

УДК 632.952.635

<https://doi.org/10.31016/978-5-6046256-9-9.2022.23.252-257>

ИЗУЧЕНИЕ НЕМАТИЦИДНОЙ И НЕМАТОСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ, СОКОВ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ *IN VITRO*

Конрат А. Н.¹,младший научный сотрудник лаборатории фитопаразитологии,
alenakonrat@vniigis.ru

Аннотация

Влияние испытуемых веществ на нематицидность и нематостатичность *in vitro* проводили на сапробиотических (*Caenorhabditis elegans*, *Turbatrix aceti*) и фитопаразитических нематодах (*Ditylenchus destructor*). Предварительно подготовили растворы испытуемых веществ в разведениях: 1) 1:1000, 2) 1:100, 3) 1:10, 4) 1:1, 5) в неразведенном виде, 6) контроль – бутилированная вода. Раствор указанных концентраций вносили в лунки плашки по 0,5 мл в 4 повторностях, затем добавляли хорошо перемешанную нематодную суспензию объемом 0,5 мл в среднем по 50 ± 10 экз. нематод. Через 24 часа совместного нахождения подсчитывали подвижных и неподвижных нематод, затем через 48 и 72 часа подсчет нематод повторяли. В конце эксперимента нематод промывали от препарата с целью определения нематостатического эффекта. Операцию подсчета нематод повторяли. Нематицидную и нематостатическую эффективность испытуемых веществ сравнивали с контрольным вариантом. В результате исследований на нематицидность и нематостатичность растительных экстрактов, соков, антибиотиков и лекарственных препаратов было установлено, что разработанный метод скрининга *in vitro* эффективен. Установлено, что через 24, 48, 72 часа проведения скрининга, процент смертности нематод *Caenorhabditis elegans*, *Ditylenchus destructor*, *Turbatrix aceti* практически не изменился. В вариантах без разведений смертность нематод составляла от 70 до 100%. По мере разведения нематицидная эффективность препаратов снижается. Разведение препаратов 1:1000 влияния на жизнеспособность нематод не оказало. Скрининг *in vitro* на нематицидность разных групп биологически активных веществ показал, что нематицидными свойствами обладают фармайод, фитоверм, сок хрена, чеснока, имбиря.

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» (117218, Россия, г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28)

Ключевые слова: фитопаразитические нематоды, нематотициды, нематостатичность, скрининг

STUDY OF NEMATICIDAL AND HEMOSTATIC ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS, JUICES, MEDICAMENTS *IN VITRO*

Konrat A. N. ¹,

Junior Researcher of the Laboratory of Phytoparasitology,
alenaakonrat@vniigis.ru

Abstract

The effect of the tested substances on nematicidity and nematostaticity *in vitro* was carried out on saprobiotic (*Caenorhabditis elegans*, *Turbatrix aceti*) and phytoparasitic nematodes (*Ditylenchus destructor*). Previously prepared solutions of the tested substances in dilutions: 1) 1:1000, 2) 1:100, 3) 1:10, 4) 1:1, 5) not diluted, 6) control – bottled water. A solution of these concentrations was introduced into the wells of the die 0.5 ml in 4 repetitions, then a well-mixed nematode suspension with a volume of 0.5 ml was added on average 50 ± 10 copies of the nematodes. After 24 hours of being together, mobile and non-mobile nematodes were counted, then after 48 and 72 hours, the nematode count was repeated. At the end of the experiment, the nematodes were washed from the drug in order to determine the nematostatic effect. The nematode counting operation was repeated. The nematicidal and nematostatic efficacy of the tested substances was compared with the control variant. As a result of studies on the nematicidity and nematostaticity of plant extracts, juices, antibiotics and medicaments, it was found that the developed *in vitro* screening method is effective, it was found that after 24, 48, 72 hours of screening, the percentage of mortality of nematodes *Caenorhabditis elegans*, *Ditylenchus destructor*, *Turbatrix aceti* practically did not change. In variants without dilutions, nematode mortality ranged from 70% to 100%. As dilution proceeds, the nematicidal efficacy of the drugs decreases. Dilution of preparations 1:1000 had no effect on the viability of nematodes. *In vitro* screening for nematicidity of different groups of biologically active substances showed that farmayod, phytoverm, horseradish juice, garlic, ginger have nematicidal properties.

Keywords: phytoparasitic nematodes, nematicides, nematostaticity, screening

Введение. В настоящее время большое значение предается экологически чистым методам борьбы с фитогельминтами. Наряду с такими экологически безопасными методами борьбы с фитопаразитическими нематодами как пропаривание почвы, внесение в почву органической

¹ All-Russian Scientific Research Institute for Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plant – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV" (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia)

мульчи, использование растений-антагонистов, антибиотиков является перспективным методом в системе интегрированных мер борьбы [1, 3]. В борьбе с южной галловой нематодой были испытаны экстракты, настои, соки растений, которые показали нематостатические свойства. Нематостатическое действие на личинок второго возраста южной галловой нематоды *in vitro* выявлено у водных экстрактов цветущей части пижмы обыкновенной и полыни горькой, водных экстрактов сухих растений горца птичьего и толокнянки обыкновенной, а также у сока зеленой массы щавеля водного. Нематостатическое действие — у одуванчика лекарственного (сок зеленой массы), пустырника сердечного (водный экстракт сухого растения) и хрена обыкновенного (водный экстракт свежего корневища) [2]. В социальных сетях интернета кроме нематостатиков и растительных препаратов в борьбе с фитопаразитическими нематодами рекомендуют применение в личных подсобных хозяйствах Фармайода, Пиперазина, Трихопола, Бриллиантовый зеленый, что вызывает сомнение фитогельминтологов. Поэтому есть необходимость проверить эффективность этих препаратов. В связи с вышеизложенным цель нашей работы — разработать методы изучения нематостатической и нематостатической активности растительных экстрактов, соков растений, лекарственных препаратов *in vitro*.

Материалы и методы. Объекты скрининга.

Нематоды разных экологических групп:

1. *Caenorhabditis elegans*.
2. *Turbatrix aceti*.
3. *Ditylenchus destructor*.

Соки растений и их разведения (лука, чеснока, имбиря, хрена, редьки). Лекарственные препараты: Спирт, Фармайод, Эфир, Салициловая кислота, Бриллиантовый зеленый, Трихопол, Пиперазин, антибиотики Цефтриаксон, Доксициклин, Фитоверм.

Влияние испытуемых веществ на нематостатичность и нематостатичность *in vitro* проводили на сапробиотических (*Caenorhabditis elegans*, *Turbatrix aceti*) и фитопаразитических нематодах (*Ditylenchus destructor*) в опытах *in vitro* в следующих вариантах (таблица). Нематод культивировали согласно разработанной методике [1]. Скрининг проводили в медицинских планшетах.

В лунки планшетов вносили водную суспензию нематод 0,5 мл/ 50 экз. (± 10), затем 0,5 мл испытуемого раствора, в четырех повторностях, контроль — бутилированная вода.

Таблица

Схема скрининга на нематодцидную и нематостатическую активность растительных экстрактов, лекарственных препаратов *in vitro*

№	Вариант	Состав	Число повторностей
1	Контроль	0,5 мл суспензии нематод и 0,5 мл стерильной воды	4-6
2	Испытуемый концентрат без разведений	0,5 мл суспензии нематод и 0,5 мл испытуемого раствора в неразведенном виде	4-6
3	Разведение 1:1	0,5 мл суспензии нематод и 0,5 мл испытуемого раствора	4-6
4	Разведение 1:10	0,5 мл суспензии нематод и 0,5 мл испытуемого раствора	4-6
5	Разведение 1:100	0,5 мл суспензии нематод и 0,5 мл испытуемого раствора	4-6
6	Разведение 1:1000	0,5 мл суспензии нематод и 0,5 мл испытуемого раствора	4-6

Планшеты накрывали крышкой и оставляли в термостате при температуре 20–25 °С. Через 24 часа совместного нахождения подсчитывали общее количество нематод и из них неподвижных нематод под биноклем, через 48 и 72 ч операцию подсчета нематод повторяли.

В конце эксперимента, через 72 ч тестируемых нематод помещали в воду на 24 часа для проверки нематостатического эффекта. Операцию подсчета нематод повторяли. О характере действия препаратов (нематодцидное или нематостатическое действие) оценивали после «отмывки» нематод, сравнивали их с контрольным вариантом [1].

Результаты исследований. Для разработки метода скрининга нематодцидной и нематостатической активности растительных экстрактов, соков, антибиотиков и лекарственных препаратов *in vitro* мы использовали разработанную нами методику [4].

Скрининг сока лука, редьки черной, редьки зеленой показал, что соки этих растений не оказывают влияния на *Caenorhabditis elegans*, *Ditylenchus destructor*, уксусную угрицу (*Turbatrix aceti*), во всех вариантах и разведениях нематоды живые. Сок чеснока в неразведенном виде оказал влияние на *Ditylenchus destructor* и *Caenorhabditis elegans*, смертность 100%, в других вариантах с разведением результатов не дал, все нематоды живые. На уксусную угрицу сок чеснока влияния

не оказал даже в неразведенном виде. Сок имбиря в неразведенном виде оказал влияние на *Ditylenchus destructor* и *Caenorhabditis elegans*, смертность 100%, на уксусную угрицу влияния не оказал. В вариантах с разведением 1:1 и 1:10 оказал влияние на *Ditylenchus destructor* и *Caenorhabditis elegans*, смертность 100%. В разведении 1:1000 не влияет ни на один вид представленных нематод. Сок хрена обыкновенного оказывает влияние на *Ditylenchus destructor*, *Caenorhabditis elegans*, уксусную угрицу (*Turbatrix aceti*), наблюдается смертность 100% во всех вариантах до разведения 1:100, в этом разведении не оказывает влияния на эти виды нематод.

Лекарственные препараты. Антибиотики: Цефтриаксон и Доксициклин – во всех вариантах и разведениях нематоды живые, влияния на *Caenorhabditis elegans*, *Ditylenchus destructor*, уксусную угрицу (*Turbatrix aceti*) не оказали. Этиловый спирт 92%, неразведенный и в разведениях 1:1 привел к 100% смертности трех видов нематод *Caenorhabditis elegans*, *Ditylenchus destructor*, уксусная угрица (*Turbatrix aceti*) в вариантах с разведениями 1:10, 1:100, 1:1000 все нематоды во всех вариантах живые, контроль – нематоды живые и активные. Диэтиловый эфир 98% оказал нематостатический эффект, после промывки нематоды восстановили свою жизнеспособность. Эфир с разведениями влияния не оказал. Салициловая кислота 2% в разведении 1:1 – смертность нематод 100%, в вариантах с разведениями 1:10, 1:100, 1:1000 влияния не оказала, все 3 вида нематод во всех вариантах живые. Трихопол и Пиперазин не оказали никакого влияния на жизнеспособность нематод, во всех вариантах и разведениях нематоды сохраняли подвижность. Бриллиантовый зеленый спиртовой 1% не повлиял на представленные виды нематод, нематоды во всех вариантах живые. Фармайод: опыты *in vitro* показали, что жидкий Фармайод в дозах свыше 0,1% убивал сапробиотических и паразитических нематод. В дозе 0,01% препарат не убивал стеблевых нематод. Фитоверм 1%: контроль – живые, но малоподвижные, предполагается, что испарение препарата Фитоверм оказало влияние на контроль, в вариантах с разведениями 1:1, 1:10 наблюдается 100% смертность, в разведении 1:100 нематоды живые, активно двигаются необычным образом, предполагается, что препарат воздействует на нервную систему (нервный тик), в варианте с разведением 1:1000 нематоды живые.

Заключение. В результате исследований на нематотицидность и нематостатичность растительных экстрактов, соков, антибиотиков и лекарственных препаратов было установлено, что разработанный метод скрининга *in vitro* эффективен по выявлению нематотицидных веществ.

Установлено, что через 24, 48, 72 ч проведения скрининга, процент смертности нематод *Caenorhabditis elegans*, *Ditylenchus destructor*, *Turbatrix aceti* практически не изменился. В вариантах без разведений смертность нематод составляла от 70 до 100%. По мере разведения нематодная эффективность препаратов снижается. Разведение препаратов 1:1000 влияния на жизнеспособность нематод не оказало. Скрининг *in vitro* на нематодность разных групп биологически активных веществ показал, что нематодными свойствами обладают Фармайод, Фитоверм, сок хрена, чеснока и имбиря.

Список источников

1. Конрат А. Н., Лычагина С. В., Шестеперов А. А. Методические указания «Методология по скринингу *in vitro* штаммов, изолятов бактерий, обладающих паразитарными и нематодными свойствами» // Сб. науч. ст. по матер. докл. научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». 2021. Вып. 22. С. 575-590.
2. Котова В. В. и др. Нематодные свойства растений // Защита растений. 1994. № 9. С. 25.
3. Шестеперов А. А., Лычагина С. В., Колесова Е. А., Конрат А. Н. Мелойдогиноз овощных культур защищенного грунта и меры борьбы с ним: учебное пособие. М.: Изд. ФГБОУ ВПО РГАЗУ, 2015. 192 с.
4. Konrat A. N., Novik T. S., Shesteperv A. A. Possibility of application of Pharmayod for soil disinfection from phytoparasitic nematodes // Russian Journal of Nematology. 2021; 29(2): 190-191.

References

1. Konrat A. N., Lychagina S. V., Shesteperv A. A. Methodological guidelines "Methodology for *in vitro* screening of strains, isolates of bacteria with parasitic and nematocidal properties". *Materials of the Scientific Conference "Theory and practice of parasitic disease control"*. 2021; 22: 575-590. (In Russ.)
2. Kotova V. V. et al. Nematicide properties of plants. *Plant Protection*. 1994; 9: 25. (In Russ.)
3. Shesteperv A. A., Lychagina S. V., Kolesova E. A., Konrat A. N. Meloydoginosis of vegetable crops in protected ground, and measures to control them. Teaching manual. Moscow, Issue FGBOU VPO RGAZU, 2015. 192 p. (In Russ.)
4. Konrat A. N., Novik T. S., Shesteperv A. A. Possibility of application of Pharmayod for soil disinfection from phytoparasitic nematodes. *Russian Journal of Nematology*. 2021; 29(2): 190-191.