

ANTONI CIEPIELA*, CEZARY SEMPRUCH*, SEWERYN NIRAZ*

**Lotne substancje liści pszenicy ozimej
i ich wpływ na biologię mszycy zbożowej
(*Sitobion avenae* F.)**

Wstęp

Reakcje owadów na związki chemiczne występujące w roślinach umożliwiają zlokalizowanie właściwej rośliny żywicielskiej. Związki te mogą działać jako specyficzne roślinne bodźce zapachowe lub też smakowe. Receptory odbierające specyficzne zapachy znajdują się w gardzieli owadów o aparacie gębowym ssąco-kłującym (szczególnie mszyc). Wybór i akceptacja żywiciela przez mszycę uwarunkowana jest w dużym stopniu przez roślinne związki lotne, które mogą oddziaływać na duże odległości, odstraszać szkodnika (repelenty) lub go wabiąc (atraktanty) - (Sobótka i Nawrot, 1988). Do tej pory nie wyjaśniono, jakie związki są głównymi czynnikami pozwalającymi mszycom na zlokalizowanie i rozpoznanie właściwej rośliny żywicielskiej. Sugerowano, że tzw. wtórne substancje roślinne (alkaloidy, glikozydy, olejki eteryczne itd.), które występują we wszystkich gatunkach roślin, a które nie mają wyraźnego znaczenia dla samych roślin, determinują wybór poszczególnych roślin przez dany gatunek mszycy (Dąbrowski 1976; Boczek 1984). Mając na uwadze tę sytuację,

* Zakład Biochemii, Instytut Biologii Wyższej Szkoły Rolniczo-Pedagogicznej w Siedlcach

wykonaliliśmy na łatwo dostępnym materiale, jakimi są mszyce, szereg doświadczeń dotyczących działania wyciągów z wybranych odmian pszenicy ozimej na mszycę zbożową *Sitobion avenae* (F.). Wśród roślin użytych do sporządzania wyciągów stwierdziliśmy, że 2 odmiany pszenicy posiadają częściową odporność na mszyce (Saga, Grana) i 2 odmiany są podatne (Emika, Liwilla).

Wymienia się (Khan i Saxena, 1985; Saxena i Okech, 1985), że odporne na *Nilaparvata lugens* (Stål) i *Nephotettix virescens* (Distant) rośliny ryżu zawierają toksyczne fenole, terpenoidy, alkaloidy, aminy, a substancje lotne i hydrofobowe występują w formie związanej, jako laktony seskwiterpenowe bądź jako glikozydy, które są zarówno nietlone, jak i rozpuszczalne w wodzie, łatwo się jednak z nich uwalniają. Są to często substancje o nienasyconych wiązaniach między atomami węgla potrójnych i podwójnych, wykazujące przeważnie szerokie działanie biologiczne w stosunku do owadów (Achremowicz i Cież, 1988).

Materiały do badań

Materiał roślinny stanowiły liście flagowe 4 odmian pszenicy o zróżnicowanej odporności na mszyce: częściowo odporne - Grana i Saga oraz podatne - Emika i Liwilla. Reakcje samic mszycy zbożowej (uskrzydłych i bezskrzydłych) w stosunku do różnych stężeń izolowanych z badanych odmian pszenicy za pomocą pary wodnej lotnych substancji chemicznych badano w testach wyboru w warunkach laboratoryjnych. Analizowano wpływ następujących stężeń na biologię *S. avenae*: 0,5 mg/cm³, 1 mg/cm³, 4 mg/cm³. Badania wykonano w olfaktometrach dla każdego z analizowanych stadiów rozwojowych mszycy zbożowej i dla poszczególnych stężeń. Jedną kombinacją, w której określono działanie wybranego ekstraktu o określonym stężeniu, obejmowała analizę zachowania się samic w 10 olfaktometrach. Do

każdego z olfaktometrów wkładano po 10 samic, po 4 z każdego końca. Zakonczenia rurki zatykano gumowymi korkami. Następnie do jednego z dolnych ramion olfaktometru przymocowano fiolkę zawierającą testowany związek, a do drugiego ramienia - fiolkę z samym rozpuszczalnikiem (kontrola). Dolne odgałęzienia olfaktometru wstawiano do probówek o płaskim dnie, aby olfaktometry zajmowały możliwie poziomą pozycję względem podłoża, a testowane ekstrakty nie zwilżały gazy. Aby wyeliminować wpływ światła na zachowanie się samic olfaktometry osłaniano czarną folią. Olfaktometry wyjmowano w odstępach 10-minutowych, licząc ilość mszyc w części olfaktometru z testowanym ekstraktem i w części kontrolnej z rozpuszczalnikiem. Wykonano więc 12 pomiarów w ciągu 2 godzin eksperymentu. Po zakończeniu doświadczenia obliczono ogólną liczbę samic znajdujących się w obu częściach olfaktometru i wyrażono ją w procentach w stosunku do ogólnej liczby mszyc wziętych do pomiarów, a następnie obliczono średnią z 10 powtórzeń.

W testach dotyczących szkodliwości analizowanej grupy związków oceniono śmiertelność badanych stadiów rozwojowych mszycy zbożowej (larwy L_3 , bezskrzydłe i uskrzydłone samice) traktowanych poszczególnymi ekstraktami w stężeniu 4 mg/cm^3 z każdej z badanych odmian pszenicy. Eksperymenty wykonano wobec 15 mszyc każdego stadium w 3 powtórzeniach, licząc ilość martwych osobników (w %) po 5 godzinach trwania testu.

Ekstrakcję związków lotnych przeprowadzano zgodnie z procedurą Khan i Saxena, (1985) posługując się metodą destylacji z parą wodną. Otrzymaną mieszaninę związków lotnych analizowano za pomocą chromatografu gazowego typu Pye Unicam 204 zgodnie z metodą Saxena i Okech (1985). Analizę chromatograficzną mieszaniny związków lotnych prowadzono pod kątem ilości otrzymanych składników oraz względnej ich

zawartości i przedstawiono za pomocą rysunku, który sporządzono na podstawie oryginalnych chromatogramów.

Wszystkie eksperymenty entomologiczne oceniono testem wielokrotnego rozstępu Duncana (1951) przy $P \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W oparciu o wyniki testów wyboru stwierdzono, że substancje lotne otrzymane za pomocą destylacji z parą wodną z liści flagowych odmiany odpornej Saga posiadają właściwości repelentów w stosunku do badanych stadiów rozwojowych *S. avenae*, czego nie obserwowano w przypadku ekstraktu uzyskanego z liści roślin odmiany Liwilla. Każde z badanych stężeń izolowanych z odmiany Saga związków lotnych działało odstraszająco na samice uskrzydłone. Samice bezskrzydłe były natomiast odstraszane dopiero wówczas, gdy stężenie badanych związków uzyskanych z odmiany Saga wynosiło 1 i 4 mg/cm³. Odmienne reakcje samic bezskrzydłych *S. avenae* (tab.1) odnotowano wówczas, gdy obiektem badań był ekstrakt eterowy pochodzący z liści pozostałych odmian pszenicy. Statystycznie udowodniono istotne różnice ($P \leq 0,05$) odmianowe w reakcjach samic uskrzydłych i bezskrzydłych mszycy zbożowej na związki chemiczne izolowane z liści flagowych każdej z badanych pszenic.

Najwyższy stopień szkodliwości w stosunku do badanych stadiów rozwojowych mszycy zbożowej wykazywały substancje lotne o stężeniu 4 mg/cm³ uzyskane z roślin odpornej pszenicy Saga. Ekstrakty pochodzące z odmiany Grana okazały się szkodliwe wyłącznie dla larw, a mało skuteczne dla pozostałych badanych stadiów rozwojowych *S. Avenae* (tab.2). Statystycznie stwierdzono istotne różnice międzyodmianowe w śmiertelności larw oraz bezskrzydłych i uskrzydłych samic traktowanych poszczególnymi ekstraktami otrzymanymi z badanych odmian pszenicy ozimej.

Tabela 1

Reakcje samicy mszycy zbożowej (*S. avenae*) na różne stężenia związków lotnych wyekstrahowanych z liści flagowych badanych odmian pszenicy ozimej

Odmiany	Stadium rozwojowe mszycy zbożowej	Samice uskrzydłone			Samice bezskrzydłe		
		0,5 mg/cm ³	1 mg/cm ³	4 mg/cm ³	0,5 mg/cm ³	1 mg/cm ³	4 mg/cm ³
<u>Odborne</u>	Testowane						
	stężenia ekstraktu	42.6 c	39.7 c	28.2 c	51.5 b	43.6 c	30.1 c
Saga		50.9 c	51.2 b	46.4 b	56.7 b	52.9 b	44.3 b
	Grana						
<u>Podatne</u>							
	Emka	51.8 b	52.1 b	48.3 b	57.8 a	58.1 a	54.8 a
Liwilla		53.8 a	55.4 a	51.2 a	59.4 a	58.3 a	56.2 a

Uwaga: Liczby podają średni procent mszyc, które stwierdzono w części olfaktometru z poszczególnymi stężeniami testowanymi ekstraktów każdej z badanych odmian pszenicy ozimej.

Wartości w tych samych kolumnach pionowych oznaczone innymi literami różnią się statystycznie przy $P \neq 0.05$.

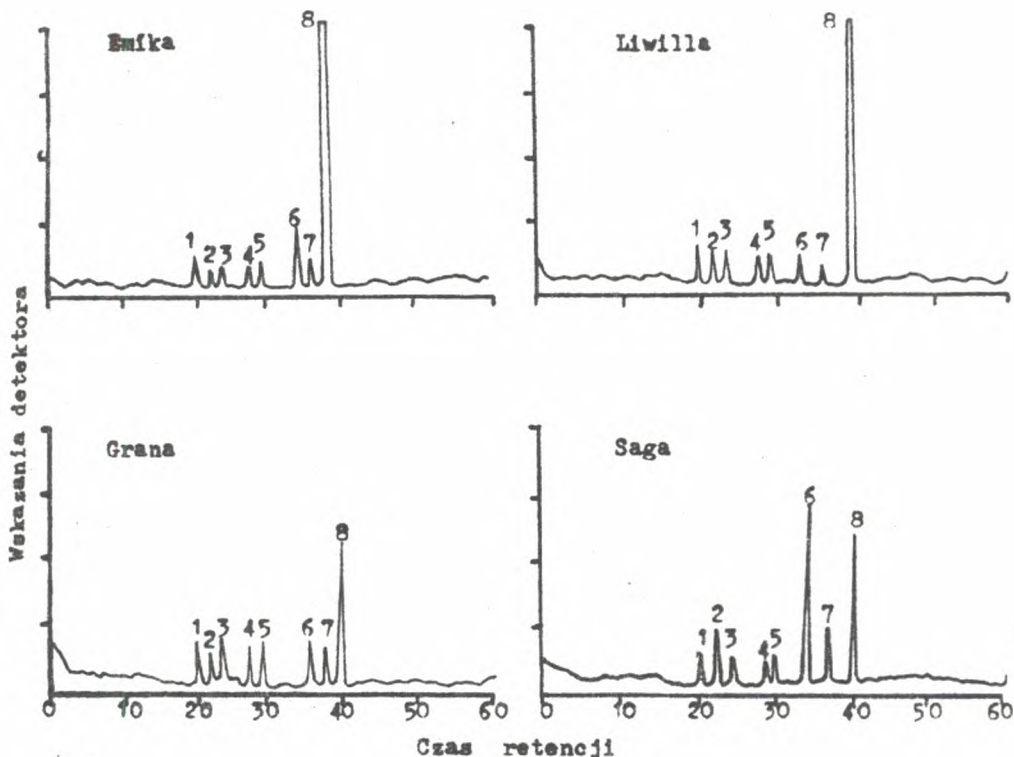
Śmiertelność (%) badanych stadiów rozwojowych *S. avenae* po 5 godz. traktowania ekstraktami substancji lotnych uzyskanymi z liści flagowych badanych odmian pszenicy ozimej

Odmiany	Stadium rozwojowe mszycy zbożowej		
	Larwy	Samice bez-skrzydłe	Samice uskrzydłone
<u>Odporne</u>			
Saga	88 + 10.2a	79 + 9.3a	78 + 8.7a
Grana	52 + 5.2b	38 + 4.4b	41 + 3.8b
<u>Podatne</u>			
Emika	43 + 4.2b	24 + 5.2b	20 + 4.1c
Liwilla	24 + 3.1c	19 + 2.7b	12 + 2.3c

Uwaga: Wartości w tych samych kolumnach pionowych oznaczone innymi literami różnią się statystycznie przy $P \leq 0.05$

Wykonane za pomocą chromatografu gazowego analizy składu mieszaniny związków lotnych wykazały 8 frakcji w liściach flagowych każdej z badanych odmian pszenicy (ryc. 1). Stwierdzono międzyodmianowe różnice ilościowe w składzie analizowanych frakcji oraz różnice w odmianach podatnych (Liwilla, Emika) i częściowo odpornych (Saga, Grana).

We wstępnym okresie zasiedlania przez mszyce o wyborze rośliny żywicielskiej decydują m.in. bodźce zapachowe i smakowe (Klingauf 1975). Jördens i Klingauf (1977) uważają, że atraktantami ułatwiającymi mszycom odnalezienie gospodarza, mogą być związki lotne. Petterson (1970) udowodnił, że zarówno samice, jak i sexuparae mszycy czeremchowo-zbożowej (*R. padi*) odnajdują żywiciela - *Prunus padus* - w wyniku podrażnienia receptorów przez bodźce zapachowe.



Ryc. 1. Analiza chromatograficzna mieszaniny związków lotnych wyekstrahowanych z liści flagowych badanych odmian pszenicy ozimej

Badania Jördens-Röttger (1979) wykazały także, że bezskrzydłe *Aphis fabae* (Scop.) odznaczały się znacznie większą chemotaksją w kierunku ekstraktów z liści wyki i buraka zwyczajnego zawierających substancje lotne niż w kierunku ekstraktów oczyszczonych z tych substancji. Przeprowadzone w tej pracy badania wykazały, że uskrzydłone samice mszycy zbożowej silnie reagują na obecność związków lotnych izolowanych z liści flagowych odmiany Saga w porównaniu do bezskrzydłych. Można więc przypuszczać, że związki lotne są repelentami dla migrantek *S. avenae* we wstępnym okresie zasiedlania względnie odpornych odmian pszenicy ozimej przez mszycę. Każde z

testowanych stężeń działało odstrasza­jąco na badane formy *S. avenae*, jeżeli ekstrakt pochodził z liści częściowo odpornej odmiany Saga. Wydaje się natomiast, że wzrost akceptacji roślin odmiany Liwilla i Emika przez badane osobniki mszycy zbożowej we wstępnym okresie zasiedlania może być związany ze znacznie niższym stężeniem substancji lotnych w liściach tych odmian. Jak podaje bowiem Tomczyk i in. (1988) roślinne związki lotne nabierają właściwości repelentów dopiero w wyższych stężeniach; w niższych mogą spełniać rolę atraktantów decydujących o wyborze i akceptacji rośliny żywicielskiej przez szkodnika.

Stwierdzone za pomocą chromatogramu gazowego różnice międzyodmianowe w poziomie analizowanych związków lotnych dotyczą głównie składników 6,7 i 8. Przypuszczać można, że obniżenie stężeń składników 6 i 7 oraz wzrost zawartości składnika 8 w podatnych odmianach Liwilla i Emika ułatwia mszycy zbożowej zasiedlanie liści flagowych tych pszenic. Wyższa zawartość składników 6 i 7 stwierdzona w mieszaninie związków lotnych wyekstrahowanych z liści odmiany Saga może determinować porzucenie roślin tej odmiany przez formy migrujące i zmuszać je do dalszego lotu. W konsekwencji ma to wpływ na istotne obniżenie poziomu populacji *S. avenae* na roślinach odmiany Saga. Saxena i Okech (1985), badając wpływ związków lotnych ekstrahujących się z parą wodną z liści ryżu na brązowego skoczka (*Nilaparvata lugens* : Homoptera), stwierdzili, że odporność odmian Mudago, Ptb 33 i ARC 6650 wynika z obecności specyficznych składników lotnych redukujących stymulację pokarmową szkodnika i z większego ich stężenia w tych odmianach w porównaniu z odmianą podatną (TNI). Zaprezentowane w niniejszej pracy wyniki zdają się w pełni potwierdzać spostrzeżenia wymienionych autorów. Udowodniono bowiem, że związki lotne względnie odpornej odmiany Saga posiadają właściwości repelentów w stosunku do mszycy zbożowej, pod warunkiem jed-

nak, że występują w stężeniu nie mniejszym niż 1 mg/cm^3 . Szkodniki polifagiczne reagują z reguły na związki lotne powszechnie występujące w liściach roślin, a wybór i akceptacja rośliny żywicielskiej zależy raczej od niewystępowania repelentów, niż od obecności atraktantów (Dąbrowski 1976). Owady olifagiczne (m.in. *S. avenae*) wymagają zdaniem niektórych autorów (Boczek 1984; Khan i Saxena 1985; Saxena i Okech 1985) działania specyficznych bodźców przyciągających szkodnika do rośliny żywicielskiej.

Literatura

- Achremowicz J., Cież W., 1988. Doświadczenia nad skutecznością działania wyciągów z roślin stosowanych jako aficydy. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 353 : 53-66.
- Boczek J., 1984. Dlaczego tak różne bywa porażenie roślin przez szkodniki. Ochr. Rośl., 9 : 15-17.
- Dąbrowski Z.T., 1976. Biochemiczne podstawy warunkujące wybór rośliny żywicielskiej przez owady, w: Podstawy odporności roślin na szkodniki. PWRiL, Warszawa, 49-51.
- Duncan D.B., 1951. A significance test for differences between ranked treatments in an analysis of variance. Va. J. Sci., 2 : 171-189.
- Jördens-Röttger D., 1979. The role of phenolic substances for host-selection behaviour of the black bean aphid *Aphis fabae*. Entomol. Exp. Appl., 26 : 49-54.
- Jördens D., Klingauf F., 1977. Der Einfluss von L - DOPA auf Ansiedlung und Entwicklung von *Aphis fabae* Scop. an synthetischer Diat. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent. 42 : 1411-1419.

- Khan Z.R., Saxena R.C., 1985. Effect of steam distillate extract of a resistant rice variety on feeding behavior of *Nephotettix virescens* (Homoptera : Cicadellidae). J. Econ. Entomol., 78 : 562-566.
- Klingauf F., 1975. Die Frühphase in der Wirtswahl von Blattläusen. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent., 40 : 351-364.
- Petterson J., 1970. Studies on *Rhopalosiphum padi* (L.). I. Laboratory studies on olfactometric responses to winter host *Prunus padus*. Lantbrukshogskolans Annaler, 36 : 381-399.
- Saxena R.C., Okech S.H., 1985. Role of plant volatiles in resistance of selected rice varieties to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera : Delphacidae). J. Chem. Ecol., 12 : 1601-1616.