

ОБЩАЯ
БИОЛОГИЯ

УДК 591.5 + 591.105

**ИНДУКЦИЯ СИНТЕЗА ТЕРПЕНОИДОВ В ЛИСТЬЯХ БЕРЕЗЫ
ПОВИСЛОЙ ПОСЛЕ ЕЕ ДЕФОЛИАЦИИ ГУСЕНИЦАМИ
НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА**

© 2010 г. В. В. Мартемьянов, Д. В. Домрачев, С. В. Павлушин, И. А. Белоусова,
С. А. Бахвалов, А. В. Ткачёв, В. В. Глупов

Представлено академиком И.Ф. Жимулёвым 10.12.2009 г.

Поступило 05.05.2010 г.

Лесные виды насекомых-филлофагов во время массовых вспышек размножения способны дефолировать кормовые растения на огромных территориях. При дефолиации поврежденные растения теряют значительную площадь фотосинтезирующей поверхности, что сопровождается глубокими морфологическими, физиологическими и биохимическими изменениями [1]. В результате повреждения листовой пластинки и воздействия элиситоров (индукторов), содержащихся в слюне насекомых, в растении развивается каскад биохимических реакций, ведущих к синтезу широкого спектра вторичных метаболитов [2], которые делают растение менее пригодным для питания насекомого. Показано, что для листовенных древесных растений существенную роль в резистентности против насекомых (как в конститутивной, так и в индуцированной) играют фенольные соединения, в то время как для хвойных — терпены и терпеноиды [3].

Исследования последних лет свидетельствуют, что летучие соединения (например, монотерпены) могут иметь также существенное значение и в жизнедеятельности многих покрытосемянных растений при их повреждении насекомыми [4], зачастую являясь привлекающим фактором для хищников и паразитоидов листогрызущих фитофагов, облегчая энтомофагам поиск жертвы [5]. Таким образом, химические сигналы такого рода, синтезируемые поврежденным растением, влияют на численность питающихся фитофагов через привлечение естественных врагов, являясь тем самым одним из факторов регуляции динамики численности массовых видов фитофагов.

В данном исследовании мы впервые изучили состав терпеноидов в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth.), произрастающей на территории Западной Сибири, при ее существенной дефолиации гусеницами непарного шелкопряда (*Lymantia dispar* L.). Этот полифаг является видом-космополитом и дает регулярные вспышки массового размножения на огромных территориях [6]. Чтобы показать возникновение энтомо-резистентности, мы оценили, наряду с регистрацией терпеноидов в листьях кормового растения, также и ряд показателей состояния популяции фитофага (продолжительность развития питающей стадии насекомого, выживаемость, потенциальную плодовитость). Приведенные ниже результаты исследования являются пионерскими, поскольку ранее при изучении взаимоотношений в системе кормовое растение—непарный шелкопряд основное внимание уделялось фенольным соединениям [7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили на естественных модельных участках березы порослевого происхождения, на деревьях в возрасте 9–11 лет в период с середины мая до конца июня 2007 г. В эксперименте использовали две группы гусениц *L. dispar*: первую для оценивания популяционных показателей насекомых и вторую для нанесения существенных повреждений дереву (схема 1). Гусениц получали из яйцекладок, собранных осенью предыдущего года в естественном очаге массового размножения (~10 яйцекладок на дерево) на территории Новосибирской области. Насекомых первой группы выращивали в лабораторных условиях до второго возраста, после чего их транспортировали в поле и высаживали на побеги деревьев в садки-фонари (рукав из москитной сетки размером 30 × 70 см) [8]. В последующем кроны деревьев полностью укрывали большими садками из этого же материала. На десяти опытных деревьях внутри больших садков выпускали по 250–300 гусениц непарного шелкопряда третьего возраста для дефо-

Институт систематики и экологии животных
Сибирского отделения
Российской Академии наук, Новосибирск
Новосибирский институт органической химии
им. Н.Н. Воронцова
Сибирского отделения
Российской Академии наук

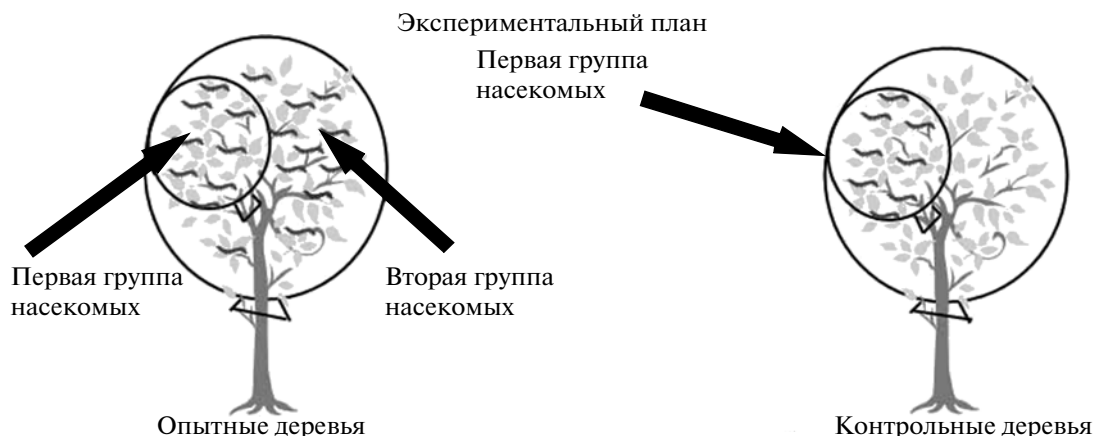


Схема 1.

лиации растений. Десять контрольных деревьев укрывали большими садками без насекомых (схема 1), т.е. всего в эксперименте было задействовано двадцать деревьев. В результате первая группа насекомых была изолирована от второй “дефолирующей” группы, что позволяло отслеживать изменение численности особей и ряда популяционных параметров в этой группе. При полном поедании листвы насекомыми первой группы маленький садок с насекомыми перемещали на другой облиственный побег этого же дерева, предварительно освобожденный от насекомых второй группы. В течение двух недель экспериментальные деревья были дефолированы на 70–80%, после чего большие садки снимали с дерева вместе с “дефолирующими” гусеницами.

При изучении воздействия дефолиации растения на жизнеспособность популяции непарного шелкопряда оценивали следующие показатели: продолжительность гусеничной стадии (наиболее уязвимая стадия для болезней, для хищников и паразитов), массу куколок самок (отражает потенциальную плодовитость особи) и самцов, выживаемость от яйца до имаго. Для эксперимента использовали 50 насекомых на маленький садок, один садок на дерево.

Усредненные образцы для биохимического анализа получали путем смешивания равного количества листьев с верхней, средней и нижней частей кроны, укрытой большим садком. Образцы отбирали дважды: непосредственно перед высаживанием насекомых и через 2 недели после начала дефолиации (при достижении 70–80%-ного уровня дефолиации). Подготовленные пробы листьев (70–100 г) взвешивали и экстрагировали 96%-ным этанолом (250 мл) методом настаивания при комнатной температуре в течение 72 ч. Для извлечения летучих веществ спиртовую вытяжку концентрировали до объема 5–10 мл на ротационном испарителе при комнатной температуре в вакууме водоструйного насоса. Полученный концентрат подвергали гидродистилляции с

параллельной экстракцией петролейным эфиром (точка кипения 40–70°C), как описано в работе [9]. Полученный раствор летучих веществ в петролейном эфире высушивали безводным сульфатом натрия, фильтровали от осушителя и концентрировали на ротационном вакуумном испарителе при комнатной температуре в вакууме водоструйного насоса. Хромато-масс-спектрометрические исследования проводили на газовом хроматографе HP 6890, оборудованном масс-селективным детектором HP 5972A в соответствии с руководством [9].

Популяционные показатели гусениц анализировали с использованием однофакторного дисперсионного анализа, а концентрации терпеноидов – с использованием дисперсионного анализа с повторными измерениями (repeated measures ANOVA). При ошибке взаимодействия двух факторов (дефолиации и времени) ≤ 0.05 различия между опытной и контрольной группами считали достоверными.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ содержания летучих веществ показал, что концентрация гераниола и линалоола достоверно увеличивается в листьях дефолированных деревьев по сравнению с контрольными растениями, в то время как содержание гексадеканола снижается (рис. 1). Для многих других детектированных терпеноидов достоверных отличий не было получено ($p \geq 0.05$).

При питании на поврежденных растениях у насекомых отмечалось увеличение продолжительности личиночной стадии самок (контроль 40.7 ± 0.92 сут; дефолиация 44.9 ± 0.74 сут; $F = 10.27$; $p = 0.005$), в то время как фенология гусениц самцов оставалась без изменений ($p \geq 0.05$). Масса куколок самок в опытной группе достоверно снижалась по сравнению с массой куколок самок контрольной группы (контроль 0.76 ± 0.036 г; дефолиация 0.55 ± 0.061 г; $F = 9.84$; $p = 0.007$). В то же время масса куколок самцов оставалась без из-

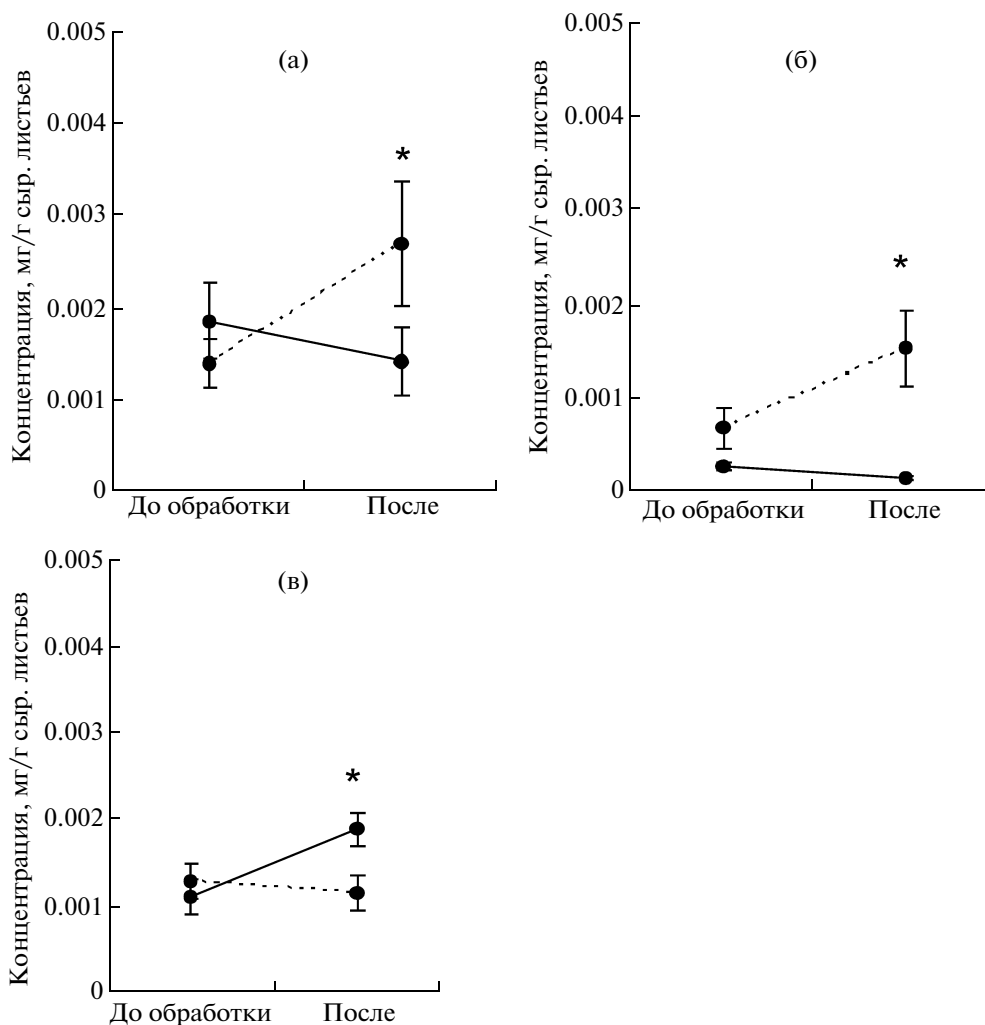


Рис. 1. Содержание гераниола (а), линалоола (б) и гексадеканола (в) в листьях *B. pendula* после ее дефолиации гусеницами непарного шелкопряда; сплошная линия – контрольная группа деревьев, прерывистая – дефолированная группа деревьев. * при $p \leq 0.05$.

менений ($p \geq 0.05$). Несмотря на то, что выживаемость насекомых до имагинальной стадии в эксперименте была крайне низкой ($12.0 \pm 1.51\%$), выживаемость насекомых, питающихся на дефолированных растениях, достоверно снижалась ($5.9 \pm 1.55\%$; $df = 17$; $F = 7.87$; $p = 0.012$). Низкая выживаемость контрольной группы опосредована фазой динамики численности материнского поколения, которое было стрессировано их высокой популяционной плотностью и действием факторов окружающей среды (повышенная влажность в результате большого количества осадков, действие мелких паразитоидов и хищников, способных проникнуть через ячейки сетки внутрь садка).

Полученные результаты впервые свидетельствуют, что содержание таких терпеноидов, как гераниол, линалоол, может возрастать в ответ на значительную дефолиацию березы повислой гусеницами непарного шелкопряда. Ранее были продемонстрированы репеллентные свойства ли-

налоола при изучении роли летучих соединений в хемокоммуникации гусениц непарного шелкопряда [10]. В другом исследовании при выращивании шелкопряда на искусственной питательной среде было продемонстрировано антифидантное действие гераниола [11]. Таким образом, увеличение содержания гераниола и линалоола в листьях, продемонстрированное в нашем эксперименте, может свидетельствовать о вкладе монотерпенов в индуцированную резистентность березы против шелкопряда, которая выражается в прямом негативном воздействии на фитофага.

Известно также, что некоторые монотерпеноиды (например, линалоол) являются химическими факторами, играющими важную роль при поиске паразитоидами своей жертвы [12, 13]. Следовательно, есть все основания предположить, что летучие терпеноиды могут участвовать в формировании энтоморезистентности березы повислой в отношении непарного шелкопряда в ответ

на дефолиацию растения, косвенно воздействуя на популяцию непарного шелкопряда через привлечение естественных врагов этого фитофага.

Работа была проведена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 06–04–49164, 09–04–00767), гранта Президента РФ (МК-1431.2009.4) и гранта Kone Foundation.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Howe G.A., Jander G.* // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2008. V. 59. P. 41–66.
2. *Ferry N., Edwards M.G., Gatehouse J.A., Gatehouse A.M.R.* // *Current Opin. Biotechnol.* 2004. V. 15. P. 155–161.
3. *Haukioja E.* In: *Multigenic and Induced Systemic Resistance in Plants*. L.: Kluwer Acad. Publ., 2005. P. 279–296.
4. *Arimura G., Huber D.P.W., Bohlmann J.* // *Plant J.* 2004. V. 37. P. 603–616.
5. *Paré P.W., Tumlinson J.H.* // *Plant Physiol.* 1999. V. 121. P. 325–331.
6. *Ильинский А.И., Тропин И.В.* Надзор, учет и прогноз массовых размножений хвое- и листогрызущих насекомых в лесах СССР. М.: Лесная промышленность, 1965.
7. *Hwang S.-Y., Lindroth R.L.* // *Oecologia.* 1997. V. 111. P. 99–108.
8. *Hunter M.D., Schultz J.C.* // *Oecologia.* 1993. V. 94. P. 195–203.
9. *Ткачев А.В.* Исследование летучих веществ растений. Новосибирск: Офсет, 2008. 969 с.
10. *Markovic I., Norris D.M., Phillips J.K., Webster F.X.* // *J. Agric. Food Chem.* 1996. V. 44. P. 929–935.
11. *Doskotch R.W., Cheng H.-Y., Odell T.M., Girard L.* // *J. Chem. Ecol.* 1980. V. 6. № 4. P. 845–851.
12. *Turlings T.C.J., Tumlinson J.H., Heath R.R. et al.* // *J. Chem. Ecol.* 1991. V. 17. № 11. P. 2235–2251.
13. *Chen L., Fadamiro H.Y.* // *Bull. Entomol. Res.* 2007. V. 97. № 5. P. 515–522.