

УДК 630.181:57.04

**ВЛИЯНИЕ ДЕФОЛИАЦИИ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ
(*Betula pendula* R.) НЕПАРНЫМ ШЕЛКОПРЯДОМ
(*Lymantria dispar* L.) НА СОСТАВ И СОДЕРЖАНИЕ
ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ЛИСТЬЯХ**

Е.В. Колтунов

Ботанический сад Уральского отделения РАН, г. Екатеринбург, 620144, Россия

Аннотация

Вспышки массового размножения растительноядных лесных вредителей оказывают значительное негативное эколого-экономическое воздействие на общее состояние лесов, поэтому изучение биохимических механизмов энтоморезистентности древостоев (индуцированной и конститутивной) остается весьма актуальным. Целью исследования было изучение биохимической специфичности вышеуказанных типов энтоморезистентности методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Проведенный нами хроматографический анализ общего количества химических соединений показал, что содержание 59.02% фракций в листьях дефолиированных древостоев увеличивалось, в то время как у 36.06% фракций оно снижалось, а у 4.92% не изменялось. Всего нами было идентифицировано 20 химических соединений. Содержание 55% соединений возрастало под влиянием дефолиации, у 40% соединений оно снижалось, а у 5% не изменялось. Первая группа соединений включает фенолгликозиды (арбутин, салицин), флавоноиды (изокверцитрин, лютеолин, кверцетин, апигенин, мирицетин, кемпферол), гидроксикарбоновые (галловая кислота) и гидроксикоричные кислоты (кафтаровая кислота), витамины (аскорбиновая кислота). Ранее нами был определен состав фенольных соединений, детерминирующих конститутивную энтоморезистентность у березы повислой. Сравнительный анализ их состава и выявленных нами соединений индуцированной энтоморезистентности показал очень близкое сходство. Следовательно, можно предположить, что параметры индуцированной и конститутивной энтоморезистентности у березы повислой детерминируют идентичные фенольные соединения.

Ключевые слова: непарный шелкопряд, береза повислая, листья, дефолиация, высокоэффективная жидкостная хроматография, химические соединения

Введение

Периодические крупномасштабные вспышки массового размножения лесных насекомых-филлофагов с высоким биотическим потенциалом наносят заметный эколого-экономический ущерб лесам и нередко служат фактором значительного снижения резистентности древостоев даже при отсутствии массового усыхания [1, 2]. Это сопровождается также снижением устойчивости лесов к воздействию других негативных биотических и абиотических факторов [3, 4]. В результате временно ослабленные леса нередко поражаются инфекционными болезнями и насекомыми-ксилофагами [1, 5, 6]. При этом последовательность

поражений древостоев различными болезнями, вызванными дефолиацией, и ксилофагами может быть совершенно различна [6]. Ранее нами показано, что сильная дефолиация крон березы непарным шелкопрядом (*Lymantria dispar* L.) в сочетании с интенсивной засухой вызывает заметное временное снижение устойчивости березняков в условиях антропогенной трансформации, что становится причиной массовой пораженности березы бактериальной водянкой и последующего усыхания [1]. В итоге суммарный эколого-экономический ущерб от комплекса последующих факторов может значительно превышать таковой от воздействия только одного фактора дефолиации.

Исходя из всего вышесказанного становится очевидно, что исследование биохимических механизмов энтоморезистентности у древесных растений – одно из перспективных направлений изучения взаимоотношений в системе «дерево – насекомые». Эта область развивается особенно интенсивно. Однако однозначной картины относительно функционирования механизмов энтоморезистентности (как конститутивной, так и индуцированной) пока нет [7–17].

Многими авторами было показано, что возрастание уровня энтоморезистентности в хвое и листьях древостоев детерминировано фенольными соединениями, алкалоидами и терпеноидами [7, 11–17]. Известно, что у лиственных древостоев доминирующее значение в энтоморезистентности имеют именно фенольные соединения и, в первую очередь, флавоноиды [11]. Причем фенольные соединения контролируют как конститутивную, так и индуцированную резистентность лиственных древесных растений [8]. Тем не менее некоторые алкалоиды также имели высокую антифидантную активность для непарного шелкопряда [18].

В результате многочисленных исследований было обнаружено, что количество фенольных соединений в листьях кормовых растений после дефолиации насекомыми-фитофагами, возрастает [7, 11, 13, 15, 16]. Особенно значительное изменение их содержания наблюдается на следующий год после дефолиации [19]. Это обусловлено высокой антифидантной и детеррентной активностью, в первую очередь, флавоноидов [20, 21]. Кроме того, фенольные соединения также связаны с механизмами резистентности древесных и травянистых растений к патогенным грибам [22].

Древесные растения достаточно активно реагируют и на воздействие различных других негативных экзогенных факторов среды. Так, антропогенное воздействие, уменьшение светового потока, воздействие фактора абиотического стресса (засухи) снижают общее содержание флавоноидов в листьях [23]. Одним из важных механизмов индуцированной энтоморезистентности фенольных соединений служит их функционирование в тесном взаимодействии с полифенолоксидазами. Последние взаимодействуют с фенольными соединениями при повреждении клеток растений, образуя высокореакционноспособные хиноны, обладающие значительной токсичностью [24]. Можно предположить, что это не единственный механизм антифидантного воздействия на насекомых-филлофагов. В частности, результаты исследований с добавлением фенольных соединений в искусственную питательную среду (ИПС) убедительно продемонстрировали, что они заметно подавляли рост и выживаемость гусениц на ИПС [25]. В условиях эксперимента было выявлено также явное предпочтение

непарным шелкопрядом листьев с низким содержанием фенольных соединений [26]. Это подтверждает наличие детеррентных свойств у фенольных соединений.

Основной целью проведенного исследования было изучение с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) воздействия фактора дефолиации на состав и содержание фенольных соединений в листьях березы повислой в лесостепи Зауралья в условиях антропогенного воздействия в год дефолиации, то есть «быстрой» индуцированной энтоморезистентности, а также сравнительный анализ биохимического сходства и различий в составе фенольных соединений, детерминирующих параметры индуцированной и конститутивной энтоморезистентности у березы повислой. Состав фенольных соединений, детерминирующих параметры конститутивной энтоморезистентности у березы повислой после дефолиации непарным шелкопрядом, был идентифицирован нами ранее [8, 9].

Материалы и методы

Район очагов массового размножения непарного шелкопряда находился в березовых лесах Каменск-Уральского р-на Свердловской обл. Всего нами было заложено 10 пробных площадей размерами 50×50 м каждая, по 5 на очаги и за их границами. Пробные площади располагались в березняках вблизи пос. Покровское (56°28'43.7" с.ш., 61°36'06.9" в.д.; 56°28'42.0" с.ш., 61°35'42.8" в.д.), контрольные – вблизи пос. Храмцовское ((56°33'08,3" с.ш., 61°26'53.3" в.д.; 26°32'53.6" с.ш., 61°26'48.3" в.д.), где фактор дефолиации полностью отсутствовал. Уровень антропогенной трансформации фитоценозов в очагах был значителен (4-я стадия по классификации [27]). Сбор листьев березы повислой для хроматографического анализа из очагов массового размножения непарного шелкопряда проводился в 2012–2017 гг. на пробных площадях с 70%-ной дефолиацией крон и за границей очагов, где отсутствовала дефолиация в сходных лесорастительных условиях. Сразу после отбора проб листья березы высушивали при комнатной температуре, затем размалывали. Навеску размолотых листьев (2 г) помещали в емкость с 50 мл этанола. Экстракцию фенольных соединений из листьев березы проводили в водяной бане с обратным холодильником 96%-ным этиловым спиртом в течение 30 мин при кипении раствора. Затем супернатант центрифугировали при 10000 г в течение 10 мин и пропускали через шприцевой фильтр (0.45 мкм). Хроматографический анализ проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 со спектрофотометрическим УФ-детектором (фирма Shimadzu). Для этого использовалась хроматографическая колонка PerfectSil Target ODS-3 5 мкм с обращенной фазой, размерами 250 × 4.6 мм (фирма Shimadzu). Объем пробы – 20 мкл. Детектирование элюента осуществляли одновременно на двух полосах поглощения: (λ 360 нм / λ 254 нм) и вычислялось спектральное отношение параметров абсорбции. Нами использовалась хроматография в диапазоне 10–50% со скоростью 1 мл в мин – при температуре 40 °С. Элюент А – ацетонитрил – 0.05 М фосфатный буферный раствор (рН 3.0) в 10%-ном растворе ацетонитрила; элюент В – ацетонитрил – вода (9 : 1). Элюирование проводилось с возрастанием доли элюента В от 10% до 50%. Продолжительность хроматографического анализа – 45 мин. Из них от 0 до 30 мин проводилось градиентное элюирование в диапазоне 10–50%, затем в течение 15 мин – при концентрации 50%.

Для идентификации соединений использовали собственную базу данных 20 веществ-свидетелей фирм: Fluka, Sigma, Aldrich. Для идентификации хроматографических фракций использовался общепринятый метод на основе идентификации соединений по t_R (время удерживания) и спектральное отношение (λ 360 нм/ λ 254 нм). Общее количество образцов для хроматографии – 40. Хроматографический анализ каждой пробы проводили в трех повторностях. Затем рассчитывали среднее значение. Статистическую достоверность полученных результатов определяли с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Градиентный хроматографический анализ химических соединений из листьев березы как в дефолированных насаждениях, так и в интактных выявил от 61 до 74 фракций (рис. 1). Сравнительный тотальный анализ идентичных соединений в обоих вариантах показал, что в группе дефолированных древостоев из исследованных очагов у 59.02% фракций их содержание увеличивалось по сравнению с контролем, у 36.06% снижалось и у 4.92% не изменялось. Таким образом, доминирующей реакцией химических соединений в листьях березы повислой на дефолиацию было заметное возрастание их количественного содержания.

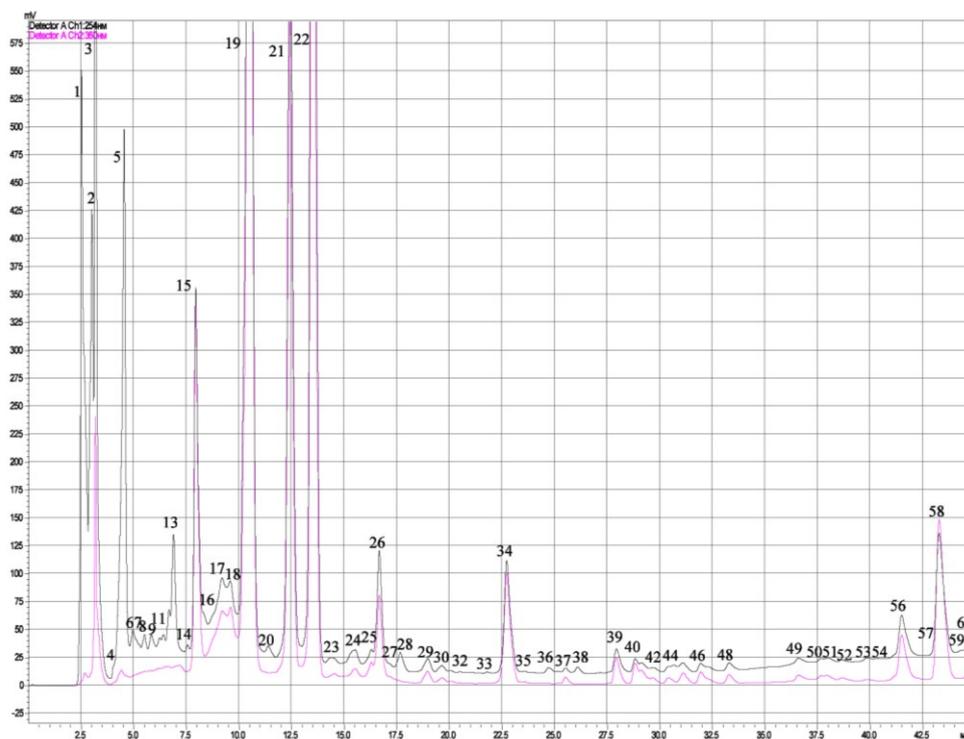


Рис. 1. ВЭЖХ химических соединений из листьев березы повислой в очагах массового размножения непарного шелкопряда и за их границами: 1 – аскорбиновая кислота; 2 – арбутин; 4 – кафтаровая кислота; 5 – галловая кислота; 6 – салицин; 9 – кофейная кислота; 11 – салидрозид; 12 – 4-кофеоилхинная кислота; 17 – рутин; 18 – 5-кофеоилхинная кислота; 19 – гиперозид; 20 – изокверцетин; 20a – лютеолин-7-глюкозид; 21 – изокверцитрин; 21a – авикулярин; 26 – мирицетин; 35 – лютеолин; 37 – кверцетин; 39 – апигенин; 40 – кемпферол. По горизонтали – t_R (время удерживания), мин, по вертикали – абсорбция, мВ

Табл. 1

Влияние дефолиации березы повислой непарным шелкопрядом на состав и содержание химических соединений в листьях

Наименование соединения	Абсорбция (мВ) $X \pm SD$		<i>t</i> -критерий Стьюдента	<i>t_r</i> Время удерживания	$\lambda_{360}/\lambda_{254}$ Спектральное отношение параметров абсорбции
	Дефолиация	Контроль			
Аскорбиновая кислота	351.91 ± 8.04	143.52 ± 6.75	48.63	2.6	0.031
Арбутин	382.89 ± 17.88	322.16 ± 17.21	5.88	2.89	0.085
Галловая кислота	655.0 ± 26.83	303.08 ± 13.42	28.73	3.7	0.12
Кафтаровая кислота	31.09 ± 1.78	26.216 ± 1.79	4.72	4.03	0.054
Салицин	80.04 ± 4.72	50.04 ± 3.58	12.83	5.0	0.386
Кофейная кислота	42.24 ± 2.68	73.08 ± 3.59	16.89	5.78	0.386
Салидрозид	48.63 ± 3.58	58.18 ± 4.47	4.09	6.28	0.116
4-кофеилхинная кислота	118.18 ± 5.37	120.13 ± 4.47	0.68*	6.68	0.258
Рутин	70.52 ± 4.47	93.25 ± 6.26	7.29	9.46	0.952
5-кофеилхинная кислота	91.78 ± 6.26	150.33 ± 8.94	13.14	10.0	0.745
Гиперозид	997.68 ± 44.72	1348.28 ± 44.8	13.58	10.7	0.859
Лютеолин-7-гликозид	48.17 ± 4.47	100.54 ± 8.94	12.82	10.9	0.95
Изокверцитин	19.9 ± 1.79	41.93 ± 2.68	16.73	11.7	0.548
Изокверцитрин	449.36 ± 18.78	314.62 ± 12.52	14.62	12.3	0.651
Авикулярин	213.69 ± 13.42	292.87 ± 17.89	8.17	12.9	0.765
Мирицетин	84.97 ± 4.47	52.34 ± 3.58	13.96	17.0	0.835
Лютеолин	2.408 ± 0.089	1.022 ± 0.071	26.91	23.55	0.452
Кверцетин	7.87 ± 0.63	7.220 ± 0.64	1.79	25.4	1.153
Апигенин	23.86 ± 1.79	16.13 ± 0.89	9.47	28.12	1.152
Кемпферол	16.44 ± 1.25	9.46 ± 0.89	11.12	29.8	1.186

* Различия статистически недостоверны.

Более информативен анализ изменений содержания соединений в листьях дефолированных древостоев у идентифицированных нами химических соединений. Из всех фракций нами было идентифицировано 20 соединений. Как показали результаты, у 55% этих соединений их содержание возросло, у 40% – снижалось, у 5% не изменялось (табл. 1). В состав химических соединений, содержание которых заметно увеличивалось вследствие воздействия фактора дефолиации, входят фенолгликозиды (арбутин (увеличение концентрации на 18.85%), салицин (на 59.95%)), которые, как известно, служат факторами детерминации индуцированной энтоморезистентности [28]; флавоноиды (изокверцитрин (на 42.83%), лютеолин (на 135.62%), кверцетин (на 9.002%), апигенин (на 74.33%), мирицетин (на 62.34%), кемпферол (на 73.78%)), гидроксикарбоновые (галловая кислота (на 116.11%)) и гидроксикоричные кислоты (кафтаровая кислота (на 18.59%)); витамины (аскорбиновая кислота (на 145.0%)). Как видно из полученных результатов, количественно в составе этой группы соединений преобладали флавоноиды. Важной их особенностью служит то, что все они проявляют как антифидантную и антидетеррентную, так и антиоксидантную актив-

ность [20, 21, 24]. Высокая антиоксидантная активность выявлена и у аскорбиновой кислоты [24].

Снижение содержания химических соединений после дефолиации листьев березы повислой отмечено у фенолгликозида: салидрозида (на 19.64%), гидроксикоричных кислот (кофейной кислоты (на 73.0%), 5-КФК (на 63.79%)), ряда флавоноидов (рутина (на 32.23%), гиперозида (на 35.14%), лютеолин-7-гликозида (на 108.72%), изокверцетина (на 110.70%), авикулярина (на 37.05%)). Содержание 4-КФК не изменялось.

Учитывая то, что основной целью исследований было изучение состава и содержания химических соединений при сильной дефолиации древесного яруса непарным шелкопрядом, наиболее интересны особенности реакции на этот фактор группы фенолгликозидов, которые, как отмечено выше, служат важными компонентами индуцированной энтоморезистентности. Полученные нами результаты однозначно свидетельствуют о том, что содержание салицина возросло на 59.95%, арбутина – на 18.85%, содержание салидрозида снижалось на 16.41%. По нашему мнению, это может быть обусловлено тем, что более активная реакция на фактор дефолиации листьев может быть при более значительной степени дефолиации крон древостоев, так как береза повислая обладает достаточно высоким уровнем энтомотолерантности и при отсутствии одновременного воздействия других стрессовых факторов выдерживает сильную и полную дефолиацию даже в условиях заметного уровня антропогенного воздействия [1, 2, 19]. Другая проблема заключается в том, что воздействие фактора дефолиации сопровождается сильной активизацией процессов оксидативного стресса [29]. Учитывая то, что большинство флавоноидов, витамины и часть гидроксикоричных кислот обладают антиоксидантной активностью [24, 30] возрастание содержания этих соединений, очевидно, отражает проявление как антифидантных свойств, так и антиоксидантной активности.

Как известно, возрастание содержания ряда химических соединений в листьях березы повислой в год дефолиации – следствие активизации «быстрой» индуцированной энтоморезистентности. Из полученных результатов видно, что максимальную активность в реализации индуцированной энтоморезистентности проявляли отдельные флавоноиды и фенолгликозиды. Среди них в значительной степени преобладали флавоноиды (лютеолин, апигенин, кемпферол, мирицетин), которые составили 57.14%, а также фенолгликозиды (арбутин, салицин). Возрастание содержания других групп соединений: витаминов, гидроксикоричных и гидроксикарбоновых кислот – мы связываем с их антиоксидантной активностью, обусловленной оксидативным стрессом, вызванным дефолиацией листьев непарным шелкопрядом.

Учитывая полученные другими исследователями данные о том, что возрастание содержания флавоноидов в листьях и хвое дефолированных насекомыми-филлофагами древостоев обусловлено их высокой антифидантной и антидетеррентной активностью [20, 21, 25, 26], можно предполагать, что выявленный нами состав флавоноидов и фенолгликозидов, содержание которых возрастает после дефолиации, адекватно отражает возрастание уровня индуцированной энтоморезистентности и, соответственно, детерминирует параметры энтоморезистентности в системе «береза – непарный шелкопряд». Как уже отмечалось

выше, основой их антифидантной активности могут быть два механизма: первый – это определенная антифидантная и антидетеррентная активность самих флавоноидов [20, 21, 25, 26]; второй – образование токсичных хинонов при взаимодействии фенольных соединений с полифенолоксидазами при защите клеток от оксидативного стресса [24].

Сравнительный анализ состава и содержания фенолгликозидов и флавоноидов на этих же пробных площадях в межвспышечный период, проведенный нами ранее, с полученными нами результатами по этим же группам фенольных соединений, идентифицированных нами как компоненты «быстрой» индуцированной энтоморезистентности, убедительно продемонстрировал очень близкое сходство их состава с фенольными соединениями за границами очагов, содержание которых в этот период было выше, чем в затухших очагах. Эти соединения были отнесены нами к компонентам, детерминирующим уровень конститутивной энтоморезистентности [9]. Следовательно, можно предполагать, что идентичные фенольные соединения могут детерминировать и параметры индуцированной, и параметры конститутивной энтоморезистентности.

Таким образом, в результате дефолиации изменялось лишь содержание химических соединений, в то время как их состав оставался прежним. Нами идентифицирована группа флавоноидов, участвующих в реализации индуцированной дефолиацией энтоморезистентности. Установлено, что эта же группа фенольных соединений, как показано нами ранее [9], детерминировала и параметры конститутивной энтоморезистентности.

Литература

1. Колтунов Е.В. Насекомые-фитофаги лесных биогеоценозов в условиях антропогенного воздействия. – Екатеринбург: Наука, 1993. – 137 с.
2. Колтунов Е.В. Экология непарного шелкопряда в лесах Евразии. – Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2006. – 260 с.
3. Doane Ch.C., McManus M.L. (Eds.) The Gypsy Moth: Research toward Integrated Pest Management: Technical Bulletin 1584. – Washington, DC: U. S. Dep. Agric, 1981. – P. 1–8.
4. Elkinton J.S., Liebhold A.M. Population dynamics of gypsy moth in North America. // Annu. Rev. Entomol. – 1990. – V. 35. – P. 571–596. – doi: 10.1146/annurev.en.35.010190.003035.
5. Жигунов А.В., Семакова Т.А., Шабунин Д.Л. Массовые усыхания лесов на Северо-Западе России // Лесобиологические исследования на Северо-Западе таежной зоны России. Итоги и перспективы: Материалы науч. конф., посвящ. 50-летию Ин-та леса Карельского науч. центра РАН. – Петрозаводск, КарНЦ РАН, 2007. – С. 42–52.
6. Маслов А.Д. Короед-типограф и усыхание еловых лесов. – М.: ВНИИЛМ, 2010. – 138 с.
7. Бахвалов С.А., Кукушкина Т.А., Высочина Г.И. Влияние дефолиации на изменения количества аллелохимиков и растворимых сахаров в листьях березы повислой (*Betula pendula* Roth) // Сиб. экол. журн. – 2010. – Т. 17, № 2. – С. 291–297.
8. Колтунов Е.В., Яковлева М.И. Биохимические особенности конститутивной резистентности березы повислой (*Betula pendula* Roth.) к повреждению насекомыми-фитофагами в условиях антропогенного воздействия // Соврем. проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. – С. 1–11.
9. Колтунов Е.В., Яковлева М.И. Состав фенольных соединений листьев березы повислой (*Betula pendula* Roth.) в очагах массового размножения непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) и за их границами // Соврем. проблемы науки и образования. – 2016. – № 5. – С. 1–8.

10. Wagner M.R. Influence of moisture stress and induced resistance in ponderosa pine, *Pinus ponderosa* Dougl. ex Laws, on the pine sawfly, *Neodiprion autumnalis* Smith // For. Ecol. Manage. – 1986. – V. 15, No 1. – P. 43–53. – doi: 10.1016/0378-1127(86)90088-5.
11. Ossipov V., Haukioja E., Ossipova S., Hanhimäki S., Pihlaja K. Phenolic and phenolic-related factors as determinants of suitability of mountain birch leaves to an herbivorous insect // Biochem. Syst. Ecol. – 2001. – V. 29, No 3. – P. 223–240. – doi: 10.1016/S0305-1978(00)00069-7.
12. Gatehouse J.A. Plant resistance towards insect herbivores: A dynamic interaction. // New Phytol. – 2002. – V. 156. – P. 145–169. – doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00519.x.
13. Osier T.L., Lindroth R.L. Long-term effects of defoliation on quaking aspen in relation to genotype and nutrient availability: Plant growth, phytochemistry and insect performance // Oecologia. – 2004. – V. 139, No 1. – P. 55–65. – doi: 10.1007/s00442-003-1481-3.
14. Haukioja E. Plant defenses and population fluctuations of forest defoliators: Mechanism-based scenarios. // Ann. Zool. Fenn. – 2005. – V. 42, No 4. – P. 313–325.
15. Shul'ts E.E., Bakhvalov S.A., Martem'yanov V.V., Petrova T.N., Syromyatnikova I.N., Shakirov M.M., Tolstikov G.A. Effects of natural and artificial defoliation on the content and composition of extractive substances in birch leaves // Appl. Biochem. Microbiol. – 2005. – V. 41, No 1. – P. 94–98. doi: 10.1007/s10438-005-0017-5.
16. Shields V.D., Smith K.P., Arnold N.S., Gordon I.M., Shaw T.E., Waranch D. The effect of varying alkaloid concentrations on the feeding behavior of gypsy moth larvae, *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae) // Arthropod-Plant Interact. – 2008. – V. 2, No 2. – P. 101–107. – doi: 10.1007/s11829-008-9035-6.
17. Martemyanov V.V., Dubovskiy I.M., Rantala M.J., Salminen J.-P., Belousova I.A., Pavlushin S.V., Bakhvalov S.A., Glupov V.V. The effects of defoliation-induced delayed changes in silver birch foliar chemistry on gypsy moth fitness, immune response, and resistance to baculovirus infection // J. Chem. Ecol. – 2012. – V. 38, No 3. – P. 295–305. – doi: 10.1007/s10886-012-0090-1.
18. Barbosa P., Krischik V.A. Influence of alkaloids on feeding preference of east-ern deciduous forest trees by the gypsy moth (*Lymantria dispar*) // Am. Nat. – 1987. – V. 130, No 1. – P. 53–69.
19. Бахвалов С.А., Колтунов Е.В., Мартемьянов В.В. Факторы и экологические механизмы популяционной динамики лесных насекомых-филлофагов. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010. – 300 с.
20. Валиева А.И., Абдрахимова Й.П. Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты // Учебно-методическое пособие. – Казань: Казан. ун-т, 2010. – 40 с.
21. Morimoto M., Kumeda S., Komai K. Insect antifeedant flavonoids from *Gnaphalium affine* D. Don // J. Agric. Food Chem. – 2000. – V. 48, No 5. – P. 1888–1891. – doi: 10.1021/jf990282q.
22. Hammerschmidt R. Phenols and plant–pathogen interactions: The saga continues // Physiol. Mol. Plant Pathol. – 2005. – V. 66, No 3. – P. 77–78. – doi: 10.1016/j.pmpp.2005.08.001.
23. Кавеленова Л.М., Лищинская С.Н., Карандаева Л.Н. Особенности сезонной динамики водорастворимых фенольных соединений в листьях березы повислой в условиях урбо-среды (на примере Самары) // Химия растительного сырья. – 2001. – № 3. – С. 91–96.
24. Запрометов М. Н. Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции в растениях. – М.: Наука, 1993. – 272 с.
25. Joseph G., Kelsey R.G., Moldenke A.F., Miller J.C., Berry R.E. Effects of nitrogen and Douglas-fir allelochemicals on development of the gypsy moth, *Lymantria dispar* // J. Chem. Ecol. – 1993. – V. 19, No 6. – P. 1245–1263. – doi: 10.1007/BF00987384.

26. *Rieske L.K., Raffa K.F.* Interactions among insect herbivore guilds: Influence of thrips bud injury on foliar chemistry and suitability to gypsy moths // *J. Chem. Ecol.* – 1998. – V. 24, No 3. – P. 501–523. – doi: 10.1023/A:1022364819779.
27. *Казанская Н.С., Ланина В.В., Марфенин Н.Н.* Рекреационные леса. – М.: Лесная пром-сть, 1977. – 96 с.
28. *Hemming J.D.C., Lindroth R.L.* Intraspecific variation in aspen phytochemistry: Effects on performance of gypsy moth and forest tent caterpillars // *Oecologia.* – 1995. – V. 103, No 1. – P. 79–88. – doi: 10.1007/BF00328428.
29. *Судачкова Н.Е., Милютин И.Л., Романова Л.И., Астраханцева Н.В.* Действие дефолиации на рост и метаболизм сосны обыкновенной // *Сиб. экол. журн.* – 2015. – Т. 22, № 1. – С. 28–35.
30. *Тарун Е.И.* Сравнение антиоксидантной активности галловой, кофейной и хлорогеновой кислот // *Труды Белорус. гос. ун-та.* – 2014. – Т. 9, Ч. 1. – С. 186–191.

Поступила в редакцию
12.10.17

Колтунов Евгений Владимирович, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник отдела лесоведения

Ботанический сад Уральского отделения РАН
ул.8 Марта, д. 202а, г. Екатеринбург, 620144, Россия
E-mail: evg_koltunov@mail.ru

ISSN 2542-064X (Print)
ISSN 2500-218X (Online)

UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2018, vol. 160, no. 1, pp. 67–77

**The Effect of Defoliation of Silver Birch (*Betula pendula* R.)
by Gypsy Moth (*Lymantria dispar* L.) on the Composition and Content of Chemical
Compounds in Its Leaves under Anthropogenic Influence**

E.V. Koltunov

Botanical Garden, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620144 Russia
E-mail: evg_koltunov@mail.ru

Received October 12, 2017

Abstract

Periodic outbreaks of insects cause significant ecological and economic damage to forests. For this reason, it is especially important to study the biochemical mechanisms underlying entomoresistance, either induced or constitutive, in forest stands.

The purpose of the study is to investigate the biochemical specificity of these types of entomoresistance using the method of high-performance liquid chromatography (HPLC). It has been shown for the leaves of the defoliated stands that 59% of fractions increased in content, while the content of 36% of fractions decreased and 4.9% of fractions exhibited no changes in their concentration. A total of 20 compounds have been identified. It has been observed that the content of the identified compounds under the effect of defoliation increased (55%), decreased (40%), or did not change (5%). The first group of compounds includes phenol glycosides (arbutin, salicin), flavonoids (isoquercitrin, luteolin, quercetin, apigenin, myricetin, kaempferol), hydroxycarboxylic acids (gallic acid), hydroxycinnamic acids (caftaric acids), and vitamins (ascorbic acid). Previously, we revealed the composition of phenolic

compounds determining constitutive entomoresistance. The comparative analysis of their composition and the identified compounds of induced entomoresistance has shown a very close similarity. Therefore, it can be suggested that the parameters of induced and constitutive entomoresistance in silver birch are determined by the same phenolic compounds.

Keywords: gypsy moth, silver birch, leaves, defoliation, high-performance liquid chromatography, chemical compounds

Figure Captions

Fig. 1. High-performance liquid chromatography of chemical compounds from the leaves of silver birch at the outbreak sites of gypsy moth and beyond their boundaries: 1 – ascorbic acid; 2 – arbutin; 4 – caftaric acid; 5 – gallic acid; 6 – salicin; 9 – caffeic acid; 11 – salidroside; 12 – 4-caffeoylquinic acid; 17 – rutin; 18 – 5-caffeoylquinic acid; 19 – hyperoside; 20 – isoquercetin; 20a – luteolin-7-glucoside; 21 – isoquercitrin; 21a – avicularin; 26 – myricetin; 35 – luteolin; 37 – quercetin; 39 – apigenin; 40 – kaempferol. In horizontal direction – t_R (retention time), min, in vertical direction – absorption, mV.

References

1. Koltunov E.V. *Nasekomye-fitofagi lesnykh biogeotsenozov v usloviyakh antropogennogo vozdeistviya* [Phytophagous Insects of Forest Biogeocenoses under Anthropogenic Influence]. Ekaterinburg, Nauka, 1993. 137 p. (In Russian)
2. Koltunov E.V. *Ekologiya neparnogo shelkopryada v lesakh Evrazii* [Gypsy Moth Ecology in Eurasian Forests]. Yekaterinburg, Izd. Ural. Otd. Ross. Akad. Nauk, 2006. 260 p. (In Russian)
3. Doane C.C., McManus M.L. (Eds.) The gypsy moth: Research toward integrated pest management. In: *Technical Bulletin 1584*. Washington, DC: U. S. Dep. Agric., 1981, pp. 1–8.
4. Elkinton J.S., Liebhold A.M. Population dynamics of gypsy moth in North America. *Annu. Rev. Entomol.*, 1990, vol. 35, pp. 571–596. doi: 10.1146/annurev.en.35.010190.003035.
5. Zhigunov A.V., Semakova T.A., Shabunin D.L. Mass drying of forests in Northwest of Russia. *Lesobiologicheskie issledovaniya na Severo-Zapade taezhnoi zony Rossii. Itogi i perspektivy: Materialy nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 50-letiyu Instituta lesa Karel'skogo nauchnogo tsentra RAN (3–5 oktyabrya)* [Forest and Biological Investigations in the Northwest of Russian Taiga Zone. Results and Prospects: Proc. Sci. Conf. Dedicated to the 50th Anniversary of the Forest Research Institute of Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences (Oct. 3–5)]. Petrozavodsk, KarNTs Ross. Akad. Nauk, 2007, pp. 42–52. (In Russian)
6. Maslov A.D. *Koroed-tipograf i usykhaniye elovykh lesov* [European Spruce Bark Beetle and Drying of Spruce Forests]. Moscow, VNIILM, 2010. 138 p. (In Russian)
7. Bakhvalov S.A., Kukushkina T.A., Vysochina G.I. Effect of defoliation on concentrations of allelochemicals and soluble sugars in leaves of weeping birch (*Betula pendula* Roth). *Contemp. Probl. Ecol.*, 2010, vol. 3, no. 2, pp. 210–214. doi: 10.1134/S1995425510020116.
8. Koltunov E.V., Yakovleva M.I. Biochemical features of birch (*Betula pendula* R.) constitutive resistance to damage by phytophagous insects under anthropogenic influence. *Sovrem. Probl. Nauki Obraz.*, 2014, no. 5, p. 1–11. (In Russian)
9. Koltunov E.V., Yakovleva M.I. The composition of phenolic compounds in birch leaves (*Betula pendula* R.) at the outbreak sites of gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) and beyond their boundaries. *Sovrem. Probl. Nauki Obraz.*, 2016, no. 5, pp. 1–8. (In Russian)
10. Wagner M.R. Influence of moisture stress and induced resistance in ponderosa pine, *Pinus ponderosa* Dougl. ex Laws, on the pine sawfly, *Neodiprion autumnalis* Smith. *For. Ecol. Manage.*, 1986, vol. 15, no. 1, pp. 43–53. doi: 10.1016/0378-1127(86)90088-5.
11. Ossipov V., Haukioja E., Ossipova S., Hanhimäki S., Pihlaja K. Phenolic and phenolic-related factors as determinants of suitability of mountain birch leaves to an herbivorous insect. *Biochem. Syst. Ecol.*, 2001, vol. 29, no. 3, pp. 223–240. doi: 10.1016/S0305-1978(00)00069-7.
12. Gatehouse J.A. Plant resistance towards insect herbivores: A dynamic interaction. *New Phytol.*, 2002, vol. 156, pp. 145–169. doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00519.x.
13. Osier T.L., Lindroth R.L. Long-term effects of defoliation on quaking aspen in relation to genotype and nutrient availability: Plant growth, phytochemistry and insect performance. *Oecologia*, 2004, vol. 139, no. 1, pp. 55–65. doi: 10.1007/s00442-003-1481-3.
14. Haukioja E. Plant defenses and population fluctuations of forest defoliators: Mechanism-based scenarios. *Ann. Zool. Fenn.*, 2005, vol. 42, no. 4, pp. 313–325.

15. Shul'ts E.E., Bakhvalov S.A., Martem'yanov V.V., Petrova T.N., Syromyatnikova I.N., Shakirov M.M., Tolstikov G.A. Effects of natural and artificial defoliation on the content and composition of extractive substances in birch leaves. *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2005, vol. 41, pp. 94–98. doi: 10.1007/s10438-005-0017-5.
16. Shields V.D., Smith K.P., Arnold N.S., Gordon I.M., Shaw T.E., Waranch D. The effect of varying alkaloid concentrations on the feeding behavior of gypsy moth larvae, *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera: Lymantriidae). *Arthropod-Plant Interact.*, 2008, vol. 2, no. 2, pp. 101–107. doi: 10.1007/s11829-008-9035-6.
17. Martemyanov V.V., Dubovskiy I.M., Rantala M.J., Salminen J.-P., Belousova I.A., Pavlushin S.V., Bakhvalov S.A., Glupov V.V. The effects of defoliation-induced delayed changes in silver birch foliar chemistry on gypsy moth fitness, immune response, and resistance to baculovirus infection. *J. Chem. Ecol.*, 2012, vol. 38, no. 3, pp. 295–305. doi: 10.1007/s10886-012-0090-1.
18. Barbosa P., Krischik V.A. Influence of alkaloids on feeding preference of eastern deciduous forest trees by the gypsy moth (*Lymantria dispar*). *Am. Nat.*, 1987, vol. 130, no. 1, pp. 53–69.
19. Bakhvalov S.A., Koltunov E.V., Martemyanov V.V. *Faktory i ekologicheskie mekhanizmy populyatsionnoi dinamiki lesnykh nasekomykh-fillofagov* [Factors and Ecological Mechanisms of Population Dynamics in Forest Phyllophagous Insects]. Novosibirsk, Izd. Sib. Otd. Ross. Akad. Nauk, 2010. 300 p. (In Russian)
20. Valieva A.I., Abdrakhimova I.R. *Vtorichnye metabolity rastenii: fiziologicheskie i biokhimicheskie aspekty* [Secondary Metabolites of Plants: Physiological and Biochemical Aspects]. Kazan, Kazan. Fed. Univ., 2010. 40 p. (In Russian)
21. Morimoto M., Kumeda S., Komai K. Insect antifeedant flavonoids from *Gnaphalium affine* D. Don. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, vol. 48, no. 5, pp. 1888–1891. doi: 10.1021/jf990282q.
22. Hammerschmidt R. Phenols and plant–pathogen interactions: The saga continues. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 2005, vol. 66, no. 3, pp. 77–78. doi: 10.1016/j.pmpp.2005.08.001.
23. Kavelenova L.M., Lishchinskaya S.N., Karandaeva L.N. Seasonal dynamics of water soluble phenolic compounds in the leaves of the silver birch in urban environment of forest steppe (by example of Samara city). *Khim. Rastit. Syr'ya*, 2001, no. 3, pp. 91–96. (In Russian)
24. Zaprometov M.N. *Fenol'nye soedineniya: Rasprostraneniye, metabolism i funktsii v rasteniyakh* [Phenolic Compounds: Distribution, Metabolism, and Functions in Plants]. Moscow, Nauka, 1993. 272 p. (In Russian)
25. Joseph G., Kelsey R.G., Moldenke A.F., Miller J.C., Berry R.E. Effects of nitrogen and Douglas-fir allelochemicals on development of the Gypsy moth, *Lymantria dispar*. *J. Chem. Ecol.*, 1993, vol. 19, no. 6, pp. 1245–1263. doi: 10.1007/BF00987384.
26. Rieske L.K., Raffa K.F. Interactions among insect herbivore guilds: Influence of thrips bud injury on foliar chemistry and suitability to gypsy moths. *J. Chem. Ecol.*, 1998, vol. 24, no. 3, pp. 501–523. doi: 10.1023/A:1022364819779.
27. Kazanskaya N.S., Lanina V.V., Marfenin N.N. *Rekreatsionnye lesa* [Recreational Forests]. Moscow, Lesn. Prom-st. 96 p. (In Russian)
28. Hemming J.D.C., Lindroth R.L. Intraspecific variation in aspen phytochemistry: Effects on performance of gypsy moth and forest tent caterpillars. *Oecologia*, 1995, vol. 103, no. 1, pp. 79–88. doi: 10.1007/BF00328428.
29. Sudachkova N.E., Milyutina I.L., Romanova L.I., Astrakhantseva N.V. Effect of defoliation on the growth and metabolism of Scots pine. *Contemp. Probl. Ecol.*, 2015, vol. 8, no. 1, pp. 21–27. doi: 10.1134/S199542551501014X.
30. Tarun E.I. Comparing antioxidant activity in gallic, coffeic, and chlorogenic acids. *Tr. Beloruss. Gos. Univ.*, 2014, vol. 9, pt. 1, pp. 186–191. (In Russian)

Для цитирования: Колтунов Е.В. Влияние дефолиации березы повислой (*Betula pendula* R.) непарным шелкопрядом (*Lymantria dispar* L.) на состав и содержание химических соединений в листьях // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2018. – Т. 160, кн. 1. – С. 67–77.

For citation: Koltunov E.V. The effect of defoliation of silver birch (*Betula pendula* R.) by gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) on the composition and content of chemical compounds in its leaves under anthropogenic influence. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennyye Nauki*, 2018, vol. 160, no. 1, pp. 67–77. (In Russian)