

На правах рукописи

БЕЛОУСОВА

Ирина Анатольевна

**ВЛИЯНИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНТОМОРЕЗИСТЕНТНОСТИ
КОРМОВОГО РАСТЕНИЯ (*Betula pendula* Roth.) НА
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА
(*Lymantria dispar* L.) И ЕГО ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К
ПАРАЗИТАМ**

03.02.05 – энтомология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Новосибирск – 2014

Работа выполнена в лаборатории патологии насекомых федерального государственного бюджетного учреждения науки Института систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук.

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Глунов Виктор Вячеславович

Официальные оппоненты: **Пономарев Василий Иванович**,
доктор биологических наук, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический сад Уро РАН, лаборатория лесовосстановления, защиты леса и лесопользования, заведующий лабораторией;
Алексеев Александр Анатольевич,
кандидат биологических наук, федеральное государственное бюджетное учреждения науки Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН, лаборатория дисперсных систем, старший научный сотрудник

Ведущее учреждение: федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, г. Санкт-Петербург, Пушкин

Защита состоится 24 февраля 2015 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 и на сайте www.eco.nsc.ru

Автореферат разослан __ января 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Петрожицкая
Людмила Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследований. Среди многообразия взаимоотношений между растениями и насекомыми особое место занимает фитофагия. Для насекомых-фитофагов растения являются источником питательных веществ и энергии, которые необходимы им для увеличения размеров тела, развития, созревания половых продуктов, восполнения энергетических затрат при жизнедеятельности (Яхонтов, 1969). Следовательно, кормовые растения во многом могут определять состояние популяции фитофага. Известно, что химический состав растений не является постоянным. Он может изменяться в ответ на повреждение фитофагами (Larson, 2002; Naukiöja, 2006). Результатом таких изменений для насекомых часто является снижение их жизнеспособности и репродуктивной функции, а соответственно и угнетение популяции. Подобные изменения в растении могут проявляться в тот же сезон, в котором было нанесено повреждение. Это явление носит название быстрой индуцированной энторморезистентности. Также, ответ многолетних растений может проявляться и в последующие вегетационные сезоны, что носит название замедленной индуцированной энторморезистентности. Данное влияние может проявляться не только на самих насекомых, но и распространяться на последующих участников трофической цепи – паразитов (Cory, Hoover, 2006). Это может быть опосредовано или прямым взаимодействием растений и энтормопаразитов или через изменение защитных физиологических механизмов насекомых от паразитов.

Существует множество работ, посвященных взаимодействию насекомых-фитофагов и их кормовых растений (Walling, 2000; Larson, 2002; Naukiöja, 2006; Futuyma, Agrawal, 2012), а также насекомых и их паразитов (Глунов, 2001). Значительно меньшее количество работ описывает взаимоотношения в трехкомпонентной системе: растение – насекомое-фитофаг – паразит (Cory, Hoover, 2006). Однако большинство из них описывает только сам феномен существования взаимодействий внутри этой системы. Единичные исследования, вскрывающие механизмы таких взаимодействий в подавляющем большинстве случаев посвящены сельскохозяйственным видам растений и агроценозам. Остаются практически неизученными механизмы взаимодействия в трехкомпонентных системах естественных биоценозов. В данной работе будет представлена система «*Betula pendula* Roth. – *Lymantria dispar* L. – паразит». Непарный шелкопряд (*L. dispar*) является представителем массовых видов

фитофагов, способным дефолиировать лесные насаждения на площадях в сотни тысяч гектар.

Цель – изучить влияние индуцированной энтоморезистентности кормового растения (*Betula pendula* Roth.) на жизнеспособность непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.), состояние его защитных систем и чувствительность к паразитам.

Задачи:

1) Изучить влияние замедленной и быстрой индуцированной энтоморезистентности, вызванной сильным повреждением кормового растения, на смертность, продолжительность развития личиночной стадии и массу куколок *L. dispar*.

2) Изучить влияние замедленной индуцированной энтоморезистентности, вызванной сильным повреждением кормового растения, на показатели иммунитета личинок *L. dispar* и его чувствительность к паразитам.

3) Оценить состояние ряда физиологических и иммунных параметров личинок *L. dispar* и их чувствительность к паразитам под действием быстрой индуцированной энтоморезистентности кормового растения, вызванной сильным повреждением.

4) Оценить смертность, продолжительность развития личиночной стадии, массу куколок *L. dispar*, состояние иммунитета и чувствительность к паразитам при питании их на слабо поврежденных кормовых растениях в текущем и предыдущем вегетационных сезонах.

Научная новизна. Впервые показано снижение чувствительности фитофага к паразитоидам при его питании на слабо поврежденных в предыдущем году растениях. Впервые показано изменение активности пищеварительных ферментов под действием энтоморезистентности кормового растения для лесных чешуекрылых. Впервые показано влияние индивидуальных особенностей кормового растения на состояние иммунитета насекомых. Определены механизмы воздействия ответа *B. pendula* при дефолиации на *L. dispar* при разных уровнях численности фитофага. Показано, что при высокой численности фитофага энтоморезистентность кормового растения обусловлена в большей степени прямым влиянием на организм насекомого, чем изменением чувствительности к паразитам. Более того, данное влияние сильнее выражено в тот же год, что и было нанесено повреждение, по сравнению со следующим годом.

Практическая значимость. В работе определены растительные аллелохемики, которые потенциально могут оказывать негативное влияние на жизнеспособность *L. dispar*, что в дальнейшем может быть использовано для усовершенствования препаратов для искусственной

регуляции численности фитофага. В частности, возможна разработка новых препаратов с добавлением терпеновых и фенольных соединений для подавления вспышек массового размножения шелкопряда.

Апробации работы. Материалы диссертации были представлены на Международной научной студенческой конференции (Новосибирск, 2009), Международной энтомологической конференции ENTO'09 (Великобритания, Шеффилд, 2009), X Европейском энтомологическом конгрессе (Великобритания, Йорк, 2014).

Публикации. По результатам исследований опубликовано 8 научных работ, 5 из которых в изданиях, рекомендованных ВАК для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста; состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 45 рисунками и 2 таблицами. Список литературы включает 238 работ, из них 212 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность сотрудникам Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН и Университета Турку (Финляндия) за проведение химического анализа листьев, сотрудникам Лаборатории патологии насекомых ИСиЭЖ СО РАН за неоценимую помощь в проведении исследований, к.б.н. В.В. Мартемьянову за неоценимую помощь на всех этапах выполнения диссертационной работы, А.В. Гаврилюк, С.А. Белокобыльскому, В.С. Сорокиной, В.А. Рихтер, Р.Ю. Дудко за помощь в определении паразитоидов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

Глава содержит анализ научных публикаций, посвященных взаимодействию в системе триотрофа «растение – насекомое-фитофаг – паразит». Каждое звено трофической цепи рассмотрено как в рамках всей трехкомпонентной системы, так и в рамках двухкомпонентных систем «растение-насекомое», «насекомое-паразит». Особое внимание уделено разнообразию механизмов энтоморезистентности растений. Дана характеристика объекта исследования – *L. dispar*.

Глава 2. Материалы и методы

В данной работе представлены результаты пяти экспериментов, общая схема которых имела единую структуру. Первый этап экспериментов заключался в контролируемом запуске механизмов энтоморезистентности березы посредством объедания ее личинками

непарного шелкопряда. Второй этап – питание на поврежденных растениях личинок (отличных от личинок первого этапа). Третий – оценка параметров жизнеспособности насекомых второго этапа, оценка активности их защитных механизмов против паразитов, а также фактической чувствительности к разным типам паразитов. Кроме того, еще одна существенная часть этих экспериментов заключалась в оценке концентраций вторичных метаболитов в листьях растений при индукции защитного ответа. На всех этапах эксперимента изучаемые параметры опытных групп растений и насекомых сравнивали с параметрами контрольных групп (березами, не поврежденными непарным шелкопрядом и личинками, питающимися на них).

Три из пяти проведенных экспериментов посвящены изучению системы «*B. pendula* – *L. dispar* – паразит» при **высоких** уровнях численности фитофага. В этих экспериментах моделировались условия, при которых повреждение кроны кормовых растений составляло не менее 75%.

В первом из цикла этих трех экспериментов (Эксперимент №1) моделировалась **замедленная** индуцированная энтоморезистентность *B. pendula*. В качестве модельного паразита в этом эксперименте использовали вирус ядерного полиэдроза *L. dispar*. Именно с этим патогеном нередко связана массовая гибель непарного шелкопряда в условиях его высокой численности в естественных биоценозах (Бахвалов и др., 2010).

Во втором эксперименте (Эксперимент №2) моделировалась **быстрая** индуцированная энтоморезистентность *B. pendula*, вызванная, как и в первом эксперименте, **сильным** объеданием растений личинками непарного шелкопряда.

И в первом и во втором экспериментах насекомые содержались в природных условиях на экспериментальных деревьях, что значительно приближало условия экспериментов к процессам, происходящим в естественных биоценозах.

Оценку концентраций вторичных метаболитов в листьях экспериментальных растений проводили только в вышеописанных двух экспериментах. Были проанализированы фенолы, а также летучие соединения листьев *B. pendula* фенольной и терпеновой природы.

Основываясь на результатах эксперимента №2, в котором было показано, что быстрая индуцированная энтоморезистентность кормового растения приводит к увеличению активности компонента антибактериальной защиты непарного шелкопряда (см. главу 3), был проведен третий эксперимент (Эксперимент №3). Целью его было детальное изучение механизмов антибактериальной защиты насекомых

при действии быстрой индуцированной энтоморезистентности кормового растения. В качестве модельного паразита в этом эксперименте использовали бактерии *Bacillus thuringiensis*. В ходе эксперимента насекомые на протяжении всего периода развития оставались в лабораторных условиях. Данное изменение по сравнению с двумя предыдущими экспериментами позволило существенно снизить гибель насекомых от факторов внешней среды, которая может существенно маскировать менее значимые эффекты.

Другая группа экспериментов была посвящена изучению системы «*B. pendula* – *L. dispar* – паразит» на **низких** уровнях численности непарного шелкопряда. В этих экспериментах повреждение кормовых растений составляло не более 5%. В одном из экспериментов моделировался **замедленный** ответ кормового растения (Эксперимент №4), в другом – **быстрый** (Эксперимент №5). В качестве модельного паразита в этих экспериментах участвовали паразитоиды естественных ценозов. По нашим визуальным наблюдениям на низких уровнях численности непарного шелкопряда именно они играют существенную роль в регуляции непарного шелкопряда в той местности, где проводились эксперименты (юг Западной Сибири).

Во всех экспериментах в качестве критериев жизнеспособности насекомых оценивались следующие показатели: смертность, время развития насекомых до стадии куколки, масса куколок. В работе оценивались следующие физиологические параметры состояния защитных систем насекомого от паразитов: активность инкапсуляции гемолимфы, концентрация гемоцитов в гемолимфе, фенолоксидазная активность лимфы, лизоцим-подобная активность лимфы, фагоцитарная активность гемолимфы, активность неспецифических эстераз в лимфе, лизоцим-подобная активность ткани среднего кишечника, активность протеолитических ферментов в ткани среднего кишечника и его содержимом.

Все данные были проверены на нормальное распределение тестом Колмагорова-Смирнова (Statistica 6.0). При отклонении от нормального распределения для последующей статистической обработки данные логарифмировали (десятичный логарифм) и повторно проверяли тем же методом. Статистическая обработка данных проводилась с использованием следующих методов: однофакторный дисперсионный анализ, двухфакторный дисперсионный анализ, гнездовой дисперсионный анализ, дисперсионный анализ с повторяющимися измерениями, смешанная модель (Statistica 6.0, SPSS 17.0).

Глава 3. Влияние замедленной индуцированной энтоморезистентности, вызванной сильным повреждением кормового растения, на жизнеспособность непарного шелкопряда, параметры иммунитета и чувствительность его к вирусу ядерного полиэдрозам *L. dispar*

В ходе данного эксперимента, не было получено достоверного изменения смертности личинок ($F=0,520$; $P=0,476$) (рис.1) и массы куколок *L. dispar* ($F=1,646$; $P=0,219$) при питании их на опытных деревьях по сравнению с личинками, питающимися на контрольных деревьях. В тоже время было получено увеличение времени развития личинок под действием замедленной индуцированной энтоморезистентности кормового растения ($F=15,9$; $P=0,001$) (рис.2). Увеличение продолжительности развития насекомых потенциально может негативно сказаться на популяции, поскольку с увеличением времени развития увеличивается и вероятность встречи их с естественными врагами, которые постоянно присутствуют в биотопе.

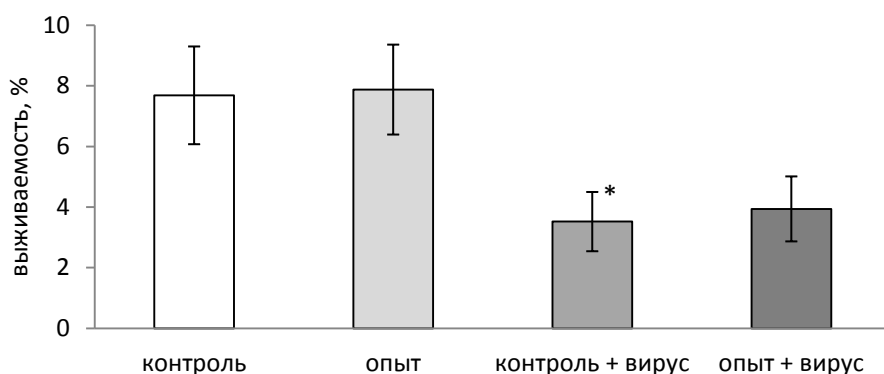


Рис. 1 Влияние замедленной индуцированной энтоморезистентности *B.pendula*, вызванной сильным повреждением кормового растения, на общую выживаемость и чувствительность к вирусу *L. dispar* (* при $P<0,05$).

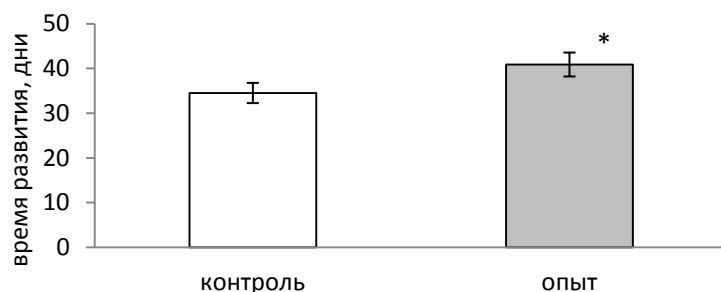


Рис. 2 Влияние замедленной индуцированной энтоморезистентности *B.pendula*, вызванной сильным повреждением кормового растения, на время развития личиночной стадии *L. dispar* (* при $P<0,05$).

В результате питания на поврежденных ранее растениях у личинок достоверно не изменялись активность инкапсуляции нейлонового имплантата ($F=0,025$; $P=0,878$), фенолоксидазная активность лимфы ($F=3,63$; $P=0,077$), концентрация гемоцитов в гемолимфе ($F=2,09$; $P=0,172$). В тоже время было показано увеличение лизоцим-подобной активности лимфы гусениц, питающихся на ранее поврежденных растениях по сравнению с насекомыми, питающимися на контрольных деревьях ($F=51,4$; $P<0,001$) (рис.3). При увеличении времени развития насекомого и, соответственно вероятности встречи его с естественными врагами, вклад ресурсов в увеличение резистентности против паразитов повышает шансы насекомого на выживание. Этот результат согласуется с исследованием Rantala, Roff (2005), которые показали положительную корреляцию между этими двумя показателями для *Gryllus bimaculatus* (продолжительность развития – антибактериальная активность лимфы).

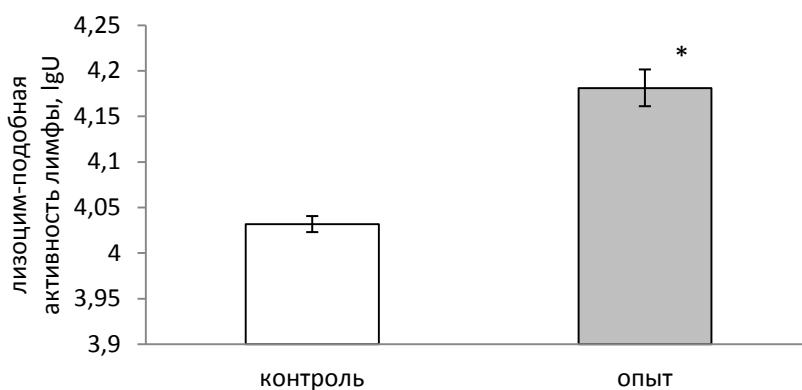


Рис. 3 Влияние замедленной индуцированной энтоморезистентности *B. pendula*, вызванной сильным повреждением кормового растения, на лизоцим-подобную активность лимфы *L. dispar* (* при $P<0,05$).

Что касается влияния замедленной индуцированной энтоморезистентности кормового растения на чувствительность личинок к вирусу ядерного полиэдроза, его обнаружено не было (смертность: $F=0,120$; $P=0,730$) (рис.1). Ранее при моделировании замедленной индуцированной резистентности березы, вызванной искусственными повреждениями, также было показано, что общая смертность гусениц от вируса не изменяется (Мартемьянов и др., 2009). В то время как в работе Hunter, Schultz (1993), при изучении влияния индуцированной резистентности дуба *Quercus rubra* на *L. dispar* было показано снижение чувствительности к вирусу личинок, питающихся на поврежденных растениях. Вероятно, индуцированный ответ разных видов деревьев может по-разному влиять на взаимоотношения между фитофагом и паразитами.

Существенное объедание деревьев *B. pendula* в предыдущем вегетационном сезоне привело к достоверному увеличению в их листьях одного из простых фенолов, одного гликозида флавоноида и двух агликонов флавоноидов. В тоже время концентрация трех гликозидов флавоноидов была значительно ниже в поврежденных растениях. Известно, что агликоны флавоноидов обладают более высокой цитотоксичностью по сравнению с гликозидами (Запрометов, 1993, Meselhy, Hammad, Farag, 2012). Кроме того, увеличение концентрации агликонов флавоноидов в корме может привести к снижению его питательной ценности вследствие связывания агликонами белков пищи, т.к. известно, что агликоны фенольных соединений обладают большей связывающей способностью по сравнению с гликозилированными формами (Сао et al., 2009).

При изучении влияния дефолиации березы непарным шелкопрядом на содержание летучих соединений в листьях, достоверных отличий между вариантами получено не было.

Глава 4. Влияние быстрой индуцированной энтоморезистентности, вызванной сильным повреждением кормового растения, на жизнеспособность непарного шелкопряда и параметры его иммунитета

При питании на листьях, поврежденных в этом же году растений, у личинок непарного шелкопряда увеличивается смертность ($F=7,875$; $p=0.012$) и время развития самок ($F=10.27$; $p=0.005$), снижается масса куколок самок ($F=9.839$; $p=0.007$). В разных исследуемых системах «растение-фитофаг» и в зависимости от вида исследуемого повреждения (искусственные, естественные) эффекты индуцированной резистентности на жизнеспособность насекомых могут проявляться по-разному. Так, в работе Mutikainen с соавторами (2000) при воздействии резистентности березы, индуцированной искусственной дефолиацией, увеличивалось время развития личинок *E. autumnata*, масса куколок не изменялась. В исследовании Roden, Mattson (2008) – снижалась масса куколок самок *L. dispar*, в то время как не изменялось время развития личинок.

В результате питания на поврежденных в текущем вегетационном сезоне растениях у личинок *L. dispar* достоверно не изменялись активность инкапсуляции ($F=3,85$; $P=0,06$), фенолоксидазная активность лимфы ($F=2,22$; $P=0,143$) и концентрация гемоцитов в гемолимфе ($F=0,95$; $P=0,336$). Однако, также как и в случае с замеленной индуцированной энтоморезистентностью, было получено увеличение лизоцим-подобной активности лимфы у личинок, питающихся на

поврежденных растениях по сравнению с лимфой личинок, питающихся на контрольных деревьях ($F=7,83$; $P=0,008$). Кроме того, используемый в данном эксперименте метод статистической обработки данных (Nested ANOVA) дополнительно позволил продемонстрировать существенное влияние индивидуальных особенностей деревьев на показатели иммунитета насекомых, в частности, на активность инкапсуляции ($F=2,18$; $P=0,009$). Тот факт, что иммунологические параметры насекомых в значительной степени зависят от индивидуальных особенностей кормовых растений, может объяснять возникновение вирусных эпизоотий в популяциях *L. dispar* в отдельных колках (в лесостепи Западной Сибири деревья в колке обычно являются вегетативными клонами), а не повсеместно.

Существенное объедание деревьев *B. pendula* в текущем вегетационном сезоне привело к значительному увеличению всех регистрируемых агликонов флавоноидов. Концентрация трех из регистрируемых гликозидов флавоноидов была ниже в опытном варианте по сравнению с контролем. Более того, показана отрицательная корреляция между суммарными концентрациями гликозидов и агликонов флавоноидов, концентрация которых изменилась под действием дефолиации ($r = -0,74$; $P = 0,013$), что указывает на перераспределение ресурсов при синтезе фенолов в сторону накопления более токсичных соединений.

В результате проведенных исследований было показано изменение концентраций летучих веществ в березе под действием существенного повреждения личинками непарного шелкопряда в тот же год, что и было нанесено повреждение. В частности, концентрация линалоола в листьях поврежденных растений была выше по сравнению с концентрацией этого монотерпена в контрольных растениях. Известно, что линалоол может быть одним из составляющих химических сигналов для привлечения самок паразитоидов (Turlings et al., 1991; Chen Fadamiro, 2007). Также в нашем эксперименте при повреждении в листьях *B. pendula* увеличилось содержание гераниола и эвгенола. Ранее было показано, что гераниол способен подавлять питание непарного шелкопряда при его добавлении в искусственную питательную среду (Doskotch et al., 1980). На сегодняшний день отсутствует информация о защитной функции эвгенола, хотя известно, что его содержание может увеличиваться в ответ на действие производного жасмоновой кислоты – фитогормона, участвующего в формировании энтоморезистентности у растений (Li et al., 2007).

Глава 5. Влияние быстрой индуцированной энтоморезистентности, вызванной сильным повреждением кормового растения, на жизнеспособность непарного шелкопряда, физиологические параметры антибактериальной защиты и чувствительность его к бактериям *B. thuringiensis*

При питании на листьях, поврежденных в этом же году растений, у личинок непарного шелкопряда увеличивается смертность (рис.4) и время развития ($F=15,893$; $P=0,003$) (рис.5), снижается масса куколок ($F=19,935$; $P=0,003$) (рис.6).

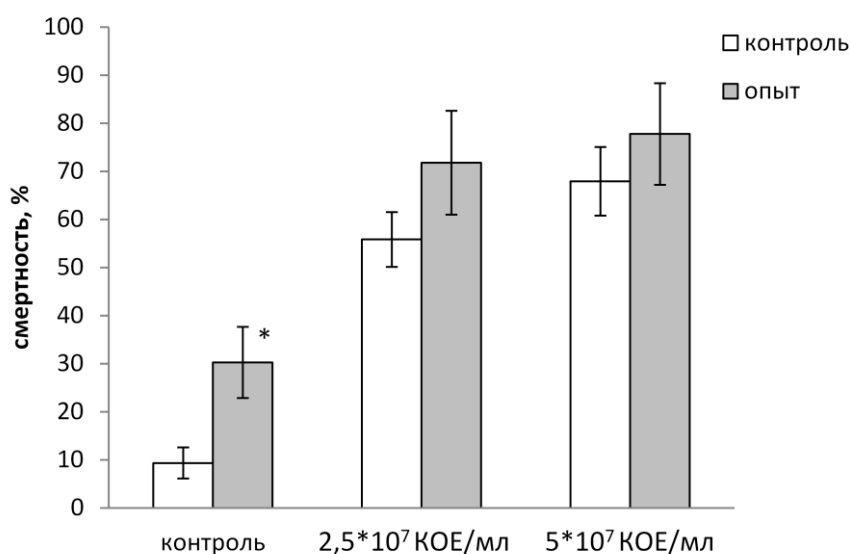


Рис. 4 Влияние быстрой индуцированной энтоморезистентности *B. pendula*, вызванной сильным повреждением кормового растения, на общую выживаемость *L. dispar* и чувствительность к *B. thuringiensis* (*при $P < 0,05$).

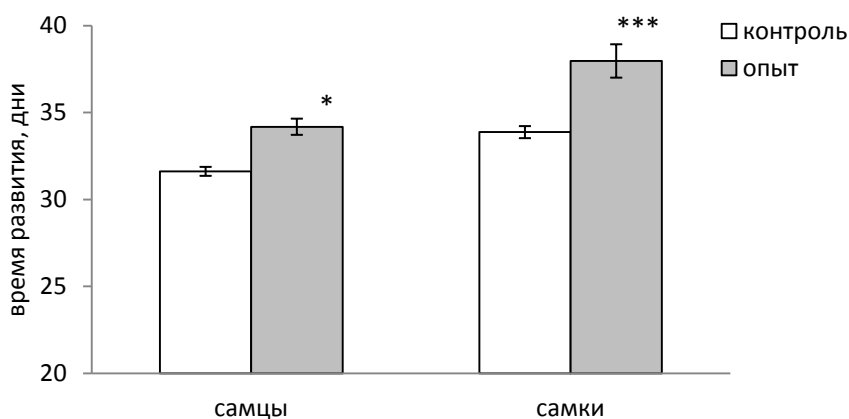


Рис. 5 Влияние быстрой индуцированной энтоморезистентности *B. pendula*, вызванной сильным повреждением кормового растения, на время развития личиночной стадии *L. dispar* (*при $P < 0,05$, *** при $P < 0,001$).

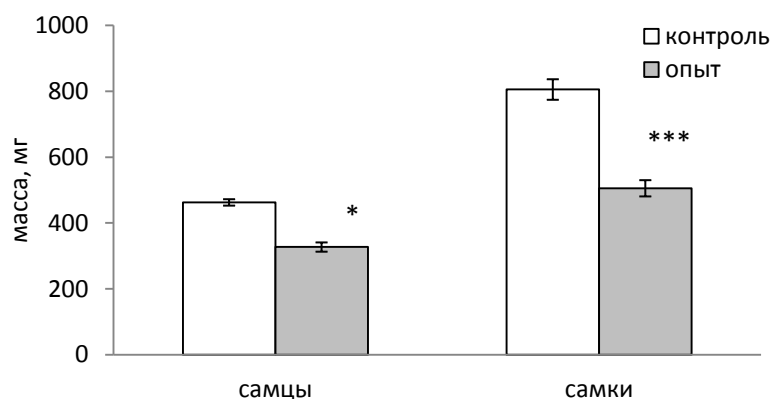


Рис. 6 Влияние быстрой индуцированной энтоморезистентности *B. pendula*, вызванной сильным повреждением кормового растения, на массу куколок *L. dispar* (*при $P < 0,05$, *** при $P < 0,001$).

В результате питания на поврежденных растениях у личинок достоверно увеличивалась активность щелочных протеаз в содержимом среднего кишечника ($F=4,29$; $P=0,04$) (рис.7) и увеличивалось содержание металлотрансферриновых протеолитических ферментов в ткани кишечника ($F=12,67$; $P=0,001$). Эти изменения могут свидетельствовать о компенсаторных механизмах в процессах пищеварения вследствие снижения питательной ценности корма. При снижении массы куколок и увеличении времени развития это может косвенно указывать на антифидантный механизм быстрой индуцированной энтоморезистентности *B. pendula* по отношению к *L. dispar*.

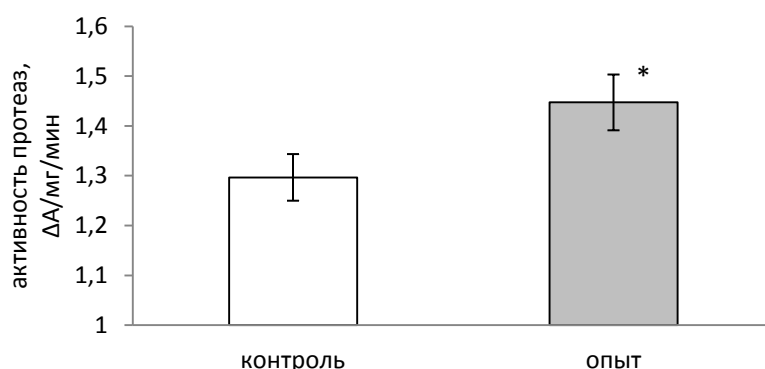


Рис. 7 Влияние быстрой индуцированной энтоморезистентности *B. pendula*, вызванной сильным повреждением кормового растения, на активность щелочных протеаз в содержимом кишечника *L. dispar* (*при $P < 0,05$).

При изучении влияния быстрой индуцированной энтоморезистентности кормового растения на чувствительность к бактериям *B. thuringiensis* достоверных изменений чувствительности у непарного шелкопряда зафиксировано не было («дефолиация»×«заражение»: $F=0,270$, $P=0,768$ для смертности; $F=0,206$, $P=0,816$ для массы куколок самок, $F=0,166$, $P=0,848$ для массы куколок самцов; $F=3,713$, $P=0,065$ для продолжительности развития личинок самок; $F=0,486$, $P=0,627$ для продолжительности развития личинок самцов) (рис.4). Также не было получено достоверных отличий в фагоцитарной активности гемолимфы ($F=0,343$; $P=0,57$), лизоцим-подобной активности ткани среднего кишечника ($F=0,047$; $P=0,83$) и лизоцим-подобной активности плазмы личинок ($F=0,165$; $P=0,69$) непарного шелкопряда между контрольным и опытным вариантами. Достоверное увеличение антибактериальной активности лимфы непарного шелкопряда при питании его на поврежденном в текущем сезоне растении было показано нами в первом эксперименте по изучению влияния быстрой индуцированной энтоморезистентности кормового растения (глава 4). Здесь же мы не получили такого эффекта. Это может быть следствием нескольких причин. На проявление индуцированного ответа кормового растения могло оказать влияние наличия/отсутствия дополнительного фактора влияющего на насекомых – климатического. Экспериментальные насекомые в опыте, где отличий в антибактериальной резистентности у гусениц обнаружено не было, содержались в лабораторных условиях. Экспериментальные насекомые в опыте, где были обнаружены отличия в антибактериальной резистентности у гусениц, содержались в полевых условиях. Два этих эксперимента были проведены на экспериментальных деревьях географически отличных участков. Несмотря на приблизительную выравненность участков (возраст деревьев, их экспозиция, положение относительно лесонасаждения) почвенные условия могли отличаться. Исходя из литературных данных, почвенные условия могут влиять на физиологическое состояние фитофагов через их кормовое растение (Kainanen 1999).

Глава 6. Влияние замедленной индуцированной энтоморезистентности, вызванной *слабым* повреждением кормового растения, на жизнеспособность непарного шелкопряда, параметры иммунитета и зараженность его паразитоидами

Достоверного влияния замедленного индуцированного ответа березы, вызванного *слабым* повреждением, на жизнеспособность насекомых получено не было (смертность: $F<0,001$; $P=0,987$ (рис.8);

время развития: $F=0,083$; $P=0,784$; масса куколок: $F=0,283$; $P=0,614$). Это соотносится с исследованием Hunter, Schultz (1993), где был показан дозо-зависимый эффект дефолиации дуба *Quercus rubra* на *L.dispar*.

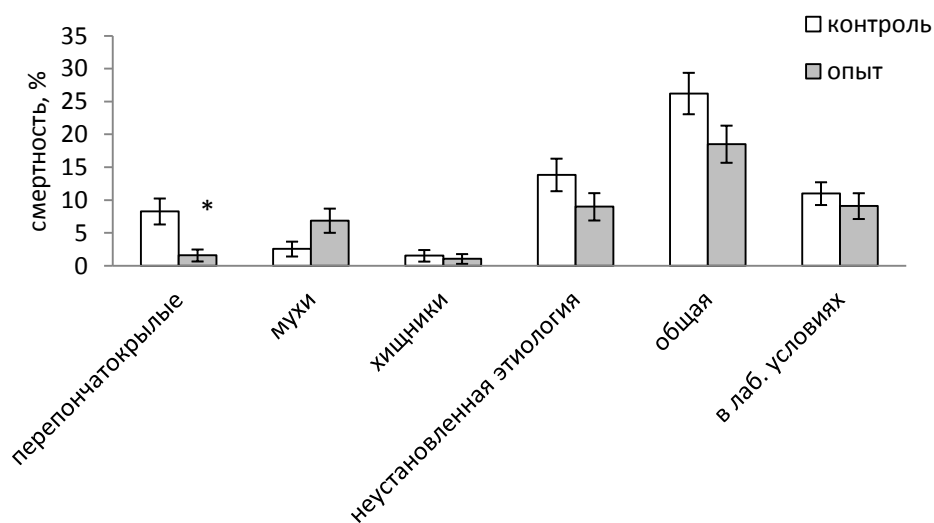


Рис. 8 Влияние замедленной индуцированной энтоморезистентности *B. pendula*, вызванной слабым повреждением кормового растения, на смертность *L. dispar* и чувствительность к паразитоидам и беспозвоночным хищникам (* при $P<0,05$).

Фенолоксидазная активность лимфы ($F=0,001$; $P=0,97$) и концентрация гемоцитов в гемолимфе ($F=0,653$; $P=0,421$) достоверно не отличались между опытным и контрольным вариантами. В результате питания на поврежденных растениях у самок личинок *L. dispar* достоверно увеличивалась активность инкапсуляции гемолимфы ($F_{1,5}=11,379$; $P=0,019$) (рис.9).

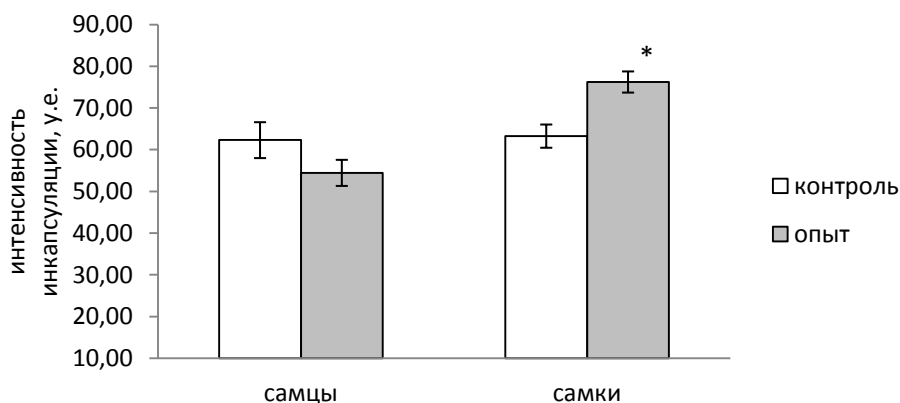


Рис. 9 Влияние замедленной индуцированной энтоморезистентности *B. pendula*, вызванной слабым повреждением кормового растения, на активность инкапсуляции нейлонового имплантата в лимфе *L. dispar* (*при $P<0,05$).

При оценке зараженности паразитоидами непарного шелкопряда в ходе эксперимента были выявлены следующие виды паразитоидов: *Meteorus pulchricornis* Wesmael (Hymenoptera, Brachonidae), *Agria affinis* Fall. (Diptera, Sarcophagidae), *Parasetigena silvestris* R.-D. (Diptera, Tachinidae). Достоверные отличия между вариантами были получены только для смертности от перепончатокрылых ($F_{1,6}=7,0245$; $P=0,038$) (рис.8). Увеличение активности инкапсуляции (одного из основных факторов врожденного иммунитета насекомых, определяющих резистентность к перепончатокрылым) и снижение чувствительности к паразитированию *M. pulchricornis* личинок, питающихся на поврежденных растениях по сравнению с контрольными, несомненно, говорят о существенной роли индуцированного ответа кормового растения в паразит – хозяинных отношениях на низком уровне популяционной плотности хозяина. При низких уровнях повреждений в эксперименте Караги с соавторами (2006), поставленном на *Betula pubescens* и *E. autumnata*, активность инкапсуляции в куколках была также выше у насекомых, питающихся на ранее дефолированных растениях. Авторы этого исследования использовали кладки насекомых, собранные в фазе пика численности, в то время как кладки *L. dispar* собирались на фазе низкой популяционной плотности. Схожесть результата при этих различиях может указывать на общую закономерность ответной реакции среди дендрофильных чешуекрылых вне зависимости от характера питания и условий жизни материнского поколения.

Глава 7. Влияние быстрой индуцированной энтоморезистентности, вызванной слабым повреждением кормового растения, на жизнеспособность непарного шелкопряда, параметры иммунитета и зараженность его паразитоидами

В результате питания на слабо поврежденных растениях у личинок *L. dispar* не изменились время развития ($F=0,619$, $P=0,452$) и масса куколок самцов ($F=1,608$; $P=0,243$). Однако прослеживаются явные тенденции в увеличении времени развития и снижении массы куколок самок *L. dispar*, питающихся листьями с поврежденных деревьев. Активность инкапсуляции имплантата в гемоцеле личинок ($F>0,001$; $P=0,994$), фенолоксидазная активность лимфы ($F=0,25$; $P=0,63$), концентрация гемоцитов в гемолимфе личинок ($F=1,793$; $P=0,214$) достоверно не изменялись под действием быстрого индуцированного ответа березы при слабом повреждении. Быстрый ответ березы не оказывал эффекта на уровень паразитизма, а также смертность.

Заключение

Исходя из полученных данных, механизм действия индуцированной энтоморезистентности березы повислой (*B. pendula*), вызванной сильными повреждениями, по отношению к непарному шелкопряду (*L. dispar*) не связан с изменением чувствительности последнего к паразитам. Вероятно, действие березы обусловлено снижением усваиваемости питательных веществ и увеличением токсичности корма. Об этом свидетельствует увеличение содержания агликонов флавоноидов в листьях поврежденных растений. Со стороны насекомого антифидантный механизм березы проявляется в увеличении времени развития личиночной стадии насекомых, снижении массы куколок, увеличении активности пищеварительных ферментов и различиях в чувствительности разных полов под действием энтоморезистентности кормовых растений, обусловленных физиологическими особенностями их пищеварения.

Кроме того, результаты исследования свидетельствуют о большем проявлении быстрой индуцированной энтоморезистентности растений, чем замедленной. Однако в исследовании С.А. Бахвалова с соавторами (2006) говорится о большем влиянии замедленного ответа. Данные различия в первую очередь связаны с тем, что в исследовании Бахвалова и соавторов оценивалась двукратная сильная дефолиация, т.е. не в чистом виде замедленный ответ, а совокупность замедленного и быстрого ответов на следующий год после первичных повреждений. В нашем же исследовании повторного сильного повреждения дереву не наносилось. Суммируя эти эксперименты, можно говорить о том, что именно быстрая резистентность *B. pendula*, особенно на фоне ответной реакции растения после повреждения предыдущего года (Бахвалов и др., 2006) наиболее эффективно воздействует на состояние непарного шелкопряда.

При низком уровне повреждения березы энтоморезистентность растения не формируется. Более того, при питании шелкопряда на поврежденном в предыдущем вегетационном сезоне растении, он получает выгоду в виде усиления антипаразитарных барьеров. Вероятно, химические соединения, образующиеся в растении при слабом повреждении, могут являться своеобразными «информационными молекулами» для филлофагов, что, в свою очередь, может стимулировать модификацию защитных систем насекомого. Так как в биотопе присутствует постоянный прессинг паразитоидов, то подобные сдвиги будут давать преимущество особям с повышенным уровнем защитных реакций. Такое «использование» насекомыми ответа кормового растения может быть способом ускользания популяции

шелкопряда из-под постоянного прессинга паразитов в биотопе и приводит к резкому увеличению его численности.

Таким образом, данная работа продемонстрировала многогранность ответа березы по отношению к непарному шелкопряду, изменяющегося в зависимости от степени ее повреждения и от сроков нанесения повреждений (текущий или предыдущий вегетационный сезон). Полученные результаты позволяют приблизиться к объяснению закономерностей колебания популяционной плотности непарного шелкопряда в естественных экосистемах. В работе представлена индуцированная энтоморезистентность кормового растения как совокупность изменяемых параметров березы. Для выявления главных детерминант энтоморезистентности необходимо проведение дальнейших экспериментов с тестированием отдельных химических соединений, вовлеченных в индуцированный ответ растения.

Выводы

1) В результате воздействия быстрой индуцированной энтоморезистентности, вызванной сильным объеданием кормового растения *B. pendula*, снижается выживаемость *L. dispar*, увеличивается продолжительность развития личиночной стадии и снижается масса куколок. В результате воздействия замедленной индуцированной энтоморезистентности вызванной сильным объеданием кормового растения, у насекомых увеличивается только продолжительность развития личиночной стадии, выживаемость и масса куколок не меняются.

2) При питании *L. dispar* на растениях, подверженных слабым повреждениям в текущем и предыдущем вегетационных сезонах, показатели жизнеспособности шелкопряда не изменялись.

3) Питание личинок *L. dispar* на растениях, подверженных сильному объеданию в текущем вегетационном сезоне, приводит к увеличению общей активности щелочных протеаз в содержимом их кишечника и увеличению содержания металлозависимых щелочных протеаз в ткани кишечника.

4) При питании *L. dispar* на растениях, подверженных сильным повреждениям в предыдущем вегетационном сезоне, показатели иммунитета не изменяются, за исключением увеличения лизоцим-подобной активности лимфы.

5) Чувствительность личинок *L. dispar* к бактериям *B. thuringiensis* не изменяется под влиянием быстрой энтоморезистентности, вызванной сильным объеданием кормового растения. Чувствительность личинок *L. dispar* к вирусу ядерного полиедроза не изменяется под влиянием

замедленной энтоморезистентности, вызванной сильным объеданием кормового растения.

6) Питание *L. dispar* на растениях, подверженных слабым повреждениям в предыдущем вегетационном сезоне, приводит к увеличению активности инкапсуляции гемолимфы у самок и снижению восприимчивости насекомых к паразитоиду *M. pulchricornis*.

Список публикаций по теме диссертации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК:

1) 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. – С. 507–518.

2) Martemyanov V.V., Dubovskiy I.M., Rantala M.J., Salminen J-P., Belousova I.A., Pavlushin S.V., Bakhvalov S.A., Glupov V.V. 2012 The effects of delay induced response of silver birch on gypsy moth's performance, immune responses and resistance against baculovirus // *Journal of chemical ecology*. – 2012. – 38 (3). – С. 295 – 305.

3) 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.

4) Мартемьянов В. В., Бахвалов С. А., Рантала М. Дж., Дубовский И. М., Шульц Э. Э., Белоусова И. А., Стрельников А. Г., Глупов В. В. Реакция гусениц непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L., инфицированных вирусом ядерного полиэдроза, на индуцированную резистентность березы *Betula pendula* Roth. // *Экология*. – 2009. – 6. – С. 459–464.

5) 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 // *Евразийский энтомологический журнал*. – 2006. – 5(2). – С. 105-110.