

УДК 631. 811. 98

Г.О. Іутинська¹, В.А. Циганкова², Л.О. Білявська¹, В.Є. Козирицька¹

¹Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Заболотного, 154, Київ, Д03680, ДСП, Україна,
e-mail: galyna.iutynska@gmail.com

²Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України,
вул. Мурманська, 1, Київ, 02660, Україна, тел.: +38(068) 122 46 73
e-mail: vTsygankova@ukr.net

ВПЛИВ НОВИХ БІОПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ АВЕРКОМУ НА РОЗВИТОК І ПРОДУКТИВНІСТЬ РОСЛИН ТА ЕКСПРЕСІЮ ГЕНІВ СИНТЕЗУ si/miРНК

*Мета роботи – підсилити стійкість рослин огірків і картоплі до нематод за допомогою нових ефективних мікробних препаратів на основі авермектинів та визначити молекулярно-генетичні механізми їх захисної дії. Застосовані методи польових і молекулярно-генетичних досліджень: виділення si/miРНК з клітин рослин, Дот-блот гібридизація si/miРНК з популяціями цитоплазматичних мРНК, дослідження функціональної активності si/miРНК у безклітинній системі білкового синтезу. В польових та тепличних дослідах у оброблених новими мікробними препаратами Аверком (продуцент штам *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас-2179) та його модифікаціями рослин огірків і картоплі встановлені зменшення ураження нематодами і збільшення врожайності культур. Методом Дот-блотингу встановлено різницю (6–23%) у ступеню гомології si/miРНК та мРНК між дослідними та контрольними рослинами. У безклітинній системі білкового синтезу з проростків пшениці підтверджено високий рівень (38–65%) антинематодної сайленсингової активності малих регуляторних si/miРНК із клітин дослідних рослин. Підвищення стійкості до паразитичних нематод інфікованих рослин огірків і картоплі за обробки препаратами на основі Аверкому та встановлені різниці у відсотку гомології між популяціями малих регуляторних si/miРНК, виділеними з цих рослин, свідчать, що імунomodulatory дія препаратів виявляється в напрямку індукції в клітинах рослин синтезу антинематодних si/miРНК, унаслідок цього знижується їх ураження паразитичними нематодами та підвищується урожайність.*

Ключові слова: авермектини, стійкість рослин до паразитичних нематод, малі регуляторні si/miРНК, Дот-блот гібридизація.

Перспективним напрямком розвитку сільського господарства України є підвищення врожайності рослин та посилення їх стійкості до фітопаразитичних організмів з використанням екологічно безпечних біопрепаратів [1]. Паразитичні нематоди рослин відносять до шкодочинних факторів, серед яких найбільш шкідливими та небезпечними є галова нематода

© Г.О. Іутинська, В.А. Циганкова, Л.О. Білявська, В.Є. Козирицька, 2013



Meloidogyne incognita, що уражує широке коло важливих для сільського господарства культур, та стеблова нематода картоплі *Ditylenchus destructor* Thorne, що пошкоджує бульби картоплі та надземні органи [2]. В останні десятиліття в практику сільського господарства впроваджуються антинематодні препарати на основі макролідного антибіотика авермектину — продукту метаболізму ґрунтового стрептоміцету *Streptomyces avermitilis*. До нових вітчизняних ефективних мікробних препаратів належить Аверком, створений співробітниками ІМВ НАНУ на основі високопродуктивного варіанту *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас-2179 [3]. До складу препарату входять антибіотик авермектин, фосфоліпіди, ненасичені жирні кислоти, фітогормони (індолілоцтова кислота, ізопентилладенін, зеатин, зеатинрибозид, брасиностероїди), амінокислоти, вітаміни групи В. Завдяки комплексу біологічно активних речовин препарат виявляє високу нематотичну, рістстимулювальну і фітозахисну дію [3, 4].

Раніше нами були проведені дослідження з вивчення генетичних механізмів посилення за допомогою нових мікробних субстанцій, створених на основі Аверкому, стійкості рослин пшениці ярої сорту Грізо та огірків сорту Ніжинський проти фітопатогенних грибів та галової нематоди *Meloidogyne incognita*. Було встановлено, що їх біозахисна дія зумовлена стимуляцією синтезу цими субстанціями у клітинах інфікованих рослин малих регуляторних si/miРНК, з антигрибковою та антинематодною специфічністю, які шляхом посттранскрипційного сайленсингу генів інгібують трансляцію або власних мРНК-транскриптів генів (що відповідають за інфекційне ураження рослин патогенами), або молекул-мішеней мРНК патогенних і паразитичних організмів [5].

Мета даної роботи — перевірити антинематодну дію нових мікробних препаратів Аверком та його похідних за показниками зниження ураження рослин огірків та картоплі фітонематодами і підвищення їх урожайності, а також за генетичними показниками — різницею у ступеню гомології між мРНК та малими регуляторними si/miРНК та перевіркою антинематодної сайленсингової активності si/miРНК у безклітинних системах білкового синтезу з проростків пшениці.

Матеріали і методи

Досліджували ефективність біозахисної дії таких мікробних препаратів: Аверком, отриманий етанольною екстракцією з міцелію 7-добової культури *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас-2179 (вміст авермектинів 100 µg/мл) та його модифікації: Аверком нова-1 (50 мл Аверкому з концентрацією антибіотика авермектину 100 µg/мл та 50 мл супернатанту рідкої культури *S. avermitilis* УКМ Ас-2179 та 0,05 мМ саліцилової кислоти; загальний вміст авермектину 50 µg/мл) і Аверком нова-2 (50 мл Аверкому з концентрацією антибіотика авермектину 100 µg/мл та 50 мл супернатанту рідкої культури *S. avermitilis* УКМ Ас-2179 та 0,01 мМ хітозану водорозчинного фірми «Sigma»; загальний вміст авермектину складав 50 µg/мл).



Рослини огірка сорту Гравіна вирощували в умовах теплиці на тлі штучного зараження нематодою *Meloidogine incognita* Chitwood, 1949 в кількості 700 личинок і яєць в 100 см³ ґрунту. Через 7 діб після зараження у субстраті робили лунки, в які вносили по 100 мл 2%-вих розчинів одного з біопрепаратів; через 2 доби було висаджено розсаду, коріння якої перед тим було занурено на 5 хв у розчини відповідних біопрепаратів. Бали ураження рослин нематодами визначали за методичними вказівками [6].

Експерименти з рослинами картоплі сорту Беллароза проводили за польових умов Лісостепу України у дрібноділянкових дослідах на природному та на штучному інвазійному тлі, створеному шляхом внесення в лунки перед посадкою по 50 г бульб картоплі вражених нематодою *Dithylenchus destructor*. Дози препаратів: для обробки 1 т посадкового матеріалу брали по 0,4 л кожного з біопрепаратів і розводили у 20 л води. Дію біопрепаратів порівнювали з дією хімічного препарату «Антихруш», — контактно-системним інсектоакарицидом (імідаклоприд + біфентрин), доза якого становила 3 л на 1 т посадкового матеріалу.

Польові досліді проведені у 4 повторностях. Статистичне опрацювання даних польових досліджень проводили дисперсійним методом, розраховували найменшу істотну різницю (HP_{05}) [7].

У молекулярно-генетичних дослідях виділення si/miРНК з клітин дослідних рослин здійснювали розробленим нами оригінальним методом [8]. Дот-блот гібридизацію низькомолекулярних si/miРНК (які мітили *in vivo* за допомогою $Na_2HP^{33}O_4$) дослідних з фракцією мРНК контрольних рослин проводили згідно [9, 10]. Радіоактивність гібридних молекул визначали (за показником кількості імп/хв/20мкг мРНК) на склофільтрах «Millipore» AP-15 в толуольному сцинтиляторі, що містив флуоресцентний реагент 2,5-дифенілоксазол (ППО) в сцинтиляційному лічильнику LS 100С фірми «Beckman». Відсоток гомології визначали за різницею показників гібридизації мРНК із si/miРНК, отриманих у дослідних рослин щодо контрольних рослин.

Досліді з перевірки ефективності сайленсингової (що інгібує трансляцію мРНК з клітин інфікованих рослин) активності si/miРНК проводили у безклітинних системах білкового синтезу з проростків пшениці [11]. У цих експериментах використовували немічену si/miРНК, міченою амінокислотою для синтезу поліпептидів на матриці мРНК був S^{35} метионін [9]. Радіоактивність синтезованих у безклітинній системі поліпептидів визначали за кількістю включення S^{35} метионіну у синтезовані поліпептиди (за показником імп/хв/мг білка) на склофільтрах «Millipore» AP-15 у толуольному сцинтиляторі, що містив ППО у сцинтиляційному лічильнику LS 100С (Beckman). Рівень функціональної сайленсингової активності si/miРНК (%) визначали за різницею показників радіоактивності синтезованих поліпептидів, отриманих у дослідних щодо контрольних рослин. Статистичне опрацювання даних лабораторних дослідів проводили методом дисперсійного аналізу за Стьюдентом.

Результати та обговоренн.



У дослідях з рослинами огірків сорту Гравіна в умовах теплиці на тлі штучного зараження нематодою *M. incognita* проведені біометричні дослідження показали, що наприкінці продуктивної вегетації висота рослин огірків за дії препаратів перевищувала висоту рослин у контролі на 10–24% (табл. 1). Найвищі рослини було відмічено за дії Аверкому нова-1. Наприкінці досліду відмічені хворі рослини: ураження рослин нематодою *M. incognita* на контрольній ділянці досліду було оцінено 3,4 балами. В той же час за дії біопрепаратів відмічено різке зниження ступеню ураження рослин нематодою. За обробки рослин Аверкомом нематодного ураження не виявлено, за дії модифікацій Аверкому ураження рослин не перевищувало 0,2–1,0 балу.

Таблиця 1

Біометрична характеристика і ступінь ураження рослин огірків сорту Гравіна за дії біопрепаратів

Table 1

Biometric characteristics and degree of attacking cucumbers variety Gravina at action of biopreparations

Варіант досліду	Висота рослини		Ураження рослин нематодою <i>M. incognita</i> , бал
	см	% від контролю	
Контроль без застосування біопрепаратів	168±5,9	100	3,4
Аверком	197±6,9	117	0
Аверком нова-1	208±7,3	124	0,2
Аверком нова-2	184±6,4	110	1,0

Урожай огірка сорту Гравіна за дії біопрепаратів вищий порівняно з контролем на 16–26%. Найбільший урожай було зібрано на ділянці, де був застосований Аверком (табл. 2).

Таблиця 2

Урожай огірків сорту Гравіна за дії біопрепаратів

Table 2

Crop of cucumbers of variety Gravin at action of biopreparations

Варіант досліду	Урожай, кг/м ²	Приріст урожаю	
		кг/м ²	% від контролю
Контроль, без застосування біопрепаратів	6,8	0	100
Аверком	8,6	1,8	126
Аверком нова-1	8,3	1,5	122
Аверком нова -2	7,9	1,1	116
НІР ₀₅	0,2		



Досліди з картоплею сорту Беллароза, проведені на природному інвазійному тлі та на штучно створеному за умов зараження посадкового матеріалу стебловою нематодою картоплі *Dithylenchus destructor* показали, що використані в досліді біопрепарати впливали на рівень ураження бульб картоплі дитиленхозом і продуктивність культури (табл. 3).

Таблиця 3

Ураження дитиленхозом і продуктивність рослин картоплі за різних умов вирощування

Table 3

Spreading of potato ditylenchosis and productivity of potato plants under different conditions of growing

Варіант досліді	Ураження дитиленхозом		Продуктивність культури		
	Кількість хворих бульб, %	Біологічна ефективність препарату, %	Урожай, ц/га	Приріст урожаю	
Природне тло					
Контроль (без обробки)	40,1	-	165	0	100
Антихрущ, к.с.	27,9	30,4	172	7	4,2
Аверком	11,8	70,5	185	20	12,1
Аверком нова-1	24,7	38,4	170	5	3,0
Аверком нова-2	34,4	14,2	175	10	6,1
НІР ₀₅	5,1	-	8,0		
Штучне інвазійне тло					
Контроль (без обробки)	48,0	-	154	0	100
Антихрущ, к.с.	37,0	22,9	158	4	2,6
Аверком	21,5	55,2	170	16	10,4
Аверком нова-1	34,0	29,2	166	12	7,8
Аверком нова-2	44,0	8,3	161	7	4,5
НІР ₀₅	5,1	-	7,0		

У варіанті із застосуванням Аверкому статистично достовірно знижувалася кількість хворих на дитиленхоз бульб: на 28,3% без інвазії і на 26,5% на інвазійному тлі порівняно з контролем. Біологічна ефективність Аверкому сягала більше як 70% у досліді на природному нематодному тлі та 55% за умов штучного інфікування нематодами; на другому місці за біологічною ефективністю був Аверком нова-1 — відповідно 38,4% і



29,2%. Хімічний препарат «Антихрущ» виявив меншу ефективність порівняно з зазначеними вище біопрепаратами.

На природному нематодному тлі найбільшої статистично достовірної прибавки урожаю картоплі було досягнуто за дії Аверкому 12,1% порівняно з контролем. На штучно створеному інвазійному тлі Аверком сприяв зростанню на 10,4% урожаю картоплі сорту Беллароза.

Методом Дот-блот гібридизації порівняно ступені гомології між популяціями цитоплазматичних мРНК та si/miРНК, виділеними з контрольних та дослідних рослин картоплі сорту Беллароза та рослин огірків сорту Гравіна, що вирощувалися у польових умовах на штучному інфекційному тлі та оброблялися препаратами Аверкомом та його модифікаціями (табл. 4).

Таблиця 4

Ступінь (%) гомології між мРНК контрольних рослин та si/miРНК дослідних рослин картоплі та огірків, оброблених біозахисними препаратами та інфікованих паразитичною галловою нематодою *M. incognita* і стебловою нематодою картоплі *Diethylenchus destructa*

Table 4

The degree (%) of homology between mRNA of the control plants and si/miRNA of experimental plants of potato and cucumber, treated with bioprotective preparations and infected by parasitic gallic nematode *M. incognita* and stem nematode of potato *Diethylenchus destructa*

Біозахисні препарати	Сільсько-господарські культури	Ступінь гомології (%) по гібридизації мРНК з гомологічними si/miРНК контрольних рослин (імп/хв/20 мкг мРНК)	Ступінь гомології (%) по гібридизації мРНК з контрольних рослин із si/miРНК рослин, оброблених препаратом та вирощених на інфекційному тлі (імп/хв/20 мкг мРНК), %
Дистильована вода (контроль)	Картопля	8456±218 (98±0,92%)*	---
	Огірки	8456±196 (98±0,83%)*	---
Аверком	Картопля	8456±218 (98±0,92%)*	7679±132 (89±1,7%)**
	Огірки	8456±196 (98±0,83%)*	7938±130 (92±1,5%)**
Аверком-нова 1	Картопля	8456±218 (98±0,92%)*	7852±164 (91±1,9%)**
	Огірки	8456±196 (98±0,83%)*	7162±104 (83±1,2%)**
Аверком-нова 2	Картопля	8456±218 (98±0,92%)*	6730±121 (78±1,4%)**
	Огірки	8456±196 (98±0,83%)*	7162±147 (83±1,7%)**

наявність достовірних відмінностей дослідних показників** відносно контролю*, p<0,05, n=3

Порівняльний аналіз показника ступеню (%) гомології si/miРНК до мРНК між контрольними та дослідними рослинами (за різницями у відсотку гібридних молекул мРНК та si/miРНК, отриманому у дослідних рослин, порівняно з аналогічним показником у контрольних рослин), показав, що найбільша різниця у відсотку гомології щодо контрольних рослин спостерігалася у дослідних рослин, оброблених біозахисними препаратами: Аверкомом нова-2 (до 20% — картопля та до 15% — огірки) та Аверкомом нова-1 (до 15% — огірки та до 7% — картопля); меншу різницю за даним показником встановлено у дослідних рослин, оброблених препаратом Аверком (до 6% — огірки та 9% — картопля).

Проведене у безклітинних системах білкового синтезу з проростків пшениці тестування функціональної інгібуючої активності (антисенсової до мРНК інфікованих нематодами рослин) малих регуляторних si/miРНК, виділених з клітин контрольних та дослідних рослин, показало значне підвищення рівня (що наближався до рівня контрольних № 1 неінфікованих рослин) пригнічення біосинтезу поліпептидів у безклітинних системах протеїнового синтезу на матрицях мРНК з клітин рослин огірків, інфікованих галовою нематодою *M. incognita*, а також з клітин рослин картоплі, інфікованих стебловою нематодою картоплі *D. destructor* (табл. 5).

Таблиця 5

Рівень (%) сайленсингової активності si/miРНК, виділених із контрольних рослин (неінфікованих нематодами та необроблених препаратами) та з дослідних рослин картоплі та огірків (оброблених біозахисними препаратами та інфікованих паразитичною галовою нематодою *M. incognita* і стебловою нематодою картоплі *Diethylenchus destructor*)

Table 5

The level (%) of silencing activity of si/miRNA isolated from control plants (uninfected by nematodes and untreated by preparations) and experimental plants of potato and cucumber (treated with bioprotective preparations and infected by parasitic gallic nematode *M. incognita* and stem nematode of potato *Diethylenchus destructor*)

Біозахисні препарати	Варіанти дослідів	Сільсько-господарські культури	Показник інгібування білкового синтезу у безклітинній системі з проростків пшениці (імп/хв/мг білку), %
1	2	3	4
Контроль 1 (дистильована вода)	мРНК + si/miРНК із контрольних неінфікованих рослин	Картопля	12562±215 (100±0,9%)*
		Огірки	8121±112 (100±0,7%)*
Контроль 2 (дистильована вода)	мРНК + si/miРНК із контрольних інфікованих рослин	Картопля	1884±310 (15±1,3%)**
		Огірки	1624±240 (20±1,5%)**



1	2	3	4
Аверком	мРНК + si/miРНК із дослідних інфікованих рослин	Картопля	4774±406 (38±1,7%)**
		Огірки	3410±192 (42±1,2%)**
Аверком-нова 1	мРНК + si/miРНК із дослідних інфікованих рослин	Картопля	4647±290 (37±1,5%)**
		Огірки	3654 ±272 (45±1,7%)**
Аверком-нова 2	мРНК + si/miРНК із дослідних інфікованих рослин	Картопля	6909±453 (55±1,9%)**
		Огірки	3816 ±176 (47±1,1%)**

наявність достовірних відмінностей дослідних показників** відносно контролю №1*,
p<0,05, n=3

Найвищу активність (порівняно з контролем № 1) виявляли si/miРНК, ізольовані з дослідних рослин, оброблених препаратами: Аверкомом нова-2 (до 55% інгібування – картопля та до 47% огірки) та Аверкомом нова-1 (до 45% – огірки та до 37% – картопля); меншу ефективність за даним показником виявляли si/miРНК, ізольовані з дослідних рослин, оброблених Аверкомом (до 42% інгібування – огірки та до 38% – картопля). Значно менший рівень сайленсингової активності si/miРНК (до 15% інгібування – картопля, до 20% – огірки), встановлено у виділених з інфікованих та необроблених препаратами рослин (контроль № 2).

Таким чином, у польових та тепличних умовах на культурах огірка сорту Гравіна та картоплі сорту Беллароза доведено високу біозахисну щодо нематод активність нових комплексних препаратів на основі авермектинів, які знижували ураження рослин паразитичними нематодами і підвищували урожайність: огірків і картоплі. Методом Дот-блот гібридизації мРНК із si/miРНК встановлено, що авермектинвімісні препарати знижують відсоток гомології si/miРНК до мРНК у інфікованих рослинах відносно контрольних рослин в діапазоні від 6 до 23 %. Отримані розбіжності в показниках відсотків гомології можуть бути наслідком активації препаратом у клітинах рослин синтезу малих регуляторних si/miРНК з антинематодними властивостями. На користь цього припущення свідчать також результати щодо підвищення мікробними препаратами в клітинах інфікованих рослин рівня сайленсингової активності si/miРНК (до 38–65% інгібування трансляції мРНК інфікованих рослин), унаслідок чого значно підвищується стійкість рослин до паразитичних нематод.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Иутинская Г.А., Титова Л.В., Белявская Л.А., Козырицкая В.Е.* Создание микробных препаратов с биозащитными и фитостимулирующими свойствами // Биологическая защита растений — основа стабилизации агроэкосистем // Современные мировые тенденции в производстве и применении биологических и экологических малоопасных средств защиты растений. Материалы международной научно-практической конференции (25–27 сентября 2012). Выпуск 7. — Краснодар. — 2012. — С. 181–184.
2. *Ильяшенко Д.А., Иванюк В.Г.* Особенности проявления дитиленхоза картофеля и некоторые меры борьбы с ними в условиях Беларуси // Землеробства і ахова раслін. — 2006. — № 3. — С. 38–41.
3. *Биорегуляция* микробно-растительных систем: Монография / Иутинская Г.А., Пономаренко С.П., Андreyк Е.И. и др.; Под общей ред. Г.А. Иутинской, С.П. Пономаренко. — К.: Ничлава, 2010. — 464 с.
4. *Белявская Л.А., Козырицкая В.Е., Валагурова Е.В., Иутинская Г.А.* Биологически активные вещества препарата аверком // Мікробіологічний журнал. — 2012. — 74, № 3. — С. 10–15.
5. *Циганкова В.А., Андрусевич Я.В., Білявська Л.О., Козирицька В.Є., Іутинська Г.О., Галкін А.П., Галаган Т.О., Болтовська О.В.* Рістстимулюючі, фунгіцидні і нематодцидні властивості нових субстанцій мікробного походження та їх вплив на синтез малих si/miРНК в клітинах рослин // Мікробіол. журн. — 2012. — Т. 74, № 6. — С. 3–12.
6. *Сигарева Д.Д.* Методические указания по выявлению и учету паразитических нематод полевых культур. — Киев: Урожай, 1986. — 41 с.
7. *Доспехов Б.А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): 5-е изд. доп. и перераб. / Доспехов Б.А. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
8. *Циганкова В.А., Андрусевич Я.В., Блюм Я.Б.* Виділення з клітин рослин малих регуляторних si/mi RNA з антинематодною активністю // Доп. НАН України. — 2011. — № 9. — С. 159–164.
9. *Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J.* Molecular cloning: A laboratory manual. — New York: Cold Spring Harbor Lab, 1982. — 480 p.
10. *Tsygankova V. A.* Concerning the peculiarities of gene expression changes in plant leaf cells during twenty-four-hour period // Biotechnology. — 2010. — V. 3, № 4. — P. 86–95.
11. *Цыганкова В.А., Мусатенко Л.И., Пономаренко С.П., Галкина Л.А., Андрусевич Я.В., Галкин А.П.* Изменение популяций функционально активных цитоплазматических мРНК в клетках растений под влиянием регуляторов роста и биотехнологические перспективы бесклеточных систем белкового синтеза // Біотехнологія. — 2010. — Т. 3, № 2. — С. 19–32.

Стаття надійшла до редакції 14.03.2013 р.



Г.А. Иутинская¹, В.А. Цыганкова², Л.А. Белявская¹, В.Е. Козырицкая¹

¹Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Заболотного, 154, Киев, Д03680, ДСП, Украина,
e-mail: galyna.iutynska@gmail.com

²Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины,
ул. Мурманская, 1, Киев, 02660, Украина,
e-mail: vTsygankova@ukr.net

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ АВЕРКОМА НА РАЗВИТИЕ И ПРОДУКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ И НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ СИНТЕЗА si/miРНК

Реферат

Цель работы — усилить устойчивость растений огурцов и картофеля к нематодам с помощью новых эффективных микробных препаратов на основе авермектинов и определить молекулярно-генетические механизмы их защитного действия. Используются методы полевых и молекулярно-генетических исследований: выделение si/miРНК из клеток растений, Дот-блот гибридизация si/miРНК с популяциями цитоплазматических мРНК, исследование функциональной активности si/miРНК в бесклеточной системе белкового синтеза. В полевых и тепличных опытах у обработанных новыми микробными препаратами Аверком (продуцент штамм *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас-2179) и его модификациями растений огурцов и картофеля установлены уменьшение поражения нематодами и увеличение урожайности культур. Методом Дот-блотинга установлена разница (6–23%) в степени гомологии si/miРНК и мРНК между опытными и контрольными растениями. В бесклеточной системе белкового синтеза из проростков пшеницы подтвержден высокий уровень (38–65%) антинематодной сайленсинговой активности малых регуляторных si/miРНК из клеток опытных растений. Повышение устойчивости к паразитическим нематодам инфицированных растений огурцов и картофеля при обработке препаратами на основе Аверкома и установленные различия в проценте гомологии между популяциями малых регуляторных si/miРНК, выделенных из этих растений, свидетельствуют, что иммуномодулирующее действие этих препаратов проявляется в направлении индукции в клетках растений синтеза антинематодных si/miРНК, вследствие чего снижается их поражение паразитическими нематодами и повышается урожайность.

Ключевые слова: авермектины, устойчивость растений к паразитическим нематодам, малые регуляторные si/miРНК, Дот-блот гибридизация.



H.O. Iutinska¹, V.A. Tsygankova², L.O. Beljavska¹, V.E. Kozyritska¹

¹Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NASU,
154, Acad. Zabolotny str., Kyiv, MSP, D 03680, Ukraine,
e-mail: galyna.iutynska@gmail.com

²Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, NASU,
1, Murmanska str., Kyiv, Ukraine, e-mail: vTsygankova@ukr.net

**INFLUENCE OF NEW BIOPREPARATIONS BASED ON
AVERKOM ON DEVELOPMENT AND PRODUCTIVITY OF
THE PLANTS AND ON EXPRESSION OF GENES
OF si/miRNA SYNTHESIS**

Summary

Aim. To strengthen the resistance of cucumbers and a potato plants to nematodes by means of new effective microbic preparations on the basis of avermectines and to determine the molecular-genetic mechanisms of their protective action. **Methods.** Methods of field and molecular-genetic experiments, such as: isolation of si/miRNA from plant cells, the Dot-blot hybridization si/miRNA with populations of cytoplasmic mRNA, investigation of functional activity si/miRNA in cell free system of protein synthesis. **Results.** In the field and greenhouse experiments at cucumbers and potato plants treated by new microbic preparations Averkom (producer strain *Streptomyces avermitilis* UKM Ac-2179) and its modifications the reduction of affection by parasitic nematodes and increase in productivity of cultures are determined. By Dot-blot method the difference (6–23%) is found in the degree of homology si/miRNA and mRNA between the experimental and control plants. In the cell free systems of protein synthesis from wheat sprouts the high level (38–65%) antinematode silencing activity of small regulatory si/miRNA from cells of experimental plants is confirmed. **Conclusions.** Increase of resistance to parasitic nematodes of the infected cucumbers and potato plants at the treatment by preparations on the basis of Averkom and the established differences in homology percent between populations of small regulatory si/miRNA, isolated from these plants, evidence that immunomodulating action of these preparations is occurred in the direction of induction in plant cells of antinematode si/miRNA synthesis, as a result their affection by parasitic nematodes decreases and productivity raises.

Key words: avermectines, plant resistance to parasitic nematodes, small regulatory si/miRNA, Dot-blot hybridization.

