13,20 %.

Ранее нами было изучено влияние бактериальной и грибной инокуляции на черенки винограда [10]. Таким образом, анализ антагонистической активности и результаты анализа инокуляции дрожжевыми грибами на черенки винограда стали определяющими факторами для выбора *Aureobasidium pullulans* (штамм №32) и *Hanseniaspora*

*ivarium* (штамм №64) для дальнейших полевых испытаний.

В результате трехкратной обработки дрожжевыми грибами растений винограда сорта Альфа были отмечены достоверные изменения содержания фотосинтетических пигментов в листьях (таблица 1).

При этом обработка дрожжевым грибом *H. ivarium* привела к максимальному достоверному увеличению содержания Хл *a* на 39,23% относительно контрольных растений. Среднее содержание Хл *a* при обработке дрожжевыми грибами составило 0,96 мг/г сырой массы, что больше контрольных значений в 1,31 раза.

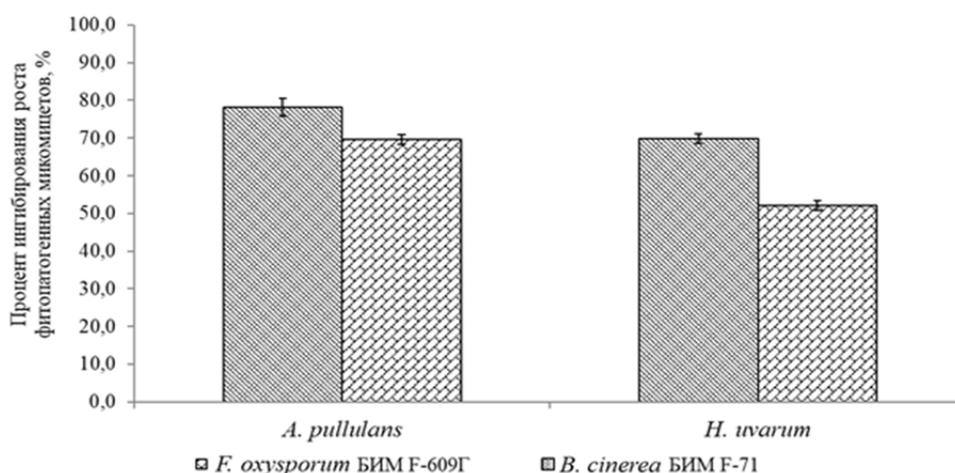


Рисунок 1. – Антифунгальная активность аборигенных дрожжевых грибов против *B. cinerea* БИМ F-71 и *F. oxysporum* БИМ F-609Г

Таблица 1. – Абсолютные и относительные значения содержания Хл и каротиноидов в листьях винограда сорта Альфа (мг/г сырой массы) после обработки дрожжевыми грибами

Параметр	<i>A. pullulans</i>	<i>H. ivarium</i>	<i>A. pullulans</i> / <i>H. ivarium</i>	Контроль
Хл <i>a</i>	0,936±0,074* 132,51**	1,015±0,034* 139,23**	0,930±0,033* 127,57**	0,729±0,09 100,0**
Хл <i>b</i>	0,437±0,039 117,79**	0,416±0,016* 112,13**	0,415±0,034 111,86**	0,371±0,009 100,0**
Хл ( <i>a+b</i> )	1,373±0,112 124,81**	1,431±0,050* 130,1**	1,345±0,063* 122,27**	1,100±0,018 100,0**
Хл <i>a</i> /Хл <i>b</i>	2,146±0,039* 109,26**	2,440±0,022* 170,51**	2,260±0,125* 115,07**	1,964±0,024 100,0**
Каротиноиды	0,432±0,026* 127,81**	0,454±0,008* 134,32**	0,420±0,009* 124,26**	0,338±0,003 100,0**
Хл ( <i>a+b</i> )/ Каротиноиды	3,170±0,083 97,53**	3,151±0,055 96,95**	3,199±0,119 98,43**	3,250±0,032 100,0**

Примечание –\* – достоверные различия по сравнению с контролем ( $p \leq 0,05$ ).

\*\* – относительные значения параметров в процентах.

Увеличение содержания Хл *a* в листьях винограда, подвергнутого комбинированной обработке немикелиальными грибами *H. uvarum* и *A. pullulans*, составило 27,57% в сравнении с контрольными. Монообработка «черными дрожжами» *A. pullulans* продемонстрировала увеличение содержания этого важного пигмента в 1,28 раза.

Такая же тенденция наблюдалась при количественном определении содержания Хл *b*, который входит в состав светособирающих комплексов фотосинтетических мембран. Диапазон изменения содержания данного пигмента в опытных вариантах составил 0,41–0,44 мг/г сырой массы листьев винограда, а превышение относительно контрольных значений составило от 11,9% (*H. uvarum/A. pullulans*) до 17,8% (*A. pullulans*). Известно, что Хл *b* значительно увеличивает светосбор, что особенно важно при пониженной освещенности, которая характерна для условий Беларуси. Апикулятные дрожжевые грибы *H. uvarum* (анаморфа *Kloeckera apiculata*) также оказали стимулирующее влияние на содержание Хл *b*, достоверно увеличив его в 1,12 раза относительно уровня в необработанных растениях винограда сорта Альфа.

Исходя из полученных данных, в результате одиночной обработки дрожжевыми грибами среднее содержание Хл (*a+b*) в листьях винограда составило 1,40 мг/г сырого веса, что превышало контрольные значения на 27,45%. Совместная обработка *H. uvarum* и *A. pullulans* увеличила суммарное содержание Хл на 22,27% относительно физиологических значений. Следовательно, выделенные аборигенные немикелиальные грибы оказывают положительное действие на хлорофилловый комплекс листьев винограда культурного, что может повышать фотосинтетическую продуктивность растений винограда и их устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды.

Известно, что отношение Хл *a*/Хл *b* в листьях растений оказывает существенное влияние на фотохимическую активность хлоропластов, а его увеличение является показателем высокой потенциальной интенсивности фотосинтеза [11]. Наши результаты показывают, что наиболее стабильно фотосинтетический аппарат листьев винограда работал при обработке штаммом *H. uvarum*, когда

максимальное значение данного параметра превышало контрольное на 70,51%. Средний показатель соотношения зеленых пигментов при комбинированной обработке и монообработке *A. pullulans* составил 2,20, что также превышало эти величины в контроле на 12,16%.

Важным компонентом пигментной системы растений являются каротиноиды (неферментативные антиоксиданты). Исследование количественного содержания каротиноидов в листьях винограда показало, что обработка немикелиальными грибами рода *Hanseniaspora* привела к максимальному увеличению показателя на 34,32% относительно контроля. После обработки винограда культурного двумя другими биоагентами среднее содержание каротиноидов составило 0,426 мг/г сырой массы, что превосходило контрольные показатели на 26,03%. Полученные результаты позволяют сделать предположение о том, что все опытные растения характеризовались более эффективным поглощением световой энергии для использования в фотосинтезе и обеспечением фотозащиты посредством нефотохимического тушения.

Устойчивость растительных организмов к стрессовым воздействиям можно оценить по отношению содержания суммы Хл к сумме каротиноидов [12]. У высших растений данное отношение изменяется в широких пределах и свидетельствует о перестройке светособирающих комплексов фотосистем. Отношение суммы Хл к каротиноидам играет не менее важную роль при характеристике работы фотосинтетического аппарата. Следует отметить, что не выявлено статистически достоверных различий по этому показателю между всеми вариантами обработки и контролем, где среднее значение соотношения Хл (*a+b*)/каротиноиды составило 3,2. Диапазон варьирования средних значений этого параметра при различных вариантах обработки дрожжевыми грибами относительно контроля составлял от 1,57 до 3,05%. Учитывая, что это соотношение очень тонко реагирует на изменения различных факторов среды, можно сделать вывод, что обработка немикелиальными грибами не оказала негативного влияния на устойчивость пигментного аппарата винограда. Изменение окисли-

тельно-восстановительного статуса клеток листьев винограда тестировали по количеству образовавшегося стабильного продукта ПОЛ – МДА, который является интегральной характеристикой соотношения процессов анаболизма и катаболизма биополимеров и выступает в качестве индикатора окислительного стресса, возникающего в результате перекисного окисления линолевой или арахидоновой кислот. Результаты определения содержания стабильных продуктов ПОЛ в листьях винограда представлены на рисунке 2.

Достоверное снижение среднего уровня МДА в сравнении с физиологическим на 16,68% и 7,68% отмечено при обработке дрожжевым грибом *A. pullulans* и комбинированной обработке. Варьирование показателя при этом наблюдалось от 249,77 до 270,75 нмоль/г сырой массы. Среднее содержание МДА при обработке винограда сорта Альфа апикулятным дрожжевым грибом *H. uvarum* составило 268,85 нмоль/г сырой массы и находилось на уровне контрольных значений.

В ответ на действие стрессоров в растениях стимулируется биосинтез фенолов, которые могут выполнять сигнальные функции и запускать адаптивные механизмы. Многие из этих соединений обладают антиоксидантными свойствами, связывают свободные радикалы и предотвращают активацию ПОЛ в клеточных мембранах. Согласно данным [13, 14, 15], суммарное содержание фенолов, оцененное методом Фолина-Чокальтеу, зависит от сорта винограда и стадии развития. По литературным данным содержание фенольных соединений в майских листьях винограда колебалась от 18,8 до 28,0, в августовских – от 25,2 до 35,0, в сентябрьских от 29,0 до 46,7, в ноябрьских – от 19,0 до 22,0 мг-экв. ГК/г сухой массы. Наши опыты показали снижение этого показателя в листьях винограда при обработке немикцелиальными грибами от 11,72 до 24,77% в сравнении с необработанными растениями (рис. 3), демонстрируя уменьшение стрессовой нагрузки и присутствие защитного эффекта.

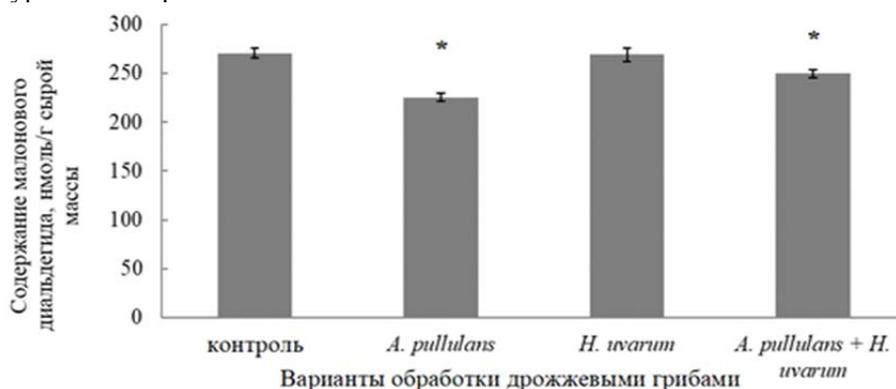


Рисунок 2. – Влияние дрожжевых грибов на уровень перекисного окисления липидов в листьях винограда культурного (*Vitis vinifera*)

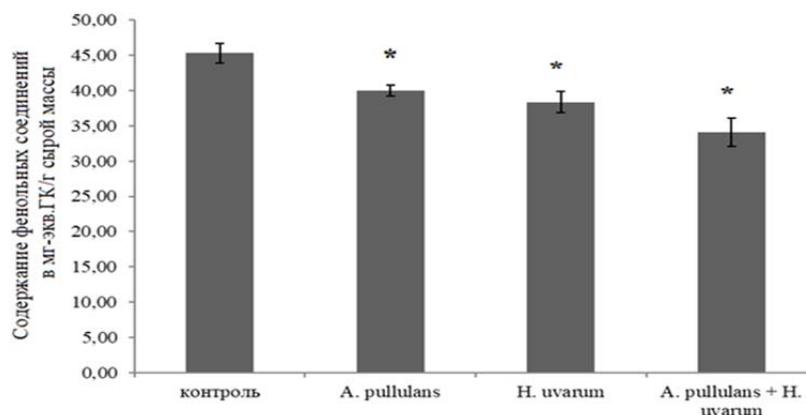


Рисунок 3. – Влияние дрожжевых грибов на суммарное содержание фенольных соединений в листьях винограда культурного (*Vitis vinifera*)

Максимальное снижение содержания полифенолов в листьях винограда до уровня 34,10 мг-экв. ГК /г сырой массы наблюдалось при комбинированной обработке штаммами *H. uvarum* и *A. pullulans*. Монообработка телеоморфным дрожжевым грибом *H. uvarum* вызывала уменьшение содержания фенольных соединений в листьях винограда относительно контрольного уровня на 15,31 % до уровня 38,38 мг-экв. ГК /г сырой массы.

**Выводы.** Полученные данные вносят вклад в научное понимание физиолого-биохимических процессов, происходящих в растении винограда в ответ на действие немикелиальных грибов *A. pullulans* и *H. uvarum*.

Показатель антифунгальной активности выделенных дрожжевых грибов был выше против серой гнили винограда *B. cinerea* БИМ F-71 в сравнении с *F. oxysporum* БИМ F-609Г. Минимальное значение антагонистической активности против указанных фитопатогенных микомицетов составило 52,1 %.

Обработка винограда культурного (*Vitis vinifera*) аборигенными штаммами дрожжевых грибов оказывала стимулирующее влияние на метаболические процессы, увеличивая содержание фотосинтетических пигментов (Хл *a*, *b* и каротиноидов) в листьях винограда культурного на 33,10%, 13,92% и 28,79% соответственно относительно физиологических значений.

Два опытных варианта (монообработка *A. pullulans* и комбинированная обработка двумя штаммами дрожжевых грибов) демонстрировали снижение содержания продуктов ПОЛ от 7,68 до 16,68 % по сравнению с контрольными значениями, что указывает на стабилизацию окислительных процессов в липидном бислое клеточных мембран. Содержание неферментативных антиоксидантов – фенолов, как компонентов антиоксидантной защиты, в наших опытах показало тенденцию к снижению после одиночных вариантов обработки дрожжевыми биоагентами от 11,72 до 15,31 %, а при комбинированной – до 24,77 %, что указывает на формирование защитных реакций в листьях винограда под действием изученных аборигенных микроорганизмов.

В целом, использование микроорганизмов-антагонистов, оказывающих положи-

тельное влияние на комплекс физиолого-биохимических процессов, протекающих в растении, является перспективным направлением в повышении продуктивности винограда. Результаты исследования могут быть использованы для разработки приемов рационального применения дрожжевых грибов в практике растениеводства для реализации оптимального продукционного процесса у растений.

#### Список литературы

1. Вольтчук, Н. Н. Биоразнообразиие микробного сообщества винограда культурного (*Vitis vinifera*) / Н. Н. Вольтчук, О. Н. Жук // Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук. – 2022. – № 2. – С. 8 – 28. DOI 10.34919/IM.2023.25.3.009.
2. Amarouchi, Z. Beneficial microorganisms to control the gray mold of grapevine: from screening to mechanisms / Z. Amarouchi [et al.] // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9(7). – P. 138 – 146. DOI: 10.3390/microorganisms9071386
3. Nascimento, R. Early stage metabolic events associated with the establishment of *Vitis vinifera* – *Plasmopara viticola* compatible interaction / R. Nascimento [et al.] // Plant Physiology and Biochemistry. – 2019. – Vol. 137. – P. 1–13. DOI: 10.1016/j.plaphy.2019.01.026
4. Di Canito, A. The role of yeasts as biocontrol agents for pathogenic fungi on postharvest grapes: a review / A. Di Canito [et al.] // Foods. – 2021. – Vol. 10(7). – P. 450 – 462. DOI: 10.3390/foods10071650
5. Вольтчук, Н. Н. Фузариоз винограда: от скрининга до биоконтроля дрожжевыми грибами / Н. Н. Вольтчук // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2023. – № 83(5). – С. 116–134. DOI: 10.30679/2219-5335-2023-5-83-116-134
6. Hernandez-Montiel, L.G. A sustainable alternative for postharvest disease management and phytopathogens biocontrol in fruit: antagonistic yeasts / L.G. Hernandez-Montiel [et al.] // Plants. – 2021. – Vol. 10 (12). – P. 1 – 12. DOI: 10.3390/plants10122641
7. Шлык А.А. Определение хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах зеленых листь-

- ев // Биохимические методы в физиологии растений. М.: Наука. 1971:154-170.
8. Калашников, Ю. Е. Активность антиоксидательной системы и интенсивность перекисного окисления липидов в растениях пшеницы в связи с сортовой устойчивостью к переувлажнению почвы / Ю. Е. Калашников, Т. И. Балахнина, Р. П. Бенничеи // Физиология растений. – 1999. – № 46 (2). – С. 268 – 275.
  9. Николаева, Т. Н. Метод определения суммарного содержания экстракта соединений в растительных экстрактах с реактивом Фолина Дениса и реактивом Фолина-Чекалтеу: модификация и сравнение / Т. Н. Николаева, П.В. Лапшин, Н.В. Загоскина // Химия растительного сырья. – 2021. – №2. – С. 291 – 299. DOI: 10.14258/jcrpm.2021028250
  10. Волынчук, Н. Н. Влияние бактериальной и грибной инокуляции на физиолого-биохимические параметры листьев укорененных черенков винограда / Н. Н. Волынчук [и др.] // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2023. – № 25 (3). – С. 276 – 283. DOI 10.34919/IM.2023.25.3.009.
  11. Кабашникова, Л. Ф. Содержание фотосинтетических пигментов и параметры окислительного стресса в листьях амаранта при нарастающем водном дефиците / Л. Ф. Кабашникова [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. – 2021. – № 66 (3). – С. 282 – 294.
  12. Хмелевская, И. А. Эколого-физиологические исследования древесных пород в условиях в г. Пскове / И. А. Хмелевская // Вестник Псковского государственного педагогического университета. – 2008. – №6. – С. 45 – 55.
  13. Dani, C. Phenolic content of grapevine leaves (*Vitis labrusca* var. Bordo) and its neuroprotective effect against peroxide damage / C. Dani [et al.] // Toxicology in Vitro. – 2010. – Vol. 24 (1). – P. 148 – 153. DOI: 10.1016/j.tiv.2009.08.006
  14. Katalinic, V. Phenolic profile, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of leaf extracts from six *Vitis vinifera* L. varieties / V. Katalinic, S. Smole // International Journal of Food Properties. – 2013. – Vol. 16. – P. 45 – 60.
  15. Sukovic, D. Phenolic profiles of leaves, grapes and wine of grapevine variety Vranac (*Vitis vinifera* L.) from Montenegro / D. Sukovic [et al.] // Foods. – 2020. – No. 9. – P. 1 – 15. DOI: 10.3390/foods9020138
- ### Referens
1. Volynchuk N.N., Zhuk O.N. Bioraznoobrazie mikrobnogo soobshchestva vinograda kul'turnogo (*Vitis vinifera*) [Biodiversity of the microbial community of cultivated grapes (*Vitis vinifera*)]. *Vestnik Poleskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya prirodovedcheskikh nauk* [Bulletin of Polesie State University. Natural Science Series]. 2022, no. 2, pp. 8–28. DOI 10.34919/IM.2023.25.3.009. (In Russian)
  2. Amarouchi Z., Esmaeel Q., Sanchez L., Jacquard C., Hafi di M., Vaillant-Gaveau N., Ait Barka E. Beneficial microorganisms to control the gray mold of grapevine: from screening to mechanisms. *Microorganisms*, 2021, vol. 9(7), pp. 138 – 146. DOI 10.3390/microorganisms9071386
  3. Nascimento R., Maia M., Ferreira A., Silva A. da, Ponces A., Cordeiro C., Silva M., Figueiredo A. Early stage metabolic events associated with the establishment of *Vitis vinifera* – *Plasmopara viticola* compatible interaction. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2019, vol. 137, pp. 1–13. DOI 10.1016/j.plaphy.2019.01.026
  4. Di Canito A., Mateo-Vargas M.A., Mazzieri M., Cantoral J., Foschino R., Cordero-Bueso G., Vigentini I. The role of yeasts as biocontrol agents for pathogenic fungi on postharvest grapes: a review. *Foods*, 2021, vol. 10(7), pp. 450 – 462. DOI: 10.3390/foods10071650
  5. Volynchuk N.N. Fuzarioz vinograda: ot skringinga do biokontrolya drozhzhevymi gribami [Fusarium of grapes: from screening to biocontrol with yeast fungi]. *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii* [Fruit growing and viticulture in the South of Russia]. 2023. no. 83(5). pp. 116–134. DOI: 10.30679/2219-5335-2023-5-83-116-134 (In Russian)
  6. Hernandez-Montiel L.G., Droby S., Preciado-Rangel P., Rivas-Garcia T., Gonzalez-Estrada R. R. A sustainable alternative for postharvest disease management and phytopathogens biocontrol in fruit: antagonistic yeasts. *Plants*. 2021, vol. 10 (12), pp. 1–12. DOI: 10.3390/plants10122641

7. Shlyk A.A. Opredelenie khlorofillov i karotinoidov v ekstraktakh zelenykh list'ev [Determination of chlorophylls and carotenoids in green leaf extracts]. *Biokhimicheskie metody v fiziologii rastenii* [Biochemical Methods in Plant Physiology]. 1971, pp. 154–170 (in Russian)
8. Kalashnikov Yu.E., Balakhnina T.I., Benniceli R.P. Aktivnost' antiokislitel'noi sistemy i intensivnost' perekisnogo okisleniya lipidov v rasteniyakh pshenitsy v svyazi s sortovoi ustoychivost'yu k pereuvlazhneniyu pochvy [The activity of antioxidant system and the intensity of lipid peroxidation in wheat plants in connection with varietal resistance to waterlogging of the soil]. *Fiziologiya rastenii* [Physiology of Plants]. 1999, no. 46(2), pp. 268–275 (in Russian)
9. Nikolaeva T.N., Lapshin P.V., Zagorskina N.V. Metod opredeleniya summarnogo sodержaniya fenol'nykh soedinenii v rastitel'nykh ekstraktakh s reaktivom Folina Denisa i reaktivom Folina-Chekalteu: modifikatsiya i sravnenie [Method for determining the total content of phenolic compounds in plant extracts with Folin-Denis reagent and Folin-Ciocalteu reagent: modification and comparison]. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of Plant Raw Materials]. 2021, no. 2, pp. 291–299. DOI 10.14258/jcprm.2021028250 (in Russian).
10. Volynchuk N. N., Kabashnikova L. F., Pashkevich L. V., Luksha V. I., Domanskaya I. N. Vliyanie bakterial'noi i gribnoi inokulyatsii na fiziologo-biokhimicheskie parametry list'ev ukorenennykh cherenkov vinograda [Influence of bacterial and fungal inoculation on the physiological and biochemical parameters of leaves of rooted grape cuttings]. «Magarach». *Vinogradarstvo i vinodelie* [“Magarach”. Viticulture and winemaking]. 2023. no. 25(3). pp. 276 – 283. DOI 10.34919/IM.2023.25.3.009.
11. Kabashnikova L.F., Domanskaya I. N., Pilipovich T. S., Pashkevich L. V., Martysyuk A. V., Motyleva S. M., Gins M. S., Tetyannikov N. V. Soderzhanie fotosinteticheskikh pigmentov i parametry okislitel'nogo stressa v list'yakh amaranta pri narastayushchem vodnom defitsite [Content of photosynthetic pigments and parameters of oxidative stress in amaranth leaves with increasing water deficit]. *Vesci Nacyjanal'naj akadzemii navuk Belarusi. Seryja bijalagichnyh navuk* [News of the National Academy of Sciences of Belarus.]. 2021, no. 66(3), pp. 282–294. (in Russian)
12. Khmelevskaya I.A. Ekologo-fiziologicheskie issledovaniya drevesnykh porod v usloviyakh v g. Pskove [Ecological and physiological studies of tree species in conditions in Pskov]. *Vestnik Pskovskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta. Serija Estestvennye i fiziko-matematicheskie nauki* [Bulletin of Pskov State Pedagogical University.]. 2008, no. 6, pp. 45–55. (in Russian)
13. Dani C., Oliboni L.S., Agostini F., Funchal C., Serafini L., Henriques J.A. Phenolic content of grapevine leaves (*Vitis labrusca* var. Bordo) and its neuroprotective effect against peroxide damage. *Toxicology in Vitro*. 2010, vol. 24(1), pp. 148–153. DOI: 10.1016/j.tiv.2009.08.006
14. Katalinic V., Smole S. Phenolic profile, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of leaf extracts from six *Vitis vinifera* L. varieties. *International Journal of Food Properties*. 2013, vol. 16, pp. 45–60.
15. Sukovic D., Knezevic B., Gasic A., Sredojevic M., Ciric I., Todoc S., Mutic J., Tesic Z. Phenolic profiles of leaves, grapes and wine of grapevine variety Vranac (*Vitis vinifera* L.) from Montenegro. *Foods*. 2020, no. 9, pp. 1–15. DOI: 10.3390/foods9020138

Received 8 April 2024