УДК 6.63.632.

ВЛИЯНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ

Березина Анастасия Владимировна

ГАУ ДО “Детский технопарк “КВАНТОРИУМ”, г. Брянск, Брянская область, a8222751@gmail.com

Аннотация: Статья посвящена проблеме поиска более безопасной и эффективной альтернативы традиционным антибиотикам и фунгицидам для защиты сельскохозяйственных культур от опасных патогенов.

Ключевые слова: антибактериальные пептиды, агропромышленность, биология, альтернатива антибиотикам и фунгицидам.

A. Berezina (Russia). EFFECT OF ANTIBACTERIAL PEPTIDES OF LACTIC ACID BACTERIA ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF CULTIVATED PLANTS

Annotation: The article focuses on the challenge of finding a safer and more effective alternative to traditional antibiotics and fungicides to protect crops from dangerous pathogens.

Keywords: antibacterial peptides, agro-industry, biology, alternative to antibiotics and fungicides.

Введение

В наш век глобальных экономических изменений перед человечеством остро стоит вопрос увеличения продуктивности аграрного сектора сельского хозяйства[10]. Распространение множественной лекарственной резистентности у опасных патогенов толкает человечество искать другие, более эффективные и безопасные

средства, обладающие антибактериальной активностью и набором характеристик, препятствующих развитию резистентности к ним со стороны патогенов.

Цель: Изучить влияние антибактериальных пептидов молочнокислых бактерий на рост и развитие культурных растений.

Задачи:

Проанализировать научную литературу по выбранной теме исследования;

Культивировать молочнокислые бактерии и изготовить растворы, содржащие пептиды;

Провести практическое исследование;

Провести анализ полученных данных и сделать выводы на основе данной работы.

Гипотеза: предполагается, что антибактериальные пептиды молочнокислых бактерий оказывают антибактериальный и фунгицидный эффект на различные заболевания растений и положительно влияют на показатели роста и развития культурных растений.

1 Теоретическая часть.

1.1 Антибактериальные пептиды

Пептиды – семейство веществ, молекулы которых построены из двух и более остатков аминокислот[9]. Среди Них выделяют особую группу антибактериальных пептидов. Для них характерно высокое содержание основных и неполярных гидрофобных аминокислот. Антибактериальные пептиды выгодно отличаются от традиционных антибиотиков и фунгицидов, т. к. они нацелены на конкретные

клеточные мишени и активны против резистентных штаммов, а их токсичность для клеток млекопитающих низка или отсутствует [1].

1.3 Механизм действия антибактериальных пептидов

Пептиды работают чрезвычайно быстро: пептид, в отличии от традиционных средств разрушает бактериальную клетку в считаные секунды. Этим обусловлен один из факторов непоявления резистентности у патогенов[1].

Механизм действия можно разделить на 2 большие группы: Воздействия на клеточную мембрану, и Воздействие на внутренние структуры клетки. .В механизме работы первого типа, антибактериальные пептиды благодаря положительному заряду и чередованию гидрофобных и гидрофильных участков взаимодействуют с мембраной патогена, встраивая в неё гидрофобные участки[2]. Это приводит к созданию в ней пор, из которых вытекает внутриклеточное содержимое бактерии (лизис). В некоторых случаях мембрана разрывается на куски, а клетка разваливается[1]. Механизм работы второй группы пептидов базируется на выборе мишени внутри клетки. Такими мишенями являются ферменты биосинтеза РНК, белков клеточной стенки, белков теплового шока, ферменты репарации ДНК[2].

1.4 Методы выделения и очистки пептидов

Первым и одним из самых распространённых методов выделения пептидов из микроорганизмов является химическая экстракция. Принцип экстракции заключается в разрушении карбоновыми кислотами мембранных структур клетки[12].

Следующим способом выделения пептидов является механическая экстракция, осуществляемая с помощью центрифугирования. Суть метода заключается в помещении бактериальной клетки в центрифугу. Где под действием центробежной

силы она разбивается на компоненты и оседает согласно их плотности и массе[14].

2 Практическая часть

Данная работа проводилась на базе ГАУ ДО Брянской области «Детского технопарка «Кванториум», под руководством Антоненко Ю.А.

Первым этапом практической работы было получение чистой культуры лактобактерий. Для этого были приобретены высушенные штаммы: *Lactococcus lactis, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus helveticus.*

Для культивации была приготовлена селективная капустная питательная среда Квасникова[11].

На питательную среду в стерильных условиях были высеяли штаммы лактобактерий. Выращивание происходило в термостате при 27°с. Были изготовлены несколько проб со штаммами микроорганизмов, на случай гибели образца и контрольный образец. Для подтверждения результатов были сделаны несколько окрасок по Грамму.

В работе был рассмотрен механический способ выделение пептидов с помощью центрифугирования при скорости 9.5 тысяч оборотов [14]. После экстракции эссенция фильтровалась через обеззоленный фильтр.

Также по данным исследований, лактобактерии продуцируют часть антибактериальных пептидов в окружающую среду, были изготовлены пробы, содержащие эти пептиды[3]. Их получение проводилось с помощью метода фильтрации .

2.1 Подтверждение фунгицидной активности исследуемых пептидов

Первым исследованием, проведённым в работе, было подтверждение фунгицидной активности исследуемых пептидов на поражённых фузариозом[13] растительных организмах тюльпана садового (*Hortus Tulipa*).

Для проведения исследования были взяты лукавицы Н*ortus tulipa* с равной площадью поражения фузариозом. Вся выборка растительного материала была разделена на две равные части, полив одной из них производился раствором, содержащим антибактериальные пептиды, а вторая часть являлась контрольной пробой. Далее проводилось измерение площади поражения.

Таблица 1. Подтверждение фунгицидной активности исследуемых пептидов

3 день	
Пептиды (центрифугирования)	Контроль
1 $см^2$	2,6 $см^2$
7 день	
Пептиды (центрифугирования)	Контроль
1 $см^2$	3 $см^2$
11 день	
Пептиды (центрифугирования)	Контроль
1,2 $см^2$	3,5 $см^2$
15 день	
Пептиды (центрифугирования)	Контроль
1,2 $см^2$	3,7 $см^2$

В результате исследования фунгицидной активности исследуемых пептидов выявлено, что они уменьшают площадь поражения грибковым патогеном в 3 раза, по сравнению с контрольным образцом. Таким образом прослеживается эффективное проявление фунгицидной активности исследуемых пептидов против фузариоза.

2.2 Подтверждение антибактериальной активности исследуемых пептидов

Следующим исследованием, проведённым в работе, было подтверждение антибактериальной активности исследуемых пептидов на заражённых бактериальной пятнистостью растительных организмах крассулы атропурпуреа (*Crassula Atropurpurea*).

Для проведения исследования были взяты листовые черенки *Crassula Atropurpurea* с равной площадью листовой пластины, пожажённой бактериальной пятнистостью. Вся выборка растительного материала была разделена на две равные части, полив одной из них производился раствором, содержащим антибактериальные пептиды, а вторая часть являлась контрольной пробой. Далее проводилось измерение средней площади поражения листовой пластины и процентный подсчёт площади поражения растительного организма.

Таблица 1. Подтверждение антибактериальной активности исследуемых пептидов

	3 день	
	Контроль	Пептиды(центрифугирование)
средняя площадь поражения листовой пластины	0,63см^2	0,52см^2
Общий процент поражения	25%	21%
	5 день	
	Контроль	Пептиды(центрифугирования)
средняя площадь поражения листовой пластины	1,1 см^2	0,66см^2
Общий процент поражения	44%	26%
	7день	
	Контроль	Пептиды(центрифугирования)
средняя площадь поражения листовой пластины	1,52 см^2	0,72см^2
Общий процент поражения	61%	29%
	9день	
	Контроль	Пептиды(центрифугирования)
средняя площадь поражения листовой пластины	1,78см^2	0,81см^2
Общий процент поражения	72%	32%

В результате подтверждения антибактериальной активности исследуемых пептидов, выявлено, что они уменьшают площадь поражения листовой пластины бактериальным патогеном в 2,5 раза, а

площадь поражения организма на 40%. Таким образом прослеживается эффективное проявление фунгицидной активности исследуемых пептидов против бактериальной пятнистости.

2.3 Выявление влияния антибактериальных пептидов на рост и развитие неподверженных заболеваниям растений.

В качестве исследуемых культурных растений были взяты следующие представители: Рожь (*Secale cereale*), Ячмень (*Hordéum vulgáre*), Рапс (*Brássica nápus*). Для проведения исследования в каждую пробу были отобраны по 10 семян каждого вида и помещались в стерилизованные стеклянные чашки Петри на фильтровальную бумагу.

Всего в работе было заложено по три пробы каждого вида растений: Контрольная проба; Проба, поливаемая раствором, содержащим пептиды, полученными в результате центрифугирования; Проба, поливаемая раствором, содержащим пептиды, продуцируемые лактобактериями в окружающую среду.

Таблица 2. Влияние антибактериальных пептидов на рост и развитие испытуемых растений.

Образец	День 3			
		Количество растений	Дина корня см	Длина побега см
Рапс*(Brássica nápus)*	Контроль	7	0,16	0
	Пептиды (окруж. среда)	7	0,22	0
	Пептиды(центрифугирование)	8	0,7	0,47
Рожь(*Secale cereale*)	Контроль	8	1,37	0
	Пептиды (окруж. среда)	9	3,6	0,6
	Пептиды(центрифугирования)	9	4,1	1,2
Ячмень(*Hordéum vulgáre*)	Контроль	5	0,65	0
	Пептиды (окруж. среда)	4	1,65	0
	Пептиды(центрифугирования)	4	4,6	1,4
День 6				
Рапс*(Brássica nápus)*	Контроль	7	1,9	1,6
	Пептиды (окруж. среда)	7	2,55	1,87
	Пептиды(центрифугирования)	8	6,7	4,1

Рожь(*Secale cereale*)	Контроль	8	9,5	8,6
	Пептиды (окруж. среда)	9	10,1	9,15
	Пептиды(центрифугирования)	9	14	13,1
Ячмень(*Hordéum vulgáre*)	Контроль	5	12,5	8,5
	Пептиды (окруж. среда)	4	13,2	11,6
	Пептиды(центрифугирования)	4	14	12,5
День 9				
Рапс*(Brássica nápus)*	Контроль	7	5,5	5,1
	Пептиды (окруж. среда)	7	6,5	6,5
	Пептиды(центрифугирования)	8	10,5	7,6
Рожь(*Secale cereale*)	Контроль	8	13,2	10,2
	Пептиды (окруж. среда)	9	16,8	14
	Пептиды(центрифугирования)	9	18,2	15,2
Ячмень(*Hordéum vulgáre*)	Контроль	5	15,6	13,1
	Пептиды (окруж. среда)	4	18,4	14,6
	Пептиды(центрифугирования)	4	19,5	16,7

По результатам выявление влияния антибактериальных пептидов на рост и развитие неподверженных заболеваниям растений, не выявлено угнетающего воздействия на здоровые растения, напротив, показатели роста образца, поливаемого раствором, содержащим антибактериальные пептиды, в 2,5 раза превышают показатели контрольного образца.

2.4 Проверка влияния антибактериальных пептидов на показатели всхожести семян и показатели энергии проростания.

Для этого был проведён стандартный анализ всхожести предполагающий процентный анализ качества посевного материала по количеству взошедших семян на 100 тестируемых.

Для этого в чашку Петри, на фильтровальную бумагу, необходимо поместить 100 семян исследуемого растения, и через 4-7 дней произвести подсчёт проросших семян, после произведя подсчёт по формуле[6]: a/b * 100 Где: a - количество проросших семян/количество семян с хорошо сформированной корневой системой и побегом; b - общее количество семян.

Таблица 3. Проверка влияния антибактериальных пептидов на показатели всхожести семян и показатели энергии проростания.

Рожь(*Secale cereale*)					
Пептиды (механ.экстракция)			Контроль		
Плохо развитые %	Не взошли %	Хорошо развитые %	Плохо развитые %	Не взошли %	Хорошо развитые %
9	7	84	30	6	64
Ячмень (*Hordéum vulgáre*)					
Пептиды (механ.экстракция)			Контроль		
Плохо развитые	Не взошли	Хорошо развитые	Плохо развитые	Не взошли	Хорошо развитые
5	25	70	13	25	62
Рапс*(Brássica nápus)*					
Пептиды (механ.экстракция)			Контроль		
Плохо развитые	Не взошли	Хорошо развитые	Плохо развитые	Не взошли	Хорошо развитые
10	21	69	25	21	54

По данным исследования выявлено, что антибактериальные пептиды не влияют на всхожесть семян, но позитивно влияет на энергию прорастания, увеличивая процент растений с хорошо сформированной корневой системой и побегом.

Заключение

По результатам данного исследования выявлено, что антибактериальные пептиды лактобактерий имеют большие перспективы для использования в аграрном секторе сельского хозяйства в качестве альтернативы традиционным антибиотикам так как они, благодаря своим бактерицидным и фунгицидным свойствам, положительно влияют на поражённые заболеваниями растения, замедляя рост патогенных организмов. Так же хорошо заметна положительная динамика влияния антибактериальлых пептидов на непоражённые заболеваниями растения. Показатели роста их корня и побега в среднем в 2,5 раза превышает показатели контрольного образца. Так же антибактериальные пептиды практически не влияют на всхожесть семян, но очень позитивно влияет на энергию прорастания.

Список использованной литературы

1. Антимикробные пептиды/ А. С. Васильченко/ Постнаука - 25.06.2021 г.

2.Антимикробные пептиды, как альтернатива Антибиотикам/ О. Иванов/ Киберленинка// Наука и инновации - 2020 г. - №7.

3.Антимикробные пептиды лактобактерий. [Электронный ресурс]

4.Антимикробные пептиды семян растений — «Russian Peptide»[Электронный ресурс]

5.Вред антибиотиков, применяемых в сельском хозяйстве./antibiotest. - 2022.05.27 [Электронный ресурс]

6. Всхожесть семян. Энергия прорастания. [Электронный ресурс]

7.Молочнокислые бактерии: виды, классификация , значение.[Электронный ресурс]

8. Морфология и физиология молочнокислых бактерий. Общая микробиология [Текст] / Г. Шлегель ; пер. с нем. Л. В. Алексеевой и др. ; под ред. Е. Н. Кондратьевой. - Москва

9. Пептиды. Химия онлайн.[Электронный ресурс]

10. Питание Организация Объединённых Наций [Электронный ресурс]

11. Питательная среда для выделения лактобактерий./Е. И. Квасников, О. А. Нестеренко, В. И. Терехов [Электронный ресурс]

12. Способы экстракции белкоых веществ. [Электронный ресурс]

13.Фузариоз. [Электронный ресурс]

14.Центрифугирование. Методы разделения бактериальной клетки. [Электронный ресурс]