

WPLYW METANOLOWYCH EKSTRAKTÓW WOSKÓW POWIERZCHNIOWYCH PSZENŻYTA OZIMEGO NA MSZYCĘ RÓŻANO-TRAWOWĄ *METOPLOPHIUM DIRHODUM*

AGNIESZKA WÓJCICKA¹, BOGUMIŁ LESZCZYŃSKI¹, ROMAN WARZECHA²

¹Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach
Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej
Prusa 12, 08-110 Siedlce
wojcicka@uph.edu.pl

²Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Radzików, 05-870 Błonie

I. WSTĘP

Podczas wyboru rośliny żywicielskiej przez migrujące owady, obok bodźców fizycznych (morfologia roślin), ważną rolę odgrywają również bodźce chemiczne gwarantowane składem chemicznym substancji występujących na ich powierzchni. Istotną funkcję pełnią tu związki chemiczne obecne w epikutykularnych woskach, które tworzą na powierzchni kutikuli amorficzną warstwę lub przybierają różnorodne, czasem bardzo skomplikowane i uporządkowane formy (Koch i Barthlott 2006; Koch i Ensikat 2008; Koch i wsp. 2009; Bhushan i Jung 2011).

Woski epikutykularne roślin są mieszaniną szeregu komponentów, takich jak: węglowodory, alkohole, kwasy tłuszczowe, aldehydy, ketony, β -diketony, estry oraz terpenoidy i sterole. W warstwie tej możemy również znaleźć cukry, aminokwasy oraz glukozynolany, furanokumaryny, alkaloidy i substancje fenolowe (Baker 1982; Bargel i wsp. 2004; Schoonhoven i wsp. 2005).

Wśród bogatej gamy substancji powierzchniowych znajdują się związki które umożliwiają odnajdywanie pokarmu i rozpoczynanie żerowania, oraz substancje działające odstrasżająco na owady, stanowiące barierę zabezpieczającą roślinę przed ich atakiem (Stoner 1990; Espelie i wsp. 1991; Duetting i wsp. 2003; Huang i wsp. 2003; Chang i wsp. 2004; Reina-Pinto i Yephremov 2009).

Pełne poznanie natury oddziaływań pomiędzy rośliną a owadem jest niezbędnym warunkiem podjęcia działań zmierzających do ograniczenia rozwoju ich populacji w środowisku naturalnych i sztucznych biocenoz.

W prezentowanej pracy zbadano wpływ substancji występujących na powierzchni pszenżyta ozimego na wybór rośliny żywicielskiej przez mszycę różano-trawową.

II. MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na liściach flagowych w fazie rozwojowej G.S. 47 oraz kłosach w fazie kłoszenia (G.S. 59) i kwitnienia (G.S. 65), (G.S. faza rozwojowa według Tottman'a i Broad'a 1987) dwóch genotypów pszenżyta ozimego: RAH 122 (silny nalot woskowy) i RAH 366 (słaby nalot woskowy). Rośliny wyselekcjonowano w Instytucie Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowym Instytucie Badawczym (IHAR – PIB) w Radzikowie koło Błonia pod Warszawą. Badany gatunek mszycy: mszyca różano-trawowa *Metopolophium dirhodum* (Walker 1848) (Hemiptera: Aphididae) pochodziła z hodowli prowadzonej w Uniwersytecie Przyrodniczo-Humanistycznym w Siedlcach.

Testy laboratoryjne, podczas których oceniono wpływ związków chemicznych obecnych w woskach epikutylarnych liści flagowych i kłosów silnie woskowego genotypu pszenżyta RAH 122 na proces zasiedlania roślin przez mszycę różano-trawową, wykonano w komorze klimatyzacyjnej w temperaturze 20–25°C, przy fotoperiodzie 16 h światło i 8 h ciemność. Aktywność związków chemicznych określono w metanolowych ekstraktach, przygotowanych odpowiednio z liści flagowych w fazie G.S. 47 oraz kłosów w fazie kłoszenia (G.S. 59) i kwitnienia (G.S. 65). Ekstrakty przygotowano przez zanurzenie badanych organów w metanolu. Czas ekstrakcji wszystkich trzech wariantów (I – liście flagowe w fazie G.S. 47; II – kłosy w fazie G.S. 59; III – kłosy w fazie G.S. 65) wynosił 20 sekund. Tak przygotowane ekstrakty z roślin genotypu RAH 122 (silny nalot woskowy), nanoszono na rośliny genotypu RAH 366 (słaby nalot woskowy). Badane rośliny osłonięto gazą młyńską i wprowadzono owady. Liczbę migrantek badanego gatunku mszycy oraz procent zasiedlonych roślin oceniono w następujących wariantach: 1 – na liściach flagowych genotypu RAH 122 (silny nalot woskowy) w fazie G.S. 47, kłosach w fazie kłoszenia (G.S. 59) oraz na kłosach w fazie kwitnienia (G.S. 65), z których usunięto warstwę woskową, 2 – na roślinach genotypu RAH 366 (słaby nalot woskowy), na które naniesiono ekstrakty woskowe z genotypu RAH 122 odpowiednio na liście flagowe genotypu RAH 366 w fazie G.S. 47, kłosy w fazie kłoszenia (G.S. 59) oraz kłosy w fazie kwitnienia (G.S. 65).

Uzyskane wyniki badań populacyjnych poddano analizie wariancji jednoczynnikowej. Istotność różnic między średnimi oceniono testem wielokrotnego rozstępu Duncana.

III. WYNIKI I DISKUSJA

Badane organy roślin pszenżyta ozimego genotypu silnie woskowego RAH 122, po usunięciu warstwy wosków epikutylarnych przy użyciu metanolu, były liczniej zasiedlane przez mszycę różano-trawową przy jednoczesnym wzroście liczby zasiedlonych roślin (tab. 1). Tendencję wzrostową obserwowano zarówno na liściach flagowych, jak i kłosach dla obu badanych faz rozwojowych, przy najwyższej tendencji wzrostowej na kłosach w fazie kwitnienia. Odwrotną tendencję obserwowano na roślinach genotypu RAH 366, charakteryzującego się słabym nalotem woskowym, na które naniesiono metanolowe ekstrakty wosków epikutylarnych pochodzące z liści flagowych oraz kłosów roślin silnie pokrytego woskiem genotypu RAH 122. Ekstrakty te znacznie zmniejszały liczbę migrantek oraz liczbę zasiedlonych roślin (tab. 2). Spadek

wartości badanych parametrów obserwowano zarówno na liściach flagowych, jak i na kłosach w fazie kwitnienia oraz kłoszenia.

Tabela 1. Wpływ usunięcia wosków powierzchniowych z roślin silnie woskowego genotypu RAH 122 na proces zasiedlania roślin przez migrujące formy mszyc
Table 1. Effect of removed surface waxes from waxy triticale genotype RAH 122 on colonization process by migrating aphids

Badany organ i zastosowana ekstrakcja Studied organs and used extractions		Liczba form uskrzydłych Number of alate forms	Procent porażonych roślin Percentage of infested plants
Liść flagowy (G.S. 47) Flag leaf (G.S. 47)	kontrola – control	30 c	23 c
	metanol – methanol	70 b	57 b
Kłos (G.S. 59) Ear (G.S. 59)	kontrola – control	27 cd	19 cd
	metanol – methanol	73 ab	68 a
Kłos (G.S. 65) Ear (G.S. 65)	kontrola – control	19 d	13 d
	metanol – methanol	81 a	70 a

Średnie dotyczące tego samego parametru, umieszczone w tych samych kolumnach oznaczone innymi literami różnią się przy $p \leq 0,05$, test Duncana – For the same parameter, means followed by different letters, in a same columns, differ at the $p \leq 0.05$, Duncan's test

Tabela 2. Wpływ wosków powierzchniowych z roślin silnie woskowego genotypu RAH 122 na proces zasiedlania roślin przez migrujące formy mszyc
Table 2. Effect of the surface waxes from waxy triticale genotype RAH 122 on colonization process by migrating aphids

Badany organ i zastosowana ekstrakcja Studied organs and used extractions		Liczba form uskrzydłych Number of alate forms	Procent porażonych roślin Percentage of infested plants
Liść flagowy (G.S. 47) Flag leaf (G.S. 47)	kontrola – control	59 b	42 b
	metanol – methanol	41 c	18 c
Kłos (G.S. 59) Ear (G.S. 59)	kontrola – control	68 a	53 ab
	metanol – methanol	32 cd	20 c
Kłos (G.S. 65) Ear (G.S. 65)	kontrola – control	71 a	62 a
	metanol – methanol	29 d	20 c

Średnie dotyczące tego samego parametru, umieszczone w tych samych kolumnach oznaczone innymi literami różnią się przy $p \leq 0,05$, test Duncana – For the same parameter, means followed by different letters, in a same columns, differ at the $p \leq 0.05$, Duncan's test

Podobne tendencje obserwowano na siewkach badanego genotypu pszenżyta ozimego RAH 366 po zastosowaniu na nich ekstraktów chloroformowych, dichlorometano-

wych oraz etanolowych pochodzących z liści flagowych silnie woskowego genotypu pszenżyta RAH 122 wobec mszycy zbożowej *Sitobion avenae* (F.) oraz czeremchowo-zbożowej *Rhopalosiphum padi* (L.) (Wójcicka i wsp. 2010). Lepsza akceptacja roślin po usunięciu wosków oraz jej spadek na roślinach o wysokiej podatności po ich naniesieniu, wskazuje na to, że woski powierzchniowe pełnią ważną rolę w interakcjach mszyce-pszenżyto. Warunkowana mikrokryształiczną strukturą powierzchni roślin, przyczepność owadów oraz chemiczne oddziaływanie składników wosków epikutylarnych, to ważne czynniki w selekcji roślin żywicielskich.

Wiedza ta w połączeniu z nowoczesną hodowlą roślin oraz najnowszymi osiągnięciami biotechnologii pozwoli na szybkie i skuteczne uzyskanie genotypów roślin skutecznie zabezpieczonych przed atakiem mszyc.

IV. LITERATURA

- Baker E.A. 1982. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. p. 139–166. In: „The Plant Cuticle” (D.F. Cutler, K.L. Alvin, C.E. Price, eds.). Academic Press, London, 461 pp.
- Bargel H., Barthlott W., Koch K., Schreiber L., Neinhuis C. 2004. Plant cuticles: multifunctional interfaces between plant and environment. p. 171–194. In: „Evolution Plant Physiology” (A.R. Hemsley, I. Poole, eds.). Academic Press, London, 492 pp.
- Bhushan B., Jung Y.C. 2011. Natural and biomimetic artificial surfaces for superhydrophobicity, self-cleaning, low adhesion, and drag reduction. *Prog. Mater. Sci.* 56: 1–108.
- Chang G.C., Neufeld J., Durr D., Duetting P., Eigenbrode S.D. 2004. Waxy bloom in peas influences the performance and behavior of *Aphidis ervi*, a parasitoid of the pea aphid. *Entomol. Exp. Appl.* 110: 257–265.
- Duetting P.S., Ding H., Neufeld J., Eigenbrode S.E. 2003. Plant waxy bloom on peas affects infection of pea aphids by *Pandora neoaphidis*. *J. Invert. Pathol.* 84: 149–158.
- Espelie K.E., Bernays E.A., Brown J.J. 1991. Plant and insect cuticular lipids serve as behavioral cues for insects. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 17: 223–233.
- Huang J., McAuslane H.J., Nuessly G.S. 2003. Effect of leaf surface extraction on palatability of romaine lettuce to *Diabrotica balteata*. *Entomol. Exp. Appl.* 106: 227–234.
- Koch K., Barthlott W. 2006. Plant epicuticular waxes: chemistry, form, function and self-assembly. *Nat. Prod. Commun.* 1: 1067–1072.
- Koch K., Bhushan B., Barthlott W. 2009. Multifunctional surface structures of plants: an inspiration for biomimetics. *Prog. Mater. Sci.* 54: 137–178.
- Koch K., Ensikat H.J. 2008. The hydrophobic coatings of plant surfaces: epicuticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly. *Rev. Micron.* 39: 759–772.
- Reina-Pinto J.J., Yephremov A. 2009. Surface lipids and plant defenses. *Plant Physiol. Biochem.* 47: 540–549.
- Schoonhoven L.M., Van Loon J.J.A., Dicke M. 2005. *Plant Chemistry: Endless Variety*. Insect-Plant Biology. Oxford University Press, Chap. 4, Chapman & Hall, London UK: 49–86.
- Stoner K.A. 1990. Glossy leaf wax and host-plant resistance to insects in *Brassica oleracea* L. under natural infestation. *Environ. Entomol.* 19: 730–739.
- Tottman D.R., Broad H. 1987. The decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *Ann. Appl. Biol.* 110: 441–454.
- Wójcicka A., Sempruch C., Warzecha R. 2010. Wpływ wosków powierzchniowych pszenżyta ozimego na wybór rośliny żywicielskiej przez mszyce zbożowe. *Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin* 50 (2): 609–612.

AGNIESZKA WÓJCICKA, BOGUMIŁ LESZCZYŃSKI, ROMAN WARZECHA

EFFECT OF METHANOL SURFACE WAXES OF THE WINTER TRITICALE
ON ROSE-GRAIN APHID

SUMMARY

The plant surface, not only provides a hydrophobic barrier to reduce water loss but also presents the first line of defense against pathogenic fungi, bacteria, and herbivorous insects. Removal of the surface compounds using methanol clearly increased studied parameters of the rose-grain aphid *Metopolophium dirhodum* on the waxy genotype RAH 122. The largest number of rose-grain aphid was on ear at the florescence stage. Similar increase in comparison with the control plants was found for the percentage of infested plants. In addition, surface compounds from RAH 122 genotype applied on flag leaves and ears of waxy-less genotype (RAH 366) significantly decreased the number of alate forms and percentage of infested plants.

Results presented here suggest that chemical compounds which occur within epicuticular waxes of the waxy genotype play an important role in its acceptance by the rose-grain aphid.

Key words: *Metopolophium dirhodum*, surface waxes, triticale, methanol extracts