

БИОПЕСТИЦИДЫ НА ОСНОВЕ ЯДОВ ПАУКОВ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ СПОСОБ БОРЬБЫ С НАСЕКОМЫМИ-ВРЕДИТЕЛЯМИ

Юрова Е.В., магистрант 2 курса экологического факультета

Научный руководитель – Климентова Е.Г., к.б.н., доцент
ФГБОУ ВО УлГУ

Ключевые слова: биопестициды, ионные каналы, токсины пауков.

Борьба с вредителями сельского хозяйства является актуальной проблемой во многих странах. Биоинсектициды на основе ядов пауков позволяют с минимальной нагрузкой на окружающую среду эффективно уничтожать вредителей. Их действие связано с механизмом естественного взаимодействия токсина и ионных каналов клеток целевых организмов.

В настоящее время более 10 000 видов членистоногих насекомых и несколько десятков видов млекопитающих животных являются вредителями культурных растений, а также наносят вред животным и человеку. Численность вредителей контролируется преимущественно за счет использования химически синтезированных инсектицидов, и широкое использование этих агрохимикатов привело как к развитию устойчивых к инсектицидам членистоногих, а также к проблемам, связанным со здоровьем человека и загрязнению окружающей среды. Биоинсектициды представляют собой новое поколение инсектицидов, которые используют метаболиты живых организмов или их производные [1].

Пауки используют свои яды, чтобы как можно быстрее парализовать и / или убить добычу или хищников. Поэтому их яды особенно богаты нейротоксинами, которые быстро изменяют ионную проводимость [2]. Ионный канал это белковая молекула, пронизывающая липидный бислой клеточной мембраны. Как и многие другие белки, канал «собран» из двух больших доменов — блоков, отвечающих за основные функции. У каналов обычно бывает не меньше двух доменов: один формирует собственно пору в мембране, а другой реагирует на внешние воздействия и управляет открытием и закрытием поры. Практически все структурные элементы канала могут стать мишенями токсинов [3].

На данный момент существуют различные аналоги препаратов, на основе токсинов пауков (*Hadronyche versuta*, *Atrax robustus*, *Atrax formidabilis*, *Atrax infensus*). Но в природных условиях токсины этих пауков попадают в организм жертвы через хелицеры, соответственно, синтезированный пептид должен также попасть внутрь организма.

Последний разработанный на данный момент биопрепарат на основе токсина паука принадлежит американской компании Vestaron Corp. Пептиды в препарате синтезированы на основе яда паука *Atrax robustus* (сиднейский воронковый паук) – одного из самых ядовитых пауков в мире. И, поскольку, препарат находится на стадии проверки, его эффективность и не токсичность по отношению к млекопитающим не доказана.

Цель исследования: определить влияние белкового токсина ядовитых пауков на клетки яичника взрослого китайского хомячка.

Задачи:

- 1) Определение вида паука, токсин которого будет использоваться;
- 2) Отбор и синтез токсина;
- 3) Изучение действия токсина на клеточную культуру яичника взрослого китайского хомячка (СНО-К1).

Отбор вида паука проводился по одному критерию – способ проникновения яда в организм. В итоге был выбран паук вида *Scytodes thoracica*. Преимущество данного паука заключается в том, что он относится к плюющим паукам, то есть его яд попадает на жертву с поверхности тела, в то время как другие пауки впрыскивают яд через хелицеры непосредственно в организм жертвы.

Поиск токсина проводился с помощью сервера ArachnoServer Spider Toxin Database. В яде паука *S. thoracica* содержится 19 видов токсинов, то есть в среднем 52 пептидных последовательностей. Для исследования бралась последовательность с минимальным количеством аминокислотных остатков (31) – U1-scytotoxin-Sth1a. Синтез токсина производился на пептидном синтезаторе ResPep SL.

Экологическая паразитология

Концентрация бралась на основе имеющихся работ по влиянию токсина на сверчка домашнего (*Acheta domestica*) [4] и в пересчете на клетки млекопитающих составила, соответственно, 60 pmol. Экспозиция проводилась в течение 1 часа и 24 часов.

Методика определения влияния токсина на клеточную культуру СНО-К1:

- 1) Подготовка клеток к эксперименту. Конечная концентрация 150 000 клеток на ячейку 12-луночного планшета в 1 мл питательной среды;
- 2) Подготовка водного раствора пептида с конечной концентрацией 60 pmol;
- 3) Приготовление раствора пептида в питательной среде;
- 4) Добавление 1 мл раствора пептида в среде к клеточной культуре и чистой среды к контрольной группе;
- 5) Экспозиции в течение 1 часа и 24 часов;
- 6) Отмывка клеток в растворе PBS;
- 7) Окрашивание клеток 0,4% раствором трипанового синего;
- 8) Подсчет мертвых и живых клеток на камере Горяева;
- 9) Статистическая обработка полученных данных. Построение графиков.

Результаты: Согласно данным, представленным на рисунках 1 и 2, видно, что при концентрации 60 pmol и экспозиции в течение одного часа процент погибших клеток от воздействия токсина (18,26%) меньше по сравнению с контролем (26,74%), а при экспозиции в течение 24 часов наоборот, процент погибших от токсина клеток больше (10,25%) почти в 2 раза по сравнению с контролем (5,24%).

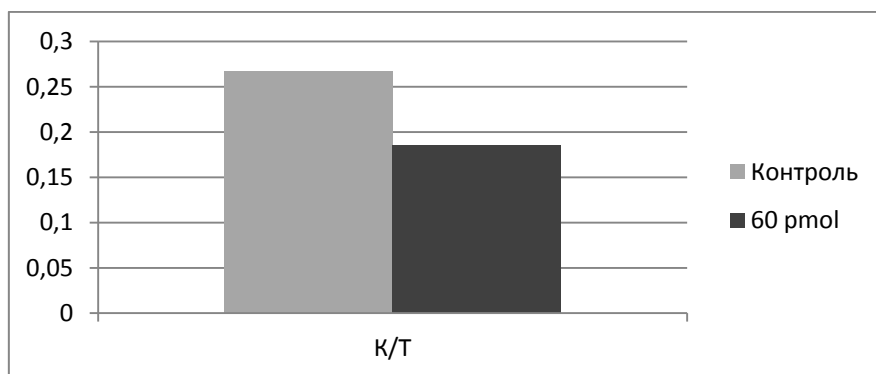


Рис. 1 - Процентное отношение погибших клеток в контрольной группе и под действием токсина. Время экспозиции – 1 час.

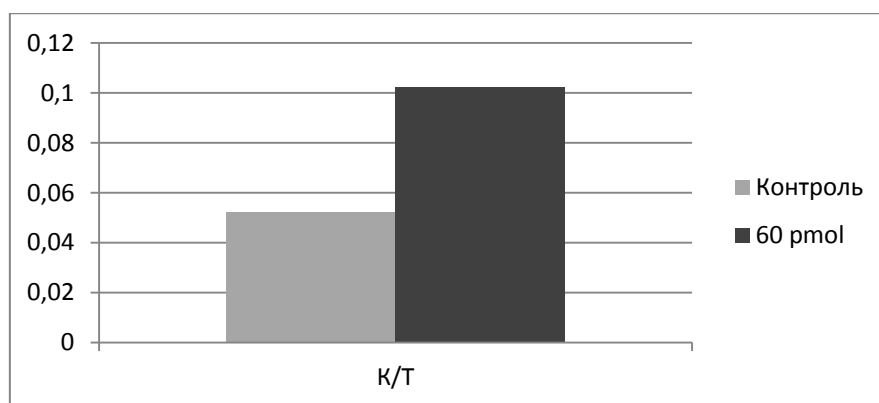


Рис. 2 - Процентное отношение погибших клеток в контрольной группе и под действием токсина. Время экспозиции – 24 часа.

По полученным данным можно сделать вывод, что действие белкового токсина ядовитых пауков на клетки яичника взрослого китайского хомячка зависит от времени экспозиции, и результат, полученный при действии в течение 24 часов, имеет большую эффективность, чем в течение 1 часа.

Из этого следует, что пептид U1-scytotoxin-Sth1a токсичен в данной концентрации по отношению к млекопитающим, а это не допустимо, и может привести к нежелательным результатам при использовании его в качестве биопестицида.

Поэтому планируется дальнейшее исследование действия белкового токсина ядовитых пауков на клетки млекопитающих, а также на другие целевые организмы, в том числе на насекомых-вредителей.

Библиографический список:

1. Windley, M. J. Spider-Venom Peptides as Bioinsecticides [Text] / M.J. Windley, V. Herzig, S.A. Dziemborowicz, M.C. Hardy, G.F. King, G.M. Nicholson // *Toxins (Basel)*. – 2012. - №4(3). - P. 191–227.
2. Резник, Н.Л. Между ядом и лекарством [Текст] / Н.Л. Резник // *Химия и жизнь*. -2013. - №5.
3. Тихонов, Д.Б. Яды против ионных каналов [Текст] / Д.Б. Тихонов // *Химия и жизнь*. – 2014. - №3.
4. Ariki, N.K. Characterization of Three Venom Peptides from the Spitting Spider Scytodesthoracica [Text] / N.K. Ariki, L.E. Muñoz, E.L. Armitage, F.R. Goodstein, K.G. George, V.L. Smith, I. Vetter, V. Herzig, G.F. King, N.M. Loening // *PLoS One*. – 2016. - №11(5).

BIOPESTICIDES BASED ON SPIDER VENOMS AS A PROMISING METHOD FOR COMBATING INSECT PESTS

Iurova E.V.

Key words: biopesticides, ion channels, spider toxins.

The fight against pests of agriculture is an actual problem in many countries. Bioinsecticides based on spider venoms can effectively destroy pests with minimal environmental stress. Their action is associated with the mechanism of natural interaction of toxin and ion channels of cells of target organisms.