

CZU 615.332:631.463:632.8

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АВЕРМЕКТИНОВОГО КОМПЛЕКСА *STREPTOMYCES AVERMITILIS* УКМ АС-2179

КОЗЫРИЦКАЯ В.Е., ВАЛАГУРОВА Е.В.,
ПЕТРУК Т.В., БЕЛЯВСКАЯ Л.А., ИУТИНСКАЯ Г.А.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины

Abstract. It has been studied the biological properties of avermectin complex (Avercom) obtained from *Streptomyces avermitilis* UCM Ac-2179. Avercom reveals a high nematodic activity against nematodes from *Meloidogine* genus which is intensified in the presence of plant growth regulators. It was shown the Avercom phytostimulating action on the winter wheat plants.

Key words: Avercom, Nematodes, *Streptomyces avermitilis*, Winter wheat.

ВВЕДЕНИЕ

В конце 80-х годов прошлого столетия стало известно об макролидном антибиотике авермектине, который образуется в мицелии *Streptomyces avermitilis*. Авермектин представляет собой комплекс из восьми близкородственных компонентов: четырех мажорных (A_{1a} , A_{2a} , B_{1a} , B_{2a}) и четырех минорных (A_{1b} , A_{2b} , B_{1b} , B_{2b}). Химическая структура каждого – 16-членный лактон, связанный с остатками двух молекул олеандрозы (-6-L-oleandrosyl-6-L-oleandroside-) (В. Мосин, Е. Кругляк и др., 1999; В. Дриняев, В. Чижов и др., 1994). Авермектины группы А характеризуются противоопухолевым действием, тогда как авермектины группы В имеют исключительно высокую антипаразитарную активность, как по отношению к экзо- и эндопаразитам животных, так и к вредителям растений (В. Мосин, Е. Кругляк и др., 1999; Т. Петрук, В. Козырицкая и др., 2003). На сегодняшний день антипаразитарные препараты на основе авермектинового комплекса или отдельных его компонентов являются самыми перспективными в мировой практике.

В Украине сотрудниками отдела общей и почвенной микробиологии ИМВ НАНУ селекционирован высокопродуктивный штамм *S. avermitilis* УКМ Ас-2179 (Т. Петрук, В. Козырицкая и др., 2005).

Целью представленных в данной работе исследований было изучение биологической активности авермектинового комплекса, выделенного из мицелия *S. avermitilis* УКМ Ас-2179.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования был комплексный препарат Аверком, полученный из мицелия 7-суточной культуры *S. avermitilis* УКМ Ас-2179 (Т. Петрук, В. Козырицкая и др., 2005).

О биологических свойствах Аверкома судили по его действию на нематоды и растения.

Определение нематоцидного действия Аверкома. Исследования антипаразитарной активности Аверкома проводили на базе лаборатории нематологии Института защиты растений Украинской Академии Аграрных Наук (УААН). Тест-объектом служили галловые нематоды рода *Meloidogyne*, широко распространенные в тепличных почвах и вызывающие заболевание корневой системы растений – мелоидогиноз (Д. Сігарьова, Д. Болтовська, 1999).

Нематоды в количестве 10-20 особей культивировали в планшетках в 100 мл 0,1М фосфатного буфера рН 7,0 в присутствии разных концентраций Аверкома (от 0,1 до 10 мкг в 1мл). Наблюдения проводили на протяжении 0,5- 4 часов при температуре $28 \pm 1^\circ\text{C}$. Повторность опыта трехкратная. Подсчитывали количество нематод: общее (А); активно подвижных (В); полуподвижных (С); неподвижных (D). Процент погибших нематод высчитывали в каждом разведении по формуле: $1 - (B + (C \cdot 0,5) + (D \cdot 0)) / A \cdot 100\%$ (R. Burg, B. Miller et al, 1979).

Нематоцидную активность определяли путем сравнения ЛД₅₀ (летальная доза) Аверкома со стандартным препаратом Ивермектином (фракция В₁) фирмы Merck (2 мкг/мл).

Изучение влияния Аверкома на растения. В условиях лабораторного опыта изучали действие препарата на проростки озимой пшеницы сорта «Полесская». Влияние препарата сравнивали с действием стимулятора роста растений «Биолан» производства МНТЦ «Агробиотех» и препарата Ивермектин (авермектин В₁) фирмы Merck, Германия. Промытые в

проточной, а затем в стерильной воде семена помещали в растворы Аверкома (0,001 мкг/мл и 2 мкг/мл), Ивермектина (0,001 мкг/мл), Биолана (разведение $1 \cdot 10^{-4}$) или дистиллированную воду на 3 часа. Обработанные семена раскладывали по 25 семян в чашки Петри на смоченный стерильной дистиллированной водой бумажный фильтр. Семена выдерживали в термостате при 28°C. На третьи сутки определяли процент проросших семян, измеряли длину проростков и корней, а также определяли сырую массу проростков.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Аверком *in vitro* проявил достаточно высокую нематоцидную активность по отношению к галловой нематоды *Meloidogine incognita* (рис.1).

При концентрациях Аверкома 0,1, 0,5 и 0,75 мкг/мл даже после четырех часов культивирования нематод не было достигнуто 50 %-ной гибели особей. В присутствии 1,25 мкг/мл Аверкома за 1-2 часа экспозиции проявлялось нематоцидное действие препарата. Стабильная 50 %-ной нематоцидная эффективность была достигнута при действии Аверкома в концентрации 2,0 мкг/мл в течение 30 мин. Более высокие концентрации Аверкома вызывали 100 %-ю гибель нематод уже за 0,5 часа. Таким образом, ЛД₅₀ Аверкома составила 2,0 мкг/мл при условиях: 0,5 часа, рН 7,0 и температуре 28°C.

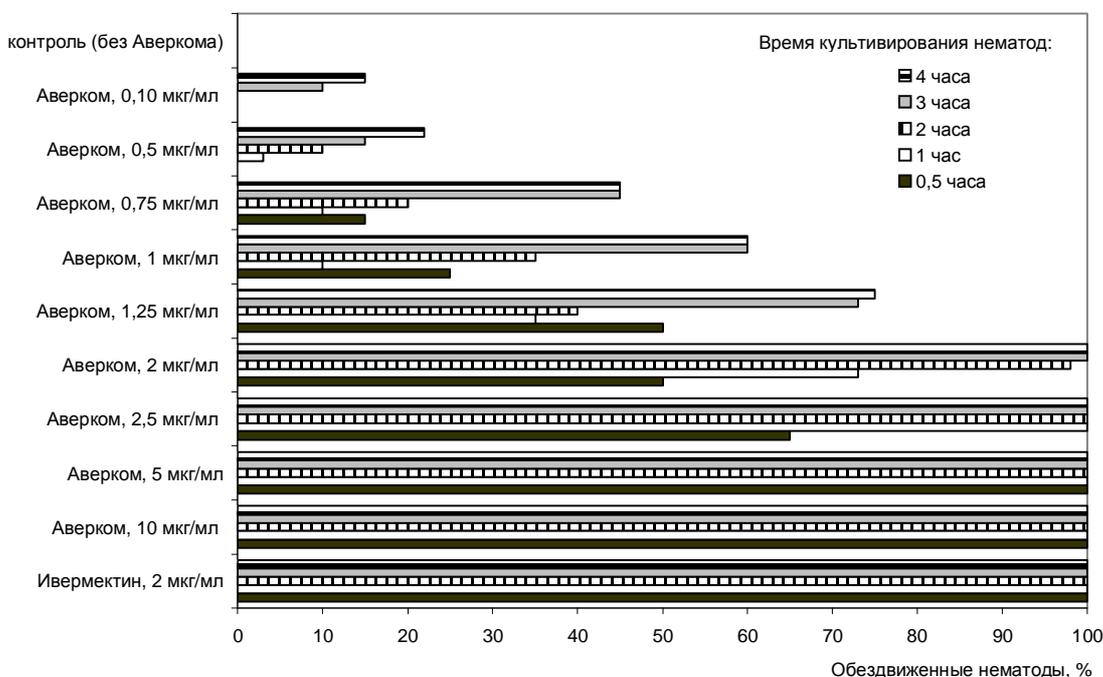


Рис. 1. Действие Аверкома на галловую нематоду

Сравнительно с Ивермектином, это несколько более низкая активность. Но, если принять во внимание, что Ивермектин - это чистый препарат фракции В_{1а}, которая отвечает за антипаразитарную активность, а Аверком содержит лишь 60% фракций В, то последний является перспективным препаратом антипаразитарного действия, в том числе против галловой нематоды и в будущем может быть использован как нематоцидный препарат.

Учитывая то, что в последние годы в практику сельского хозяйства широко внедряются регуляторы роста растений (РРР), которые имеют значительную фитостимулирующую активность, мы считали необходимым исследовать влияние этих веществ на антипаразитарные свойства Аверкома, а именно на его нематоцидную активность. В опыт были взяты Агроэмистим-экстра и Эмистим СМ в концентрациях, которые используются в растениеводстве.

Как видно из таблицы 1 регуляторы роста растений сами по себе проявляют некоторое немато-статическое действие в первые 0,5 часа влияния препаратов, которое постепенно за 4 часа культивирования нематод значительно снижается. Тогда как Аверком в первые 0,5 часа культивирования вызывает 50% гибель нематод, а в последующие 3 часа нематоцидное действие

Таблица 1

Действие регуляторов роста растений на нематоцидную способность Аверкома (% неподвижных нематод)

| Вариант опыта | Нематоцидная активность Аверкома (% погибших особей) за определённое время культивирования (часы) | | | | |
|---------------------------------------|---|------|------|------|------|
| | 0,5 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Контроль (без препарата) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Агроэмистим-экстра, $1 \cdot 10^{-5}$ | 58,7 | 55,0 | 41,7 | 35,0 | 33,3 |
| Эмистим СМ, $1 \cdot 10^{-5}$ | 62,5 | 14,2 | 7,0 | 3,0 | 3,4 |
| Аверком, 2 мкг/мл | 50,0 | 73 | 98 | 100 | 100 |
| Агроэмистим-экстра : Аверком (1:1) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Эмистим СМ: Аверком (1:1) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

препарата возрастает до 100%. Смеси 1:1 Аверкома (2 мкг/мл) с Агроэмистимом-экстра (10^{-5}) и Аверкома (2 мкг/мл) с Эмистимом СМ (10^{-5}) уже за 0,5 часа выявили 100%-е нематоцидное действие.

Таким образом впервые показано, что стимуляторы роста растений усиливают нематоцидное действие Аверкома. Полученные данные могут послужить основой для создания новых композиционных препаратов с фитостимулирующим и антипаразитарным действием.

В литературе отсутствуют данные относительно влияния препаратов на основе авермектинового комплекса на растения. В связи с этим последующие наши исследования были посвящены действию Аверкома на прорастание семян, рост, развитие и урожайность растений.

Полученные в лабораторных условиях данные относительно действия Аверкома на семена пшеницы озимой сорта Полесская свидетельствуют о том, что препарат стимулирует рост проростков пшеницы (рис. 1).



Рис. 2. Длина проростков озимой пшеницы сорта Полесская.

Данные относительно действия разных концентраций Аверкома, Ивермектина и Биолана представлены в таблице 2.

Таблица 2

Влияние Аверкома на рост проростков озимой пшеницы сорта Полесская

| № пп | Вариант опыта | Технологические показатели, % от контроля | | |
|------|---------------------------|---|---------------|----------------------------|
| | | Длина корня | Высота стебля | Сырая масса 100 проростков |
| 1 | Контроль (дист. вода) | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| 2 | Ивермектин, 0,001 мкг/мл | 109,1 | 104,8 | 119,3 |
| 3 | Биолан, $1 \cdot 10^{-4}$ | 124,0 | 95,5 | 114,3 |
| 4 | Аверком, 2 мкг/мл | 98,9 | 93,7 | 98,75 |
| 5 | Аверком, 0,001 мкг/мл | 131,0 | 117,9 | 134,0 |

Аверком в концентрации 0,001 мкг/мл действовал как стимулятор роста растений: увеличивалась длина корней (на 31%), высота проростков (на 17,9%). Сырая масса проростков, которые выросли из семян, обработанных Аверкомом, была значительно большей (на 34%) даже по сравнению с обработкой Биоланом. Ивермектин также оказывал фитостимулирующее действие на проростки пшеницы, но значительно слабее чем Аверком, который является комплексным препаратом, включающим другие биологически активные вещества, например, липиды (G. Albers-Schonberg, H. Wallick et al., 1984).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании авермектинового комплекса, выделенного из мицелия *S. avermitilis* УКМ Ас-2179, создан новый препарат Аверком, который в концентрации 2 мкг/мл проявляет высокую нематоцидную активность по отношению к галловым нематодам рода *Meloidogine*. Впервые показано значительное повышение нематоцидной активности Аверкома в композиции со стимуляторами роста растений, а также стимулирующее действие авермектинов на рост и развитие проростков пшеницы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мосин, В.А., Кругляк, Е.Б., Стерлина, Г.С. и др. Действие авермектинов на клетки лимфолейкоза Р-388 in vitro // Антибиот. и химиотер. -1999. - №6. - С.12-15.
2. Пат. 5037541/13 RU A01N63/00. Способ определения нематоцидной активности авермектинов/ Дриняев, В.А., Чижов, В.Н., Ковалев, В.Н., Гальвидис, И.Ю., Мирзаев, М.Н., Мосин, В.А. - №2013053; заяв. 11.10.91; опуб. 30.05.94, бюл. № 10.
3. Петрук, Т.В., Козирицька, В.Е., Валагурова, О.В., Муквич, М.С., Іутинська, Г.О. Спонтанна та індуквана мінливість *S. avermitulus* - продуцента авермектинів // Наукові записки Тернопільського педуніверситету. - 2003, 1(20). - С.46-50.
4. Петрук, Т.В., Козирицька, В.У., Валагурова, О.В Іутинська, Г.О. Ліпіди авермектинсинтезуючого штаму *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас 2161 // "Науковий вісник Національного Аграрного Університету". – Київ. – 2005. – ст. 42 – 49.
5. Сігарьова, Д.Д., Болтовська, О.В. Методи виявлення та боротьби з галовими нематодами у закритому ґрунті// Захист і карантин рослин. - К.: Урожай, 1999.-Вип.45. - С.58-63.
6. Burg, R. W., Miller, B.M., Baker, E.E. et al. Avermectin, new family of potent anthelmintic agents, producing organism and fermentation // Antimicrob. Agents and Chemother. - 1979.-а 15.- p. 361-367.
7. Pat. 4429042 US Int.Cl.³C12P 17/18; C12P 17/02; C12R 1/465; C12N 1/20. Strain of *Streptomyces* for producing antiparasitic compounds / G. Albers-Schonberg, H. Wallick, P.E. Ormond, T.W. Miller, R.W. Burg. – Publ. 1984. – 14 p.

Data prezentării articolului – 07.04.2007