

МИКРОБИОЛОГИЯ

Обзорная статья

УДК 579.2

EDN: JJMNRD

<http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-159-168>



**Антиоксидантный и антибактериальный потенциал
эпифитных микроорганизмов наземных и водных растений**

**Ирина Аркадьевна Ковалёва¹, Анна Петровна Шутко¹,
Татьяна Сергеевна Шепелева², Анна Олеговна Хорошунова³**

¹ Институт аграрной генетики и селекции, Ставропольский государственный аграрный университет,
Ставрополь, Россия

² Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

³ Институт агробиологии и природных ресурсов, Ставропольский государственный аграрный
университет, Ставрополь, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ирина Аркадьевна Ковалёва, Kovalevairina3006@gmail.com

Аннотация. Подробно разбираются эколого-физиологические предпосылки формирования антиоксидантного и антибактериального потенциалов, включая адаптацию к экстремальным условиям филлосферы (УФ-излучение, pH среды и др.), симбиотические взаимодействия с растениями-хозяевами и эволюционные механизмы синтеза защитных метаболитов. Обобщаются ключевые методологические подходы к изучению: от культуральных методов выделения и молекулярных техник (16S рРНК-секвенирование, метагеномика) до функционального скрининга активности DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) стабильных свободных радикалов – тест для антиоксидантов, зоны ингибирования для антимикробных веществ. Кроме того, выявляются перспективные направления биотехнологического использования эпифитов: разработка пробиотических препаратов на основе полезных штаммов (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*), интеграция эпифитов в агрономию для повышения устойчивости растений к стрессам. Настоящее обзорное исследование концентрируется на систематизации и всестороннем анализе современных научных данных о метаболическом потенциале эпифитных микроорганизмов, выступающих в роли продуцентов антиоксидантных и антимикробных соединений. Большинство исследований, которые рассматриваются в данной статье, были направлены на выявление и изучение биологически активных соединений, производимых эпифитами, обитающими преимущественно на морских водорослях. Результаты дальнейших исследований в этом направлении могут способствовать созданию новых и перспективных препаратов.

Ключевые слова: эпифитные микроорганизмы, антиоксиданты, антибактериальные свойства, биологически активные вещества

Для цитирования: Антиоксидантный и антибактериальный потенциал эпифитных микроорганизмов наземных и водных растений / И. А. Ковалёва, А. П. Шутко, Т. С. Шепелева, А. О. Хорошунова // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2026. Т. 17, вып. 2. С. 159–168. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-159-168>.

MICROBIOLOGY

Review article

**Antioxidant and antibacterial potential of epiphytic
microorganisms from terrestrial and aquatic plants**

Irina A. Kovaleva¹, Anna P. Shutko¹, Tatyana S. Shepeleva², Anna O. Khoroshunova³

¹ Institute of Agricultural Genetics and Breeding, Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia

² Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

³ Institute of Agricultural Genetics and Breeding, Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia
Corresponding author: Irina A. Kovaleva, Kovalevairina3006@gmail.com

Abstract. The paper examines in detail the ecological and physiological prerequisites for the formation of antioxidant and antibacterial potentials, including adaptation to extreme phyllosphere conditions (UV radiation,

ambient pH, etc.), symbiotic interactions with host plants, and evolutionary mechanisms of protective metabolite synthesis. Key methodological approaches are summarized, ranging from cultural isolation methods and molecular techniques (16S rRNA sequencing, metagenomics) to functional Screening using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) stable free radical scavenging assay for antioxidants and zones of inhibition for antimicrobial substances. In addition, promising areas for the biotechnological use of epiphytes are identified, including the development of probiotic preparations based on beneficial strains (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*) and the integration of epiphytes into agronomy to increase plant stress tolerance. This review study focuses on the systematization and comprehensive analysis of current scientific data on the metabolic potential of epiphytic microorganisms acting as producers of antioxidant and antimicrobial compounds. Most of the studies reviewed in this article focus on identifying and characterizing bioactive compounds produced by epiphytes, which primarily inhabit marine algae. The results of further research in this area may contribute to the development of new and promising preparations.

Keywords: epiphytic microorganisms, antioxidants, antibacterial properties, biologically active substances

For citation: Kovaleva I. A., Shutko A. P., Shepeleva T. S., Khoroshunova A. O. [Antioxidant and antibacterial potential of epiphytic microorganisms from terrestrial and aquatic plants]. *Bulletin of Perm University. Biology*. vol. 17, iss. 2 (2026): pp. 159-168. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2026-2-159-168>.

Введение

Термин «эпифит» (от греч. *epi* – на, и *phyton* – растение) ввел Шарль Бриссо-де-Мирбель (Charles Brisseau-Mirbel) в 1820-х гг. для растений, обитающих на других без паразитизма, получающих влагу и питание из воздуха (орхидеи, бромелии).

Эпифитные бактерии – это микроорганизмы, обитающие на поверхности растений. Ранее для их обозначения использовали более общие термины, такие как «поверхностная микрофлора растений» или «филлофитная микрофлора». Сам термин «эпифитные бактерии» получил широкое распространение уже во 2-й половине XX в. и используется в микробиологии растений для обозначения бактерий, заселяющих надземные органы растений и существующих за счет продуктов их экзосмоса по настоящее время. Эпифитная микрофлора представляет собой сложное сообщество микроорганизмов, включающее молочнокислые бактерии, бациллы, дрожжи, актиномицеты, плесневые грибы и другие формы. Ее состав варьирует в зависимости от вида растения, состояния поверхности органов, влажности, pH среды, температуры и доступности питательных веществ [Галиева, Галицкая, Селивановская, 2023].

Эпифитные бактерии в первую очередь ассоциированы с наземными растениями, непосредственно с филлосферой; аналогичные сообщества также формируются и на поверхностях водных растений (гидрофитов), где они адаптированы к повышенной влажности и аэробным условиям водной среды [Приходько, Селицкая, 2014]. В микробиологии водных эпифитов (перифитон) преобладают грамотрицательные бактерии, такие как *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Cyanobacteria*, *Bacillariophyta* и *Levadura*, питающиеся выделениями растений и органическими соединениями водной фазы, описанные с середины XX в. как часть микробных биопленок, конкурирующих с патогенами и участвующих в круговороте азота и фосфора.

В 1903 г. К. Бари в русскоязычной литературе ввел термин «микрофлора надземных частей растений» для описания микроорганизмов на поверхностях растений, подчеркивая их роль в питании и защите. До 1980-х гг. этот термин доминировал в советской микробиологии, охватывая бактерии и грибы, живущие за счет экссудатов и пыли, без проникновения в ткани.

Beattie и Lindow (1999) называли все бактерии листовых поверхностей «филлобактериями» (*phyllobacteria*), аналогично «ризобактериям» корневой зоны. Это стандартизировало терминологию для неинвазивных видов (*Pseudomonas syringae*, *Enterobacteriaceae*).

В 1960–1970-х гг. термин «эпифит» в микробиологии закрепился достаточно прочно, это совпало с исследованиями фитопатогенеза: ученые изучали антагонизм патогенов и силосование кормов. Эпифиты вроде *Lactobacillus plantarum* снижали pH, консервируя корм, и предотвращали гниение. С середины XX в. ранее преобладали синонимы «поверхностные микроорганизмы» или «филлосферная флора» [Мусин и др., 2022].

В работах Malvick и Moore (1988) представлено, что большинство эпифитных бактерий не вредят растению, т. к. составляют в большинстве своем нормальную микрофлору, на которой они обитают, но в некоторых случаях они могут быть как полезными, так и губительными. В качестве примера можно привести бактерии, которые способствуют образованию кристаллов льда. Такие места зарождения льда служат очагами образования льда на растениях при температуре намного выше обычной. Некоторые штаммы распространенных эпифитов, таких как *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae* и *Pantoea agglomerans*, обладают потенциалом зарождения льда, а представители *Ps. syringae*, как известно, являются фитопатогенными постоянными обитателями среди эпифитных популяций на травах и деревьях.

Lavermicossa и соавт. (1987) свидетельствуют о видоспецифичности эпифитных штаммов микроорганизмов, отмечая, что, помимо потенциала ледообразования, некоторые патогенные виды *Pseudomonas*, по-видимому, ассоциируются эпифитно на соответствующих растениях-хозяевах. На таких растениях, как олива и олеандр, часто встречается возбудитель оливкового узла *Pseudomonas syringae pathovar savastanoi* и другие псевдомонады, составляющие около 33 % популяции. Другие микроорганизмы эпифитного сообщества включают *Bacillus* (22 %) и *Xanthomonas* (10 %), а также меньшее количество представителей *Acinetobacter*, *Erwinia*, *Serratia*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium* и неопознанные азотфиксаторы.

Ercolani (1978) составил список бактерий для листьев оливы, где основными эпифитными организмами были *Pseudomonas syringae pathovar savastanoi* и *Erwinia herbicola*. Такая тесная связь патогена в эпифитном состоянии может быть важна для его длительного выживания.

S.S. Hirano и C.D. Upper внесли уточнение в определение понятия: «Эпифитные микроорганизмы – это бактерии, способные размножаться на поверхности растений». Они подчеркнули динамику сообществ (10^4 – 10^7 кл/см²), конкурирующих с патогенами вроде *Venturia* или *Alternaria* [Hirano, Upper, 1991].

Beattie и Lindow [1995] разработали общую модель колонизации листьев эпифитными бактериями, которая выглядит следующим образом: иммиграция бактерий → модификация среды обитания → деление бактерий → образование микроколоний → образование крупных агрегатов → проникновение в пространство растения → модификация среды обитания и деление бактерий → миграция на поверхность листа.

Эти этапы будут отличаться у бактерий разных видов. Рассмотренная динамика колонизации и выживания в агрессивной среде филлосферы является основой для ключевого биотехнологически значимого свойства эпифитов – синтеза широкого спектра биологически активных соединений, среди которых особый интерес представляют вещества с антиоксидантной и антимикробной активностью.

Теоретический обзор

Успешная колонизация филлосферы по модели Beattie и Lindow [1995] обеспечивает эпифитам адаптацию к агрессивной среде, стимулируя синтез биологически активных метаболитов. Фитогормоны, которые, по данным B.R. Glick [2012], продуцируют PGPB (plant growth-promoting bacteria), (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*), включая гиббереллины – дитерпеновые регуляторы роста, прерывающие покой семян и стимулирующие цветение.

Glick в обзоре «Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications» [2012] описал бактерии, стимулирующие рост растений PGPB, включая эпифитов рода *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *licheniformis*, *B. megaterium*, *B. cereus*, *Pseudomonas fluorescens*. Они фиксируют азот, синтезируют фитогормоны (ауксины, гиббереллины) и подавляют патогенов, продвигая устойчивое земледелие без химикатов.

Гиббереллины – группа дитерпеновых фитогормонов, стимулирующих рост стеблей и корней за счет деления и удлинения клеток, прерывающих покой семян, клубней и луковиц, способствующих формированию цветоносов, цветению, плодоношению, прорастанию пыльцы и образованию партенокарпии (бессемянных плодов у винограда, смородины, овощей).

Eiichi Kurosawa открыл гиббереллины при исследовании болезни риса «баканэ» (яп. «болезнь дурных побегов» или «бешеный рис»), вызываемой грибом *Gibberella fujikuroi* (современное название *Fusarium fujikuroi* или *Fusarium proliferatum*). Заболевание проявлялось аномальным удлинением междоузлий стеблей риса, что приводило к их полеганию, слабому образованию колосьев и снижению урожайности; он также экспериментально доказал, что фильтрат культуры гриба, выращенного на питательной среде, воспроизводит симптомы «баканэ» на здоровых растениях риса. Это указало на наличие метаболита гриба – растворимого вещества, стимулирующего чрезмерный рост стеблей. Данные вещества он не выделил химически, но установил причинно-следственную связь между грибом и эффектом [Куросава, 1926].

В 1935 г. японский химик Тосифуми Ябута (Toshiro Yabuta) с коллегами из Токийского императорского университета выделил активное вещество из культуры *Gibberella fujikuroi* в химически чистом кристаллическом виде. В результате это позволило подтвердить химическую природу вещества, провести первые биотесты на рост, заложить основу для синтеза и промышленного применения [Ябута, Сумки, 1938].

В 1939–1950-х гг. в Японии, США и Европе выделили GA2–GA3 Gibberellin A2, дитерпеновый фитогормон (GA3 – наиболее активная гиббереллиновая кислота). Открытие гиббереллинов стало ключевым в фитогормонологии, связав патологию растений с регуляторами роста.

Zotz (2016) в обзоре качественного состава эпифитной микрофлоры отметил определенную степень однородности микробных сообществ. Среди наиболее распространенных представителей выделяется *Pseudomonas herbicola* (ранее *Xanthomonas herbicola*, син. *Erwinia herbicola*) – короткие подвижные грамотрицательные палочки, образующие золотистые колонии на мясопептонном агаре (МПА).

Часто встречаются также *Pseudomonas fluorescens* – полиморфные палочки с полярными жгутиками, флуоресцирующие как в мясопептонном бульоне (МПБ), так и на МПА. Спороносные бактерии (*Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus vulgatus*) и неспорообразующие (*Escherichia coli*) обнаруживаются реже, как и плесневые и дрожжевые грибы, а молочнокислые бактерии и дикие дрожжи рода *Saccharomyces* выступают первичными антагонистами гнилостных микроорганизмов (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Actinomyces*, *Fungi imperfecti*) [Сиротин, Зеленкова, Шкуропат, Кортюкова, 2016].

R.P. Bartelme и соавт. в 2018 г. ввели термин PGPM – *микроорганизмы, стимулирующие рост растений* (*plant growth-promoting microorganisms*), в том числе в системах аквапоники. Эти микроорганизмы заселяют ризосферу, синтезируют фитогормоны, прежде всего гиббереллины, и тем самым ускоряют рост побегов, стимулируют прорастание семян, а также могут влиять на цветение и образование вегетативных органов, например, столонов [Bartelme et al., 2018].

В том же году Jimenez-Gomez и соавт. предложили понятие «пробиотики растений», под которым понимают микробные консорциумы, используемые для улучшения физиологического состояния растений и повышения качества продукции. Такие препараты могут включать представителей родов *Enterobacter* и *Streptomyces*.

R. Backer и соавт. подробно рассмотрели PGPR/PGPB (*plant growth-promoting rhizobacteria*, широкая группа PGPR + эпифиты + эндропиты обитающие на разных частях растения (корни, листья, стебли, внутри тканей)). PGPB (*plant growth-promoting bacteria*), узкая группа, живущих в ризосфере (корневой зоне почвы), специфичны для корневой системы растений как биостимуляторы. Эти бактерии не только повышают урожайность, но и усиливают устойчивость растений к абиотическим и биотическим стрессам, а также участвуют в биоконтроле фитопатогенов. К числу наиболее изученных представителей этой группы относятся *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum* и *Rhizobium*. Они обитают преимущественно в ризосфере, фиксируют азот, мобилизуют фосфаты и синтезируют антимикробные соединения, улучшая питание и защиту растений [Backer et al., 2018].

Эпифитные микроорганизмы занимают особую экологическую нишу и постоянно испытывают воздействие неблагоприятных факторов: колебаний влажности и температуры, дефицита питательных веществ, ультрафиолетового излучения и кислой среды. В ответ на это у них сформировались адаптационные механизмы, включая пигментацию, повышающую устойчивость к УФ-излучению, а также системы репарации ДНК. Например, у *Pseudomonas syringae* толерантность к ультрафиолету связывают с индукцией плазмидных генов, участвующих в восстановлении ДНК. Исследования эпифитной микробиоты земляники показывают, что изменение ее состава, например, рост доли патогенов вроде *Cladosporium* или, наоборот, полезных антагонистов, может служить индикатором стресса, болезней или нарушений в почвенной среде.

R. Schlechter и соавт. показали, что эпифитные микроорганизмы при колонизации растительных поверхностей формируют биологический барьер – так называемый первичный иммунитет, препятствующий проникновению патогенов в ткани. Большинство из них действует как антагонисты фитопатогенных и гнилостных бактерий и грибов, обеспечивая защиту растений от инфекций. Авторы рассматривают этот антагонизм не как случайное явление, а как результат сложных межмикробных взаимодействий в консорциуме, где конкуренция за ресурсы и пространство стимулирует синтез антибиотиков, а также отмечают перспективность управления эпифитной микрофлорой. Одним из эффективных методов усиления ее размножения и антагонистического действия против фитопатогенов является опрыскивание растений питательными растворами. Такой подход позволяет бороться с заболеваниями растений через целенаправленное воздействие на эпифитную микробиоту [Schlechter et al., 2019].

M.D. Gershman и соавт. [2008] отмечают, что некоторые виды бактерий признаны продуцентами витаминов, среди которых могут быть упомянуты молочнокислые бактерии, являющиеся эпифитами и способные к синтезу витаминов группы В. Кроме того, эти эпифиты известны своими антагонистическими свойствами, позволяющими им эффективно бороться с различными фитопатогенными грибами и бактериями посредством производства антибиотиков.

Именно благодаря этим свойствам эпифиты способны синтезировать широкий спектр биологически активных веществ, оказывающих влияние на рост и продуктивность растений. К числу таких микроорганизмов относятся бактерии рода *Pseudomonas*, широко распространенные на поверхности филлосферы древесных культур. Они способны продуцировать ауксины, гиббереллины, цитокинины, сидерофоры (пиовердин) и антибиотики (пиоцианин, пирролнитрин), стимулируя рост и защищая растения от патогенов [ibid].

A. Norta и соавт. [2014] выделили и идентифицировали эпифитные бактерии с поверхности бурых водорослей *Bifurcaria bifurcata*, а также получили их экстракты для оценки антиоксидантной и антимикробной активности. Идентификацию эпифитных бактерий проводили методом секвенирования гена 16S рРНК, а затем получили 2 типа экстрактов – это метанольный (полярные соединения) и дихлорметановый (липофильные метаболиты) экстракты эпифитных бактерий, используемые для оценки их антиоксидантных и антимикробных свойств. Антиоксидантные свойства экстрактов определяли количественными

методами: по общему содержанию фенолов TPC (*Total Phenolic Content*), активности поглощения радикалов DPPH и ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), емкости поглощения кислородных радикалов. Антимикробную активность оценивали по влиянию экстрактов на тест-культуры: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida albicans*.

В результате исследований бурой водоросли *Bifurcaria bifurcata* были выделены 39 эпифитных микроорганизмов, среди которых 33 были идентифицированы как представители родов *Vibrio* sp., *Alteromonas* sp., *Shewanella* sp., *Serratia* sp., *Citricoccus* sp., *Cellulophaga* sp., *Ruegeria* sp. и *Staphylococcus* sp. Штамм *Shewanella* sp. показал наивысшую антиоксидантную и антимикробную активность против *Bacillus subtilis*. Некоторые культуры *Alteromonas* sp. и *Vibrio* sp. проявили активность против *S. Aureus*. Данное исследование выявило значительный потенциал эпифитных бактерий *Bifurcaria bifurcata* в качестве источников природных антиоксидантных и антимикробных соединений [Horta et al., 2014].

G. Romano и соавт. отмечают, что антиоксидантный и антибактериальный потенциал эпифитных микроорганизмов наиболее изучен на примере морских экосистем. Эпифитные сообщества морских водорослей признаны исключительно богатым источником новых антибиотиков благодаря жесткой конкуренции в условиях биообрастания. Это направление является наиболее разработанным среди современных исследований [Romano et al., 2022].

F.J. Adeolu и соавт. были изучены фитохимический состав и антиоксидантная активность экстрактов листьев апельсина *Citrus sinensis* (CS) и его эпифитной микрофлоры (CSE) *in vitro* (CSE – *Citrus sinensis* epiphytic microorganisms, микроорганизмы, выделенные с поверхности листьев апельсина). Фитохимический профиль экстрактов определяли методом ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография, HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)), а антиоксидантные свойства оценивали с помощью ряда спектрофотометрических тестов, включая DPPH, тест на нейтрализацию оксида азота, определение ингибирования перекисного окисления липидов и метод FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Эпифиты участвуют в круговороте питательных веществ и увеличивают разнообразие и биомассу экосистемы, в которой они обитают, как и любой другой организм. Например, эпифиты какао используются для лечения болезней сердца, эпифиты ореха кола – диабета, а эпифиты моринги – диабета и малярии [Adeolu et al., 2020].

Результаты метода ВЭЖХ, показали наличие в экстрактах CS и CSE ряда биологически активных соединений, в том числе эриоцитрина, кверцетогенина, тангеретин, гесперидина и флавоноидов. При этом в CSE наибольшее содержание было отмечено для эриоцитрина, а в CS – для тангеретин. В целом экстракт CS продемонстрировал более выраженный антиоксидантный потенциал по сравнению с CSE, что, вероятно, связано с более высоким суммарным содержанием фитохимических веществ.

Полученные данные указывают на то, что листья *Citrus sinensis* и их эпифитные микроорганизмы могут служить перспективным источником природных антиоксидантов. Такие соединения потенциально могут использоваться при разработке терапевтических средств и функциональных продуктов, предназначенных для профилактики и коррекции патологических состояний, связанных с окислительным стрессом [Sok Sian Liew, Wan Yong Ho, Swee Keong Yeap, Shaiful Adzni Bin Sharifudin, 2018].

A. Sharma и соавт. отметили, что ключевым этапом оценки биологического потенциала эпифитов стало их прямое сравнение с эндофитами. В исследовании эпифитных и эндофитных бактерий лекарственных растений установлено, что антиоксидантная активность многих эпифитных изолятов не уступает эндофитным. При этом отдельные штаммы родов *Pseudomonas* и *Bacillus* дополнительно проявляют антимикробную активность. Эпифитная ниша является не менее перспективным объектом биопроспекции, чем эндофитная [Sharma et al., 2023].

A. Penesyan и соавт. показали, что эпифитные морские бактерии синтезируют защитные вещества, чтобы бороться с патогенами и не дать другим микробам заселить водоросли. Ключевой пример – троподитиетиновая кислота (TDA) из *Pseudovibrio* sp. D323. TDA убивает морских бактерий разных групп, но сами продуценты устойчивы к ней (благодаря специальному механизму). TDA проявляет мощную антибиотическую активность с высоким потенциалом для разработки новых лекарственных препаратов, а не только антиоксидантных свойств. Выделенные эпифиты с водорослей у берегов о. Малый Андаман (Little Andaman) *Bacillus* sp., *Pseudomonas stutzeri*, *Vibrio*, *Alcanivorax dieselolei*, *Exiguobacterium profundum* подавляют патогенных возбудителей (*Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella*, *Salmonella*) – зоны ингибирования патогенных возбудителей до 30 мм. Они производят фуранопроизводные, 2-пирролидон и фенолы; минимальная концентрация (MIC) – 2.5 мг/мл. Оптимальные условия: среда с 1 % NaCl, глюкозой, дрожжевым экстрактом при pH = 7. На наземных растениях *Pseudomonas* и *Erwinia herbicola* создают барьер против фитопатогенов через антибиотики и конкуренцию за пространство [Penesyan, Kjelleberg, Egan, 2011].

Lemos и соавт. [1985] изучили антибиотические свойства бактерий, живущих на поверхности морских водорослей (эпифитных бактерий). Они взяли 5 видов зеленых и бурых водорослей (*Ulva intestinalis*, *Enteromorpha intestinalis*, *Enteromorpha* spp, *Laminaria* spp, *Fucus* spp), выделили 224 штамма бактерий и

протестировали их на способность производить антибиотики. Из 224 штаммов 38 показали антимикробную активность – они подавляли рост других бактерий, как своих, так и чужих. Больше всего таких штаммов нашли на *Enteromorpha intestinalis*. Все активные бактерии относились к группам *Pseudomonas* и *Alteromonas*. Их антибиотики действовали на следующие патогены: *Staphylococcus*, *Vibrio*, *Pseudomonas* и *Pasteurella*.

Эпифитные бактерии (*Sphaerococcus coronopifolius*) на морских водорослях обладают мощной антиоксидантной активностью, защиту от свободных радикалов измеряли тестами ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) – это метод улавливания радикалов, при котором стабильный фиолетовый свободный радикал теряет цвет (становится желтым) при контакте с антиоксидантами. Метод измеряет степень и скорость нейтрализации стабильного свободного радикала, где антиоксиданты восстанавливают его до нерадикальной формы. DPPH-тест подтверждает высокую радикальную активность экстрактов. Эта активность обусловлена высоким TPC – содержанием фенолов, которые продуцируют пигментированные *Gammaproteobacteria* (*Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, *Shewanella*).

TPC – *Total Phenolic Content* (общее содержание фенольных соединений), ключевой показатель антиоксидантного потенциала растений и микроорганизмов. Пигментированные бактерии класса *Gammaproteobacteria* (*Pseudoalteromonas*, *Vibrio*, *Shewanella*) производят фенольные антиоксиданты с высоким потенциалом применения в медицине и косметике. В растительных системах они усиливают защиту хозяина, повышая ORAC – способность гасить пероксильные радикалы – основные агрессоры окислительного стресса в растениях; TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) определяет антиоксидантную активность экстрактов в эквивалентах тролокса по их способности нейтрализовать катион-радикалы ABTS [Pawar, Majeed, Pal, Singh, 2015].

Методы оценки антиоксидантной активности эпифитных бактерий позволяют количественно измерить их способность нейтрализовать свободные радикалы, восстанавливать окислители и предотвращать окислительный стресс. Эти подходы особенно важны для морских эпифитов на водорослях штаммов *Sphaerococcus* Sp2, Sp12, Sp23, Sp25, Sp27 и Sp4, поскольку такие бактерии часто продуцируют пигменты, ферменты (супероксиддисмутаза, каталаза) и метаболиты с антиоксидантными свойствами, защищающие хозяина от УФ-излучения и патогенов.

Для оценки антиоксидантной активности экстрактов эпифитных бактерий широко применяют спектрофотометрические, флуориметрические, кинетические и электрохимические методы. Чаще всего используют DPPH, ABTS, FRAP, TBARS-тесты и метод Folin – Ciocalteu, поскольку они просты в исполнении, относительно недороги и подходят для первичного скрининга образцов.

DPPH-тест основан на способности антиоксидантов восстанавливать стабильный свободный радикал DPPH, что сопровождается изменением окраски раствора с фиолетовой на бледно-желтую и снижением оптической плотности при 517 нм. По результатам анализа рассчитывают показатель IC50, т. е. концентрацию вещества, при которой ингибируется 50 % радикалов.

ABTS-тест основан на обесцвечивании радикал-катиона ABTS⁺, поглощение которого регистрируют при 734 нм; результат обычно выражают в процентах ингибирования или в эквивалентах Trolox. Этот метод удобен для оценки как водорастворимых, так и липофильных антиоксидантов.

FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) – тест, который позволяет определить восстановительную способность экстракта по восстановлению ионов Fe³⁺ до Fe²⁺ в присутствии комплекса TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine; 2,4,6-три(2-пиридил)-s-триазин); изменение окраски измеряют спектрофотометрически при 593 нм, а результаты нередко выражают в пересчете на Fe (II).

Метод TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) применяют для оценки интенсивности перекисного окисления липидов: он основан на определении малонового диальдегида, образующего окрашенный комплекс с тиобарбитуровой кислотой.

Помимо спектрофотометрических методов, в исследованиях антиоксидантных свойств эпифитных бактерий также используют флуориметрические и кинетические подходы, которые позволяют отслеживать реакцию в реальном времени и особенно полезны при анализе слабых антиоксидантов. К таким методам относятся ORAC и HORAC. ORAC оценивается способность соединений защищать флуоресцентный зонд от окисления пероксильными радикалами, а HORAC – от воздействия гидроксильных радикалов, образующихся в реакциях, связанных с ионами металлов. Эти методы считаются более информативными для сложных биологических экстрактов, поскольку учитывают не только конечный результат, но и скорость протекания реакции.

Для более точного анализа также применяют электрохимические методы, в том числе амперометрию и вольтамперометрию. Они основаны на прямом измерении тока окисления антиоксидантов при заданном потенциале и особенно удобны для изучения фенольных и флавоноидных соединений. Такие подходы отличаются высокой чувствительностью и специфичностью, поэтому подходят для анализа чистых культур и очищенных экстрактов.

Качественная пробоподготовка обеспечивает достоверность анализа метаболитов эпифитных микроорганизмов. Экстракция метаболитов проводят ультразвуком или аппаратом Сокслета с использованием метанола/этанола (соотношение 1:10, 40°C, 30–60 мин). Культуральные жидкости центрифугируют при 8000 g, 10 мин. Для живых культур определяют активность ферментов, в частности супероксиддисмутазы (SOD) по замедлению восстановления нитроблещего тетразолия (NBT) до голубого формазана.

Сравнение ведут с контролями: Trolox (аналог витамина E), аскорбиновая кислота IC₅₀ <100 мкг/мл = высокая активность. Штаммы *Sphaerococcus* Sp2, Sp12 показывают результаты в DPPH/FRAP благодаря пигментам (табл. 1) [Яшин, 2018].

Таблица 1

Критерии антиоксидантной активности эпифитных штаммов *Sphaerococcus* Sp2, Sp12, Sp23, Sp25, Sp27 и Sp4

[Criteria for antioxidant activity of epiphytic strains of *Sphaerococcus* Sp2, Sp12, Sp23, Sp25, Sp27 and Sp4]

Критерий	Высокая активность	Средняя активность	Низкая активность
DPPH IC ₅₀	<100 мкг/мл	100–500 мкг/мл	>500 мкг/мл
ABTS	>200 μmol TE/g	50–200 μmol TE/g	<50 μmol TE/g
FRAP	>500 μM Fe (II)/г	100–500 μM Fe (II)/г	<100 μM Fe (II)/г

Спектрофотометрические методы: DPPH-тест – IC₅₀ <100 мкг/мл указывает на высокую активность. Штаммы *Sphaerococcus* Sp2, Sp12 показывают превосходные результаты за счет пигментированных метаболитов. FRAP-тест – восстановление Fe³⁺ → Fe²⁺ с 2,4,6-три(2-пиридил)-s-триазином (TPTZ). ABTS-тест – улавливание катион-радикалов ABTS - +. Показатели DPPH, FRAP сильно коррелируют (r >0.9) с содержанием фенолов/флавоноидов у *Bacillus* и *Pseudomonas*.

Хроматографические методы: ВЭЖХ – профилирование полифенолов и пигментов. Амперометрия – потенциал окисления <0.5 В свидетельствует о высокой активности.

Биохимические методы: TBARS – ингибирование ПОЛ, контроль FeSO₄ и 1,1,3,3-тетраэтоксипропан. SOD – супероксиддисмутазы по замедлению восстановления NBT до формазана.

Критерии отбора:

- АОА >50–100 μmol TE/g (эквиваленты Trolox);
- Снижение окислительного стресса растений на 30–50%;
- Полевое применение: 10⁹ КОЕ/г в биопрепаратах.

Результаты выражают в эквивалентах стандарта (μmol TE/g или mM) (табл. 2) [Козубенко, Рудакова, 2018].

Таблица 2

Контрольные стандарты методов антиоксидантной активности

[Control standards for antioxidant activity methods]

Метод	Контрольные стандарты	Единицы измерения
DPPH	Trolox, аскорбиновая кислота	IC ₅₀ (мг/мл), % ингибирования
ABTS (TEAC)	Trolox	мМ TE, % ингибирования
FRAP	FeSO ₄ ·7H ₂ O	мкМ Fe (II)/г
ORAC	Trolox	мкмоль TE/g

Кулонометрия позволяет прямо измерять антиоксидантную активность (АОА) по электрическому току, возникающему при окислении антиоксидантов на электроде, калибруя по троксолу в диапазоне 0,044–0,330 мМ, измеряя заряд (Кулон), необходимый для полного окисления антиоксидантов; это напрямую отражает их концентрацию без спектрофотометрии. Метод надежен для бактериальных экстрактов (±10–15% СКО при Ph 4–7), превосходит FRAP по чувствительности (LOD 0,01 мМ) и минимизирует помехи от пигментов. Для TBARS или ORAC комбинируют с амперометрией, где потенциал окисления (<0,5 В) подтверждает высокую активность.

Обеспечение воспроизводимости – это бактериальный экстракт (*Bacillus*, *Pseudomonas*), стандарты калибруют кривыми (R² >0.99), проверяя ±15% СКО в 3–5 повторностях; это учитывает матричные эффекты (белки, соли). Рекомендуют нормализацию к сухому весу или CFU, хранение при –80°C и параллельный контроль (FeSO₄ для FRAP). В селекции штаммов это позволяет сравнивать АОА >100 μmol TE/g для биоконтроля.

Заключение

Анализ мирового опыта, накопленного к настоящему моменту, позволяет выявить несколько ключевых моментов в исследовании антиоксидантного и антимикробного потенциала эпифитов. Во-первых, намечился очевидный сдвиг от исследований наземных филлосфер к морским экосистемам, где наблюдается высокий уровень биоразнообразия эпифитных бактерий макроскопических водорослей. Это объясняется жесткой конкуренцией в биоценологических сообществах «водоросль - эпифит».

Во-вторых, актуальным направлением становится прямое сравнительное изучение метаболического потенциала эндо- и эпифитных сообществ в рамках одного растения-хозяина. Работы последних лет (например, [Sharma et al., 2023]) демонстрируют, что эпифитные изоляты с поверхности лекарственных растений могут не уступать, а по некоторым параметрам (например, по разнообразию синтезируемых фенольных соединений) даже превосходить эндофитные, что опровергает устоявшееся представление о вторичности эпифитной ниши.

В-третьих, методология исследований эволюционирует от простого скрининга к комплексному метаболическому и геномному анализу. Определение конкретных биоактивных молекул, секвенирование генов 16S рРНК для точной идентификации и поиск BGCs (*Biosynthetic Gene Clusters*) биосинтетических кластеров генов становятся стандартом, позволяя перейти от констатации активности к пониманию ее молекулярных основ. Таким образом, современный этап характеризуется переходом к целенаправленному изучению эпифитов как самостоятельного и высокоперспективного ресурса, чему способствует конвергенция методов микробной экологии, биохимии и молекулярной биологии.

Следовательно, эпифитные микроорганизмы обладают выраженным антиоксидантным и антибактериальным потенциалом, который может быть использован в различных отраслях – от медицины до пищевой промышленности.

Список источников

1. Галиева Г.Ш., Галицкая П.Ю., Селивановская С.Ю. Растительный микробиом: происхождение, состав и функции // Ученые записки Казанского университета. Сер. Естественные науки. 2023. Т. 165, кн. 2. С. 231–262. DOI: 10.26907/2542-064X.2023.2.231-262 EDN: TJOOQC
2. Козубенко А.А., Рудакова Л.В. Современные методы определения антиоксидантной активности // Молодежный инновационный вестник. 2018. Т. 7, № S1. С. 314. URL: <https://new.vestnik-surgery.com/index.php/2415-7805/article/view/4224> (дата обращения: 30.03.2026). EDN: YXJXAN
3. Куросава Э. Вещество, вызывающее болезнь «дурных побегов» риса // Труды Сельскохозяйственного общества Токио. 1926. Т. 2. С. 411–424.
4. Мусин Р.Р. и др. Влияние комбинации гомоферментативных и гетероферментативных молочнокислых бактерий на качество силоса люцерны // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2022. № 1 (207). С. 89–94. DOI: 10.53083/1996–4277-2022-207-1-89-94 EDN: AXQQBN
5. Приходько С.И., Селицкая О.В. Исследование качественного состава эпифитных микроорганизмов некоторых культурных и сорных растений Тамбовской и Московской областей // Агрохимический вестник. 2014. № 6. С. 40–43. EDN: SGNLSD
6. Сиротин А.А. и др. Изучение эпифитной микрофлоры некоторых овощных культур // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 7-2. С. 230–232. URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=9799> (дата обращения: 07.04.2026). EDN: WAYERH
7. Ябуга Т., Сумки Ю. On the crystal of gibberellin, a substance to promote plant growth // Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan. 1938. Т. 14, № 12. С. 1526–1531.
8. Яшин А.Я. Методология определения антиоксидантной активности и содержания антиоксидантов в образцах растительного и животного происхождения // J.-Analytics. 2018. URL: <https://www.j-analytics.ru/journal/article/9028> (дата обращения: 30.03.2026).
9. Adeolu F.J. et al. Comparative antioxidant potentials and high-performance liquid chromatography of leaf extracts of *Citrus sinensis* and its epiphytes // Достижения современной науки. 2020. № 7. С. 95–96.
10. Backer R. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture // Frontiers in Plant Science. 2018. Vol. 9. Art. 1473. DOI: 10.3389/fpls.2018.01473 EDN: VMBDGU
11. Bartelme R.P. et al. Stripping away the soil: plant growth promoting microbiology opportunities in aquaponics // Frontiers in Microbiology. 2018. Vol. 9. Art. 8. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00008
12. Gershman M.D. et al. Multistate outbreak of *Pseudomonas fluorescens* bloodstream infection after exposure to contaminated heparinized saline flush prepared by a compounding pharmacy // Clinical Infectious Diseases. 2008. Vol. 47, № 11. P. 1372–1379. DOI: 10.1086/592968
13. Glick B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications // Scientifica. 2012. № 2012. Art. 963401. DOI: 10.6064/2012/963401

14. Hirano S.S., Upper C.D. Ecology and epidemiology of phyllosphere yeasts in some Wisconsin cranberry marshes // *Canadian Journal of Microbiology*. 1991. Vol. 37. P. 194–201.
15. Horta A. et al. Antioxidant and antimicrobial potential of the *Bifurcaria bifurcata* epiphytic bacteria // *Marine Drugs*. 2014. Vol. 12, № 3. P. 1676–1687. DOI: 10.3390/md12031676 EDN: SOSXQF
16. Pawar V., Majeed A., Pal V., Singh A. Antioxidant activity of *Sphaerococcus coronopifolius* and its Epiphytic bacteria // *Brazilian Journal of Microbiology*. 2015. Vol. 46, № 2. P. 531–538. DOI: 10.1590/S1517-838246220140384
17. Penesyan A., Kjelleberg S., Egan S. Development of novel drugs from marine surface associated microorganisms // *Marine Drugs*. 2011. Vol. 9, № 12. C. 2696–2717.
18. Phytochemical composition and in vitro antioxidant activities of *Citrus sinensis* peel extracts // *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2018. Vol. 10, № 3. C. 133–139.
19. Romano G. et al. Secondary metabolites from marine bacteria and fungi as potential antibiotics // *Marine Drugs*. 2022. Vol. 20, № 5. Art. 317.
20. Schlechter R et al. Next generation husbandry: The microbiology of plant surfaces as a path to novel disease control / R. Schlechter et al. // *Current Opinion in Plant Biology*. 2019. Vol. 49. C. 65–71.
21. Sharma A. et al. Comparative analysis of antioxidant and antimicrobial potential of epiphytic and endophytic bacteria from medicinal plants // *Journal of Applied Microbiology*. 2023. Vol. 134, № 3. Art. 045. DOI: 10.1093/jambio/lxad045

References

1. Galieva G.Sh., Galitskaya P.Yu., Selivanovskaya S.Yu. [Plant microbiome: origin, composition and functions]. *Uchenye zapiski Kazanskogo universiteta. Seriya: Estestvennye nauki*. V. 165, iss. 2 (2023) pp. 231–262. (In Russ.) <https://doi.org/10.26907/2542-064X.2023.2.231-262>. EDN: TJOOQC
2. Kozubenko A.A., Rudakova L.V. [Modern methods for determining antioxidant activity]. *Molodezhnyy innovatsionnyy vestnik*, V. 7, No. S1 (2018): pp. 42–48. (In Russ.). Available at: <https://new.vestnik-surgery.com/index.php/2415-7805/article/view/4224> (accessed 30.03.2026).
3. Kurosawa E. [A substance causing the “foolish seedling” disease of rice]. *Trudy Sel'skochozjajstvennogo obščestva Tokio*, V. 2 (1926): pp. 411–424. (In Russ.).
4. Musin R.R., Tremasova A.M., Skvortsov E.V., Bykova P.V., Eroshin A.I., Akhtyamova A.M. [Effect of a combination of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria on the quality of alfalfa silage]. *Vestnik Altajskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. No. 1 (2022): pp. 89–94. (In Russ.). DOI: 10.53083/1996–4277-2022-207-1-89-94. EDN: AXQQBN
5. Prikhodko S.I., Selitskaya O.V. (2014). [Study of the qualitative composition of epiphytic microorganisms of some cultivated and weed plants in Tambov and Moscow regions]. *Agrochimičeskij vestnik*. No. 6 (2014): pp. 40–43. EDN: SGNLSD
6. Sirotin A.A., Zelenkova V.N., Shkuropat M.N., Kortukova E.A. (2016). [Study of epiphytic microflora of some vegetable crops]. *Meždunarodnyj žurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij*. No. 7-2 (2016): pp. 230–232. (In Russ.). Available at: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=9799> (accessed 07.04.2026). EDN: WAYERH
7. Yabuta T., Sumiki Yu. On the crystal of gibberellin, a substance to promote plant growth. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*. V. 14, No. 12 (1938): pp. 1526–1531.
8. Yashin A.Ya. Methodology for determining antioxidant activity and content of antioxidants in plant and animal samples. *J-Analytics*. (2018). Available at: <https://www.j-analytics.ru/journal/article/9028> (accessed 30.03.2026).
9. Adeolu F.J., Oluwaseun A.A., Olawale J.T., Racheal A.J., Adedoyin O.B., Mary A.A. et al. (2020). Comparative antioxidant potentials and high-performance liquid chromatography of leaf extracts of *Citrus sinensis* and its epiphytes. *Dostiženija sovremennoj nauki*. No. 7 (2020): pp. 95–96.
10. Backer R., Rokem J.S., Ilangumaran G., Lamont J., Praslickova D., Ricci E., Subramanian S., Smith D.L. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*. V. 9 (2018). Art. 1473. DOI: 10.3389/fpls.2018.01473. EDN: VMBDGU
11. Bartelme R.P., Oyserman B.O., Blom J.E., Sepulveda-Villet O.J., Newton R.J. Stripping away the soil: plant growth promoting microbiology opportunities in aquaponics. *Frontiers in Microbiology*, V. 9 (2018). Art. 8. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00008.
12. Gershman M.D., Kennedy D.J., Noble-Wang J., Kim C., Gullion J., Kacica M. et al. Multistate outbreak of *Pseudomonas fluorescens* bloodstream infection after exposure to contaminated heparinized saline flush prepared by a compounding pharmacy. *Clinical Infectious Diseases*. V. 47, No. 11 (2008): pp. 1372–1379. DOI: 10.1086/592968
13. Glick B.R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. *Scientifica*, No. 2012 (2012). Art. 963401. DOI: 10.6064/2012/963401.

14. Hirano S.S., Upper C.D. Ecology and epidemiology of phyllosphere yeasts in some Wisconsin cranberry marshes. *Canadian Journal of Microbiology*. V. 37 (1991): pp. 194-201.
15. Horta A., Pinteus S., Alves C., Fino N., Silva J., Fernandes S., Rodrigues A., Pedrosa R. Antioxidant and antimicrobial potential of the *Bifurcaria bifurcata* epiphytic bacteria. *Marine Drugs*. V. 12, No. 3 (2014): pp. 1676-1687. doi: 10.3390/md12031676. EDN: SOSXQF
16. Pawar V., Majeed A., Pal V., Singh A. Antioxidant activity of *Sphaerococcus coronopifolius* and its epiphytic bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*. V. 46, No. 2 (2015): pp. 531-538. DOI: 10.1590/S1517-838246220140384
17. Penesyan A., Kjelleberg S., Egan S. Development of novel drugs from marine surface associated micro-organisms. *Marine Drugs*. V. 9, No. 12 (2011): pp. 2696-2717.
18. Phytochemical composition and in vitro antioxidant activities of *Citrus sinensis* peel extracts. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. V. 10, No. 3 (2018): pp. 133-139.
19. Romano G. et al. Secondary metabolites from marine bacteria and fungi as potential antibiotics. *Marine Drugs*. V. 20, No. 5 (2022). Art. 317.
20. Schlechter R. et al. Next generation husbandry: The microbiology of plant surfaces as a path to novel disease control. *Current Opinion in Plant Biology*. V. 49 (2019): pp. 65-71.
21. Sharma A., Puri S., Sehgal R., Kumar V., Sharma V. Comparative analysis of antioxidant and antimicrobial potential of epiphytic and endophytic bacteria from medicinal plants. *Journal of Applied Microbiology*. V. 134, No. 3 (2023). Art. 045. DOI: 10.1093/jambio/txad045.

Статья поступила в редакцию 12.12.2025; одобрена после рецензирования 14.05.2026; принята к публикации 01.06.2026.

The article was submitted 12.12.2025; approved after reviewing 14.05.2026; accepted for publication 01.06.2026.

Информация об авторах

И. А. Ковалёва – Kovalevairina3006@gmail.com, канд. биол. наук, доцент, научный сотрудник;

А. П. Шутко – shutko.ap@stgau.ru, д-р с/х наук, профессор;

Т. С. Шепелева – kopteva2388@gmail.com, ассистент;

А. О. Хорошунова – anna.khoroshunovp@bk.ru, студент.

Information about the authors

I. A. Kovaleva – Kovalevairina3006@gmail.com, candidate of biological sciences, associate professor, researcher;

A. P. Shutko – shutko.ap@stgau.ru, doctor of agricultural sciences, professor;

T. S. Shepeleva – kopteva2388@gmail.com, assistant;

A. O. Khoroshunova – anna.khoroshunovp@bk.ru, student.

Вклад авторов:

Ковалёва И. А. – написание исходного текста, доработка текста.

Шутко А. П. – итоговые выводы, доработка текста.

Шепелева Т. С. – написание исходного текста.

Хорошунова А. О. – написание исходного текста.

Contribution of the authors:

Kovaleva I. A. – writing the draft, text revision.

Shutko A. P. – final conclusions, text revision.

Shepeleva T. S. – writing the draft.

Khoroshunova A. O. – writing the draft.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.