

**VPLIV CIKLA ASKORBINSKE KISLINE, GLUTATIONA IN Hlapnih  
SPOJIN IZ KORENIN SOLATE NA USMERJENOST GIBANJA  
PARAZITSKIH OGORČIC ŽUŽELK IN POLŽEV**

Žiga LAZNIK<sup>1</sup>, Eva INDIHAR<sup>2</sup>, Stanislav TRDAN<sup>3</sup>, Mitja KRIŽMAN<sup>4</sup>, Jure  
ZEKIČ<sup>5</sup>, Mihaela ROŠKARIČ<sup>6</sup>, Andreja URBANEK KRAJNC<sup>7</sup>

<sup>1-3</sup> Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

<sup>4-5</sup> Kemijski inštitut, Ljubljana

<sup>6-7</sup> Univerza v Mariboru, Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede, Pivola

**IZVLEČEK**

V poskusu v rastlinjaku smo preučevali vpliv s strunami poškodovanih korenin solate na antioksidativni obrambni sistem rastline ter gibanje parazitskih ogorčic, ki napadajo žuželke/polže. Dokazali smo obstoj hlapnih organskih spojin, ki so jih izločile korenine solate. Rezultati raziskave so pokazali, da strune s hranjenjem korenin solate negativno vplivajo na vsebnost fotosinteznih pigmentov ter povzročijo reaktivne kisikove vrste že pred pojavom vidnih simptomov. Ascorbat-glutation sistem je bil prepoznani kot rdeči center v obrambnem odzivu proti strunam. Ugotovili smo, da so entomopatogene ogorčice bolj gibljive od parazitskih ogorčic polžev. Snov 2,4-nonadienal je delovala kot repelent za vse preučevane vrste ogorčic. Raziskava poudarja pomembnost razumevanja tritrofičnih interakcij v tleh za obvladovanje škodljivcev v kmetijskih sistemih.

**Gljučne besede:** solata, strune, askorbat-glutationski sistem, koreninski izvlečki, entomopatogene ogorčice, parazitske ogorčice polžev

**ABSTRACT**

**UTILIZING THE ASCORBATE-GLUTATHIONE SYSTEM AND EMITTED  
VOLATILES FROM INSECT-DAMAGED LETTUCE ROOTS AS CUES FOR  
GUIDING PARASITIC NEMATODES TARGETING INSECTS AND SLUGS**

In a glasshouse experiment, the effects of wireworm-damaged lettuce roots on the antioxidative defense system and movement of insect/slug parasitic nematodes were studied. Lettuce seedlings were grown with or without wireworms, and antioxidants and photosynthetic pigments were analyzed. Volatile organic compounds emitted from

<sup>1</sup> doc. dr., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, e-mail: ziga.laznik@bf.uni-lj.si

<sup>2</sup> mag. inž. hort., prav tam

<sup>3</sup> prof. dr., prav tam

<sup>4</sup> znan. sod. dr., Hajdrihova 19, SI-1001 Ljubljana

<sup>5</sup> dr., prav tam

<sup>6</sup> mag. kmet., Pivola 10, SI-2311 Hoče

<sup>7</sup> izr. prof. dr., prav tam

lettuce roots were investigated, and certain compounds were selected for a chemotaxis assay with nematodes. Results showed that wireworm-damaged roots negatively affected photosynthetic pigment contents and induced reactive oxygen species even before visible symptoms appeared. The ascorbate-glutathione system was identified as a redox hub in defense response against wireworms. Entomopathogenic nematodes were found to be more mobile than slug parasitic nematodes towards chemotaxis compounds, and 2,4-nonadienal repelled all tested nematodes. The study highlights the importance of understanding belowground tritrophic interactions for pest management in agricultural systems.

**Key words:** lettuce, wireworms, ascorbate-glutathione system, root volatile organic compounds, entomopathogenic nematodes, slug parasitic nematodes

## 1 UVOD

Rastline so razvile različne obrambne mehanizme za zaščito pred škodljivimi organizmi (Rasmann in sod., 2005; Ali in sod., 2010; Crespo in sod., 2012). Ob napadu žuželk mnoge rastline sproščajo koreninske izločke, ki so večinoma hlapne organske spojine (HOS). Te spojine vplivajo na gibanje naravnih sovražnikov škodljivih organizmov in igrajo ključno vlogo v večnivojskem sistemu rastlin, škodljivcev in njihovih naravnih sovražnikov (Rasmann in sod., 2005; Ali in sod., 2010; Crespo in sod., 2012). Nekatere od teh spojin sproščajo tako poškodovane kot nepoškodovane rastline (Laznik in Trdan, 2016). Sodobna plinska kromatografija z masno spektrometrijo (GC-MS) je ključna za zaznavanje in identifikacijo teh spojin v majhnih količinah (Rasmann in sod., 2005).

Ko so rastline podvržene biotskemu stresu, so njihove odzivne reakcije večinoma sistemske. Talni škodljivci, ki poškodujejo korenine, lahko povzročijo spremembe v metabolitih v nadzemnih delih rastline (Grunseich in sod., 2020). Sistemi askorbat-glutation igrajo pomembno vlogo pri odstranjevanju reaktivnih kisikovih spojin (ROS) in aktivaciji obrambnih genov. Znano je, da askorbat (ASC) in glutation (GSH) spodbujata obrambo rastlin in privabljata naravne sovražnike škodljivcev (Gullner in sod., 2018).

Namen naše raziskave je bil preučiti kemijsko komunikacijo parazitskih ogorčic z poškodovanimi in nepoškodovanimi koreninami solate (*Lactuca sativa* L.). Poškodbe korenin so povzročile strune (*Agriotes lineatus* L.). Študija je imela več ciljev: (1) pojasniti vpliv napadov strun na askorbat-glutation sistem in fotosintezne pigmente, (2) prispevati k razumevanju tritrofične komunikacije med ogorčicami, žuželkami in rastlinami, (3) oceniti razlike v emisijah organskih spojin iz korenin solate zaradi poškodb korenin, ter (4) oceniti vpliv preučenih koreninskih izločkov na vedenje testiranih ogorčic.

## 2 MATERIALI IN METODE DELA

Metodika je opisana v članku Laznik in sod. (2023).

### 3 REZULTATI

#### 3.1. Koncentracije antioksidantov in redoks stanje

Ravni skupne askorbinske kisline so bile bistveno višje v koreninah in listih solate, napadene s strunami. Vendar se delež oksidirane oblike (dehidroaskorbat, DHA) ni bistveno spremenil v primerjavi s kontrolno skupino. Po drugi strani smo opazili bistveno višji odstotek (31 %) oksidirane GSSG v koreninah rastlin, okuženih s strunami, v primerjavi s kontrolno skupino. Prav tako smo opazili trend k višjim ravnom skupnega GSH v koreninah in listih okuženih rastlin, čeprav to ni bilo statistično značilno.

Analiza pigmentov je pokazala spremembe v koncentraciji karotenoidov iz krogotoka ksantofila in premik proti bolj de-epoksidiranemu stanju. To se odraža v pomembnem zmanjšanju koncentracije violaksantina za 11 % in povečanju ravni zeaksantina za 21 % v listih solate, katerih korenine so poškodovale strune. Poleg tega smo opazili spremembe v vsebnosti klorofila, ki jih povzročajo poškodbe korenin s strunami. Vsebnost klorofila a + b se je bistveno zmanjšala za 19 % kot odziv na napad s strunami, medtem ko se je razmerje med klorofilom a in klorofilom b premaknilo v korist klorofila b.

565

#### 3.2. Analiza hlapnih organskih spojin v koreninah solate

Analiza hlapnih spojin v koreninah solate je pokazala prisotnost različnih spojin iz različnih kemijskih razredov, pri čemer so se ravni teh spojin v napadenih koreninah v primerjavi s kontrolno skupino spreminjale glede na spojino ali njen razred. Natančneje, solata, napadena s strunami, je pokazala zmanjšanje ravni nekaterih hlapnih organskih spojin (HOS), vključno z 1,3-bis(1,1-dimetiletil)-benzenom, 3,7,7-trimetil-spiro[5.5]undek-2-enom, dibutil ftalatom in bis(2-etilheksil) ftalatom v primerjavi s kontrolno skupino. Po drugi strani so korenine napadenih rastlin pokazale povečane ravni 2,4-nonadienala.

#### 3.3 Neusmerjeno gibanje ogorčic

Naša študija je pokazala, da so vrsta ogorčic, kemotaktična spojina, temperatura in njihova interakcija pomembno vplivale na gibljivost ogorčic, medtem ko ponovitev ni imela pomembnega učinka. Ogorčici vrst *H. bacteriophora* in *S. feltiae* sta pokazali bistveno višje odstotke IL v zunanjih območjih petrijevok v primerjavi z vrstami *S. carpocapsae*, *O. myriophilus* in *P. papillosa*. Spojina 2,4-nonadienal je pokazala največje gibanje ogorčic iz notranjega v zunanji del petrijevok. Druge preučevane snovi niso bistveno vplivale na gibanje ogorčic.

#### 3.3 Usmerjeno gibanje ogorčic

Usmerjeno gibanje ogorčic smo ocenili s pomočjo kemotaktičnega indeksa (KI). Rezultati so pokazali, da so različni dejavniki in njihove interakcije vplivali na vrednosti KI. Pri 18 °C je snov 2,4-nonadienal na ogorčice *H. bacteriophora* in *S. feltiae* delovala kot repelent (KI =  $-0,20 \pm 0,02$  in KI =  $-0,26 \pm 0,02$ ). Vrsta *S. carpocapsae* ni pokazal nobenega vedenjskega odziva na testirane hlapne spojine pri 18 °C. Pri 20 °C je snov 2,4-nonadienal na vse preučevane vrste ogorčic delovala kot repelent.

#### 4 RAZPRAVA

Področje multitrofične komunikacije med podzemnimi deli rastlin, žuželkami in parazitskimi ogorčicami je razmeroma novo raziskovalno področje. Rasmann in sodelavci (2005) so prvi pokazali, da napadeni koreninski deli koruze izločajo hlapne organske spojine (HOS), ki vplivajo na gibanje entomopatogenih ogorčic. (EPN). To je vodilo k razvoju nove veje znanosti, znane kot podzemna multitrofična komunikacija. Nekateri avtorji so dokazali izločanje glutationa (GSH) in askorbata (ASC) iz korenin rastlin v rizosfero (Gullner in sod., 2018).

Naše raziskave so pokazale, da so napadene korenine imele znatno višji odstotek oksidirane glutationa (GSSG), kar kaže na vključenost GSH v obrambnem dialogu med rastlinami in strunami. Analiza pigmentov je pokazala večjo vsebnost zeaksantina in zmanjšanje vsebnosti violaksantina, kar je pomembno za razpršitev presežne energije in zaščito fotosintetskih membran. Povečanje de-epoksidacijskega stanja in skupne vsebnosti ksantofilov kaže na večjo fotoprotekcijo v tilakoidnih membranah. Ko so rastline poškodovane, se količina in kakovost koreninskih izločkov lahko bistveno spremenita. Ena od pomembnih spojin, ki se sprošča, je 2,4-nonadienal, ki se poveča v koreninskih izločkih ob prisotnosti ogorčic. Ta spojina je razširjena v številnih agronomsko pomembnih rastlinah in ima potencialno vlogo v kemijskih komunikacijskih poteh. Nasprotno pa so esteri ftalatov pokazali največje zmanjšanje v okuženih koreninah z ogorčicami.

Naša raziskava je pokazala, da gibanje ogorčic proti različnim HOS iz napadenih korenin solate variira glede na vrsto ogorčic in temperaturo. Snov 2,4-nonadienal je delovala kot repelent na vse preučevane vrste ogorčic, kar poudarja pomembno vlogo koreninskih izločkov pri navigaciji ogorčic.

#### 5 ZAHVALA

To delo je bilo izvedeno v okviru projektov J4-3090 in P4-0431, financiranih s strani Slovenske raziskovalne agencije. Del te raziskave je bil financiran v okviru Stokovnih nalog s področja varstva rastlin, programa financiranega s strani Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano fitosanitarne uprave Republike Slovenije.

#### 6 LITERATURA

Ali J.G.; Alborn H.T.; Stelinski L.L. 2010. Subterranean herbivore-induced volatiles released by citrus roots upon feeding by *Diaprepes abbreviatus* recruit entomopathogenic nematodes. J. Chem. Ecol., 36, 361–368.

- Crespo E.; Hordijk C.A.; de Graff R.M.; Samudrala D.; Cristescu S.M.; Harren F.J.M.; van Dam N.M. 2012. On-line detection of root-induced volatiles in *Brassica nigra* plants infested with *Delia radicum* L. root fly larvae. *Phytochemistry*, 84, 68–77.
- Gullner G.; Komives T.; Király L.; Schröder P. 2018. Glutathione S-Transferase Enzymes in Plant-Pathogen Interactions. *Front. Plant Sci.*, 9, 1836. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01836>
- Laznik Ž.; Trdan S. 2016. Attraction behaviors of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) to synthetic volatiles emitted by insect-damaged carrot roots. *J. Pest Sci.*, 89, 977–984.
- Rasmann S.; Köllner T.G.; Degenhardt, J.; Hiltbold I.; Toepfer S.; Kuhlmann U.; Gershenzon J.; Turlings T.C.J. 2005. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature*, 434, 732–737.