

УДК 577.4 : 591.557

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭКСКРЕЦИИ ВЕЩЕСТВ ВТОРИЧНОГО МЕТАБОЛИЗМА ЛИСТЬЕВ ДУБА ПУШИСТОГО ГУСЕНИЦАМИ ЗЕЛеной ДУБОВОЙ ЛИСТОВЕРТКИ

Бойко Г.Е., Ивашов А. В.<sup>1</sup>

*В статье анализируются особенности экскреции веществ вторичного метаболизма листьев дуба пушистого гусеницами зеленой дубовой листовертки. Интенсивность модификации и утилизации их максимальна на пятом гусеничном возрасте.*

Ключевые слова: вещества вторичного метаболизма, дуб пушистый, зеленая дубовая листовертка

В настоящее время практически все исследователи сходятся во мнении, что определяющую роль во взаимоотношениях между насекомыми-фитофагами и их кормовыми растениями играют вещества вторичного происхождения. Имеется достаточно большое количество серьезных работ, посвященных исследованию роли основных классов вторичных соединений в процессе коэволюции растений и фито-трофных насекомых [1-6].

Для любого биологического вида, рода или семейства растений характерен специфичный набор вторичных метаболитов, который отражает хемозволюцию этих таксонов [7]. Вторичные метаболиты - обязательная составляющая любой растительной клетки. Они выполняют важную роль информационных посредников в химической коммуникации организмов [8-9], определяют биохимическую дифференциацию экологических ниш фитофагов [10], структурно-функциональную организацию индивидуальных, групповых и видовых консорциев. Их главная биоцено-тическая функция - химическая защита от фитофагов. Однако защита от поедания фитофагами никогда не бывает абсолютной. Параллельно эволюционному становлению химического состава растительных вторичных метаболитов происходило коэволюционное становление ферментных метаболических систем специализированных фитофагов [11].

Одним из удобных способов экологического мониторинга за функционированием ферментных систем специализированных фитофагов может

служить двумерное хроматографирование специфических субстратов и продуктов их модификации на входе и выходе пищевых цепей консорциев и биоценозов. В данном случае на входе имеется двумерный хроматографический спектр вторичных метаболитов кормовой листвы. На выходе - двумерный хроматографический спектр вторичных метаболитов, обнаруживаемый в экскрементах фитофага. Последовательная серия двумерных хроматограмм анализируе-

---

<sup>1</sup> Кафедра экологии и рационального природопользования

мых образцов листвы и экскрементов, начиная с третьего гусеничного возраста и до их окукливания, позволяет наглядно отслеживать возрастные метаболические особенности фитофага. Высокая разрешающая способность метода двумерного хроматографирования на полиамиде позволяет в экологическом исследовании с достаточной достоверностью избегать вероятности появления артефактов при применении сложных химических методов.

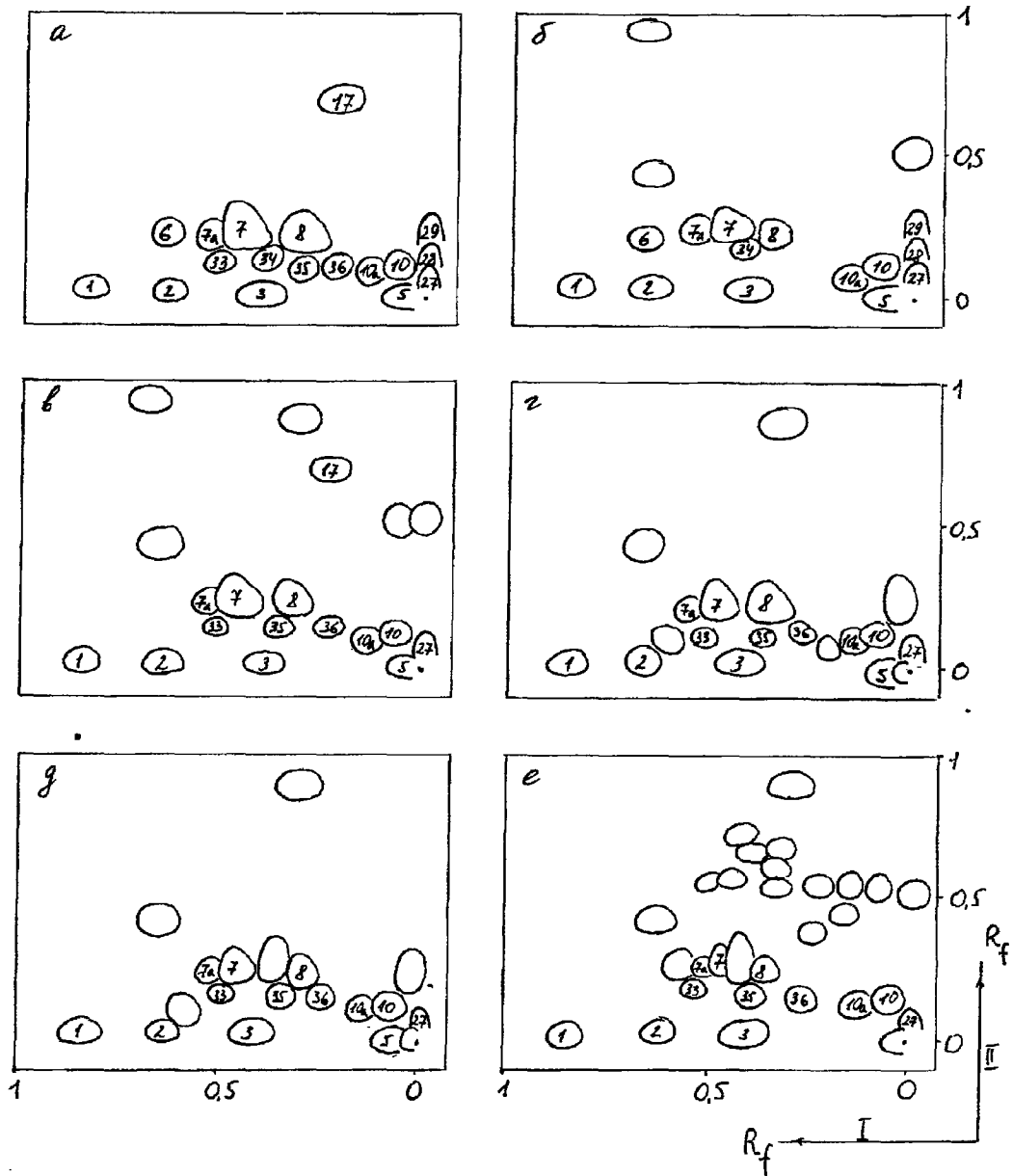
В листьях различных видов дуба содержится большой набор веществ вторичного метаболизма, среди которых доминируют фенольные соединения [12-13]. Ранее мы сообщали [14], что в кишечнике гусениц зеленой дубовой листовертки эти вещества подвергаются детоксикации путем возможного присоединения к активным ОН-группам аминокислот или сахаров. На выходе из прямой кишки гусениц большинство из модифицированных таким образом веществ восстанавливается до первичного состояния. Участие в этом процессе неспецифических эстераз листовертки доказано *in vitro*.

В данном сообщении обращается внимание на возрастные различия в экскреции гусеницами зеленой дубовой листовертки поглощенного с кормом комплекса вторичных соединений растения. Анализ состава вторичных метаболитов в листьях дуба пушистого и экскрементах гусениц листовертки проводили по методикам и на материале, описанных в предыдущей нашей публикации [14]. В частности, гусениц зеленой дубовой листовертки выкармливали листьями дуба пушистого, собранными с одного дерева и хранившимися в холодильнике при 4<sup>0</sup>С в полиэтиленовых пакетах. Вторичные метаболиты из листьев и экскрементов экстрагировали 80%-ным этанолом. Хроматографирование проводили в тонком слое полиамидного сорбента по методике И.К.Лапа [15].

В качестве системы растворителей в первом направлении использовали хлороформ - ацетон - этанол (4:3:3), во втором направлении - 30%-ную уксусную кислоту. Фенольные соединения листьев определяли как описано ранее [16].

Исходный состав вторичных метаболитов в листьях кормового растения показан на рис. 1а. Комплекс хроматографически разделенных веществ включает 18 соединений, визуально наблюдаемых в УФ-свете. По качественным реакциям и характерным спектрам поглощения вещество 1 определено агликоном флавонов, вещества 2,6,17 отнесены к фенилпропаноидам, а 27,28,29 - к полимерным фенольным соединениям. Наиболее обширна группа веществ, представленная флавонолами - 3,7а, 7,8,10а,10,33,34,35,36. Большинство из них гликозиды, в том числе гликозиды кемпферола и кверцетина.

Гусеницы зеленой дубовой листовертки питаются исключительно дубовыми листьями и их относят к монофагам. По численности это массовый вид. Гусеницы отрождаются ранней весной, синхронно с распускающимися почками кормовых деревьев. Перед окукливанием гусеницы могут достигать веса 30 - 60 мг и при высокой численности способны существенно объедать листву, иногда до полной дефолиации. Первый и второй гусеничные возраста обычно проходят внутри распускающихся почек, а на третьем возрасте гусеницы переходят на растущие листья.



**Рис.1.** Идиограммы хроматограмм вторичных метаболитов из кормовых листьев дуба пушистого (а) и из экскрементов зеленой дубовой листовертки на третьем (б), четвертом (в), в начале пятого (г), в середине пятого (д), в конце пятого (е) гусеничных возрастах. Разделение пятен веществ по направлениям: I - в системе растворителей хлороформ-ацетон-этанол (в соотношении 4:3:3), II - в 30%-ной уксусной кислоте

Поэтому динамика выведения вторичных веществ в экскрементах приводится, начиная с третьего гусеничного возраста (рис.1б). Среди выводимых с экскрементами веществ на двумерной хроматограмме легко узнаваемы вторичные метаболиты, характерные для кормовой листвы. Все они обозначены соответствующими номерами. В качестве особенностей третьего гусеничного возраста можно отметить выведение практически в неизменном виде агликоновых веществ 1,2,3,5. Не отмечены изменения и в составе полимерных фенолов 27,28,29. В экскрементах, как и в листве, моногликозиды флавонолов 7а,7,8,10а,10 также в значительной концентрации. Однако минорные по своей концентрации в листве флавоноловые гликозиды 33,35,36 визуальнo уже не обнаруживаются в хроматографическом спектре анализируемых веществ из экскрементов фитофага. На хроматограмме обнаружены три новых метаболита, которые отсутствуют в кормовой листве. На рисунке они не отмечены номерами.

Глубина метаболических преобразований метаболитов листвы постепенно увеличивается с гусеничным возрастом. На четвертом и в начале пятого возрастов отмечаются новые качественные изменения (рис.1в,г). Визуально незначительно уменьшается концентрация мажорных гликозидированных флавонолов 7а,7,8, вновь участвуют в хроматографическом спектре минорные флавоноловые гликозиды 33,35,36, число новых метаболитов достигает пяти. Среди необозначенных номерами пятен метаболитов от одного гусеничного возраста к другому легко заметить некоторую преемственность.

К середине пятого возраста (рис.1д) биохимические преобразования анализируемых веществ листвы еще более возрастает. Об этом свидетельствует заметное визуальнo значительное снижение концентрации мажорных веществ 7а,7,8,10а,10, появление между пятном 7 и 8 нового метаболита в сверхмажорной концентрации. Четкое хроматографическое разделение веществ, преемственность качественного состава новых метаболитов, особенно соотносительно с началом пятого возраста, позволяет с уверенностью говорить о значительном преобразовании активности ферментных метаболических систем фитофага в онтогенезе. В конце пятого гусеничного возраста (рис.1е) это проявляется хроматографическим обнаружением целого ряда новых минорных компонентов, еще раз демонстрируя отличную разрешающую способность метода.

Таким образом, проведенные эксперименты являются частью эколого-биохимического мониторинга за функционированием ферментных метаболических систем зеленой дубовой листовертки на стадиях онтогенеза, отражая экскрецию вторичных веществ листьев дуба пушистого и ее особенности.

#### Список литературы

1. Schoonhoven L.M. Chemosensory bases of host plant selection // Ann. Rev. Entomol.,1968.- Vol. 13.- P.115-136.
2. Schoonhoven L.M. Secondary plant substances and insects // Rec. Adv. Phytochem.,1972.- N5.- P.197-224.
3. Fraenkel G. Evaluation of our thoughts on secondary plant substances // Ent. expl. et appl.,1969.- Vol.12.- P.474-486.

4. Dethier V.G. Chemical interactions between plants and insects // Sondheimer E. and Simeone J.B. (eds.), *Chemical Ecology*.- New York: Academic Press, 1972.- P.83-102.
5. Meeuse A.D.J. Co-evolution of plant hosts and their parasites as a taxonomic tool // *Taxonomy and Ecology*. - L.: Acad. Press, 1973.-P.289-316.
6. Feeny P.P. Biochemical coevolution between plants and their insect herbivores // *Coevolution of animals and plants*.- London, 1975.-P.3-19.
7. Hegnauer R. *Chemotaxonomie der Pflanzen*.- Basel, Stuttgart, 1964.-Bd.3.- 743s.
8. Баранчиков Ю.Н. Механизмы и уровни химической коммуникации организмов. - Красноярск: Препринт ИЛИД СО АН СССР, 1981.-28с.
9. Баранчиков Ю.Н. Трофическая специализация чешуекрылых. -Красноярск: ИЛИД СО АН СССР, 1987.-171с.
10. Шилов И.А. Экология.- М.: Высш. шк., 1997.- 512с.
11. Харборн Дж. Введение в экологическую биохимию. -М.:Мир, 1985.- 312с.
12. Енукидзе Дж.Н. Фармакогностическое изучение дубов флоры Грузии// Автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук.- Тбилиси, 1974.- 24с.
13. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Magnoliaceae - Limnaceae.- Л.:Наука, 1985.- 460с.
14. Ивашов А.В., Бойко Г.Е., Симчук А.П. Модификация и утилизация фенольных соединений листьев дуба пушистого гусеницами зеленой дубовой листовёртки и непарного шелкопряда // *Журнал общей биологии*. 1992.-Т.53, №3.- С.384-393.
15. Лапа И.К. Методика изучения фенольных соединений тонкослойной хроматографией на полиамиде //Исследование обмена веществ древесных растений. -Новосибирск:Наука, 1985.-С.109-116.
16. Бойко Г.Е., Ивашов А.В. Некоторые особенности состава вторичных метаболитов в листьях *Quercus pubescens* Willd., *Q. petraea* Liebl. и *Q. robur* L. // *Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана: Тем. сб. науч. работ.* - К. УМК ВО, 1997.- С.55-61.

#### Анотація

**Бойко Г.Є., Івашов А. В. Вікові особливості екскреції речовин вторинного метаболізму листя дуба пухнатого гусеницями зеленої дубової листовійки // *Вчені записки ТНУ, 2000, 99, No. 1,***

*В статті аналізуються особливості екскреції речовин вторинного метаболізму листя дуба пухнатого гусеницями зеленої дубової листовійки. Інтенсивність модифікації та утилізації їх максимальна на п'ятому гусеничному віці.*

Ключові слова: речовини вторинного метаболізму, дуб пухнатий, зелена дубова листовійка

#### Summary

**Boiko, G.E., Ivashov, A.V. Age Peculiarities of Excretion Secondary Metabolism Compounds by caterpillars of Oak Leafroller Moth // *Uchenye zapiski TNU, 2000, 99, No. 1,***

*The peculiarities of excretion of secondary metabolism compounds from the pubescent oak leaves by caterpillars of Oak leafroller moth are analyzed in this paper. The intensity of their modification and utilization is maximal in the fifth-instar larvae.*

Keywords: compounds of secondary metabolism, pubescent oak, oak leafroller moth