**ACTIVITATEA CHITINAZELOR ÎN FRUNZELE PLANTELOR DE
A. arguta L. CRESCUTE ÎN SERĂ ȘI INFESTATE CU MUSCULIȚA ALBĂ DE
SERĂ (*Trialeurodes vaporariorum*)**

Cauș M., Călugăru-Spătaru T.
Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor
E-mail: mcausmcv@yahoo.com

<https://doi.org/10.53040/9789975347204.02>

Abstract: The activity of chitinases in protein extracts, separated from the male and female leaves of *Actinidia arguta* L., healthy and infested plants by *Trialeurodes vaporariorum*, was analyzed. We found that there were no significant differences in chitinase activity in both male and female leaf extracts of healthy plants. But the enzyme activity in female leaves of infested plants was twice as high as in healthy plants. While in the male leaves, less attacked by the respective pests, only a tendency towards the increase of chitinase activity was observed.

Key words: *Actinidia arguta* L., female and male plants, *Trialeurodes vaporariorum*, chitinase activity.

Introducere

Actinidia arguta reprezintă o plantă horticolă dioică, non - tradițională pentru Republica Moldova, dar care în ultimul deceniu a căpătat o atenție deosebită, fiind introdusă și adaptată în mai multe regiuni (1,3, 15). În Republica Moldova, la Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor pe parcursul a mai multor ani au fost efectuate cercetări vizând elaborarea metodele de multiplicare *in vitro* și adaptarea ulterioară a plantelor de *A. arguta* la condițiile *ex vitro* (2). Una din etapele de adaptare a plantelor la condițiile *ex vitro* o reprezintă cultivarea minibutașilor de *A. arguta* în seră, fiind controlate condițiile de iluminare și umiditate.

În condiții de seră plantele sunt atacate de către musculița albă de seră *Trialeurodes vaporariorum*, un dăunător serios, care se hrănește cu peste 275 de specii de plante diferite, inclusiv o serie de legume, fructe și culturi ornamentale (11).

Ca răspuns la atacurile patogenilor și dăunătorilor în plante are loc inducția biosintezei enzimelor hidrolitice, inclusiv al chitinazelor (4,7,10,13). Activitatea acestor enzime asigură hidroliza chilinelor, care reprezintă polimeri liniari al *N*-acetyl-D-glucosaminei (GlcNAc), ce se conțin în pereții celulari ai fungilor, bacteriilor și insectelor (7). Interesant de subliniat, că deși în plante nu există substratul specific pentru activitatea chitinazelor – chitina, în literatură se aduc date despre implicarea chitinazelor în procesele de creștere și dezvoltare a plantelor la etape diferite de dezvoltare (6,19). Inducere remarcabilă a activității chitinazelor a fost relevată și la acțiunea diferitor agenți abiotici (5,8).

Studiile privind rolul exo- și endochitinazelor în apărarea frunzele și fructelor plantelor de *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* cv. Hayward [A. Chev.] Liartg atid Fergusoti infectate cu *Botrytis cinerea* au demonstrat asocierea activității exochitinazelor în mod constant cu agentul patogen, în timp ce activitatea endochitinazelor a fost asociată cu țesutul vegetal viu (17).

Scopul acestui studiu au constatat în determinarea modificărilor activității chitinazelor din frunzele plantelor de *A. arguta*, crescute în seră în funcție de infestarea cu musculița albă de seră (*Trialeurodes vaporarioru*).

Materiale si metode

Ca obiect de studiu au servit plantele de *Actinidia arguta*, crescute în condiții de seră. Frunzele au fost colectate separat de la plante masculine și plante feminine, plante sănătoase (control, figura 1A) și plante atacate (figura 1B) de către musculița albă de seră *Trialeurodes vaporarioru* (figura 1C).

Activitatea chitinazei din extractele fracțiilor proteinelor solubile, separate din frunzele de *A. arguta* a fost determinată cu utilizarea metodei spectrofotometrice, descrisă în lucrarea (14).

Analiza statistică a datelor s-a efectuat cu ajutorul setului de programe „Statistica7” pentru computer, utilizând Basic Statistics.

Rezultate și discuții

După cum s-a menționat mai sus (7, 12,17) chitinazele joacă un rol important în răspunsul defensiv al plantelor la acțiunea factorilor biotici. În concordanță cu reacția plantelor la factorii respectivi are loc inducția expresiei genelor, responsabile de biosinteza și activarea chitinazelor.

În figura 1 sunt prezentate fotografiile plantelor de *A. arguta* nevătămate (1A) și plantele atacate (1B) de către musculița albă de seră *Trialeurodes vaporariorum* (1C), un dăunător caracteristic culturilor crescute în sere și solarii (16).

Figura 1. Fotografiile plantelor de *Actinidia arguta* L. A: Sănătoase; B: infestate cu musculița albă de seră (*Trialeurodes vaporariorum*)

Atacul musculiței albe micșorează semnificativ ritmul de creștere și dezvoltare al plantelor afectate (16). Invadarea masivă de către musculițele albe de seră a plantelor conduce la uscarea rapidă a acestor din urmă. Principalele simptome care se pot identifica, timpuriu, sunt reprezentate de petele care par a fi de praf sau de funingine, pe partea superioară a frunzelor.

Rezultatele noastre, privind activitatea chitinazelor, extrase din fracția proteinelor solubile din frunzele sănătoase și celor atacate de insecte sunt prezentate în figura 2.

Analizând datele prezentate în figura 2 a măsurării activității enzimactice din extractele vegetale, obținute din frunzele plantelor de *A. arguta* a demonstrat, că nivelul activității chitinazelor este în dependență de gradul de atac de către musculița albă de seră. S-a observat, că frunzele feminine, care au fost atacate la un nivel mult mai mare, decât cele masculine, au manifestat o activitate chitinolitică aproape de 2 ori mai mare, comparativ cu activitatea acestor enzime din frunzele nevătămate (figura 2). În același timp, după cum se poate observa din datele prezentate în figura 2, activitatea chitinazelor în frunzele masculine infestate manifestă numai tendința de majorare nesemnificativă, comparativ cu plantele sănătoase.

Din literatura de referință se cunoaște, că gradul de infestare a plantelor de către musculița albă de seră depinde de regimul de temperatură, umiditate și stadiul de dezvoltare a plantei gazdă (18). De asemenea a fost demonstrat, că un rol important în desfășurarea rezistenței plantelor față de infestarea cu musculița albă de seră *Trialeurodes vaporariorum* revine factorilor vegetativi (11). Planta gazdă răspunde atacului infestărilor prin intermediul producerii metaboliților secundari, care, la rândul său, provoacă inducerea modificărilor în expresia genelor insectelor respective, ce le asigură o mare adaptabilitate pentru o anumită gazdă. Pe de altă parte, studiarea localizării factorilor de rezistență a demonstrat, că factorii de rezistență a plantei gazdă par a fi localizați atât în epidermă / mezofil, cât și în floem (9). A fost înaintată ipoteza, că factorii, întâmpinați de către musculița albă de seră în diferitele straturi de țesut vegetal în timpul sondării, contribuie la acceptarea sau respingerea unei plante gazdă.

Rezultatele investigațiilor (9) au arătat că musculița albă de seră, în mod preferențial, au invadat plantele de roșii de cultură mai des în 80% din repetări, atunci când au fost făcute alegeri libere între două specii de tomate (sălbatică și de cultură). Aceste rezultate relevă faptul, că în roșiile sălbatice este prezent un mod dublu de rezistență împotriva *T.*

vaporariorum: i) post-penetrare, un mecanism de rezistență pre - floem și ii) un factor localizat în floem (9).

Figura 2. Activitatea chitinazelor în frunzele plantelor de *Actinidia arguta* L. crescute în condiții de seră, în dependență de sex și infestarea cu musculița albă de seră (*Trialeurodes vaporariorum*)

Rezultatele noastre, vizând nivelul activității chitinazelor în extractele proteice, separate din frunzele plantelor sănătoase masculine și feminine de *Actinidia arguta* L. n-au demonstrat diferențe semnificative. Dar, diferențele semnificative dintre nivelul activității chitinazelor plantelor feminine și celor masculine infestate (figura 2), atestă faptul, că mecanismul de rezistență a plantelor masculine infestate diferă de cel al plantelor feminine. Probabil, că în plantele masculine are loc activarea unor factori, ce determină renunțarea insectelor respective de a invada frunzele masculine.

Așa dar, se poate conclud, că gradul de atac a frunzelor feminine de *A. arguta* de către musculița albă de seră *Trialeurodes vaporariorum* este cu mult mai înalt, comparativ cu frunzele masculine. Ca răspuns la infestarea cu musculița albă de seră în frunzele plantelor feminine are loc a sporire accentuată a activității chitinazelor.

Bibliografie

1. Bieniek A. Yield, morphology and biological value of fruits of *Actinidia arguta* and *Actinidia purpurea* and some of their hybrid cultivars grown in north-eastern Poland.// Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus, 2012, vol. 11(3), p.117–30.
2. Calugaru-Spataru T., Ivanova R., Dascaluic A. *In vitro* multiplication and cultivation of *Actinidia arguta* in the Republic of Moldova. // Biologia, 2013, vol. 59 (3), p.301–308.
3. Česonienė L, Daubaras R. Investigation of *Actinidia* genus genetic resources at Kaunas Botanical Garden of Vytautas Magnus University.// Vytauto Didžiojo universiteto Botanikos sodo raštai, 2010, vol.14, p.48–54.

4. Cosio. C., Dunand C. Specific functions of individual class III peroxidase genes. // J. Exp. Botany, 2009, vol.60, p.391- 408.
5. Gálusová T., Rybanský L., Mészáros P. et al. Variable responses of soybean chitinases to arsenic and cadmium stress at the whole plant level. // Plant Growth Regul., 2014. DOI 10.1007/s10725-014-9984-y.
6. Gerhardt L.B. et al. *AtchitIV* gene expression is stimulated under abiotic stresses and is spatially and temporally regulated during embryo development. // *Gen. Molec. Biol.*, 2004, vol. 27, p. 118–123.
7. Hietala A.M., et al. Temporal and spatial profiles of chitinase expression by Norway spruce in response to bark colonization by *Heterobasidion annosum*. // Applied and Environ. Microb., 2004, vol. 70, p. 3948–3953.
8. Kikuchi T., Masuda K. Class II chitinase accumulated in the bark tissue involves with the cold hardiness of shoot stems in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). // *Sci. Hort.*, 2009, vol. 120, p.230–236.
9. McDaniel T., Tosh C.R., Gatehouse A.M.R. et al. Novel resistance mechanisms of a wild tomato against the glasshouse whitefly.// *Agron. Sustain. Dev.*, 2016, 36:14. DOI: 10.1007/s13593-016-0351-4.
10. Patil V.R., Widholm J.M. Possible correlation between increased vigor and chitinase activity expression in tobacco // J.Exp.Botany, 1997, vol. 48, (316), p.1943-1950.
11. Pym Adam, Kumar Saurabh Singh , Åsa Nordgren et al. Host plant adaptation in the polyphagous whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, is associated with transcriptional plasticity and altered sensitivity to insecticides.//*BMC Genomics*, 2019, 20:996. Doi.org/ 10.1186/s12864-019-6397-3.
12. Reymond P. et al. Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis*. // *Plant Cell*, 2000, vol. 12, p.707–720.
13. Roby D. et al. Regulation of a chitinase gene promoter by ethylene and elicitors in bean protoplasts // *Plant Physiol.*, 1991, vol. 97, 433-439.
14. Rojas-Avelizapa L.I., Cruz-Camarillo R., Guerrero M.I. et al. Selection and characterization of a proteo-chitinolytic strain of *Bacillus thuringiensis*, able to grow in shrimp waste media.// *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 1999, vol. 15, p. 261-268.
15. Skriptchenko N. State and perspectives of Actinidia culture development in Ukraine. Proceedings of 9th International conference of horticulture, Sep 13–15, 2001; Lednice, Czech Republic, 2001, vol.1, p. 219–223.
16. Tosh C.R., Brogan B. Control of tomato whiteflies using the confusion effect of plant odours. // *Agron. Sustain. Dev.*, 2015, vol. 35, p.183–193.
17. Wurms K., Long P., Greenwood D., Sharrock K., Ganesh S. Endo- and exochitinase activity in kiwifruit infected with *Botrytis cinerea*. // *J. Phytopathology*, 1997, vol. 145, p. 145-151.
18. Yano E. Factors affecting population growth of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae).// *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.*, 1989, vol. 33, p.122-127.
19. Yong-Su Song, Sang-Hyun Lee, Jung-An Jo et al. Changes in activity and isozyme patterns of peroxidase and chitinase in kiwifruit pollen.// *J. Appl. Botany and Food Quality*, 2019, vol. 92, p. 313 – 319.