

ОРУЖИЕ

массового гусеничного поражения



Слева – здоровая гусеница непарного шелкопряда, справа – пораженная вирусом ядерного полиэдроза. Все тело погибшего насекомого представляет собой «мешочек», набитый вирусными частицами. При малейшем касании покровы насекомого разрываются, и содержимое вместе с вирусом растекается по стволу дерева и листьям. При поедании таких листьев здоровые насекомые также могут инфицироваться – так в природе происходит горизонтальная передача вируса.

Фото В. Глупова, И. Дубовского и В. Мартемьянова (ИСиЭЖ СО РАН, Новосибирск)



МАРТЕМЬЯНОВ Вячеслав Викторович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 26 научных публикаций и 1 патента



БАХВАЛОВ Станислав Андреевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патологии насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор более 60 научных публикаций



ИЛЬИНЫХ Александр Васильевич – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патологии насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 78 научных публикаций

Между лесом и насекомыми-вредителями издавна идет нескончаемая и привычная война – война, в которой нет победителей и побежденных. Не так давно на сторону леса стал человек, вооруженный самым эффективным и безопасным оружием – биологическим, созданным с использованием естественных врагов насекомых

Ключевые слова: лесные насекомые-филлофаги, динамика популяций, управление численностью насекомых, вирусные биопрепараты, молекулярно-биологические механизмы популяционной динамики.
Key words: forest defoliators, population dynamics, pest management, viral biologicals, molecular-biological mechanisms of population dynamics

Лес – очень мобильная и чувствительная система, на состоянии которой отражаются различные внешние негативные воздействия: засухи и наводнения, пожары и массовые вырубki, вредители и болезни. Однако это еще и очень устойчивая система: если участок, где произрастал лес, не будет изменен слишком значительно, то он, словно птица феникс, обязательно возродится. При этом такие мощные воздействия, как пожары, иногда даже способствуют быстрому восстановлению леса – такие процессы постоянно происходят в природных экосистемах, не тронутых человеком.

По силе воздействия с пожарами могут сравниться лишь вспышки массового размножения лесных насекомых-вредителей. После массового объедания вегетативных зеленых частей деревьев лес нередко гибнет от болезней, нападения других вредителей и пожаров. Однако для лесных систем, существующих тысячелетия, даже такой урон не является смертельным: пройдет время, и на месте «пепелища» вновь зашумит листва. (Исключениями могут быть, например, реликтовые леса, существующие в исторически «чуждом» для них окружении, в частности сибирские ленточные сосновые боры.)

Но описанная выше картина резко меняется, когда на сцене появляется человек. Людям нужна древесина, парковая зона для отдыха, лес для загородных прогулок... И лесной пожар или нашествие насекомых-вредите-

лей воспринимается нами как покушение на личную собственность.

Массовые виды насекомых-фитофагов и человек находятся в конкурентных взаимоотношениях за кусок «лакомого пирога», каким является лес, и уступать здесь никто не намерен. И если насекомые в качестве аргумента в этой борьбе могут предоставить невероятные адаптивные способности и широкую экологическую пластичность, то человек этим похвастать

не может. Ему остается использовать свое основное оружие – интеллект.

Исследователи из институтов биологического профиля во всем мире изучают стратегии и закономерности поведения наших конкурентов, ищут их «слабое звено», на основе полученных сведений разрабатывают меры, которые позволяют бороться с нашими соперниками, пусть и с переменным успехом.



Этот красавец – половозрелый самец непарного шелкопряда (*Lymantria dispar*). Лучшим диагностическим признаком при определении пола насекомого служит перистое строение антенн. У самок непарного шелкопряда антенны имеют гребенчатое строение, а тело значительно крупнее, чем у самцов. Фото В. Глупова

В России от пожаров ежегодно погибает около 300 тыс. га лесных массивов (Гниненко, Матусевич, 2001). Насекомые-вредители вносят свой «популярный вклад» в цифру общего ущерба, который составляет свыше 10% от площади сгоревших лесов. Причем иногда, например после жарких и сухих летних сезонов, в результате вспышек массового размножения вредителей-насекомых в России погибает до 100–150 тыс. га леса. Наиболее опасными лесными вредителями-филлофагами («пожирателями» листьев и хвои) являются сибир-

ский шелкопряд, непарный шелкопряд, шелкопряд-монашенка, а также рыжий сосновый пилильщик. Все эти насекомые периодически дают крупномасштабные вспышки массового размножения, иногда на площадях, исчисляемых миллионами гектаров. На территории России наибольшие по площади очаги среди дендрофильных насекомых образует непарный шелкопряд: ежегодно за последние 20 лет вспышками массового размножения этого вредителя было охвачено свыше 700 тыс. га лесных массивов



Слабое звено

Быстрому нарастанию численности насекомых-фитофагов может способствовать ряд факторов: погодные условия (высокие температуры, продолжительная засуха), доступность кормового ресурса, снижение численности естественных врагов и т. д. (Исаев и др., 2001).

Наличие в лесной экосистеме функционирующего очага массового размножения насекомых ведет к ее существенному изменению. Так, вследствие *дефолиации* (объедания) листьев деревьев увеличивается интенсивность освещенности и степень воздействия солнечной радиации на обитателей нижнего яруса, что приводит к целому ряду изменений в состоянии и составе остальных элементов лесной экосистемы.

Кроме того, резко увеличившаяся биомасса насекомых является прекрасной кормовой базой для хищников и паразитов. В результате

А вот так выглядят «дети» непарного шелкопряда – личинки старших возрастов. На фото внизу – результат их деятельности на подъеме численности популяции вредителя. Трудно поверить, но эта фотография сделана не в начале мая, а в конце июня. Фото И. Дубовского и В. Мартемьянова





через некоторое время в сообществе возрастает численность естественных врагов насекомых, которые, в конечном счете, снижают плотность насекомых-фитофагов.

К сожалению, процесс саморегуляции экосистем происходит не так быстро, как нам бы этого хотелось, и может сопровождаться гибелью части древостоя – неизбежным следствием естественного отбора. Более того, в местах искусственных лесопосадок, например в лесополосах, равновесие может смещаться в сторону насекомых, и доля погибших деревьев может резко возрастать.

Это явление связано с тем, что лесополосы обычно сажают в местах достаточно низкой естественной облесенности, где условия для деревьев далеки от оптимальных. Результат – угнетение деревьев и, как следствие, снижение их устойчивости к повреждающей деятельности насекомых. Кроме того, монокультура сама по себе зачастую является фактором, способствующим максимальной реализации биотического потенциала вредителей-фитофагов.

Сбор информации из природы для исследователей неизбежно сопряжен с продолжительными маршрутами. Как результат – они в совершенстве освоили многие виды транспорта: от гужевой повозки, что было не редкость в 1980-е, до современных высокопроходимых автомобилей. При этом очень часто ученым-энтомологам приходится работать не только головой. Например, при учете численности насекомых методом околата в основании дерева расстилают полог, площадь которого превышает проекцию кроны. По стволу дерева бьют колотом, а потом считают число упавших на полог насекомых. Этот метод и по сей день стоит на вооружении энтомологов и лесопатологов.

Фото А. Ильиных



Действие всех вышеперечисленных факторов может приводить к значительному усыханию древостоев. Тем не менее растения не являются организмами, совершенно беззащитными перед вредителями. В частности, сотрудники лаборатории патологии насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН на модельной системе «береза повислая – непарный шелкопряд» продемонстрировали увеличение *энтومорезистентности* (сопротивляемости насекомым) дерева после экспериментального удаления его листьев.

Оказалось, что подобный, индуцированный повреждением ответ растений формируется достаточно быстро – в течение нескольких дней, и он может сохраняться более года.

Дерево в «боевой стойке»

Особенно удивителен тот факт, что дерево способно распознавать тип повреждений (механическое удаление листьев либо повреждение в результате питания насекомых) и формировать разный по силе ответ (во втором случае – более мощный) (Walling, 2000). Одним из механизмов повышения энтморезистентности растений является увеличение в листьях содержания некоторых токсичных веществ.

Судя по результатам совместных исследований сотрудников ИСиЭЖ, Университета г. Турку (Финляндия), Центрального сибирского ботанического сада СО АН и Новосибирского института органической химии СО РАН, речь идет о целом ряде веществ фенольной и терпеновой природы (Бахвалов и др., 2009; Мартемьянов и др., 2010). При питании на таких растениях у насекомых происходит подавление детоксицирующей системы, деятельность которой направлена на снятие негативного влияния токсичных соединений на организм, а также увеличение активности свободно-радикальных процессов в кишечнике, оказывающих разрушительное воздействие на клетки и ткани (Мартемьянов и др., 2009). Все это приводит к образованию у насекомых мощного токсикоза, сопровождающегося потерей массы тела, снижением количества и жизнеспособности репродуктивного материала.

Любопытно, что изменения метаболизма растений, вызванные повреждениями, могут оказывать влияние не только на самих вредителей, но и на других членов сообщества. Так, летучие монотерпены, в высоких концентрациях выделяющиеся при повреждении листовой пластинки (Мартемьянов и др., 2010), могут служить химическим сигналом, привлекающим хищников и паразитов к местам питания насекомых-фитофагов (Turlings et al., 1991).

Однако эффективность подобной «самозащиты» растения во многом зависит от условий произрастания последнего, а насекомые-вредители к тому же способ-

ВОЙНА, КОТОРАЯ НЕ КОНЧАЕТСЯ

В лаборатории патологии насекомых новосибирского Института систематики и экологии животных СО РАН работы по изучению взаимоотношений между насекомыми и их инфекционными агентами вирусной, грибной и бактериальной природы были начаты еще в 1960-х гг. (тогда ИСиЭЖ именовался Биологическим институтом). Фундаментальные исследования известного сибирского вирусолога Н. Н. Воробьевой и ее учеников привели к разработке и созданию биологических препаратов на основе бакуловирусов, которые эффективно использовались для борьбы против массовых видов лесных насекомых-филлофагов.

Неоспоримым преимуществом таких препаратов является их высокая экологичность: энтмопатогенные вирусные препараты действуют исключительно на целевой объект и не вредят другим организмам, входящим в экосистему. Более того, внося вирус в популяции массовых видов насекомых, мы тем самым создаем некий резерват этого энтмопатогена внутри популяции самих фитофагов. Это происходит благодаря способности вируса длительное время сохраняться не только в организме хозяина, но и в окружающей среде (почве, стволах деревьев и т. п.) (Cory and Myers, 2003). В результате защитный эффект препарата может сохраняться на протяжении нескольких лет без дополнительных обработок.

Однако благодаря действию естественного отбора с каждым последующим поколением меняются возможности насекомых противостоять инфекционному агенту, что обуславливает необходимость дальнейшего исследования адаптационных способностей насекомых и механизмов функционирования их популяций в меняющихся условиях

ны быстро адаптироваться к изменениям в защитных реакциях своих жертв, в частности, за счет изменения состава ферментов. Поэтому лесные экосистемы, как правило, находятся в состоянии динамического равновесия. Однако влияние хозяйственной деятельности человека (вырубки, обработка химическими пестицидами, высаживание монокультуры и т. д.) нередко нарушает процессы стабилизации, что приводит уже к необратимым последствиям.

Вирусы в белковом коконе

Активную роль в саморегуляции лесной экосистемы играют естественные враги насекомых-фитофагов, в том числе паразитические микроорганизмы. Среди микроскопических «врагов» одни из наиболее распространенных – представители семейства бакуловирусов. В годы массовых вспышек размножения насекомых эти



Энтомопатогенные бакуловирусы имеют очень узкую специализацию по отношению к своему хозяину, поэтому препараты на их основе строго специфичны и безопасны для других организмов. На фото – личинки насекомых-вредителей, погибшие на участках леса, обработанных биопрепаратами (слева – рыжий сосновый пилильщик, справа – непарный шелкопряд). Фото С. Бахвалова, И. Дубовского и В. Мартемьянова

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОРУЖИЕ В ДЕЙСТВИИ

В Институте систематики и экологии животных СО РАН создан и успешно опробован ряд биопрепаратов против насекомых-вредителей на основе бакуловирусов:

Вирин-НШ – препарат против гусениц непарного шелкопряда, представляющий собой концентрированную суспензию из полиэдров вируса (белковых образований с вирусными частицами). Препарат перорального действия, видоспецифичен, при этом вирус способен передаваться от родительского поколения паразита дочернему. Титр препарата – не менее 4×10^9 полиэдров в 1 мл. Для увеличения сроков хранения и повышения устойчивости в природной среде используется добавка цеолита и других природных компонентов. С помощью препарата эффективно обработано 485 тыс. га.

Вирин-ПШМ – препарат против шелкопряда-монашенки. Титр препарата – не менее 4×10^9 полиэдров в 1 мл. По видоспецифичности, биологической эффективности, экологической безопасности и способности к передаче между поколениями вредителя сходен с Вирин-НШ. Применялся при авиационной обработке сосновых насаждений, а также наземной – с помощью аэрозольных генераторов ГАРД-1 и ДАГ-3. Расход препарата при авиа-

ционной обработке составлял 100 мл/га, при аэрозольной – 30 мл/га. Средняя биологическая эффективность составляла 72%.

Вирин-Диприон – препарат против личинок рыжего соснового пилильщика на основе изолята вируса ядерного полиэдроза, выделенного из погибших личинок насекомого в сосновых насаждениях Томской области. Препарат высокоспецифичен и не действует на близкородственные виды насекомых, включая другие виды пилильщиков, пчел, шмелей и др. Титр препарата – 4×10^9 полиэдров в 1 мл. Применяется для защиты сосновых и кедровых насаждений; расход на 1 га – 0,05 л. С помощью препарата уже обработано 270 тыс. га.

Вирин-ГСШ – препарат против гусениц сибирского шелкопряда на основе вируса гранулеза, выделенного из гусениц, погибших в очаге массового размножения в Туве. Препарат высокоспецифичен и не действует на другие виды насекомых и позвоночных животных. Титр препарата – 5×10^9 полиэдров в 1 мл. Используется для защиты пихтовых, лиственничных и кедровых насаждений. Способ внесения препарата схож с вышеперечисленными, расход препарата на 1 га – 0,3 л

вирусы могут вызывать обширные эпизоотии, приводя к гибели свыше трети от общей численности популяции вредителей.

Уникальность бакуловирусов в том, что они образуют особые белковые «тела» – матриксы в виде полиэдров и гранул, которые защищают вирусную ДНК от воздействия неблагоприятных факторов среды. Эти необычные белковые оболочки, в которых содержится несколько вирионов – зрелых вирусных частиц, настолько огромны, что видны в световом микроскопе. (Последнее является большой редкостью для вирусов – организмов, увидеть которые можно лишь с помощью электронной микроскопии.) Такая особенность бакуловирусов значительно облегчает их обнаружение и количественную оценку в организме хозяина.

Известно, что при попадании в пищеварительный тракт насекомого белковая оболочка вируса растворяется под действием щелочной среды кишечника и протеолитических ферментов. Освободившиеся вирионы проникают в клетки кишечника, где и начинают размножаться (Бахвалов, 2001).

У бакуловирусов некоторых видов перепончатокрылых, например рыжего соснового пилильщика, полный цикл размножения вируса начинается и заканчивается в кишечнике. У большинства же других вирусов размножение происходит в два этапа. Сначала в кишечнике образуются вирионы, не включенные в защитную белковую оболочку, которые с током гемолимфы («крови» насекомых) распространяются по всему телу. Размножение продолжается в различных органах и тканях хозяина с последующим заключением вирионов в белковые матриксы. В конце этапа размножения

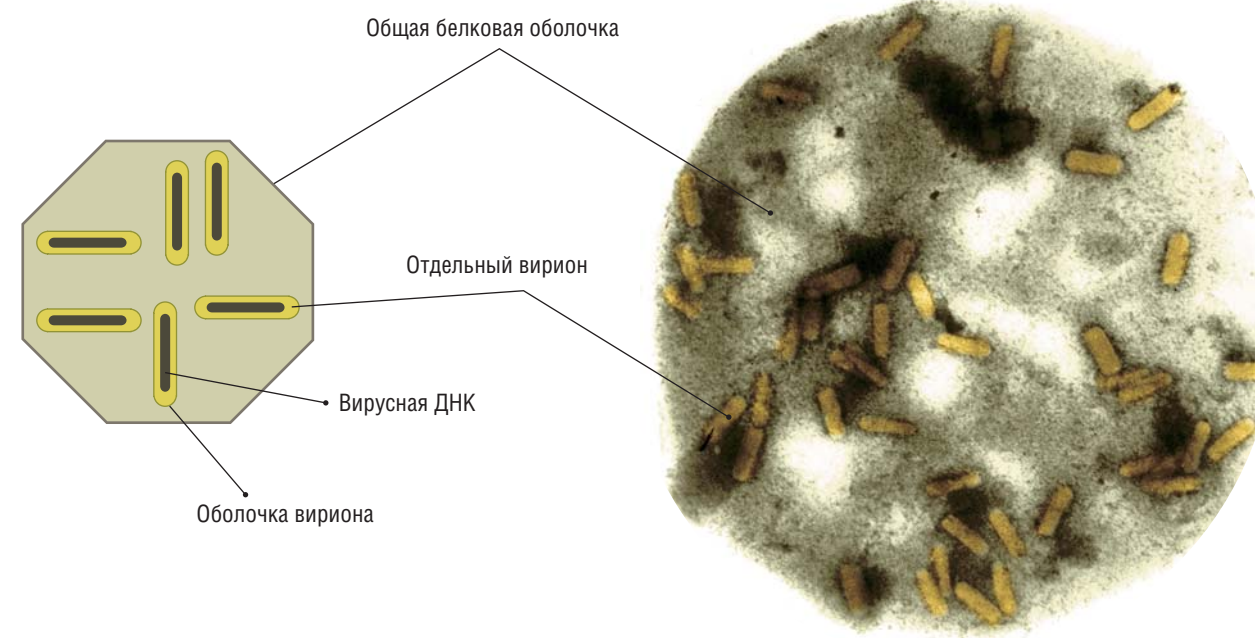
вируса тело насекомого представляет собой просто «мешочек» из покровной кутикулы, заполненной суспензией вирусных частиц, упакованных в белковые матриксы.

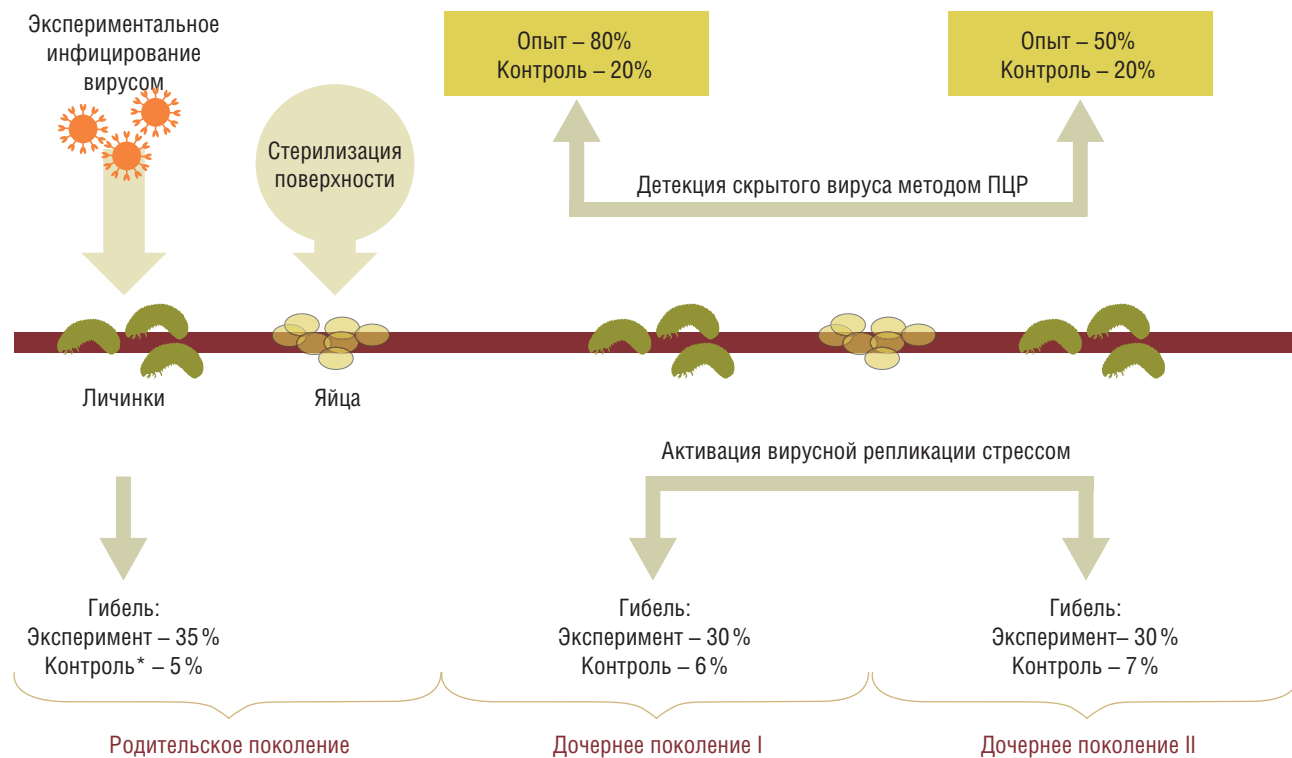
Сибирские исследователи из лаборатории патологии насекомых ИСиЭЖ СО РАН впервые показали, что заражение насекомых может происходить не только через пищеварительный тракт, но и через дыхательную систему (Бахвалов и др., 1991). При этом речь идет о вирионах, не заключенных в белковые матриксы. Этот результат означает, во-первых, что вирионы могут распространяться по телу хозяина не только с током гемолимфы, но и по системе трахей и трахеол. Во-вторых, что здоровые насекомые могут заражаться от больных при непосредственных контактах, частота которых в очаге массового размножения может быть очень высока.

За генетической подноготной

Еще одна интересная и полезная для человека особенность бакуловирусов – их способность сохраняться в организме внешне здорового насекомого в скрытом состоянии. При этом число инфицированных особей

Бакуловирусы могут образовывать особые защитные образования – белковые капсулы, содержащие несколько вирионов (зрелых вирусных частиц). На фото справа – вирус ядерного полиэдроза непарного шелкопряда в белковой оболочке. Электронная просвечивающая микроскопия. Фото С. Бахвалова





*В качестве контроля использовались насекомые из естественной популяции, где всегда присутствуют особи – скрытые вирусоносители

может достигать половины от численности популяции (Бахвалов и др., 2002). Более того, в таком состоянии вирус способен передаваться от материнского поколения дочернему (Plyuykh et al., 2004; Ильиных, 2007).

Однако до конца еще не понятно, каким образом вирус способен так долго сохраняться в организме хозяина, не выдавая себя проявлением симптомов болезни. Имеет ли здесь место интеграция геномов вируса и хозяина, т.е. встраивание вирусной ДНК в наследственный материал хозяина, или вирусная ДНК в этих случаях практически «не работает» и реплицируется на очень низком уровне? И если вирус встраивается в геном хозяина, то как происходит восстановление способности вируса к активному размножению?

Некоторые ответы на эти вопросы исследователям из ИСиЭЖ СО РАН удалось получить с использованием современных молекулярно-биологических методов на модели «вирус ядерного полиэдроза – непарный шелкопряд» в совместном исследовании с сотрудниками новосибирского Института молекулярной биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Например, было обнаружено, что вирус способен передаваться от поколения к поколению не только через поверхность яйца при прохождении его через половые пути самки, но и через само его внутреннее содержимое (Ильиных, Ульянова, 2005; Бахвалов и др., 2009б).

Энтомопатогенные бакуловирусы могут передаваться от поколения к поколению разными путями. Дочернее поколение может инфицироваться через оболочку яйца при прохождении его по инфицированным половым путям самки, а также непосредственно через внутреннее содержимое яйца. Это было доказано в экспериментах по экспериментальному заражению насекомых вирусом и последующей стерилизации поверхности яиц. По: (Ильиных, 2007)

Данный факт является аргументом в пользу предположения об интеграции геномов хозяина и паразита, однако окончательно решить этот вопрос можно лишь проведением «на молекулярном уровне» дополнительных экологических исследований. Шагом в этом направлении должно стать полное секвенирование генома вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда. В настоящее время в базе данных NCBI (*Genbank*) имеются лишь расшифровки полногеномных последовательностей ДНК американских изолятов вируса, которые были выделены из непарного шелкопряда, завезенного на североамериканский континент около 150 лет назад.

Молекулярно-генетическая информация относительно бакуловирусов, выделенных из азиатских популяций

Один из способов внесения биопрепаратов – опрыскивание яйцекладок. При выходе из яйца насекомое прогрызает его оболочку, неизбежно заражается и спустя 1–2 недели гибнет. Такой способ обработки очень экономичен, однако менее производителен по сравнению с моторизованными аэрозольными обработками. Поэтому его целесообразно использовать только в небольших локализованных очагах размножения насекомых. Фото А. Ильиных



непарного шелкопряда, отсутствует. Полногеномное секвенирование ДНК азиатских изолятов вируса и сравнение полученных нуклеотидных последовательностей с информацией из базы данных позволит определить консервативные и переменные участки вирусной ДНК. Результаты такого анализа должны облегчить поиск фрагментов ДНК вируса в геноме хозяина.

Первые молекулярно-генетические исследования дали неожиданные результаты. Оказалось, что западно-сибирские изоляты вируса характеризуются низкой вариабельностью гена полиэдрина, который кодирует синтез структурного белка вирусного матрикса (Бахвалов и др., 2010). При этом на фоне высокой консервативности этого гена вирусные изоляты отличаются значительной изменчивостью по своей биологической активности.

Существует точка зрения, хотя и спорная, что азиатская раса непарного шелкопряда в целом более «агрессивна» по сравнению с европейской. Дальнейшие работы по выявлению взаимосвязи между генотипическим и фенотипическим полиморфизмами азиатских изолятов энтомопатогенных вирусов могут, в том числе, привести и к выявлению тех генетических особенностей, которые дают азиатской «расе» преимущество перед европейской.

Несмотря на вмешательство человека в вечное противоборство между лесом и его вредителями, последние не сдают своих позиций. Чтобы добиться эффективного контроля за численностью массовых видов, ученым необходимо не только продолжать исследование естественных процессов в популяции вредителей леса, но и использовать новаторские подходы и новые технологии для искусственного управления ими.

Среди таких современных наукоемких технологий – создание генных конструкций вирусной ДНК, что позволит увеличить биологическую эффективность вируса. И сибирские ученые уже сделали первые шаги в этом многообещающем направлении.

Литература
Бахвалов С.А., Бахвалова В.Н., Чернявская О.А. Инфицирование насекомых бакуловирусами через трахейную систему: первые доказательства // Сибирский биологический журнал. 1991. № 4. С. 41–43.

Бахвалов С.А. Вирозы насекомых / Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты. М.: Круглый дом, 2001. С. 20–75.

Ильиных А.В., Ульянова Е.Г. Латентность бакуловирусов // Изв. РАН. Сер. биологическая. 2005. № 5. С. 599–606.

Исаев А.С., Хлебопрос Р.Г., Недорезов Л.В. и др. Популяционная динамика лесных насекомых. М.: Наука, 2001. 374 с.

Мартемьянов В.В., Бахвалов С.А., Рантала М. Дж. и др. Реакция гусениц непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L., инфицированных вирусом ядерного полиэдроза, на индуцированную резистентность березы *Betula pendula* Roth. // Экология. 2009. № 6. С. 459–464.

Мартемьянов В.В., Домрачев Д.В., Павлушин С.В. и др. Индукция синтеза терпеноидов в листьях березы повислой после ее дефолиации гусеницами непарного шелкопряда // Докл. РАН. 2010. Т. 435. С. 278–281.

Cory J.S. and Myers J.H. The ecology and evolution of insect baculoviruses // Ann. Rev. Ecol., Evolution and Systematics. 2003. Vol. 34. P. 239–272.

Plyuykh A. V., Shternshis M. V., Kuzminov S. V. Exploration into a mechanism of transgenerational transmission of nucleopolyhedrovirus in *Lymantria dispar* L. in Western Siberia. *BioControl*. 2004. Vol. 49. P. 441–454.

Работа выполняется при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 07-04-00776; № 07-04-00870; № 09-04-00767; № 08-04-91116-АФГИР)