

На правах рукописи

ПАВЛУШИН

Сергей Викторович

**ВЛИЯНИЕ ФЕНОЛОГИЧЕСКОГО ВОЗРАСТА ЛИСТЬЕВ БЕРЕЗЫ
ПОВИСЛОЙ (*Betula pendula* Roth.) НА НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА
(*Lymantria dispar* L.) И ТЕЧЕНИЕ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ**

03.02.05 – энтомология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Новосибирск – 2013

Работа выполнена в лаборатории патологии насекомых Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института систематики и экологии животных СО РАН

Научный руководитель: кандидат биологических наук,
Мартемьянов Вячеслав Викторович

Официальные оппоненты: **Пономарев Василий Иванович**,
доктор биологических наук, профессор,
Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Ботанический сад Уро
РАН, заведующий лабораторией
лесовосстановления, защиты леса и
лесопользования

Алексеев Александр Анатольевич,
кандидат биологических наук,
Федеральное государственное
бюджетное учреждения науки Институт
химической кинетики и горения СО
РАН, старший научный сотрудник

Ведущее учреждение: Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-
исследовательский институт защиты
растений Российской академии
сельскохозяйственных наук

Защита состоится 26 декабря 2013 г. в 12 часов на заседании
диссертационного совета Д 003.033.01 при Институте систематики и
экологии животных СО РАН по адресу: 630091, г. Новосибирск, ул.
Фрунзе, 11. Факс: (383) 217-09-73, e-mail: dis@eco.nsc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института
систематики и экологии животных СО РАН.

Автореферат разослан __ ноября 2013 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

кандидат биологических наук



Л.В. Петрожицкая

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследований. Одним из актуальных вопросов энтомологии является изучение популяционной динамики массовых видов насекомых-филлофагов. Известно, что существенный вклад в их популяционную динамику могут вносить кормовые растения. Важно отметить, что данный вклад будет определяться не только количеством, но и качественным составом (химический состав первичных и вторичных метаболитов) кормового ресурса.

Особое внимание исследователи уделяют фенологическим адаптациям насекомых к вегетационному циклу развития кормовых растений. В результате эволюции насекомые-филлофаги приспособились питаться на листьях кормового растения определенной фенологической фазы. Синхронизация жизненного цикла фитофагов и сезонного развития растений позволяет максимально точно «настроить» пищеварительную систему насекомых с целью минимизации затрат на усвоение потребленного корма. Точность данной «настройки» отражается как на скорости накопления питательных веществ, так и на их общем количестве, необходимом для последующего роста насекомых и их полового созревания. Иными словами, при высокой степени синхронизации развития насекомого и его кормового растения фитофаг может в значительной мере реализовать свой биотический потенциал. В свою очередь десинхронизация жизненных циклов фитофагов и растений приводит к обратному эффекту.

К настоящему времени существует большое количество работ посвященных влиянию фенологии кормовых растений на фитофагов (Feeny, 1970; Potter & Kimmerer, 1986; Hunter & Lechowicz, 1992; Quiring, 1992; 1994a Lawrence et al., 1997; Hunter and Elkinton, 2000). Однако до сих пор практически не изучено как изменяется взаимодействие насекомых с энтомопатогенами при асинхронном развитии фитофагов и их кормовых растений. Хотя известно, что патогены являются регулирующим фактором динамики численности фитофагов и их взаимодействие с последними зачастую определяется качеством потребленной фитофагами пищи (Cory, Hoover, 2006). Более того, совершенно отсутствуют работы по оценке влияния фенологической синхронизации на иммунитет насекомых, играющий одну из ключевых ролей во взаимодействии насекомых и их энтомопатогенов.

Цель исследования – изучить влияние фенологического возраста листьев березы повислой на непарного шелкопряда и течение вирусной инфекции.

Задачи:

1. Изучить влияния листьев березы разного фенологического возраста на непарного шелкопряда;
2. Изучить чувствительность гусениц непарного шелкопряда к вирусу ядерного полиэдроза в зависимости от характера питания и возможность индукции латентной вирусной инфекции при смене пищевого режима;
3. Изучить сопряженность между фенологическими изменениями в составе первичных и вторичных метаболитов в листьях березы и развитием насекомых;
4. Изучить состояние врожденного иммунитета насекомых, развивающихся на листьях березы различного фенологического возраста.

Научная новизна. Полученные нами данные дополняют исследования по фенологической синхронности между кормовыми растениями и их насекомыми-фитофагами. Установлено влияние фенологии листьев кормового растения на онтогенез насекомых и на их взаимодействие с вирусной инфекцией. Впервые показано воздействие фенологической асинхронности на параметры иммунитета насекомых. В частности, получены данные по увеличению активности инкапсуляции и снижению активности фенолоксидазы в плазме насекомых при питании насекомых более зрелыми листьями. Снижение активности фенолоксидазы отрицательно коррелировало со степенью асинхронности (зрелостью листьев). Получены новые уникальные данные по величине активации скрытой бакуловирусной инфекции в гусеницах непарного шелкопряда при питании на зрелых листьях

Практическая значимость. Полученные результаты могут быть использованы для составления прогнозов численности массовых видов лесных филофагов. Сопоставление метеорологических данных для оценки накопления эффективных температур фитофагами и кормовыми растениями позволит спрогнозировать развитие очагов массового размножения фитофагов. Так же существенное повышение чувствительности лесных вредителей к экзогенному инфицированию бакуловирусом при асинхронном развитии фитофагов позволяет

скорректировать дозы биопрепаратов на основе бакуловирусов, используемых в защите леса, а при высоком уровне скрытого вирусносительства в популяциях насекомых вообще оценить целесообразность проведения истребительных мероприятий.

Апробации работы. Материалы, полученные в ходе исследований, докладывались на Международной научной конференции «Фундаментальные проблемы энтомологии в XXI веке» (Санкт-Петербург, 2011) и на Всероссийской конференции с международным участием «Паразитология в изменяющемся мире», организованной в рамках V съезда Паразитологического общества при РАН: (Новосибирск 2013).

Публикации. По результатам исследований опубликовано 5 научных работ, 4 из которых опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 92 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 11 рисунками. Список литературы включает 208 работ, из них 188 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает благодарность сотрудникам лаборатории патологии насекомых ИСиЭЖ СО РАН за помощь на всех этапах исследования. Сотрудникам НИОХ им. Н.Н. Ворожцова СО РАН за проведенный химический анализ листьев березы. Зав. Карасукского научного стационара ИСиЭЖ СО РАН к.б.н. В.А. Шило за неоценимую помощь в организации исследовательских работ на территории стационара.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

В литературном обзоре проанализированы работы, посвященные изучению влияния фенологии листьев кормовых растений на насекомых-фитофагов. Описана динамика физико-химических изменений растений в течение вегетационного периода. Приведены примеры прямого воздействия кормовых растений на насекомых-фитофагов и опосредованного, через изменение взаимодействия между насекомыми и их энтомопатогенами. Охарактеризованы особенности биологии непарного шелкопряда и бакуловирусов. Описаны основные механизмы резистентности насекомых к бакуловирусам. Приводится заключение о том, что для более глубокого понимания воздействия фенологии растения на фитофага, необходимо комплексное изучение его показателей жизнеспособностей, параметров иммунитета и чувствительности к энтомопатогенам.

Глава 2. Материалы и методы

В работе использовались насекомые (непарный шелкопряд *Lymantria dispar* L.), собранные из природной популяции. Диапаузирующие яйца насекомых собирались каждую осень перед весенними экспериментами на территории Свердловской области. До начала экспериментов, хранились при температуре +4°C. Выращивание гусениц непарного шелкопряда происходило в лабораторных условиях, при постоянной температуре +22°C. Насекомые содержались в сосудах и питались на срезанных побегах березы повислой *Betula pendula* Roth. с опытных деревьев. Для экспериментов использовали штамм вируса ядерного полиэдроза *Lymantria dispar* L. (ВЯПД) из коллекции лаборатории патологии насекомых ИСиЭЖ СО РАН, выделенный из природной популяции непарного шелкопряда в одном из очагов его массового размножения в Алтайском крае. Все эксперименты с насекомыми проводились на базе лаборатории патологии насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН, а так же на территории Карасукского стационара ИСиЭЖ СО РАН (53° 44' 0" N, 78° 2' 0" E). Биохимический анализ листьев березы проводился на базе Новосибирский институт органической химии (НИОХ СО РАН).

В эксперименте были использованы деревья березы повислой произрастающие в искусственном лесонасаждении, на территории Карасукского района. Для изучения влияния фенологического возраста листьев березы на параметры непарного шелкопряда, мы задерживали весенний выход насекомых из диапаузы, моделируя десинхронизацию в распускании листьев березы и отрождении гусениц. В экспериментах было создано 5 градаций асинхронности: 0, 5, 10, 15 и 20 суток. Первая группа насекомых (0 суток) выводилась из диапаузы одновременно с началом распускания почек на экспериментальных деревьях, то есть – данная группа была максимально синхронизирована с развитием кормового растения (только что распутившиеся листья являются наиболее оптимальным кормом для молодых гусениц). Последующие группы насекомых выводились из диапаузы с соответствующей задержкой, в результате которой каждая группа насекомых приступала к питанию все более зрелой листвой. Максимальная степень задержки соответствовала полному созреванию листьев на опытных деревьях.

Из популяционных показателей насекомых оценивали среднюю продолжительность развития личиночной стадии, среднюю массу куколок, соотношение полов, суммарная смертность до стадии имаго. Также с использованием световой микроскопии определяли этиологию смертности, в частности смертность от активации скрытой бакуловирусной инфекции. Кроме того, проводили анализ скрытого вирусносительства в изучаемой популяции с использованием ПЦР. Поверхность яиц насекомых предварительно стерилизовали УФ излучением согласно (Burand et al., 1992) для исключения случайной контаминации вирусом и псевдотрансовариальной передачи вируса.

Для проведения анализа иммунологических критериев использовали индивидуальное исследование насекомых. Оценивали активность фенолоксидазы в плазме насекомых, общее количество гемоцитов в плазме и интенсивность инкапсуляции нейлонового имплантата, помещенного в гемоцель насекомого. Все иммунологические критерии состояния организма непарного шелкопряда изучали на гусеницах IV возраста. В этом же возрасте, отдельная часть насекомых заражалась вирусом ядерного полиедроза для оценки восприимчивости к экзогенному инфицированию. Инфицирование насекомых проводили перорально, путем опрыскивания корма суспензией вируса.

Химический анализ низкомолекулярных фенолов в листьях проводился с помощью высокоэффективной жидкостной

хроматографии на обращено-фазовой колонке. Фенолы (флавоноиды и коричные кислоты) были экстрагированы из высушенных листьев нагреванием в водно-этанольной смеси (7:3, v/v) (Zhang & Shen, 2010). Содержание азота в листьях было определено с помощью использования CHNS анализа EURO EA-3000 (Ibrahim & Jaafar, 2011). Содержание воды в листьях определяли по разнице массы свежих и лиофилизированных образцов.

Для проверки нормальности распределения данных использовали критерий Шапиро-Уилка. Для оценки динамики концентраций фенолов и азота в листьях *B. pendula* использовался регрессионный анализ. Влияние фенологической асинхронности на вес куколок, скорость развития гусениц, на иммунологические параметры - были оценены с использованием смешанной модели (Martemyanov et al., 2012) в программе SPSS 19.0 (Chicago, IL, USA). Данные по смертности были обработаны однофакторным непараметрическим дисперсионным анализом (Kruskall-Wallis with Dunn's post test) в программе GraphPad Prism 4.0 (GraphPad Software, USA).

3. Результаты и обсуждение

3.1. Динамика фенологических изменений химического состава листьев березы повислой

Результаты химического анализа листьев березы показали, что с фенологическим развитием листа происходит снижение содержания азота и большинства низкомолекулярных фенольных соединений (рис. 1а-г; табл. 1).

Таблица 1 Регрессионный анализ динамики химического состава листьев *Betula pendula* в течение их развития

№	Соединения	<i>n</i>	r^2	<i>r</i>	<i>p</i>
1	Производное гидрокоричной кислоты №1	5	0.910	-0.954	0.012
2	3,4'-Дигидроксипропиофенон - 3-β-D- гликопиранозид (ДГПФГ)	5	0.969	-0.984	0.002

3	Хлорогеновая кислота	5	0.477	-0.691	0.196
4	Производное гидрохикоричной кислоты №2	5	0.596	-0.772	0.126
5	Производное гидрохикоричной кислоты № 3	5	0.981	-0.990	0.001
6	Изомер кумароилхинной кислоты	5	0.982	-0.991	0.001
7	Ферулоилхинная кислота	5	0.296	-0.544	0.343
8	Производное кумароилхинной кислоты	5	0.337	-0.581	0.305
9+10	Мерицетин-3-глюкоронид+ Мерицетин-3-гексозид	5	0.685	-0.828	0.084
11+12	Мерицетин-3-рамнозид+ Мерицетин-3-арабинозид	5	0.684	-0.827	0.084
13+14	Кверцетин-3-глюкоронид+ Кверцетин-3- гексозид	5	0.956	-0.978	0.004
15	Кверцетин-3- арабинозид №1*	5	0.960	-0.980	0.004
16	Кверцетин-3- арабинозид №2*	5	0.893	-0.945	0.015
17	Кверцетин-3- рамнозид	5	0.986	-0.993	<0.001
18	Кемпферол-3-арабинозид	5	0.900	-0.949	0.014
19	Кемпферол -3- рамнозид	5	0.967	-0.983	0.003
20	Кверцетин	5	0.070	-0.265	0.666
21	Кемпферол	5	0.905	-0.951	0.013
22	Апигенин	5	0.966	-0.983	0.003
23	Монометилловый эфир тетрагидроксилированного флавона	5	0.898	-0.948	0.014
24	Диметил эфир тетрагидроксилированный флавоно	5	0.925	-0.962	0.009
25	Триметилловый эфир пентагидроксилированного флавоно	5	0.949	-0.974	0.005
26	Азот	5	0.874	-0.935	<0.001

*арабинозид или арабинофуранозид

жирным шрифтом выделены достоверные регрессии

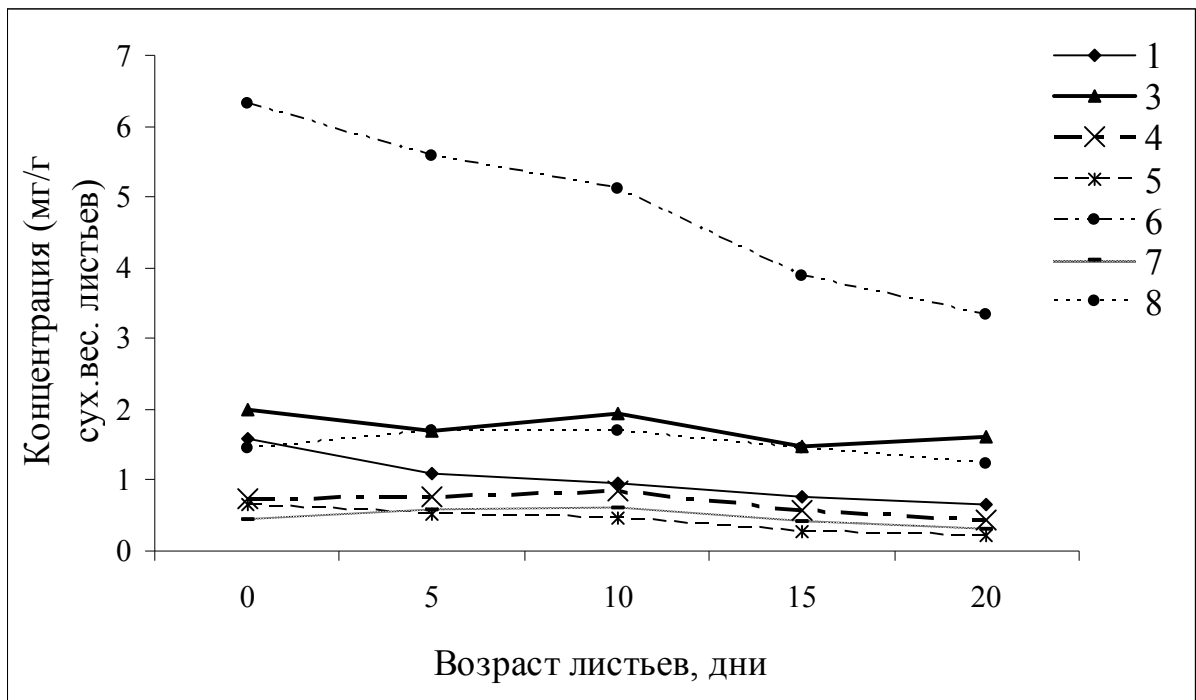


Рис. 1а

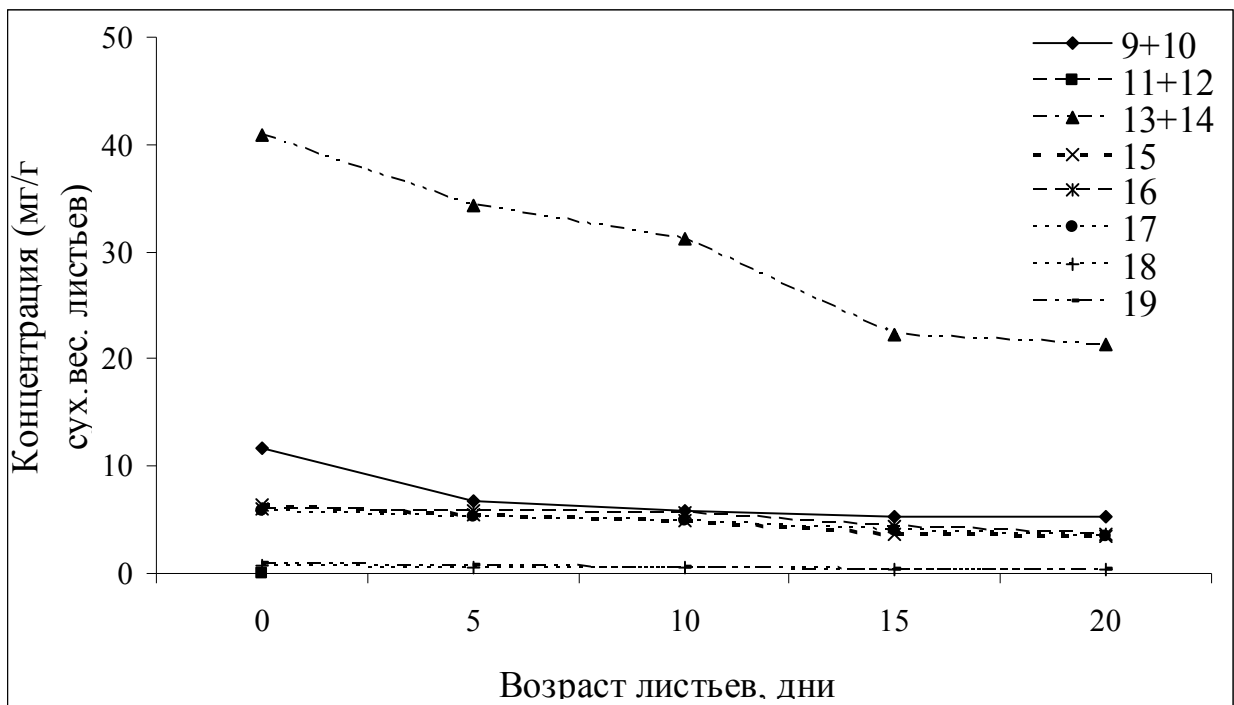


Рис. 1б

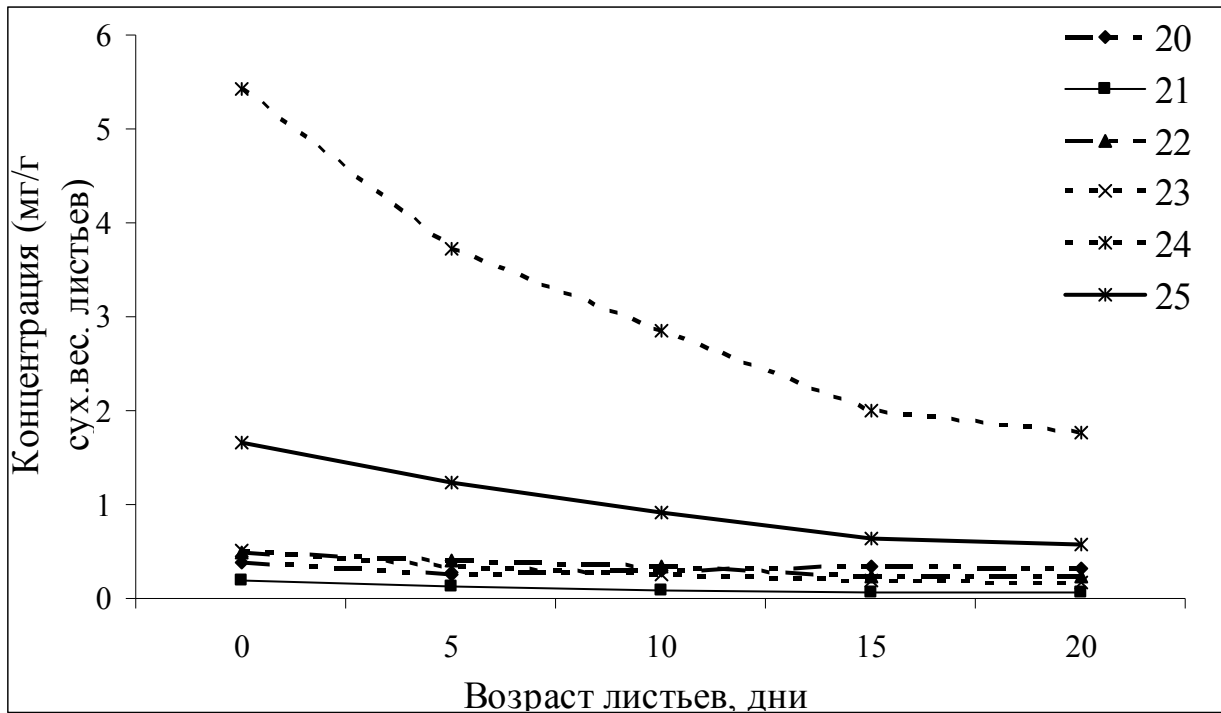


Рис. 1в

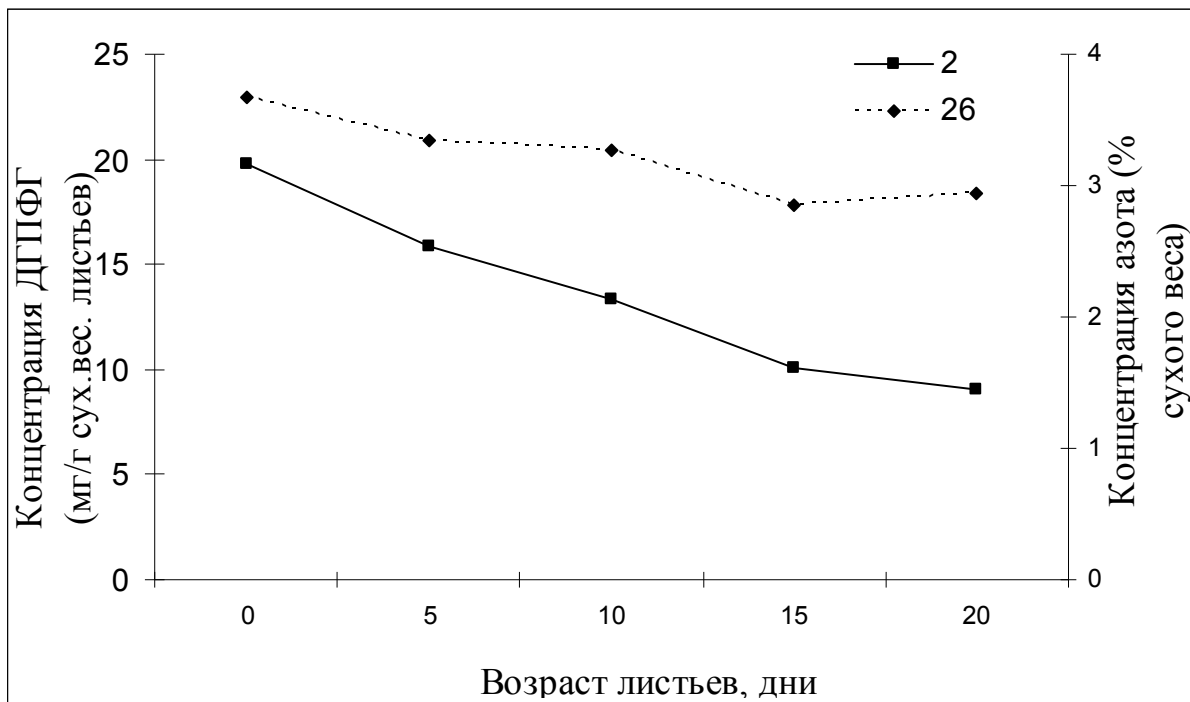


Рис. 1г

Рис.1 Динамика концентраций фенольных кислот (а), гликозидов флавоноидов (б), агликонов флавоноидов (в), ДГПФГ и азота (г) в листьях *V. pendula* в течение 20 дней после начала распускания. Названия соединений приведены в таблице 1 в соответствии с их нумерацией.

Известно, что соединение ДППФГ, которое содержится в относительно большом количестве в березе повислой, оказывает на непарного шелкопряда слабое антифидантное воздействие. Это показано в эксперименте с ИПС, для гусениц четвертых и, в большей, степени первых возрастов (Mori et al., 1992). Также отмечалось повышение его концентрации наряду с увеличением содержания агликонов флавоноидов после дефолиации березы повислой, что свидетельствует о вовлечении данного соединения в индуцированную резистентность этих растений (Keinänen et al., 1999, Martemyanov et al., 2012a,b).

Наши исследования подтвердили работы других авторов, показавшие снижения концентрации агликонов флавоноидов в листьях различных видов берез в процессе развития листьев (Riipi et al., 2002; Valkama et al., 2004). Отталкиваясь от функционального значения агликонов флавоноидов (Lahtinen et al., 2004) можно утверждать, что токсичность листьев березы повислой достаточно быстро снижается.

Отдельно важно отметить в наших результатах снижение азота, как количественного показателя содержания белковых соединений и аминокислот в листьях. Эксперименты, проведенные на красном дубе *Quercus rubra* и сахарном клене *Acer saccharum*, посвященные вопросу важности белковой составляющей кормовых растений для непарного шелкопряда показали первостепенную значимость именно качественного содержания белков (Barbehenn et al., 2013).

3.2. Влияние фенологической асинхронности на показатели жизнеспособности непарного шелкопряда

При десинхронизации отрождения гусениц и распускания листьев березы, продолжительность личиночной стадии, как самцов, так и самок, достоверно увеличивалась, начиная уже с 5 дневного фенологического разрыва (рис.2). В обоих случаях наблюдалось нарастание эффекта вплоть до 10 дневного разрыва. Однако в дальнейшем, степень воздействия фактора асинхронности не увеличивалась.

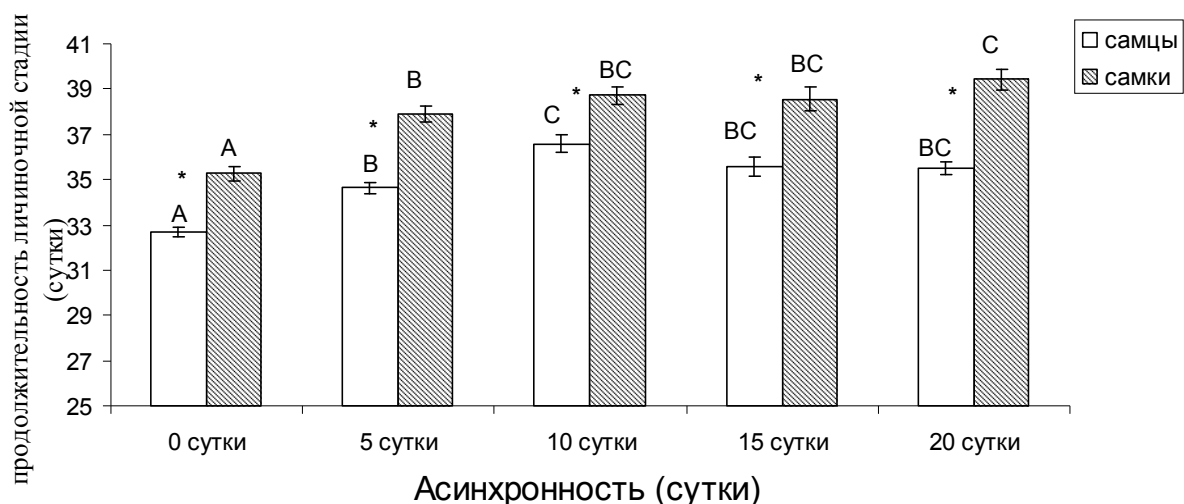


Рис. 2 Воздействие фенологической асинхронности на продолжительность личиночной стадии непарного шелкопряда. Разными буквами обозначены достоверные отличия между сравниваемыми вариантами. Звездочками обозначены достоверные отличия между сравниваемыми полами внутри одного варианта асинхронности ($p \leq 0,05$).

Достоверные различия по массе куколок удалось получить только на самках, начиная с 10 дневного фенологического разрыва (рис.3). Масса куколок самцов достоверно не отличалась.

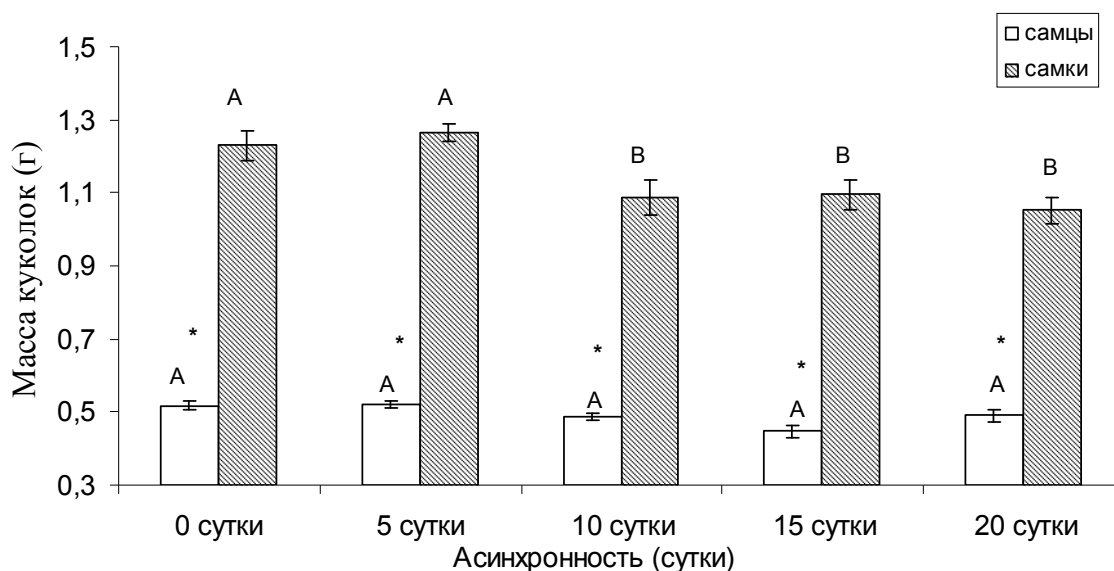


Рис. 3 Воздействие фенологической асинхронности на массу куколок непарного шелкопряда. Разными буквами обозначены достоверные отличия между сравниваемыми вариантами. Звездочками обозначены достоверные отличия между сравниваемыми полами внутри одного варианта асинхронности ($p \leq 0,05$).

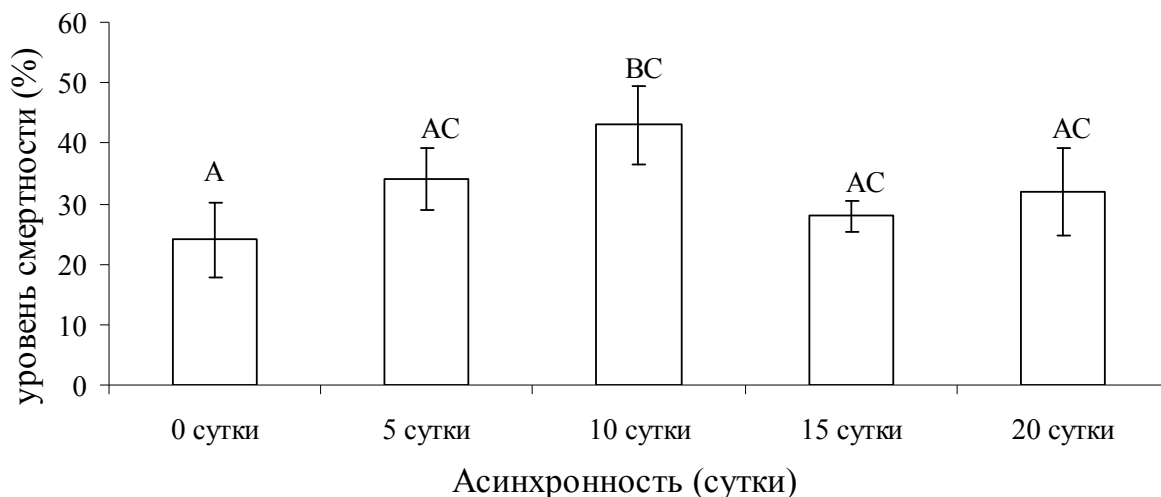


Рис. 4 Воздействие фенологической асинхронности на общую смертность непарного шелкопряда до стадии имаго. Разными буквами обозначены достоверные отличия между сравниваемыми вариантами. ($p \leq 0,05$).

Смертность насекомых достоверно увеличивалась только на 10-е сутки (рис. 4).

Таким образом, наши результаты наглядно показывают важность синхронизации развития между фитофагом и его кормовым растением для критериев популяционной динамики непарного шелкопряда (смертность, масса куколок самок или потенциальная плодовитость).

Подобный феномен был отмечен ранее для непарного шелкопряда, выращиваемого на других видах кормовых растений (Hunter and Lechowicz, 1992; Hunter and Elkinton, 2000). Авторы связывают в своей работе разную предпочитаемость и успешность развития непарного шелкопряда с целым комплексом фенологических особенностей растений (Hunter and Lechowicz, 1992).

В нашей работе, помимо содержания вторичных соединений, оценивался уровень общего азота, как показателя содержания белковых соединений и свободных аминокислот необходимых для жизнедеятельности организма насекомых. Полученные нами результаты, поддерживают взгляды ранних экологических работ (Mattson, 1980), описывающих важность питания на листьях с повышенным содержанием белка для более успешного развития гусениц. Важно подчеркнуть, что в наших результатах фенологическая асинхронность отрицательно воздействовала на массу самок, а не самцов. Известно, что самки непарного шелкопряда

более чувствительны к белковой составляющей кормового субстрата, в виду необходимости накопления белка для формирования яиц (Stockhoff, 1993). Самцы же в меньше степени нуждаются в белковой пище. Полученное снижение общего количества азота, позволяет нам судить об уменьшении содержания белка и аминокислот в листьях по мере их созревания и вытекающем негативном влиянии на массу сформированных куколок самок. Увеличение продолжительности личиночной стадии позволяет судить о вкладе фенологии растения во взаимоотношения с естественными врагами. При увеличении уязвимого период хозяина для паразитических энтомофагов и патогенов (фаза личинки), повышается вероятность контакта с последними, что будет влечь за собой увеличение смертности фитофагов в условиях естественного биотопа (Lawton and McNeill 1979, Price et al. 1980, Schultz 1983, Benrey and Denno 1997).

3.3. Влияние фенологической асинхронности на параметры иммунитета непарного шелкопряда

При увеличении фенологического разрыва, было получено снижение фенолоксидазной (ФО) активности в лимфе самок фитофагов (рис.5). Более того, данное снижение носило закономерный характер ($n=5$; $r^2=0.88$, $r = -0.94$, $P = 0.018$, для самок; $n=5$, $r^2=0.77$, $r = -0.88$, $P = 0.050$, для самцов). Данная закономерность проявлялась независимо от содержания белка в плазме гемолимфы гусениц. Так же необходимо отметить достоверное различие в активности ФО между самками и самцами ($F_{1,6}=12.46$, $P=0.013$ ΔЕ/мин/мкл плазмы, $F_{1,621}=3.322$, $P=0.069$ ΔЕ/мин/мг белка).

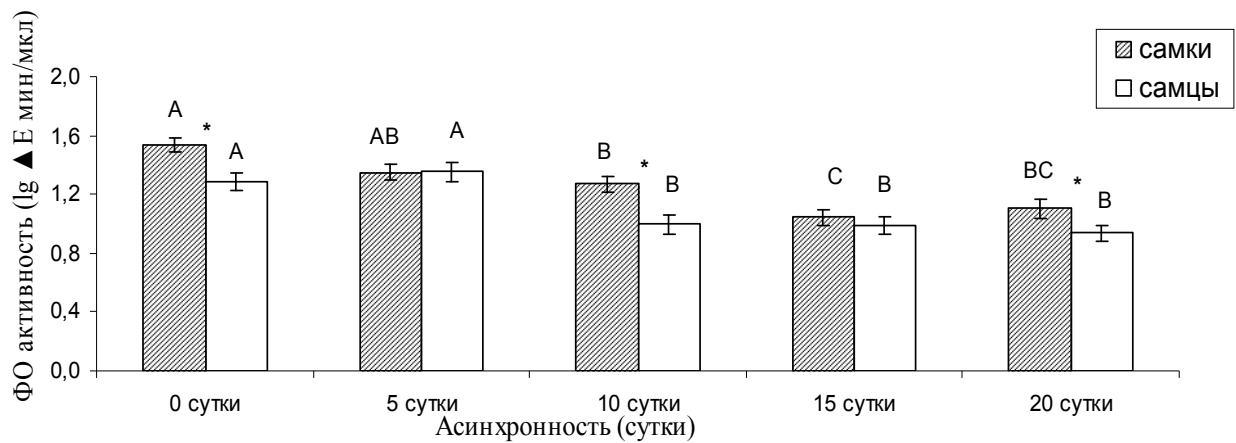


Рис. 5 Воздействие фенологической асинхронности на ФО активность в лимфе гусениц. Активность представлена в пересчете на 1 мкл плазмы. Разными буквами обозначены достоверные отличия между сравниваемыми вариантами. Звездочками обозначены достоверные отличия между сравниваемыми полами внутри одного варианта асинхронности ($p \leq 0,05$).

Активность инкапсуляции при десинхронизации, напротив, увеличивалась, начиная с 5 дневного фенологического разрыва. Данные изменения наблюдались как у самок, так и у самцов (рис. 6).

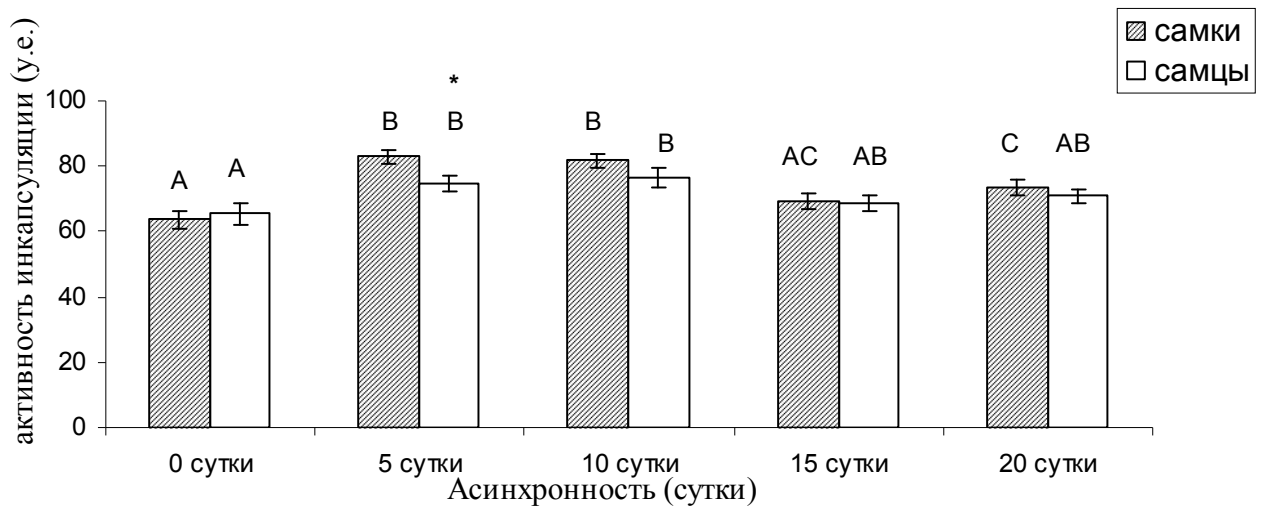


Рис. 6 Воздействие фенологической асинхронности на активность инкапсуляции. Обозначения то же, что и в рис. 5.

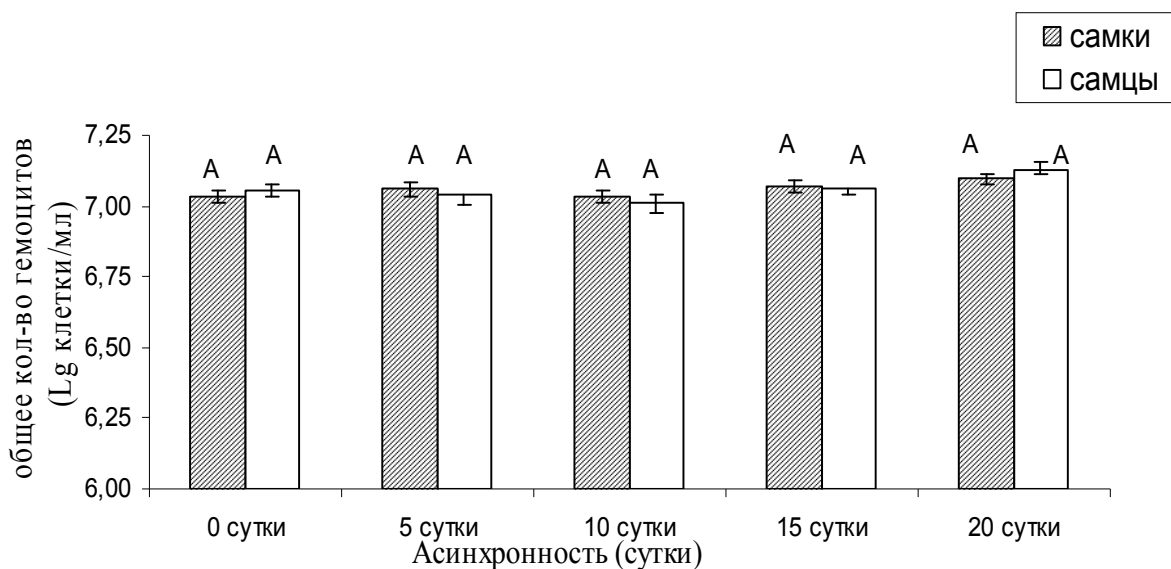


Рис. 7 Воздействие фенологической асинхронности на общее количество гемоцитов. Обозначения то же, что и в рис. 5.

При учете общего числа гемоцитов в плазме насекомых не было получено достоверных отличий (рис. 7).

В литературе имеются работы, доказывающие влияние качественного состава корма (состав как первичных, так и вторичных метаболитов) на показатели врожденного иммунитета насекомых (Oiala et al., 2005; Kapari et al., 2006; Lee et al., 2006; Klemola et al., 2007; Bukovinszki et al., 2009; Smilanich et al., 2009; Martemyanov et al., 2012a, 2012b). Однако, полученные в рамках данного исследования результаты впервые свидетельствуют о влиянии сезонной динамики химического состава листьев на иммунитет насекомых.

Наиболее яркий результат – это закономерное снижение ФО активности в лимфе насекомых, питающихся более зрелыми листьями. Ранее на непарном шелкопряде было показано участие ФО в формировании резистентности к вирусным и бактериальным заболеваниям (Appel and Schultz, 1994; McNeil et al., 2010a,b). Это позволяет предположить о потенциальном воздействии фенологии кормового растения на чувствительность непарного шелкопряда к патогенам. Не исключено что одна из первопричин подобного эффекта является снижение белка в листьях, по мере их созревания. Интересно, что Ли с соавторами (Lee et al., 2006) показали позитивное влияние белкового баланса пищи как на резистентность чешуекрылых к бакуловирусу, так и на активность ФО в плазме гусениц.

3.4. Влияние фенологической асинхронности на чувствительность непарного шелкопряда к вирусу ядерного полиэдроза

Для изучения влияния асинхронности на взаимодействие непарного шелкопряда с вирусом ядерного полиэдроза, были проведены эксперименты как по экзогенному заражению вирусом, так и по определению активации скрытой формы вирусной инфекции.

Было установлено, что с ростом величины фенологической асинхронности, увеличивается смертность непарного шелкопряда при экзогенном заражении вирусной инфекцией (рис.8). Эффект был получен как при низкой дозе заражения (10^4 полиэдров/мл), так и при умеренной (10^6 полиэдров/мл).

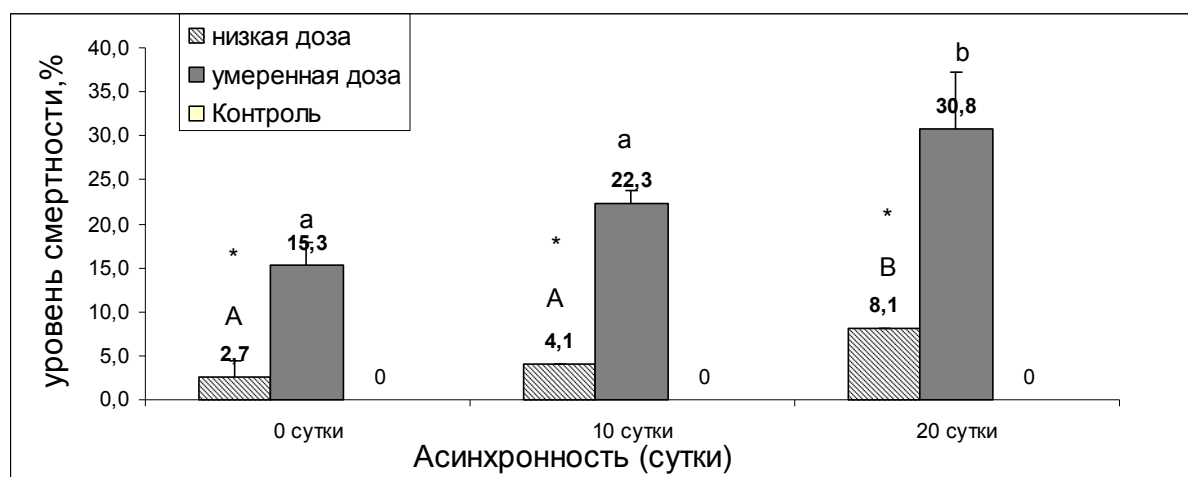


Рис. 8 Влияние фенологической асинхронности на смертность непарного шелкопряда от вирусной инфекции при экзогенном инфицировании. Разными буквами обозначены достоверные отличия между сравниваемыми вариантами. Звездочками обозначены достоверные отличия между разными дозами ($p \leq 0,05$). В контроле смертность от вируса отсутствовала.

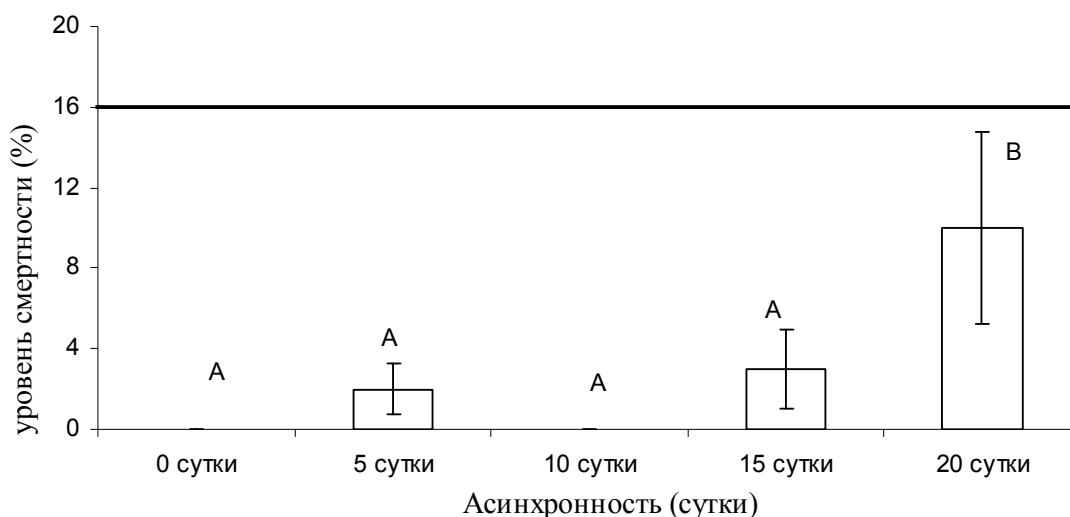


Рис. 9 Воздействие асинхронности на активацию латентной вирусной инфекции на личиночной стадии. Линией обозначен процент вирусоносительства в изучаемой группе насекомых. Разными буквами обозначены достоверные отличия между сравниваемыми вариантами

При изучении этиологии погибших гусениц *неинфицированных* насекомых была зафиксирована активация скрытой вирусной инфекции по мере увеличения асинхронности в развитии насекомых и кормовых растений (рис.9). В группе с максимальной асинхронностью развития, уровень смертности от спонтанного полиэдроза составил 10 %. Результаты ПЦР анализа показали, что в изучаемой популяции непарного шелкопряда уровень вирусоносительства составил 16 %. Следовательно, максимально асинхронно развивающиеся насекомые, несущие в себе скрытый вирус, погибали от спонтанной активации инфекции более чем в пятидесяти процентах случаев.

Заключение

Полученные нами данные подтверждают важное значение фенологической синхронизации для взаимодействия кормовых растений и насекомых-фитофагов.

Было установлено, что фенологический возраст листьев кормового растения оказывает существенное влияние на чувствительность насекомых к энтомопатогенам.

Климатические условия напрямую влияют как на сроки выхода насекомых из диапаузы, так и на сроки распускания диапаузирующих почек деревьев. Ключевым моментом, оказывающим решающее значение для синхронизации, являются сумма эффективных температур. Так, например, для начала развития почек березы, требуется сумма эффективных температур около $+70^{\circ}\text{C}$, при нижнем пороге от $+5^{\circ}\text{C}$. Для весеннего доразвития яиц непарного шелкопряда требуется сумма до $+110^{\circ}\text{C}$, при температуре более $+6^{\circ}\text{C}$ (Ильинский и Тропин, 1965). Температурный режим после отрождения насекомых так же имеет большое значение для успешного поиска кормовых растений, что связано с неспособностью насекомых поддерживать собственную температуру тела (Hunter, 1993).

Для весенних видов массовых фитофагов наиболее оптимальным является питание молодыми листьями. Более раннее отрождение будет приводить к голоданию, более позднее – к питанию листьями с пониженной питательной ценностью (Feeny 1970, Raupp and Denno 1983, Mattson and Scriber 1987). Следовательно, вариабельность в фенологии развития кормового растения может быть одной из причин флуктуации популяционной плотности весенних фитофагов (Embree, 1965; Varley and Gradwell, 1968; Holliday, 1977; Witter and Waisanen 1978; Nothnagle and Schultz 1987; Hunter, 1990, 1991, Watt and McFarlane, 1991).

Ранее было показано, что уровень активности фенолоксидазы может определять чувствительность насекомых к полиэдрозам (McNeil et al., 2010). В настоящей работе впервые показано, что одним из механизмов определяющих изменение чувствительности насекомых к вирусу в результате их питания низкокачественными зрелыми листьями, является изменение базовой активности фенолоксидазы в плазме гусениц. В свою очередь, низкое значение фенолоксидазной активности может определяться снижением белковой ценности зрелых листьев. Полученное увеличение интенсивности инкапсуляции позволяет прогнозировать повышенную резистентность фитофагов к паразитоидам. Не исключено наличие компенсаторного механизма, повышающего резистентность гусениц к инвазии паразитоидами при увеличении длительности личиночной стадии.

Были получены данные по увеличению смертности непарного шелкопряда от инфицирования вирусом ядерного полиэдроза и увеличение активации его скрытой формы у более чем половины вирусоносителей при отставании в развитии насекомых от развития кормового растения. Следовательно, в естественных популяциях

насекомых, при высоком уровне вирусносительства (Бахвалов и др. 2002, 2012), фенологическая асинхронность может быть лидирующим фактором в резком снижении численности насекомых, путем активации латентной вирусной инфекции. При этом увеличенная чувствительность насекомых к экзогенному инфицированию будет способствовать эффективной горизонтальной передаче вируса в популяции хозяина. Не исключено, что именно эти процессы и происходят в спонтанно сформированных эпизоотиях непарного шелкопряда, встречающиеся во многих участках ареала непарного шелкопряда. Существенное снижение репродуктивного потенциала асинхронно развивающейся популяции фитофагов также будет способствовать резкому снижению численности последующего поколения насекомых. Увеличенная продолжительность личиночной стадии (наиболее уязвимая стадия фитофагов для паразитических энтомофагов и энтомопатогенов) будет способствовать более эффективному вкладу паразитов. В случае же с благоприятными климатическими условиями в весенний период и синхронном развитии насекомых и их кормовых растений ситуация будет складываться с точностью до наоборот, что будет способствовать резкому нарастанию численности фитофагов и формированию очагов их массового размножения.

Таким образом, мы показали, что влияние синхронного развития насекомых и растений может выражаться не только в прямом воздействии на насекомых, но и опосредованно через изменение их взаимодействия с энтомопатогенами.

Выводы

1. По мере созревания листьев березы повислой, происходит не только снижение их питательности (содержание белка), но и токсичности (содержание низкомолекулярных фенолов).

2. Питание листьями позднего фенологического возраста снижает скорость развития непарного шелкопряда, массу сформированных куколок самок (потенциальная плодовитость), выживаемость до половозрелой стадии. Однако питание зрелыми листьями не влияет на массу сформированных куколок самцов.

3. При питании непарного шелкопряда зрелой листвой происходит усиление активации латентной бакуловирусной инфекции и увеличение чувствительности гусениц к экзогенному заражению вирусом.

4. Фенологический возраст потребляемых насекомыми листьев оказывает влияние на параметры иммунитета непарного шелкопряда. Активность фенолоксидазы находится в обратной зависимости от степени зрелости потребляемых листьев, в то время как способность инкапсулировать нейлоновый имплантат увеличивается при питании насекомых зрелой листвой.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК:

1. 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. 38(3). P. 295-305.

2. Martemyanov V.V., Dubovskiy I.M., Belousova I.A., Pavlushin S.V., Domrachev D.V., Rantala M.J., Salminen J.-P., Bakhvalov S.A., Glupov V.V. Rapid induced resistance of silver birch affects both innate immunity and performance of gypsy moths: the role of plant chemical defenses // *Arthropod-Plant Interactions.* 2012. 6. P. 507–518.

3. Мартемьянов В.В., Рантала М., Белоусова И.А., Павлушин С.В., Шаталова Е.И., Бахвалов С.А. Влияние замедленной индуцированной резистентности березы на развитие непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) и на его чувствительность к вирусной инфекции // *Евразиатский энтомологический журнал.* 2006. 5(2). С. 105-110.

4. Мартемьянов В.В., Домрачев Д.В., Павлушин С.В., Белоусова И.А., Бахвалов С.А. Ткачев А.В., Глупов В.В. Индукция синтеза терпеноидов в листьях березы повислой после ее дефолиации гусеницами непарного шелкопряда // *Доклады Академии наук.* 2010. 435(2). С. 278-281.

Материалы конференций:

Павлушин С.В., Мартемьянов В.В., Дубовский И.М., Шокорова Н.С. Липофильные флавоноиды как один из факторов химической защиты березы против гусениц непарного шелкопряда // *Материалы международной научной конференции «Фундаментальные проблемы энтомологии в XXI веке»* СПб: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 2011.