

УДК 577.23: 577.29

Л. В. Шупранова¹, К. К. Голобородько², О. В. Селютіна²
 Дніпровський державний аграрно-екномічний університет¹
 Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара²

**ОСОБЛИВОСТІ БІОХІМІЧНОЇ АДАПТАЦІЇ
 ГІРКОКАШТАНА ЗВИЧАЙНОГО (*AESCULUS HIPPOCASTANUM* L.)
 ДО УРАЖЕНЬ, СПРИЧИНЕНИХ ДІЯЛЬНІСТЮ
CAMERARIA OHRIDELLA DESCHKA & DIMIĆ, 1986**

В останні десятиліття гіркокаштан звичайний (*Aesculus hippocastanum* L.) сильно потерпає від каштанового мінера *Cameraria ohridella* Deschka et Dimić (Deschka, Dimić, 1986; Акимов, Зерова, 2003; Weryszko-Chmielewska, Naratym, 2011). В умовах м. Дніпра (підзона Північного степу України) щорічно рееструють розвиток чотирьох генерацій (вихід імаго першої спостерігають в останній декаді квітня, останньої – наприкінці жовтня – на початку листопада). Термін розвитку окремої генерації триває від 65 до 110 діб (Голобородько та ін., 2009). При масовому заселенні листя на ньому проявляються численні міни, які сильно погіршують зовнішній вигляд каштанів і ослаблюють дерева. Цей шкідник занесено до числа 100 найгірших інвазивних видів Європи (Augustin, 2009), а його біологія, екологія, фізіологія та біохімія, шляхи ефективного управління активно вивчають (Baraniak et al., 2005; Голобородько та ін., 2009, 2016; Stygar et al., 2010; Rämert et al., 2011; Barta, 2018; Shupranova et al., 2019).

Хімічний захист рослин базується на білках і включає ферменти, які можуть послабити організм шкідників за рахунок перешкоджання здатності комах використовувати ресурси з ураженої тканини рослини (Sánchez-Sánchez & Morquecho-Contreras, 2017). Комахи-фітофаги, як і всі тварини, потребують широкого набору поживних речовин. Дослідженнями Stygar et al. (2010) встановлено, що основними поживними речовинами в листках *A. hippocastanum* для гусені є крохмаль і цукроза, що підтверджено високою амілазною активністю, а також активністю мальтази і цукрази. Іншим важливим класом макромолекул є розчинні білки, здатні впливати, разом із вуглеводами на продуктивність комах, у тому числі на швидкість росту і розмноження (Behmer, Joern, 2008; Behmer, 2009; Roeder, Behmer 2014), толерантність до рослинних токсинів (Patel et al., 2013; Deans et al. 2016) та патогенів (Lee et al., 2006; Povey et al., 2009). Індуковані поїданням листя фітофагами ферменти, такі як пероксидази, можуть сприяти більшій стійкості клітинної стінки в результаті синтезу лігніну, суберину, а також брати участь у нейтралізації активних форм кисню.

Незважаючи на екологічне значення рослинних білків у формуванні взаємодії «рослина-комаха», їх уміст і активності ензимів в *A. hippocastanum* в польових умовах є мало дослідженим. Із цих причин аналіз концентрації, мінливості легкорозчинних білків та ферментів-антиоксидантів важливий для

розуміння як особливостей трофічних зв'язків фітофагів, так і в плані захисту рослин. Мета роботи – оцінити вплив *Cameraria ohridella* на вміст легкорозчинних білків, активність і склад бензидинової пероксидази в листках дерев *A. hippocastanum* L.

Рослини піддаються впливу багатьох типів механічних стресів, викликаних біотичними, й абіотичними факторами. Біотичні причини механічних травм включають напади комах, зараження паразитами та багатьма організмами, що живляться рослинами, які протягом еволюції виробили механізми захисту від механічних травм (Ashry, Mohamed, 2011; Mohamed et al., 2012; War et al., 2018). Пероксидази і легкорозчинні білки є одними з факторів, які активно реагують у відповідь на пошкодження клітин комахами (Esteban-Carrasco et al., 2001; Deans et al., 2016).

У даному дослідженні ідентифіковано суттєві відмінності у вмісті розчинних білків і активності та складі пероксидази в мірі підвищення ступеня ураження листя *C. ohridella*. Наші дослідження показали зниження вмісту легкорозчинних білків листя *A. hippocastanum* у серпні. Можна припустити, що вміст білка значно знижується в уражених комахами листках, тому що в умовах біотичних стресів рослина знижує швидкість синтезу білка, і весь механізм трансляції зміщується на отримання протеїнів, пов'язаних із захистом (Le Gall, Behmer, 2014). Це може бути причиною того, що вміст білка в листках зменшується, а активність пероксидази посилюється. Крім того, зниження рівня білка в серпні може бути пов'язано з відтоком біомолекул у запасуючі органи рослини. Зниження вмісту розчинних білків у фазі активного відтоку асимілятів є нормальним фізіологічним процесом, але в пошкодженому шкідником листі цей процес порівняно з контролем може пришвидшуватися.

Індукції антиоксидантних ферментів у рослин через атаку комах-фітофагів приділяють в останні роки велику увагу (Gill et al., 2010; Gulsen et al., 2010). Пероксидази індукуються в багатьох рослинах у відповідь на атаку комахами і є важливим компонентом безпосередньої реакції рослин на пошкодження, оскільки регулюють ряд процесів, прямо чи побічно пов'язаних із стійкістю рослин до комах-шкідників (War et al., 2018). У нашому попередньому дослідженні (Shupranova et al., 2019), проведеному в липні 2018 р., встановлено підвищення активності бензидин-пероксидази за впливу *C. ohridella* в середньому на 46 %. Наші результати показали, що активність пероксидази в листках рослин гіркокаштану в серпні з тих же дослідних ділянок, але з більш високим рівнем пошкодження (78,3 і 97,5 %) значно вища (у 2,2 і у 2,1 раза відповідно), ніж у листі відносно стійких дерев, рівень пошкодження яких становить 13,3 %. Збільшення активності цитоплазматичної пероксидази, спричинене механічною травмою, знаходиться в межах діапазону збільшення активності пероксидази, виявленої в інших рослинах (Singh et al., 2013; Sánchez-Sánchez, Morquecho-Contreras, 2017). Відмічені нами зміни активності ферменту у фазі активного відтоку асимілятів вказують на його активну участь у метаболічних процесах листя під час пошкодження фітофагом. Як відомо, широкий спектр реакцій пероксидази на різні подразники пов'язаний з великою

кількістю ізоформ пероксидаз та їх численними функціями в клітині (Camra, 1991; Nagy et al., 2004; Lykholat et al., 2018). Кислі і основні ізопероксидази беруть участь за стресового стану рослинного організму. Нами показано, що при ураженні листя *C. ohridella* у пероксидази змінюється відносний вміст ізоформ по всьому спектру. В листі дерев гіркокаштану звичайного з високим рівнем пошкодження мінером активується експресія ізоформ ВРОD у діапазоні рН 4,08-4,15. Отже, в серпні, а також як було встановлено в роботі (Shupranova et al., 2019), експресія найбільш кислих ізопероксидаз суттєво підвищується у рослин, нестійких проти *C. ohridella*. У той же час підвищення ступеня інвазії фітофага практично не змінює активності ізопероксидази 4,21, тоді як молекулярні форми ензиму з рІ 4,25, 4,42 і 4,58 відповідають зниженням активності порівняно з відносно стійкими рослинами *A. hippocastanum*.

Отримані результати дозволяють припустити, що деградацію розчинних білків і підвищення активності пероксидази в листках *A. hippocastanum* може бути викликані окиснювальним стресом. Активування ВРОD спрямовано на руйнування H_2O_2 і протидію окиснювальному стресу, викликаному атакою *C. ohridella*. Показано, що зміни у фізіологічних процесах листя рослин за несприятливих умов зокрема фотосинтез, корелюють з активністю пероксидази (Kim et al., 2010; Smolinska, 2017). Цей фермент руйнує АФК та захищає хлоропласти від пошкоджень. Тому висловлено припущення, що стратегія виживання *A. hippocastanum* від нападу *C. ohridella* полягає в підтриманні процесу фотосинтезу на ділянках листя без мін для забезпечення запасними речовинами нащадків. Наше припущення підтверджується результатами роботи Raimondo et al. (2003), в якій встановлено, що хлоропласти всередині зелених ділянок замінованого личинками *C. ohridella* листя залишалися інтактними, а інтенсивність фотосинтезу цих областей була близькою до неуразеного листя.

C. ohridella впливає на функціональний стан *A. hippocastanum*, що підтверджується змінами у вмісті розчинних білків, активності та ізоферментному складі бензидинової пероксидази протягом вегетації. Показником біохімічної адаптації гіркокаштану звичайного до атаки фітофага виявилась перебудова як активності, так й ізоферментного профілю пероксидази. Статистично значимі відмінності встановлено для розчинної пероксидази, активність якої підвищувалась у середньому в 2,1 рази за високого ураження шкідником листя. Високий рівень ураження листя фітофагом знайшов своє відображення в зміні ізоферментного профілю бензидин-пероксидази. Основною закономірністю за негативного впливу *C. ohridella* є суттєве підвищення активності найбільш кислих молекулярних форм (рІ 4,08–4,15) цитоплазматичної пероксидази в листі *A. hippocastanum*. Розуміння закономірностей молекулярної природи адаптації *A. hippocastanum* до жорсткої довготривалої дії фітофага є необхідною умовою для створення ефективних форм даного виду, стійких до *C. ohridella*.