

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ АНТИБИОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СЕМЯН ЯЧМЕНЯ КОЛЛЕКЦИИ ВИР ИМ. Н.И. ВАВИЛОВА

Н. Е. Павловская, Е. С. Кулешова, И. Г. Лоскутов

ФГБОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет»

Поступила в редакцию 06.06.2012 г.

Аннотация. Количество гордецина в различных генотипах ячменя существенно различается. Генотипы ячменя, не поражаемые ринхоспориозом, пыльной головней и корневыми гнилями, относительно устойчивые к ржавчине, мучнистой росе и гельминтоспориозу, имеют больше гордецина, чем восприимчивые. Это важно для селекции на устойчивость и отбора форм для скрещивания. Вместе с тем, такой полиморфизм генотипов ячменя по содержанию гордецина имеет значение для выявления сырья при производстве антибиотика в промышленных масштабах.

Ключевые слова: гордецин, ячмень, плесень, антибиотики.

Abstract. Number of different genotypes gordetsina barley varies considerably. Barley genotypes are not affected, rinhosporiozom, smut and root rot, relatively resistant to rust, powdery mildew and Helminthosporium have more gordetsina than receptive. It is important for breeding for resistance and selection of forms for mating. However, this polymorphism genotypes of barley for the content of gordetsina is important to identify the raw materials in the production of the antibiotic on an industrial scale.

Keywords: gordetsin, barley, mold, antibiotics.

В природных микробных сообществах, состоящих из бактерий, грибов, актиномицетов дрожжей, водорослей, простейших и других микроорганизмов, широко распространен антагонизм, включающий и такие формы взаимоотношений, как конкуренция, хищничество, паразитизм. Наиболее хорошо изучен антагонизм, обусловленный образованием антимикробных веществ и, в частности, антибиотиков.[1]

Антибиотики нашли широкое применение в медицине для борьбы со многими инфекционными болезнями. Они применяются также в следующих отраслях народного хозяйства: в ветеринарии, в животноводстве в увеличении производства продуктов животноводства и в качестве стимуляторов роста сельскохозяйственных животных; в растениеводстве в качестве активных средств борьбы и профилактики бактериальных и грибковых заболеваний растений; в пищевой промышленности при консервировании различных пищевых продуктов с максимальным сохранением питательных веществ; в научных исследованиях для ингибирования определенных этапов био-

химических превращений; при выделении чистых культур отдельных патогенных микроорганизмов, культивировании вирусов; генетических исследованиях и др.

По оценкам Busine Stat с 2006 по 2010 гг стоимостный объем рынка антибиотиков в России вырос на 90% – с 13.2 до 25.1 млрд руб. Основными причинами падения производства антибиотиков в России являются : изношенность основных фондов, морально устаревшая номенклатура субстанций в условиях необходимости создания новых более эффективных лекарств, мощная конкуренция со стороны зарубежных производителей. В России перестали выпускать составляющие для производства антибиотиков. Выпускать вещества для производства антибиотиков в России стало невыгодно, так как отечественные фармпроизводители не могут составить конкуренцию таким странам, как Китай и Индия, субстанции которых гораздо дешевле.

Продажи антибиотиков растут благодаря высокому спросу, который во многом обусловлен тем, что микроорганизмы быстро становятся резистентными к новым препаратам, поэтому существует необходимость постоянно расширять

ассортимент. Кроме того, микроорганизмы становятся все более агрессивными: если раньше некоторые заболевания можно было вылечить одним уколом, то теперь требуется длительный курс лечения.

После открытия в 1942 г. Флемингом пенициллина и широкому использованию антибиотиков, часто без особой надобности и учета возбудителя болезни, многие антибиотики потеряли свою актуальность и эффективность. В связи со сложившейся ситуацией в настоящее время требуется усилить исследования по поиску веществ, обладающих антимикробной и противовирусной активностью. Подавляющее большинство антибиотиков, полученных из высших растений так же, как и антибиотиков микробного происхождения, по ряду причин не получило практического использования. Источниками получения подобных веществ являются растения и в том числе злаковые, к которым относится ячмень. [2]

Ячмень отличается повышенным содержанием противовирусных и антибактериальных веществ, таких как лизин и гордецин. В связи с этим ячменные отвары и настои являются популярным средством народной медицины для лечения грибковых и воспалительных заболеваний кожи, заболеваний ЖКТ и органов дыхания. Зерно ячменя служит сырьем для производства бактерицидных и противовирусных фармацевтических препаратов.

Впервые в СССР Н.В.Новотельновым Н.В., И.С.Ежовым И.С. из оставшейся после замачивания ячменя для получения солода на пивоваренном заводе им. Степана Разина препарат с антимикробными свойствами вырабатывался на полузаводской установке. В его состав входит антибиотик гордецин — около 45 %, органические примеси — около 20 %, не обладающие антибиотическими свойствами, и до 35 % воды. Это масляобразная жидкость темно-коричневого цвета с запахом меда и корки ржаного хлеба. В воде препарат не растворяется, но дает стойкие эмульсии. Хорошо растворяется в спирте и масле. Обладает термостабильностью и выдерживает нагрев до 90°C без потери активности.

Тщательно проведенные исследования позволили авторам утверждать, что антимикробно действующим началом является неопределенная нитрокетонокарбоновая кислота, представляющая собой неразветвленную цепь, состоящую из большого числа $-CH_2-$ групп и имеющую активные функциональные группы $-COOH$, $=CO$, $-OH$, $-CH$, и $-NO_2$). Кривая поглощения спиртовых растворов

гордецина в ультрафиолетовой части спектра имеет характерное плато в границах между 260-275 мкм.

Антимикробная активность гордецина изучена в отношении многих видов микроорганизмов. Что касается механизма антимикробного действия гордецина, то Н.В.Новотельнов полагает, что в его основе лежит образование кетиминовой связи между кетонной группой гордецина и ϵ -аминогруппой лизина микробной клетки. Изучение токсических свойств гордецина показало, что он мало токсичен. ЛД₅₀ = 0.31 г/кг. Гордецин был предложен для лечения поражений кожи — дерматомикозов и кандидозов межпальцевых складок, ногтей и околоногтевых валиков и т. д. [3]

Как было выявлено нами, количество гордецина в различных генотипах ячменя существенно различается. Генотипы ячменя, не поражаемые ринхоспориозом, пыльной головней и корневыми гнилями, относительно устойчивые к ржавчине, мучнистой росе и гельминтоспориозу, имеют больше гордецина, чем восприимчивые. Это важно для селекции на устойчивость и отбора форм для скрещивания. Вместе с тем, такой полиморфизм генотипов ячменя по содержанию гордецина имеет значение для выявления сырья при производстве антибиотика в промышленных масштабах. [4]

В связи с этим целью данных исследований — проведение скрининга генотипов ячменя из коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова на наличие антибиотика гордецина в семенах.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследований служили генотипы ячменя ярового представленные в табл.1., различающиеся устойчивостью к полеганию и заболеваниям.

Схема выделения гордецина: 10 г зерна ячменя, отсеянного от мучки, залили 30 мл дистиллированной воды на 72 часа с 1 мл хлороформа и периодически помешивали. Зерна-проростки не размалывали. Для исследования брали воду для замачивания в соотношении 1:1.15. Проростки выращивали в темноте во избежание образования хлорофилла. Отцентрифугировали при 2000 об./мин, добавили 1 мл 25% ацетата свинца, профильтровали. К фильтрату добавили 1 г активированного угля, оставили на 1 сутки. Профильтровали. Фильтр промыли дистиллированной водой. Затем промыли фильтр 5 мл 96% спирта и измеряли оптическую плот-

Генотипы ячменя, различающиеся устойчивостью к полеганию и болезням

Номер по каталогу ВИР образца	Происхождение	Название, разновидность, подвид	Описание свойств
22089	Ленинградская область	белогорский, var. pPallidum, rikotense	средне устойчив к полеганию, устойчив к пыльной головне, восприимчив к мучнистой росе и пятнистостям.
30845	Новосибирская область	золотник, var. mMedicum	средне устойчив к полеганию, устойчив к каменной головне, поражается мучнистой росой и пятнистостями.
27080	Беларусь	белорусский 76, var.nNudum	устойчивый к полеганию, устойчивый к мучнистой росе.
19417	Московская область	московский 121, var.nNutans	средне устойчив к полеганию, поражается всеми грибными болезнями.
30943	Чехия	amulet, var. nutans	устойчивый к полеганию, устойчивый к мучнистой росе, слабо поражается пятнистостями
29864	Германия	kleine gerste, var. coeleste	полегает при неблагоприятных условиях, поражается грибными болезнями.
28292	Австрия	westendorf Tirol, var.nudum	полегает при неблагоприятных условиях, поражается грибными болезнями.
27471	Польша	korona Laschego, var.coeleste	полегает при неблагоприятных условиях, поражается грибными болезнями.
17844	Ленинградская область	местный, var. cCoeleste	полегает, поражается грибными болезнями.
30919	Омская область	омский голозерный, var.nNudum	полегает при неблагоприятных условиях, поражается грибными болезнями.
30846	Новосибирская область	сигнал, var. nNutans	средне устойчив к полеганию, поражается всеми грибными болезнями.
30440	Дания	23007, var. nNudum	полегает при неблагоприятных условиях, поражается грибными болезнями.
6557	Армения	местный, var. nNudum	полегает, поражается грибными болезнями.
14981	Дагестан	местный, var. nNudum	полегает, поражается грибными болезнями.

ность фильтрата на Spresol-11 при длине волны 278 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.[5]

Формула для вычисления:

$C_1 = C_2 * (E_1/E_2)$ $C_2 = 0.0075\%$ $E_2 = 0.412$, где C_1 – искомая оптическая плотность; C_2 – стандартная концентрация гордецина 0.0075%; E_1 – оптическая плотность опытного образца гордецина; E_2 – оптическая плотность стандарта.[6]

Параллельно исследовался объем плесени, выросший на корнях ячменя. С целью получения корневых плесеней и выявления антибиотиков семена ячменя выращивали на фильтровальной бу-

маге в фитокамере в контролируемых условиях в течение 10 дней.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании проведенных исследований установлено, что генотипы ячменя существенно различаются по содержанию гордецина (рис. 1). Разброс данных составляет от 1 мг/% до 12 мг/%.

Наименьшее содержание антибиотика было у сорта Белогорского, местного сорта из Армении и Westendorf Tirol (от 1 до 2 мг/%). Сорт Белогорский устойчив к полеганию и пыльной головне,

но восприимчив к мучнистой росе и пятнистостям. Два других генотипа полегают при неблагоприятных условиях среды, поражаются всеми грибными заболеваниями.

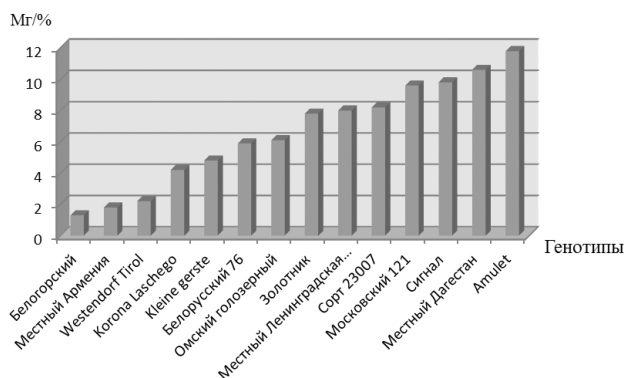


Рис. 1. Результаты скрининга генотипов ячменя коллекции ВИР на содержание гордецина

Рекордсменами по наличию гордецина являются сорта Сигнал putans и Амulet, у которых количество гордецина достигает 11-12 мг/%. Сигнал средне полегаемый и поражается всеми грибными заболеваниями, а Амulet устойчив к полеганию, к мучнистой росе, слабо поражается пятнистостями.

У большинства генотипов содержание гордецина колеблется от 4 до 9 мг/%. Из них среднеустойчивыми к полеганию являются сорта Белогорский, Золотник, Беларусский 76, Московский 121. Беларусский 76 устойчив к мучнистой росе. Таким образом, четкая зависимость между содержанием гордецина, полеганием и устойчивостью к грибным заболеваниям не выявлено.

Между тем, развитие плесени на корнях растений ячменя на каждом генотипе ячменя обратно пропорционален содержанию гордецина в зерновках и строго повторяется по образцам (рис. 2).

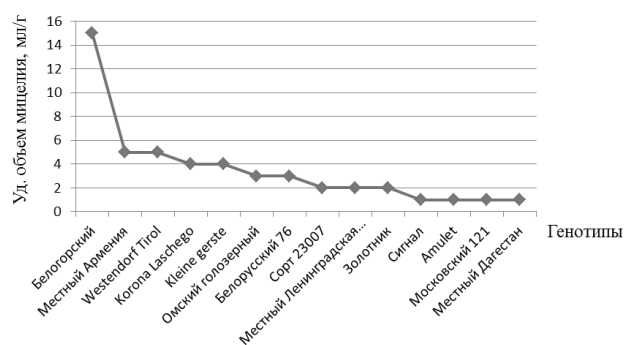


Рис. 2. Объем плесени на корнях ячменя в течение 10 дней.

Кроме того, вытяжка из плесени стимулирует развитие проростков гороха (рис.3).

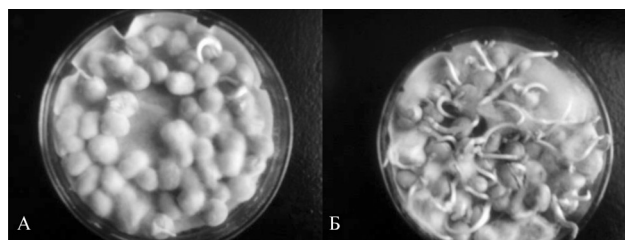


Рис. 3. Влияние вытяжки из плесени на прорастание семян и развитие проростков гороха сорта Батрак: А - контроль; Б - обработанные вытяжкой из плесени.

Как видно из рисунка, вытяжка из плесени на корнях ячменя положительно влияет на энергию прорастания семян и развитие проростков гороха. Это связано, видимо, с содержанием в ней антибиотических веществ, которые стимулируют развитие растений.

ВЫВОДЫ

1. У большинства генотипов содержание гордецина колеблется от 4 до 9 мг/%. Наибольшее количество гордецина определено у генотипов Сигнал и Амulet (11-12 мг/%), наименьшее – у сорта Белогорского, местного сорта из Армения и Westendorf/Tirol из Австрии (от 1 до 2 мг/%).
2. Установлена обратная зависимость между содержанием гордецина в зерновках семян определенных генотипов и объемом плесени на корнях проростков ячменя.
3. Не выявлено четкой зависимости между содержанием гордецина и устойчивостью к полеганию и грибным заболеваниям у образцов ячменя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бартон Д. Г. Новые пути синтеза тетрациклина / Д.Г. Бартон // Журнал Всес. химического общества им. Д. И. Менделеева — 1971, — т. 16, № 2 — С. 19-24.
2. Ваксман З.А. Антибиотики / З.А.Ваксман// К 80-летию С.А.Ваксмана. — 1968. — Т 13. — №7. — С. 57-62.
3. Гаузе Г.Ф. Изыскание новых антибиотиков из группы циклоспоринов / Г.Ф. Гаузе, Л.Н. Терехова, Т.С. Максимова // Антибиотики. — 1983. — Т. 28, №4. — С. 243-245.
4. Глотов В.К. Опыт применения биопрепаратов в животноводстве / В.К. Глотов, Л.С. Крав-

цова // Международный сельскохозяйственный журнал.- 2007.- №2.- С.54-55.

5. Глуховцев В.В. Особенности формирования белка и его аминокислотного состава в зерне ярового ячменя в зависимости от погодных условий в среднем Поволжье / В.В. Глуховцев, Н.В. Дровалье-

ва // Вестник Казанского ГАУ.- 2011. №2.- с.20

6. Зданович Ю. И. Влияние термического обеззараживания на комплекс микроорганизмов и качественные показатели зерна ячменя пивоваренного: автореф. канд. дисс. / Ю.И. Зданович. - Красноярск, 2006 — С. 7-12.

Павловская Нинель Ефимовна — доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой биотехнологии Орловский государственный аграрный университет; e-mail: ninel.pavlowsckaya@yandex.ru

Кулешова Екатерина Сергеевна — аспирант кафедры биотехнологии Орловский государственный аграрный университет; e-mail: katyamed20@mail.ru

Лоскутов Владимир Градиславович — доктор биологических наук, зав.отделом генетических ресурсов овса, ржи, ячменя ГНУ ВНИИ Растениеводства им. Н.И.Вавилова, С-Петербург

Pavlovsky Ninel E. — Sc.D., professor, Head of Department of Biotechnology, Orel State Agrarian University; e-mail: ninel.pavlowsckaya@yandex.ru

Kuleshova Ekaterina S. — postgraduate Department of Biotechnology Orel State Agrarian University, e-mail: katyamed20@mail.ru

Loskutov Vladimir G. — Sc.D., Head of Department of Genetic Resources oats, rye, barley SSI Research Institute of Plant them. Vavilov, St. Petersburg