

ПОЛЯКОВА Л.В.

Украинский НИИ лесного хозяйства и агролесомелиорации НАН Украины,
Украина, 61024, Харьков, ул.Пушкинская, 24. e-mail: polyakova_lv@mail.ru

РАЗНООБРАЗИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ФЕНОТИПОВ ДЕРЕВЬЕВ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО И ДУБА ПУШИСТОГО В СВЯЗИ С ВОСПРИИМЧИВОСТЬЮ К ЛИСТОВЫМ ПАТОГЕНАМ И ВРЕДИТЕЛЯМ

Растения, особенно древесные, синтезируют большое количество фенольных соединений (ФС), способных принимать участие в неспецифической биохимической защите клеток растений от внедрения патогенов либо вредителей. В отличие от компонентов специфической защиты (например, производные жасмоновой кислоты), образование которых активизируется действием биотических и абиотических стрессов [3,6], ФС присутствуют в растительных тканях постоянно. Вариабельность ФС проявляется в значительном разнообразии биохимических фенотипов в популяциях, часто связанных с разным уровнем устойчивости к тем или иным биотическим повреждениям.

На фоне изучения содержания первичных метаболитов – белка – биохимические фенотипы по вторичным метаболитам позволяют дать многостороннюю оценку индивидуальных деревьев, а по степени повреждения листьев фитопатогенами либо насекомыми появляется возможность более широко оценить преимущество либо недостатки тех или иных биохимических фенотипов в условиях биотического стресса.

В данной работе представлены материалы сопоставления разнообразных биохимических фенотипов деревьев дуба пушистого (*Quercus pubescens* Willd) и дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) в связи с разной устойчивостью к фитопатогенам и листогрызущим насекомым. В комплексе ФС листьев изучали содержание компонентов структуры гидролизуемых танинов (ГТ) и фенилпропаноидов (ФП), из последних определялось содержание флавонолов (ФЛ) и отношение их гликозилированных форм к свободным агликонам – показатель степени гликозилирования флавонолов – СГФ. Определялось также содержание белка (Б). Устойчивость к вредителям оценивалась в баллах от 0.2 (повреждено до 80% листьев) до 2-х (повреждено менее 10%).

Материалы и методы

Материалом для исследования служили листья дуба пушистого, собранные с деревьев в период распускания листвы и массово пораженных зеленой дубовой листоверткой (*Tortrix viridana* L.). Материал собран в Крыму, 4.05.08 г. (Мисхор). Листья дуба черешчатого собраны в Святогорском национальном природном парке (СНПП). Отобраны вековые и многовековые деревья, оценка на степень повреждения разными группами вредителей проведена в начале августа (9.08.08г.).

Содержание ФЛ определяли по методу В.В. Беликова [1]. Содержание ГТ определяли денситометрически с хроматограмм, окрашенных ферро-цианид комплексом [7], содержание белка по методу Бузун и др.[2]. Показатель СГФ определялся по соотношению гликозилированной формы ФЛ и свободных агликонов [5].

Результаты и обсуждение

Многолетнее изучение биохимического механизма защиты семян дуба черешчатого и взрослых деревьев в условиях инфекции мучнистой росой (*Microsphaera alphitoides*) показало, что на фоне разнообразного уровня содержания разных групп ФП структуры (катехины, проантоцианидины, ФЛ) наиболее четкая связь с устойчивостью была характерна для показателя СГФ [5]. Последний учитывает соотношение свободных и гликозилированных форм ФЛ, что отражает относительную активность фермента, отвечающего за скорость гликозилирования свободных агликонов – гликозил-трансферазы [8]. Учитывая то, что ФЛ синтезируются в хлоропластах, а их агликоновые структуры принимают участие в ингибировании фотосистемы П, показатель скорости их перевода из токсичной агликоновой формы в нетоксичную гликозилированную отражает с одной

стороны активность функционирования группы веществ вторичного обмена, а с другой, вследствие влияния агликонов на активность фотофосфорилирования в хлоропластах, затрагивает первичный обмен [4]. Последнее проявилось в том, что показатель СГФ и содержание ФЛ оказались тесно связанными не только с устойчивостью, но и с содержанием хлорофилла и Б : чем ниже было значение СГФ, тем выше была устойчивость как сеянцев так и взрослых деревьев к инфекции мучнистой росой; связь с содержанием хлорофилла и белка носила противоположный характер [5].

Содержание ГТ, по литературным данным, часто связывает положительная корреляционная связь с устойчивостью к листогрызущим насекомым [6]. Два компонента группы ГТ, два показателя группы фенолпропаноидов – содержание Фл и СГФ, а также общее содержание Б были определены в листьях дуба пушистого, большая часть деревьев которого была повреждена зеленой дубовой листоверткой. В зависимости от степени устойчивости биохимические показатели распределились следующим образом (табл.)

Таблица. Содержание ФС и Б в листьях дуба пушистого

Категория деревьев	ГТ-1,%	ГТ-2, %	ГТ-1± ГТ-2, %	Б,%	ФЛ Мг/г с.в.	СГФ отн. величина	Устойч., баллы
Воспр. гр. 8 особей	3.5±0.07	2.12±0.12	5.62±0.16	10.9±0.6	4.5±0.65	4.1±0.9	0.5±0.06
Устойчив. Гр.4ос.	3.12±0.06	1.76±0.12	4.87±0.17	10.6±0.33	3.75±1.0	3.25±0.8	1.85±0.12
T st	3.95**	2.2*	3.22**	0.51	1.55	0.73	6.28**

Примечание: ГТ-1 – пента-галлоилглюкоза; ГТ-2 – ди-галлоилглюкоза.

Материалы таблицы показывают, что с учетом баллов устойчивости обе группы деревьев достоверно отличаются по содержанию ГТ. Отличия затрагивают оба компонента этой группы и их сумму. По другим показателям, включая Б, отличия недостоверны. То есть в данном случае оказалась подтвержденной положительная корреляционная связь между накоплением в листьях группы ГТ и их восприимчивостью к листогрызущему вредителю. В таблице отражены средние данные по группам, однако сравнение фенотипов индивидуальных деревьев было таковым, что заметное снижение содержания ГТ в некоторых деревьях сопровождалось повышением в них уровня содержания Б, что проявилось в наличии средней силы негативной корреляционной связи между этими признаками ($r = -0.354$)

Материалы таблицы показали также, что ФП группа компонентов (ФЛ, СГФ) практически не связана с устойчивостью к данному вредителю.

Связь разных биохимических показателей с устойчивостью к листовым вредителям и патогенам была проверена при анализе 6-ти многовековых деревьев дуба черешчатого, произрастающих в СНПП. Анализ был выполнен в начале августа, когда степень повреждения листьев от разнообразных вредителей проявилась максимально. Из листовых патогенов учитывалось поражение листьев мучнистой росой, а также в баллах оценивалась степень объедания листьев разнообразными листогрызущими вредителями. Все побеги для анализа и подсчета поврежденности листы выполнялись на побегах одной световой экспозиции и яруса: нижний ярус, северная экспозиция. Биохимические фенотипы проанализированных деревьев, параллельно с фенотипами дуба пушистого приведены на рис 1.

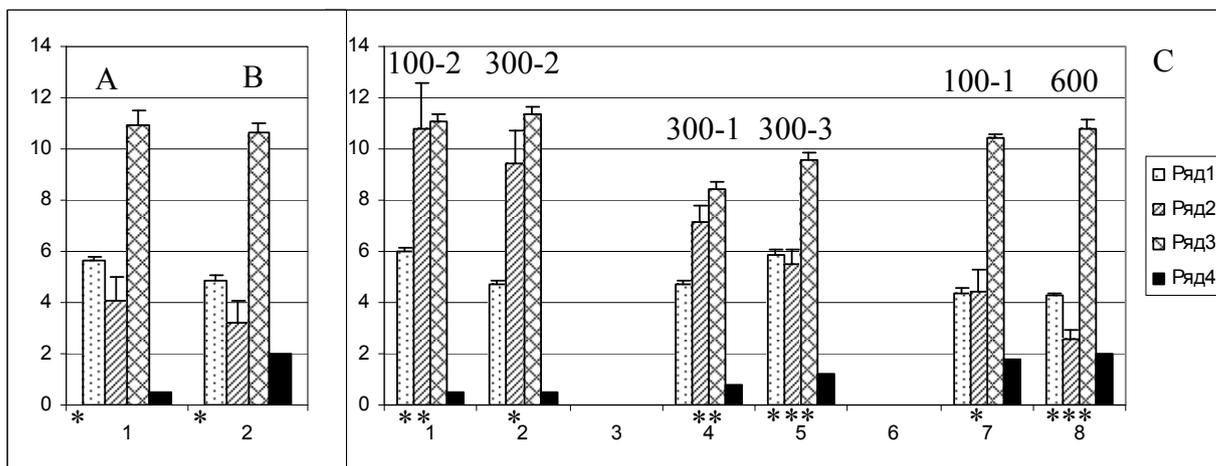


Рис. 1 Биохимические фенотипы листьев деревьев дуба пушистого (А – восприимчивая форма, 8 особей; Б – устойчивая форма, 4 особи) и дуба черешчатого (100-1, 100-2 и т.д. – возраст и порядковый номер деревьев), различающиеся по устойчивости к фитопатогенам и листогрызущим вредителям.

-  - сумма гидролизуемых танинов;
-  - степень гликозилирования флавонолов (СГФ);
-  - содержание белка;
-  - устойчивость в баллах (от 0,5 до 2)
- * - различия достоверны на уровне 0,95-0,99

Материалы сравнения показывают, что биохимические фенотипы каждого дерева дуба черешчатого (рис.1,С) индивидуальны и отличаются друг от друга. По степени устойчивости деревья были распределены на 3 подгруппы. Поскольку наиболее высокий балл устойчивости ко всем видам повреждений листьев был у 600-летнего дерева, с ним сравнивали все показатели других деревьев.

Наиболее восприимчивыми к инфекции мучнистой росой и листовым вредителям оказались деревья 100-2 и 300-2, для которых было характерным высокое содержание ГТ и очень высокие значения СГФ. Эти же деревья отличались самым высоким содержанием белка (11.8% и 11.4% соответственно).

По содержанию ГТ группа среднеустойчивых деревьев 300-1 и 300-3 была близка группе неустойчивых, однако для этих деревьев было характерным самое низкое содержание Б - 8.4% и 9.0% соответственно. Согласно имеющимся литературным данным повышенный уровень Б является одним из основных привлекательных для насекомых свойств растения-хозяина [6]. То есть, в данном случае практически равное содержание ГТ в восприимчивой и среднеустойчивой группах сопровождалось неравноценным содержанием Б, что могло быть причиной различий в их устойчивости.

В 3-ю группу вошли наиболее устойчивые деревья – 100-1 и 600-летнее. Для них оказался характерным пониженный уровень содержания ГТ, самые низкие показатели устойчивости к инфекции мучнистой росы - СГФ и среднее содержание Б (10.4 и 10.7% соответственно). Возможно, что комплекс признаков, состоящий из пониженного уровня ГТ, не очень высокого содержания Б и самого низкого значения СГФ помогает этим деревьям сохранить наиболее высокую устойчивость листы к разнообразным повреждениям до конца сезона.

Выводы:

1. Наличие большого разнообразия по биохимическим фенотипам, вероятно, обеспечивает разную устойчивость и выживаемость деревьев в условиях действия

биотических повреждений, так как доступность питательных веществ в разных деревьях становится неравноценной.

2. Большую ценность представляют фенотипы многовековых деревьев, которые сохранились как единичные экземпляры от существовавших несколько веков назад насаждений, выдержали длительное давление отбора и дают представление о биохимических фенотипах, позволяющим деревьям выжить в условиях длительного воздействия биотических стрессов.

Литература

1. Беликов В.В. Оценка содержания флаванол-производных в плодах *Silybum marianum* (L.) // Раст.рес.- 1985.- В.3.- С.350-358.
2. Бузун Г.А., Джемухадзе К.М., Милешко Л.Ф. Определение белка в растениях с помощью амидо-черного // Физиол.раст.-1982.- Т.29.- С.198-204
3. Ивашов А.В., Бойко Г.Е., Симчук А.П. Модификация и утилизация фенольных соединений листьев дуба пушистого гусеницами зеленой дубовой листовертки и непарного шелкопряда // Ж.общей биологии.-1992.-т.53.-№3.-С.384-393.
4. Жесткова И.М., Молотковский Ю.Г. Регулирование фотосинтеза в интактных хлоропластах шпината и клетках эвглены кверцетином и бикарбонатом // Физиол.раст.-1984.-Т.31.-С.266-272.
5. Полякова Л.В. Особливості мікроклонального розмноження сіянців дуба звичайного (*Quercus robur* L.) *in vitro* залежно від показників вторинного обміну // Лісівництво і агролісомеліорація.-2006.-в.109.-с.236-243.
6. Haukioja E. Plant defences and population fluctuations of forest defoliators: mechanism-based scenarios // Ann.Zool.Fennici..-2005.-v. 42.-P. 313-325.
7. Julkunen-Tiitto R. Phenolic constituents in leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics // J.Agric.Food Chem.-1985.-V.33.-P.213-217.
8. MA Auger, Jaj-Allemand C., Bastien C., Geri C. Quantitative variation of taxifolin and its glucoside in *Pinus sylvestris* needles consumed by *Diprion pini* larvae // Ann.Sci.For.-1994.-V.51.-P.135-146.
9. Oszako N., Woodward St. Oak dieback. In: Possible limitation of decline phenomena in broadleaved stands// Warsaw, Poland.-2006.-P.7-20.

Резюме

Изучали биохимические фенотипы деревьев дуба черешчатого и дуба пушистого в связи с устойчивостью к листогрызущим вредителям и патогенам (мучнистая роса). Фенотипы многовековых деревьев отражают закрепленные отбором варианты соотношения некоторых вторичных метаболитов и белка, обеспечивающих разную степень устойчивости к биотическим повреждениям.

Вивчали біохімічні фенотипи дерев дуба звичайного і дуба пухнастого у зв'язку із стійкістю до листогризів і патогенів (борошниста роса). Фенотипи багатовікових дерев відображають співвідношення деяких вторинних метаболітів і білка, що забезпечує різний ступінь стійкості до біотичних пошкоджень.

The biochemical phenotypes of *Quercus robur* and *Quercus pubescens* trees according their tolerance to insects and pathogens (*Microsphaera alphitoidea*) were studied. Phenotypes of old oak trees provide the different kinds of some second metabolites and protein proportion according their level of defense.

ПРОКОПИК Д.О., ТЕРНОВСЬКА Т.К.

Національний університет «Києво-Могилянська Академія» МОН України,
Україна, 04070, Київ, вул. Г. Сковороди, 2, e-mail: tern@ukma.kiev.ua