

ВЛИЯНИЕ ЛОВАСТАТИНА НА ФИТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ

В.В. Джавахия, Г.Г. Петелина, Всероссийский НИИ фитопатологии

Один из возможных путей решения проблемы защиты растений от вредных объектов — использование защитных средств, воздействующих на определенные пути метаболизма в растении или патогене, частичное блокирование или изменение которых приводит к нарушениям питательной цепочки в системе растение — паразит.

Известно, что стерины являются необходимыми компонентами клеточных мембран живых организмов, в т.ч. и фитопатогенных. Разработка препаратов, действие которых направлено на различные стадии биосинтеза стеринов, является одним из перспективных подходов в защите растений от болезней.

Одни из наиболее перспективных ингибиторов биосинтеза стеринов — статины, открытые в 1970-х гг. Они способны подавлять ранние этапы биосинтеза стеринов, ингибируя фермент окси-3-метилглутарил-КоА-редуктазу [6]. Статины до сих пор использовали только в медицине. Мы предположили, что эти соединения могут обладать защитным действием против фитопатогенов сельскохозяйственных культур. Одним из типичных представителей группы статинов является ловастатин.

Фунготоксичность ловастатина *in vitro* определяли для грибов *Sclerotinia nodorum* (возбудителя септориоза пшеницы) и *Colletotrichum atramentarium* (возбудителя ант-

ракноза томатов), которые выращивали на агаризованной среде Чапека-Докса с добавлением 1 г/л дрожжевого экстракта, а также гриба *Magnaporthe grisea* (возбудителя периколяриоза риса), который выращивали на морской агаризованной среде. Водный раствор натриевой соли ловастатина добавляли в стерильные агаризованные питательные среды в различных концентрациях, затем на поверхность сред в центр чашки Петри вносили фрагменты грибного мицелия. Культивирование гриба *M. grisea* проводили при температуре 28°C, а грибов *Scl. nodorum* и *C. atramentarium* — при 24°C. Диаметр выросших колоний измеряли на 7-й и 12-й дни роста. Опыт проводили дважды в 3-кратной повторности. Степень ингибирования роста колоний определяли как отношение диаметра колоний грибов, выращенных на средах с добавлением различных концентраций ловастатина, к диаметру контрольных колоний, выращенных на среде без добавления ловастатина.

Для изучения влияния ловастатина на развитие возбудителя септориоза проростки пшеницы выращивали в климатической камере. Продолжительность дневного периода составляла 16 ч, дневные и ночные температуры — 22°C и 20°C соответственно. Отрезки первых, полностью развернувшихся листьев помещали на агар с бензимидазолом (40 мг/л) по 10 шт. в каждую чашку. На верхнюю часть каждого

отрезка наносили по 10 мкл суспензии спор *Sf. nodorum* в растворах ловастатина. На нижнюю часть отрезков листьев наносили 10 мкл суспензии спор гриба в воде. Концентрация ловастатина составляла от 0,0005% до 0,05%, концентрация спор в суспензии — $2\text{—}3 \cdot 10^6$ спор/мл. Чашки Петри с листьями пшеницы выдерживали в течение суток в темноте, а затем помещали в световую камеру при комнатной температуре на 6 сут. Степень развития септориоза пшеницы определяли по 5-бальной шкале.

Вегетационные опыты по оценке фитотоксичности ловастатина на проростки пшеницы проводили следующим образом. Семена пшеницы сорта Мироновская 808 замачивали в растворе ловастатина на 1,5—2 ч и помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную раствором ловастатина разной концентрации. Проросшие зерна высевали в горшки с грунтом и выращивали растения в климатической камере при указанных выше условиях. Длину проростков измеряли в фазе двух листьев.

Ингибирующий эффект ловастатина на линейный рост колоний был в той или иной степени отмечен для всех исследуемых грибов. Среди культур грибов наиболее устойчивой оказалась *Sf. nodorum* (в концентрации 0,02% ловастатина на 7-е сут. скорость роста ингибировалась в среднем в 2 раза относительно контроля). Менее устойчивой к ловастатину была культура *C. atramentarium* (ингибирование роста на 7-е сут. в среднем было на 20% выше, чем у *Sf. nodorum*). Максимальный эффект ингибирования был обнаружен для культуры *M. grisea*. При концентрации ловастатина 0,005% диаметр колоний на 7-е сут. уменьшался на 60%, а при концентрациях 0,02% и выше рост был полностью подавлен (табл. 1).

Таблица 1. Изменения диаметров колоний грибов в зависимости от концентрации ловастатина, % к контролю

Культура	Возраст культуры	Концентрация натриевой соли ловастатина, %							
		0	0,00025	0,001	0,005	0,01	0,02	0,04	0,1
<i>Sf. nodorum</i>	7	100	92,3	91,7	70,9	65,1	45,3	27,0	7,3
	12	100	96,4	97,7	84,1	73,3	58,7	34,5	6,8
<i>M. grisea</i>	7	100	88,9	68,0	40,3	22,5	*	*	*
	12	100	97,2	60,0	34,7	31,5	16,7	*	*
<i>C. atramentarium</i>	7	100	78,0	65,8	48,1	38,5	23,5	11,5	*
	12	100	95,6	74,8	68,9	41,1	34,8	22,9	*

* Отсутствие роста

Наряду с ингибированием роста грибов, во всех трех случаях наблюдалось также обесцвечивание их мицелия. Это свидетельствовало о способности ловастатина подавлять меланиногенез у патогенов (блокирование биосинтеза меланина у ряда фитопатогенных грибов приводит к потере их патогенности [5]). Можно предположить, что ловастатин, помимо контактного фунгицидного действия, может оказывать защитное действие против грибов, снижая их патогенность вследствие подавления меланиногенеза.

Помимо исследований по влиянию ловастатина на рост колоний грибов, были проведены опыты по оценке его влияния на развитие септориоза на изолированных листьях пшеницы.

Результаты опытов свидетельствуют о способности ловастатина подавлять развитие септориоза на листьях пшеницы (табл. 2)

Оказалось, что применение ловастатина в концентрации до 0,005% могло вызывать повреждение листовой пластинки. Более низкая его концентрация вызывала существенный защитный эффект, который не сопровождался фитотоксичностью. Поскольку в предыдущем опыте показано, что прямое фунгитоксичное действие ловастатина на гриб *Sf. nodorum* проявляется при концентрации выше 0,1%. Высокий защитный эффект низких концентраций ловастатина,

по-видимому, должен быть обусловлен иным механизмом действия в системе *Sf. nodorum* — пшеница, например, снижением патогенности данного гриба, вследствие подавления биосинтеза меланина или вследствие ингибирования синтеза грибных стероидов.

Таблица 2. Влияние ловастатина на развитие возбудителя септориоза пшеницы

Срок после инфицирования, сут.	Концентрация ловастатина, %	Средний балл поражения	Защитный эффект, % к контролю
3	0	3,6±0,14	—
	0,05	Фитотоксичность	—
	0,005	0,2±0,008	94
	0,0005	0,2±0,007	94
7	0	3,8±0,15	—
	0,05	Фитотоксичность	—
	0,005	Фитотоксичность	—
	0,0005	1,0±0,03	72

Обработка ловастатином зерен пшеницы в концентрации 0,1% подавляла рост проростков в среднем на 50%, но при концентрации ловастатина 0,01% рост-ингибирующий эффект уже не наблюдался. Следовательно, защитным эффектом против грибных патогенов обладал 0,0005%-й раствор ловастатина, в то время как его ретардантный эффект отмечался для гораздо более высоких концентраций. Можно предположить, что применение ловастатина на пшенице в «защитных» дозах не должно оказывать негативного влияния на ее рост и развитие.

Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о способности ловастатина подавлять развитие септориоза на листьях пшеницы, причем для защиты от данного возбудителя эффективны низкие концентрации этого статина.

В наших исследованиях обнаружено, что ловастатин способен обесцвечивать мицелий *Sf. nodorum*, *M. grisea* и *C. atramentarium*. Чувствительность систем, ответственных за биосинтез пигмента в мицелии этих грибов была различной, но во всех случаях минимальные концентрации ловастатина, обесцвечивающие мицелий, и минимальные концентрации ловастатина полностью подавляющие рост грибов, различались по порядку.

Роль меланина фитопатогенных грибов интенсивно изучали в 1980—1990-х гг. У фитопатогенных грибов *Colletotrichum lagenarium* и *Pyricularia oryzae* обнаружено, что их меланиндефицитные мутанты теряют патогенность. Ни один из описанных дефектных по пигментации мутантов этих грибов не обладал патогенными свойствами [1, 4]. Однако в опытах по биохимической комплементации между мутантами, дефектными по различным стадиям биосинтеза меланина, наблюдалось восстановление пигментации одного из мутантов, что приводило к восстановлению патогенности спор, собранных с такого мицелия [2, 3, 4]. Пигментация таких мутантов восстанавливалась также при добавлении в питательную среду соответствующего предшественника из цепи биосинтеза пигмента. При этом восстанавливалась патогенность собранных с нормально пигментированного мицелия спор. Каков бы ни был механизм потери патогенности при блокировании биосинтеза грибного пигмента, очевидным является то, что ловастатин, способен в низких дозах обесцвечивать мицелий фитопатогенных грибов.

Таким образом, ловастатин можно считать потенциальным защитным препаратом, основное действие которого направлено не столько на подавление роста гриба, сколько на ингибирование меланиногенеза, т.е. на подавление его патогенных свойств. ■

Lovastatin influence on pathogenic fungi.

Dzhavakhiya V. Petelina G.

Biological plant protection is an additional or alternative method for control of plant pathogens. It allows avoiding the side effect of using the chemical pesticides. Application of sterol biosynthesis inhibitors is a possible way of biological plant protection. Statins are one of the most active and specific natural inhibitors of sterol biosynthesis. Work made to investigate possibility to use statins for plant protection. Fungicidal effect of lovastatin, a representative of statin group, against a range of pathogens was shown. It was also shown that lovastatin inhibited the melaninogenesis that can result in reduction or loss of pathogenicity of the fungi.