

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
ИНСТИТУТ СИСТЕМАТИКИ И ЭКОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ**

На правах рукописи

МАРТЕМЬЯНОВ Вячеслав Викторович

**ВЛИЯНИЕ ДЕФОЛИАЦИИ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ (*BETULA PENDULA*
ROTH.) И АЛЛЕЛОХЕМИКОВ РАСТЕНИЙ НА РАЗВИТИЕ
НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА (*LYMANTRIA DISPAR* L.) И ЕГО
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ВИРУСУ ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА**

03. 00. 09 – энтомология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**



Новосибирск – 2004

Работа выполнена в лаборатории патологии насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН

Научный руководитель: кандидат биологических наук
С.А.Бахвалов

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,
В.И. Пономарев
кандидат сельскохозяйственных наук
И.В.Андреева

Ведущее учреждение: Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений

Защита состоится “8 ” февраля 2005 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 003.033.01 в Институте систематики и экологии животных СО РАН по адресу 630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 11

Отзывы на автореферат диссертации в двух экземплярах, заверенные печатью учреждения, просим направлять по адресу: 630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 11, Диссертационный совет ИСиЭЖ СО РАН. Факс: (3832) 170973, e-mail: mi@eco.nsc.ru

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

Автореферат разослан “25” декабря 2004 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук



А.Ю. Харитонов

2005-4
48919

990456

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Козволюция насекомых и высших растений началась в карбоне, и к настоящему времени между этими группами живых организмов сформировались многосторонние экологические связи. Кормовое растение, как продуцент, может оказывать действие на консументов более высокого порядка, по сравнению с фитофагами, т.е. на их хищников, паразитов и энтомопатогенов [Вилкова, 1979; Hayashiya et al., 1968; Felton, Duffey, 1990; Hoover et al., 1998b]. В результате процессов взаимной коадаптации, как у растений, так и у насекомых появились защитные приспособления, направленные на поддержание целостности вида в условиях окружающей среды [Рубин и др., 1975; Тыщенко, 1986; Шапиро и др., 1986]. К настоящему времени проведено большое количество исследований по изучению морфологических и фенологических приспособлений растений [Рубин и др., 1975; Шапиро и др., 1986 Ирусалимов, 2004], однако, биохимические защитные механизмы изучены в меньшей степени [Kaitaniemi et al., 1998; Cornelissen, Fernandes, 2001 Thaler et al., 2001]. В частности существуют единичные работы по исследованию действия качества кормового растения на состояния детоксицирующей и антиоксидантной систем насекомых [Yu, 1982; Terriere, 1984; Peric-Mataruga, 1997]. Известно, что состояние детоксицирующей и антиоксидантной систем, может существенно влиять на чувствительность насекомого к энтомопатогенам [Серебров и др., 2001; Лозинская и др., 2004; Wang et al., 2001b]. Кроме того, активность и структурный состав детоксицирующей системы насекомых играют значительную роль в детоксикации и элиминации вторичных метаболитов растения, которые определяют уровень энтоморезистентности растения [Yu, 1982; Terriere, 1984; Snyder, Feysereisen, 1992; Yu, 1999]. Установлено, что в ответ на повреждение в тканях растения запускается каскад защитных реакций (быстрая и замедленная индуцированная резистентность), которые могут отрицательно отражаться на состоянии организма насекомого [Kaitaniemi et al., 1998; Bernays, Chapman, 2000; Osier, Lindroth, 2004]. Зачастую данные реакции протекают с образованием свободнорадикальных форм кислорода [Запрометов, 1993; Ahmad, Pardini, 1990; Treutter, 2001]. Также известно, что ряд патогенов может оказывать действие на процессы генерации активированных кислородных метаболитов и на состояние антиоксидантной системы в организме насекомых [Лозинская и др., 2004; Wang et al., 2001b]. Работы по изучению комплексного воздействия кормового растения и энтомопатогенов, в частности вирусов, на состояние антиоксидантных и детоксицирующих систем в организме насекомого до настоящего времени не проводили.

Цель исследования. Изучить воздействие дефолиации березы и аллелохимиков растений на структурные показатели популяции непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.), биохимические аспекты функционирования детоксицирующей и антиоксидантной систем среднего кишечника насекомого и его чувствительность к вирусу ядерного полиодроза.

Задачи исследования.



1. Изучить течение деструктивных процессов и размножение вируса в клетках кишечника, а также других органов гусениц непарного шелкопряда при заражении их сублетальными дозами патогенна.
2. Исследовать воздействие таниновой кислоты и вируса ядерного полиэдроза на структурные показатели популяции непарного шелкопряда и на состояние детоксицирующей и антиоксидантной систем среднего кишечника фитофага.
3. Изучить воздействие замедленной резистентности березы *Betula pendula* Roth. индуцированной ее дефолиацией и вируса ядерного полиэдроза на структурные показатели популяции непарного шелкопряда и на состояние детоксицирующей и антиоксидантной систем среднего кишечника фитофага.
4. Исследовать действие аллелохимиков некормовых растений непарного шелкопряда совместно с вирусом ядерного полиэдроза на структурные показатели популяции фитофага.

Научная новизна. Впервые изучено действие растительных аллелохимиков и дефолиации кормового растения на развитие фитофага в системе береза – непарный шелкопряд – вирус ядерного полиэдроза. Впервые проведены работы по изучению состояния детоксицирующих и антиоксидантных систем в кишечнике непарного шелкопряда при комплексном действии аллелохимиков растения и энтомопатогена на насекомое. Показано, что таниновая кислота в зависимости от типа пищи насекомого, может диаметрально противоположно воздействовать на инфицирование гусениц непарного шелкопряда бакуловирусом. Установлено, что одним из механизмов действия замедленной индуцированной резистентности березы на фитофага является ингибирование группы неспецифических эстераз и увеличение интенсивности окислительных процессов в кишечнике насекомых.

Практическая значимость. Результаты, полученные в ходе исследований, позволяют расширить представление о защитных механизмах энтоморезистентности растений, происходящих при естественной регуляции численности фитофагов в экосистемах. В работе выявлено синергическое действие бакуловируса и метаболитов ягеля, что может послужить научной предпосылкой для усовершенствования действия биопрепаратов на основе вирусов ядерного полиэдроза.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на XII съезде Русского Энтомологического общества (Санкт-Петербург, август 2002), на VII Европейском энтомологическом конгрессе (Греция, октябрь 2002), на Сибирской зоологической конференции (Новосибирск, сентябрь 2004), на заседании микробиологического общества (Новосибирск, ноябрь, 2004).

По материалам диссертации опубликовано 11 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 132 страницах машинописного текста; состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 23 рисунками и 3 таблицами. Список литературы включает 293 работ, из них 223 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность к.б.н. С.А. Бахвалову за руководство научной работой, к.б.н. В.А. Лазареву (ИФ СО РАН) за помощь в проведении гистопатологических исследований, к.х.н. М.П. Половинке (ИОХ СО РАН, Новосибирск) за предоставление экстрактов растений и последующее их очистку и разделение, д.б.н. В.В. Глупову и к.б.н. Я.Л. Воронцовой (ИСиЭЖ СО РАН) за обсуждение рукописи и ценные критические замечания, студенту С.В. Гулидову (НГАУ), студенту Ж.О. Маркиной (НГПУ), студенту И.А. Белоусовой (НГУ) за неоценимую помощь в проведении экспериментальных исследованиях.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

ГЛАВА 1. Обзор литературы

В главе рассмотрены аспекты взаимоотношения растения хозяина – фитофага и фитофага – энтомопатогенных вирусов. Подробно представлены компоненты детоксицирующей и антиоксидантной систем насекомых и действие на них ряда факторов. Кроме того, в данном разделе подробно представлена биология и экология изучаемого объекта (*Lymantria dispar*).

ГЛАВА 2. Материалы и методы исследования

Материалом в исследованиях служили насекомые *Lymantria dispar* L. Родительское поколение насекомых собирали в местах естественного обитания на территории Новосибирской области, а дочернее поколение, на котором проводились исследования, выращивали в лабораторных условиях. Выращивание гусениц шелкопряда проводили на искусственной питательной среде (ИПС) в чашках Петри [Ильиных, 1996] и на побегах березы *Betula pendula* Roth. в садах.

Для экспериментов использовали штамм вируса ядерного полиэдрома непарного шелкопряда (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. Инфицирование насекомых проводили в III возрасте, перорально, путем обработки корма, в дозе соответствующей половине ЛК₅₀. В зависимости от типа пищи (естественный корм или искусственная питательная среда (ИПС)) титр суспензии вируса варьировал: $2 \cdot 10^5$ полиэдров/мл в экспериментах на ИПС; 10^7 полиэдров/мл в экспериментах на естественном корме. Обработка корма проводилась на рамке 50x50 см, из расчета 50 мл суспензии на данную площадь.

Таниновую кислоту вносили в виде водного раствора при приготовлении среды. Конечная концентрация танина составляла 0,9% от массы ИПС и приблизительно соответствовала содержанию танинов в листьях предварительно дефолированной березы *Betula pubescens* [Kaitaniemi et al., 1998]. Кверцетин добавляли в синтетическую среду в 20% спирте, конечная

концентрация этого фенола составляла 0,4% от массы ИПС, что в среднем соответствует его содержанию в листьях березы *Betula pendula* [Laitinen et al., 2000]. Отродившихся гусениц I возраста сразу высаживали на обработанные синтетические среды.

Естественный корм непарного шелкопряда (побеги березы) обрабатывали 0,9% водным раствором таниновой кислоты. Побеги также обрабатывали гексановыми экстрактами листьев багульника *Ledum palustre* L., надземной части ягеля *Cladonia sp.* и составляющими гексанового экстракта ягеля: перлатоликовой кислотой, усниновой кислотой, третьим компонентом «х» Опрыскивание проводили 0,1% растворами экстрактов и их составляющих в гексане. Усниновая кислота наносилась в виде 0,1%-ого раствора в 10%-ом спирте. Опрыскивание проводили по методике, описанной для обработки вирусом. Таниновой кислотой гусениц кормили с отрожения, а в экспериментах с экстрактами использовались личинки III возраста, и обработка проводилась однократно.

Дефолиацию березы проводили в березовых насаждениях в окрестностях г. Новосибирска в районе поселка Кольцово. Для экспериментов использовались 8-10 летние березы, произрастающие на опушках березовых колков. Дефолиацию деревьев проводили путем механического удаления листы на 75 и 100 %. На следующий год после закладки эксперимента насекомых II возраста выращивали в лаборатории на срезанных побегах данных растений и изучали воздействие замедленной индуцированной резистентности дерева на состояние фитофага и его чувствительность к вирусу.

Исследование тканей и органов *L. dispar* при патогенезе. Препарированные участки изучаемых тканей насекомого фиксировали 2.5% глютаровым альдегидом и заливали в смесь смол эпон-аралдит [Бахвалов и др., 1982]. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме и в последующем просматривали в просвечивающем электронном микроскопе [Мионов и др., 1994].

Анализ структурных показателей популяции *L. dispar*. Среднюю массу гусениц и куколок определяли путем индивидуального взвешивания на электронных весах. Отношение количества самок к общему количеству имаго в опытных группах насекомых определяли по морфологическим особенностям имаго (размер имаго, строение усиков) [Ильинский, Тропин, 1965]. Смертность гусениц определяли по количеству погибших насекомых. Причину гибели насекомого определяли путем изучения неокрашенных мазков органов насекомых в световом микроскопе [Вейзер, Бриггс, 1976].

Анализ биохимических критериев состояния организма *L. dispar*. Все биохимические критерии состояния организма непарного шелкопряда изучали на гусеницах IV возраста, через 3 дня после линьки. За условную единицу удельной активности всех изучаемых ферментов принимали разницу оптической плотности инкубационной смеси до и после начала реакции за 1 мин на 1 мг белка. Выделение и приготовление гомогената среднего кишечника насекомого проводили в модификации методики [Хвощевская и др., 2004]. Активность глутатион-S-трансфераз (ГТ) определяли по увеличению концентрации 5-(2,4-динитрофенил)-глутатиона, образование которого

катализирует ГТ [Habig et al., 1974]. Активность неспецифических эстераз (НЭ) определяли по К. Асперену [Asperen, 1962] с незначительной модификацией. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по подавлению скорости восстановления нитросинего тетразолия супероксид-анионом, образующимся в процессе окисления ксантина ксантиноксидазой [McCord, Fridovich, 1969]. Активность каталазы определяли по скорости разрушения перекиси водорода [Wang et al., 2001a]. Определение концентраций как окисленных (RSSR), так и восстановленных (RSH) тиолсодержащих соединений основано на способности RSH окисляться под действием ДТНБ [Khramtsov et al., 1997]. Концентрацию белка в гомогенатах среднего кишечника насекомых определяли по методу М. Бредфорда [Bradford, 1976].

Все эксперименты по определению структурных показателей популяции непарного шелкопряда закладывали в 3 повторностях, по 20 гусениц на повторность. Для проведения анализа биохимических критериев использовали индивидуальное исследование насекомых. Достоверность различий между показателями оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента и дисперсионного анализа [Плохинский, 1970; Доспехов, 1985]. Полученные данные, представлены как среднее арифметическое и его стандартное отклонение.

ГЛАВА 3. Результаты и обсуждение

3.1. Инфекционный процесс у непарного шелкопряда инфицированного низкой дозой ВЯП

При инфицировании гусениц низкой дозой ВЯП в наших экспериментах отмечали увеличение инкубационного периода инфекционного процесса по сравнению с классическим вирусным патогенезом [Тарасевич, 1975].

Нам не удалось зафиксировать деструктивные процессы и образование вируса в клетках среднего кишечника, однако, было зафиксировано развитие вируса в гемоцитах и клетках гиподермы. Отсутствие вируса в клетках среднего кишечника, скорее всего, связано с тем, что вирус размножается в данном органе только на раннем этапе патогенеза, в то время как инфицированных насекомых исследовали на поздних этапах патогенеза. Кроме того, по данным ряда авторов [Бахвалов и др., 1982] при первичном заражении личинок *L. dispar* вирионы не размножаются в эпителиальных клетках среднего кишечника, а инфицируют только трофические клетки на внутренней поверхности кишечной трубки. Также имеются сведения, что высвободившиеся в просвет кишечника вирионы могут проходить по межклеточному пространству непосредственно в гемоцель насекомого [Гладышева, Мамедиязов, 1972]. Отсутствие в наших исследованиях размножения вируса в жировых клетках, клетках трахей, мальпигиевых сосудов, вероятно, связано с низкой инфекционной нагрузкой на организм насекомого в условиях данного эксперимента.

3.2. Влияние таниновой кислоты на развитие непарного шелкопряда и его чувствительность к вирусной инфекции при питании на ИПС

Поскольку известно, что таниновая кислота относится к классу фенольных соединений, которые принимают участие в защитных реакциях древесных растений [Reichardt et al., 1988; Martin et al., 1987; Juntheikki, Julkunen-Tiitto, 2000], в том числе и в замедленной резистентности березы индуцированной объеданием листы фитофагами [Kaitaniemi et al., 1998], нами было изучено действие таниновой кислоты на развитие непарного шелкопряда и его чувствительность к ВЯПд.

В процессе развития личиночной фазы *L. dispar* не было обнаружено достоверных отличий по массе гусениц при питании насекомых на ИПС, содержащей таниновую кислоту, хотя была отмечена тенденция 1,5 кратного увеличения массы гусениц (рис. 1). Несмотря на то, что различия статистически не достоверны, следует отметить, что подобный факт отмечался на протяжении нескольких опытов. В то же время зарегистрировано достоверное двукратное увеличение массы инфицированных вирусом гусениц на протяжении практически всей личиночной стадии, по сравнению с незараженными насекомыми (рис. 2).

В вариантах инфицирования гусениц, питающихся кормом, содержащем 0,9% таниновой кислоты выявлено 2-кратное достоверное увеличение смертности от ВЯП по сравнению с неинфицированными насекомыми в соответствующем контроле (рис. 3).

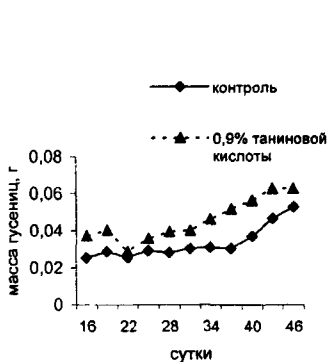


Рис. 1 Влияние таниновой кислоты на массу гусениц непарного шелкопряда, питающегося на ИПС

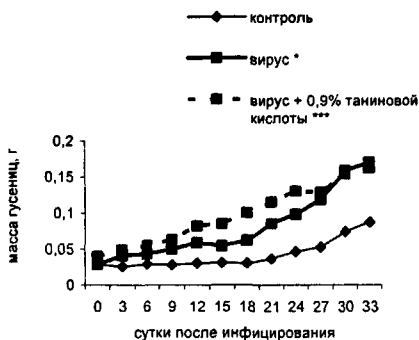


Рис. 2 Воздействие вируса ядерного полиэдроза и таниновой кислоты на массу гусениц непарного шелкопряда, питающегося на ИПС (* при $P \leq 0,05$; *** при $P \leq 0,001$).

Инфицирование гусениц ВЯП приводило к достоверному увеличению активности детоксицирующих ферментов не зависимо от воздействия таниновой кислоты (для ГТ: ВЯП – $0,078 \pm 0,0354$; ВЯП + танин – $0,041 \pm 0,0200$; контроль – $0,033 \pm 0,0159$; $P \leq 0,05$; для НЭ: ВЯП – $0,4689 \pm 0,1717$; ВЯП + танин – $0,4868 \pm 0,2063$; контроль – $0,3104 \pm 0,0485$; $P \leq 0,05$), в то время как таниновая кислота не оказывала действия на активность данных ферментов. Обработка корма таниновой кислотой приводила к достоверному увеличению активности

каталазы и увеличению соотношения RSSR/RSH в среднем кишечнике гусениц (рис 4 а, б).

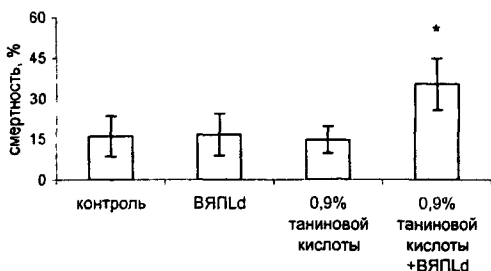


Рис. 3 Смертность гусениц при питании на ИПС содержащей таниновую кислоту. Данные проанализированы с использованием т-теста. Звездочками отмечены варианты, достоверно отличающиеся от соответствующих неинфицированных вариантов (* при $P \leq 0,05$).

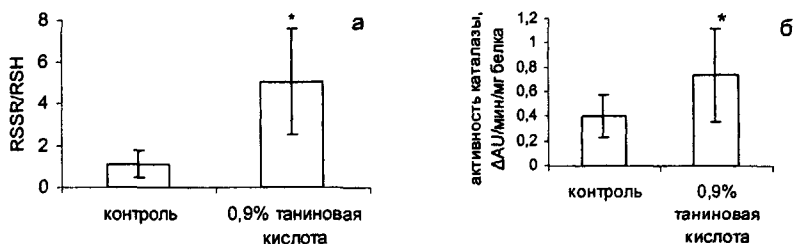


Рис. 4. Соотношение окисленных и восстановленных тиолов (а) и удельная активность каталазы (б), в среднем кишечнике гусениц IV возраста питающихся на ИПС, содержащей таниновую кислоту.

Тенденция увеличения массы гусениц при добавлении таниновой кислоты в среду позволяет сделать предположение, что танин может являться фагостимулятором для шелкопряда. Возможно, это вызвано тем, что в ИПС практически отсутствуют естественные фагостимуляторы. Отсутствие достоверных различий по массе гусениц, вероятно, объясняется высокой степенью полиморфизма по массе личинок [Бахвалов и др., 2002]. Увеличение массы личинок при питании кормом с повышенным содержанием танинов ранее отмечалось в литературе [Bernays, Chapman, 2000; Ikonen et. al, 2002; Panzuto et al., 2002], в том числе и на гусеницах непарного шелкопряда [Govenor et al., 1997]. Хотя, существует предположение что, увеличение массы насекомых может происходить за счет связывания таниновой кислоты с моносахарами в области сенсорных клеток, что приводит к снижению чувствительности насекомого к насыщению его сахарами [Panzuto et al., 2002].

Весьма интересным является факт значительного увеличения массы гусениц, питающихся на ИПС при их инфицировании ВЯП, что вполне может быть обусловлено гибелью на ранних этапах патогенеза в основном ослабленных насекомых с низкой массой.

Увеличение смертности насекомых от вируса при их заражении в варианте с добавлением таниновой кислоты, вероятно, происходит в результате ряда причин. Во-первых, таниновая кислота или ее производные,

образующиеся в кишечнике насекомого в результате гидролиза и окисления, могут взаимодействовать с перитрофической мембраной [Barbehenn, Martin, 1992; Barbehenn, Martin, 1994], меняя ее свойства, в том числе и проницаемость для вирионов. В результате этого количество инфицированных вирионами клеток кишечника может возрасти. Во-вторых, таниновая кислота может выступать как антиоксидант, являясь своеобразной ловушкой для АКМ, образующихся в просвете кишечника в результате жизнедеятельности насекомого, и предотвращать повреждение вирионов. Известно, что процессы гидролиза, окисления и адсорбции танина в значительной степени зависят от условий в просвете среднего кишечника: pH среднего кишечника, окислительно-восстановительного потенциала среднего кишечника, наличия поверхностно-активных веществ и других вторичных метаболитов в просвете кишечника [Felton, Duffey 1991; Johnson, Felton 1996; Makkar, Becker 1996; Zimmer 1997]. Не исключено, что при питании насекомых на ИПС с таниновой кислотой гидролиз и окисление танинов происходит в меньшей степени, чем при питании насекомых естественным кормом, поскольку в ИПС практически не содержатся вторичные метаболиты растений, а также ферменты, способствующие окислению фенолов (полифенолоксидазы). Хотя увеличение RSSR/RSН свидетельствует об усилении окислительных процессов, происходящих в кишечнике, возможно, что таниновая кислота в условиях просвета кишечника гусениц, питающихся ИПС, выступает в роли эффективной ловушки АКМ.

Примечательным является увеличение активности ГТ при инфицировании насекомых ВЯП по сравнению с неинфицированными насекомыми соответствующих вариантов. Подобный факт уже отмечался при бактериозе личинок *G mellonella* индуцированном *Bacillus thuringiensis ssp galleria* (Дубовский, личное сообщение). В организме насекомых развитие вирусной инфекции сопровождается увеличением количества разрушенных клеток, вследствие чего происходит увеличение окислительных процессов, в том числе и процессов ПОЛ, и в результате происходит увеличение образования цитотоксичных АКМ. В этом случае ГТ вероятно выступает как регулятор данных процессов. Кроме того, показано, что активность ГТ в среднем кишечнике инфицированных гусениц, развивающихся на ИПС с танином, достоверно снижается по сравнению с активностью ГТ инфицированных гусениц, питающихся интактной средой (табл. 1). Вероятно, это обусловлено тем, что таниновая кислота выступает в роли скавенжера, нейтрализуя часть АКМ в среднем кишечнике фитофага.

Таким образом, анализируя функционирование антиоксидантов и детоксицирующих ферментов среднего кишечника непарного шелкопряда можно предположить, что в кишечнике насекомого питающегося на ИПС с таниновой кислотой возрастает уровень окислительных процессов. Отсутствие негативного воздействия таниновой кислоты на массу гусениц непарного шелкопряда в нашем эксперименте также может наблюдаться вследствие низкой интенсивности гидролиза танина, т.к. ранее установлено, что именно продукты гидролиза танинов, в частности галловая кислота, обладают более

высокой реакционной способностью и могут негативно воздействовать на фитофага [Запрометов, 1993; Barbehenn, Martin, 1994;]. Достоверное увеличение активности антиоксидантов и отсутствие негативных изменений в структурных показателях свидетельствует о том, что фитофаг эффективно справляется с воздействием продуктов окисления танина. Не исключено, что сама таниновая кислота выступает в качестве ловушки для АКМ. Вероятно, как следствие этого мы наблюдаем увеличение смертности от ВЯП при инфицировании насекомых, поскольку известно, что вирионы бакуловирусов чувствительны к повреждению АКМ [Hoover et al., 1998b].

3.3. Влияние таниновой кислоты на развитие непарного шелкопряда и его чувствительность к вирусной инфекции при питании на листьях березы

Обработка листьев березы таниновой кислотой в концентрации 0,9% не приводила к значимым отличиям по массе насекомых (рис. 5). Однако при питании инфицированных насекомых на этой же листе наблюдалось достоверное снижение массы личинок по сравнению как с контролем, так и с группой неинфицированных насекомых, питающихся листьями с таниновой кислотой (рис. 5). При питании фитофага листовой, обработанной танином, достоверно увеличивалось количество самок в группе (24% самок в контроле, 47% в опыте; $P \leq 0,05$). Смертность гусениц непарного шелкопряда от ВЯП при инфицировании достоверно снижалась при питании насекомых листьями, обработанными таниновой кислотой по сравнению с инфицированными насекомыми, питающихся интактными листьями (рис. 6).

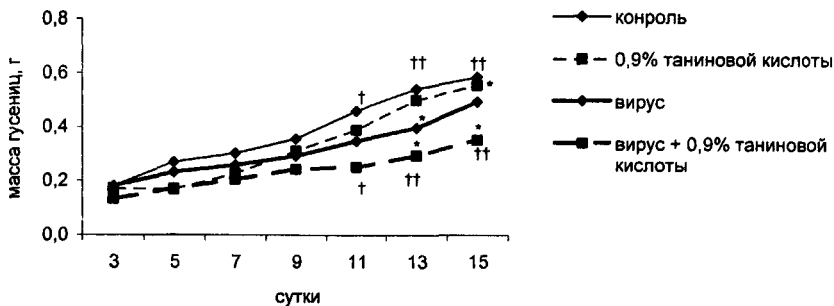


Рис. 5. Воздействие таниновой кислоты на массу инфицированных гусениц *L dispar*, питающихся листьями березы. Данные проанализированы с использованием дисперсионного анализа. Звездочками и крестиками отмечены точки, достоверно отличающиеся между собой (*, † при $P \leq 0,05$; †† при $P \leq 0,01$).

Обработка листьев таниновой кислотой приводила к достоверному 1,5-кратному увеличению соотношения $RSSR/RSH$ в среднем кишечнике как контрольных, так и инфицированных насекомых (ВЯП – $1,738 \pm 0,427$; ВЯП + танин – $1,714 \pm 0,354$; контроль – $0,999 \pm 0,246$; $P \leq 0,05$). Воздействие только таниновой кислоты приводило к снижению активности каталазы в среднем кишечнике гусениц (танин – $0,191 \pm 0,078$; контроль – $0,334 \pm 0,075$; $P \leq 0,05$).

Достоверных различий по активности детоксицирующих ферментов (ГТ, НЭ) в тестируемых вариантах получено не было.



Рис. 6. Влияние таниновой кислоты на смертность инфицированных гусениц, питающихся побегами березы. Данные проанализированы с использованием т-теста. Звездочкой отмечены точки, достоверно отличающиеся между собой (* при $P \leq 0,05$).

Известно, что в листьях растений содержатся факторы, способствующие окислению фенолов (фенолоксидаза, наличие других вторичных метаболитов, способных окислять фенолы и т.д.) [Запрометов, 1993; Treutter, 2001]. Вполне вероятно предположить, что интенсивность окисления таниновой кислоты, а, следовательно, и интенсивность генерации АКМ в просвете кишечника фитофагов питающихся естественным кормом будет значительно выше по сравнению с фитофагами, питающимися на искусственной питательной среде. Данный факт подтверждает достоверное увеличение соотношения RSSR/RSН в среднем кишечнике гусениц, подвергшихся воздействию таниновой кислоты. Снижение активности каталазы кишечника при обработке листьев таниновой кислотой является, вероятно, следствием увеличения генерации O_2^- в просвете кишечника. Так показано, что при питании гусениц непарного шелкопряда листьями с повышенным содержанием алкалоидов и флавоноидов, наблюдается снижение активности каталазы среднего кишечника, вероятно, за счет повреждения данного фермента O_2^- [Peric-Mataruga et al., 1997]. Возможно продукты окисления таниновой кислоты (хиноны, АКМ) могут оказывать повреждающее действие, как на клетки кишечника фитофага, так и на свободные вирионы в просвете кишечника. Не исключено, что вследствие данного воздействия наблюдается достоверное снижение гибели инфицированных насекомых от ВЯП при питании на листьях, обработанных таниновой кислотой.

Отсутствие достоверных различий по активности других изучаемых антиоксидантных ферментов (СОД, ГТ) может быть следствием перераспределения функций между ферментативными и неферментативными антиоксидантами, поскольку известно, что ферментативные антиоксиданты локально воздействуют на АКМ [Barbehenn, 2002; Barbehenn, 2003]. Кроме того, не следует исключать и роль антиоксидантов самого растения, которые также могут принимать участие в регуляции генерации АКМ в просвете среднего кишечника насекомого [Rice-Evans et al., 1996; Barbehenn, 2002].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что таниновая кислота, содержание которой увеличивается в листьях березы после дефолиации [Kaitaniemi et al., 1998], может усиливать генерацию АКМ в

просвете кишечника насекомого, питающегося лиственной березы. По-видимому, в просвете кишечника в процессе окисления таниновой кислоты образуются промежуточные продукты, которые способны повреждать многие биологические мишени (молекулы органических соединений в просвете кишечника, мембраны эпителиальных клеток). Вероятно, в результате этого происходит повреждение и вирусных частиц, которые также присутствуют в среднем кишечнике при инокуляции вирусом насекомого. Как следствие этого, наблюдается снижение смертности насекомых от ВЯП. Основываясь на вышеизложенных данных, можно предположить, что либо таниновая кислота не играет существенной роли в замедленной индуцированной резистентности березы против непарного шелкопряда, либо данный аллелохимик воздействует на *L. dispar* только при изменении состава ряда соединений в листьях растений, происходящих в березе на следующий год после повреждения.

3.4. Влияние дефолиации березы на развитие шелкопряда и его чувствительность к бакуловирусу

Поскольку известно, что содержание танинов в листьях березы увеличивается при дефолиации [Kaitaniemi et al., 1998], то для сравнения действия таниновой кислоты на гусениц их также содержали на побегах дефолированных в предыдущем году деревьев.

Зафиксировано снижение массы гусениц, при их питании на листьях дефолированных деревьев, по сравнению с контролем (рис. 7).

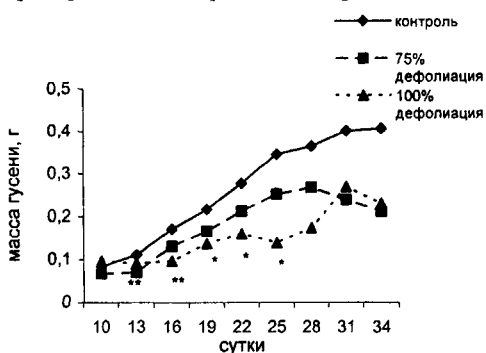


Рис. 7. Влияние замедленной индуцированной резистентности березы после повреждения на массу гусениц *L. dispar*. Данные проанализированы с использованием т-теста. Звездочкой отмечены точки, достоверно отличающиеся от соответствующих точек в контроле (* при $P \leq 0,05$; ** при $P \leq 0,01$).

Общая смертность на 14 сутки инфицированных насекомых, питающихся нативной листвой, 2-кратно возросла, по сравнению с интактными насекомыми (рис. 8). При питании листвой березы с тотальной дефолиацией общая смертность гусениц на 14 сутки более чем в 2,5 раза превышала смертность в контроле (рис. 8), хотя дефолиация не оказывала влияния на чувствительность насекомых к вирусу.

Дефолиация березы как на 75%, так и на 100% приводила к 1,5-2 кратному снижению активности НЭ в среднем кишечнике *L. dispar*. (75% дефолиация – $0,2606 \pm 0,0695$; 100% дефолиация – $0,2535 \pm 0,0837$; контроль – $0,4176 \pm 0,1606$; $P \leq 0,05$). Соотношение RSSR/RSH достоверно увеличивалось

при питании насекомого на листьях березы со сплошным объеданием (100% дефолиация – $2,81 \pm 0,24$; контроль – $1,30 \pm 0,61$; $P \leq 0,001$).

Данные, полученные по изучению воздействия дефолиации березы на

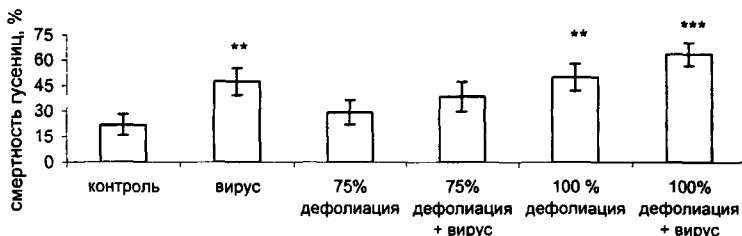


Рис. 8. Влияние замедленной индуцированной резистентности березы после повреждения на общую смертность гусениц на 14 сутки после инфицирования. Данные проанализированы с использованием t-теста. Звездочкой отмечены точки, достоверно отличающиеся от контроля (** при $P \leq 0,01$; *** при $P \leq 0,001$).

состояние непарного шелкопряда, не согласуются с данными по изучению влияния на него таниновой кислоты. В частности, снижение массы насекомого при дефолиации дерева не коррелирует с отсутствием изменения массы насекомого при питании на листьях с повышенным содержанием таниновой кислоты. Отсутствует корреляция по смертности гусениц от ВЯП между воздействием таниновой кислоты и дефолиацией растения. По всей видимости, в листьях, отрастающих на следующий год после дефолиации, происходят изменения в содержании не только танинов, которые являются одним из ключевых звеньев в замедленной индуцированной резистентности растений к фитофагам и фитопатогенам, но также и ряда других метаболитов. Кроме того, известно, что после дефолиации растения меняется содержание веществ первичного обмена [Иерусалимов, 2004; Kaitaniemi, 1998]. Однако в системе береза – непарный шелкопряд маловероятно, что изменение веществ первичного обмена имеет первостепенное значение. В результате собственных наблюдений было отмечено, что интенсивность объедания побегов насекомыми значительно снижалось в варианте дефолиации растения. Следовательно, в данном случае можно предположить, что первостепенное значение имеет привлекательность растения (соотношение репеллентных и аттрактивных веществ), а не его питательность. Более того, был проведен эксперимент с добавлением в ИПС кверцетина (флавоноид, содержащийся в листьях березы). Установлено, что в концентрации 0,4% (приблизительное содержание в листьях березы) от массы ИПС данный флавоноид вызывал тотальную смертность личинок, как младших, так и старших возрастов течение 12 часов ($P \leq 0,05$). Необходимо отметить, что на ИПС с кверцетином гусеницы непарного шелкопряда не приступали к питанию. Следовательно, можно предположить, что данное вещество обладает токсическим действием, причем проникновение в организм насекомого происходит не пероральным путем. Известно, что значительное количество данного флавоноида присутствует в нативных листьях березы в гликозилированной форме [Laitinen et al., 2000]. Вполне

вероятно, что кверцетин может принимать участие в замедленной индуцированной резистентности березы к непарному шелкопряду при дефолиации растения за счет дегликозилирования этого соединения и последующего его репеллентного и токсичного воздействия.

Снижение активности НЭ в среднем кишечнике гусениц может наблюдаться в результате того, что при дефолиации березы синтезируются ряд вторичных метаболитов, которые оказывают ингибирующее действие на данную группу ферментов. По нашим данным таниновая кислота не относится к аллелохемикам, способным ингибировать активность неспецифических эстераз. Вполне вероятно, что снижение массы гусениц, наблюдаемое при питании насекомого на дефолированном растении, частично может быть обусловлено ингибированием неспецифических эстераз аллелохемиками растений или их производными. В результате насекомое в большей степени подвержено воздействию вторичных метаболитов вследствие снижения интенсивности процессов их детоксикации.

Увеличение соотношения RSSR/RSH при питании личинок на растении с тотальной дефолиацией, вероятно, является следствием увеличения генерации АКМ в просвете среднего кишечника насекомого. Данный эффект может наблюдаться вследствие изменения состава вторичных метаболитов в ткани дефолированного растения и приводить к снижению пригодности растения для фитофага. Так, явление «окислительного стресса» наблюдали в среднем кишечнике *L. dispar* при смене предпочитаемого кормового растения (дуб) на менее предпочитаемое (робиния) растение [Peric-Mataruga et al., 1997]. Авторы считают, что данное явление происходит в результате более высокого содержания алкалоидов и флаваноидов в листьях робинии. Возможно, что увеличение свободнорадикальных процессов в ткани кишечника шелкопряда, и снижение активности детоксицирующих ферментов (НЭ), являются одним из механизмов, обуславливающих замедленную индуцированную резистентность кормового растения к фитофагу. Как следствие данного воздействия наблюдается значительное снижение жизнеспособности насекомого при питании на тотально дефолированном растении.

Таким образом, вышеизложенные результаты свидетельствуют о наличии замедленной индуцированной резистентности березы к повреждению непарным шелкопрядом. При этом величина ответа березы напрямую коррелирует со степенью объедания растения. Вполне вероятно, что непарный шелкопряд адаптировался к увеличению содержания таниновой кислоты при дефолиации в процессе совместной коэволюции березы и фитофага. Более того некоторые авторы условно разделяют насекомых на танин-устойчивые и танин-восприимчивые виды [Varbehenn, 2002; Varbehenn, 2003; Varbehenn et al., 2003]. Вполне возможно, что непарный шелкопряд относится именно к танин-устойчивым видам фитофагов, и этим объясняются его реакции на индивидуальное воздействие данного аллелохемика.

3.5. Развитие шелкопряда и его чувствительность к вирусной инфекции при выращивании на естественном корме, обработанном гексановым экстрактом ягеля *Cladonia uncialis* L.

На основе ранних исследований [Крылов, 1972; Минаева, 1991], а также на основе предварительных данных, полученных в лаборатории патологии насекомых на гусеницах пчелиной огневки *G. mellonella* для исследований был отобран неполярный экстракт ягеля *Cladonia uncialis* L. Вторичные метаболиты данного растения являются токсичными для насекомых [Eppmerich et al., 1993].

Воздействие общего экстракта ягеля в концентрации 0,1% вызывало снижение массы инфицированных гусениц в процессе их развития и увеличение их общей смертности на 17 сутки по сравнению с инфицированными гусеницами, не подвергшимся воздействию экстракта (рис. 9, 10).

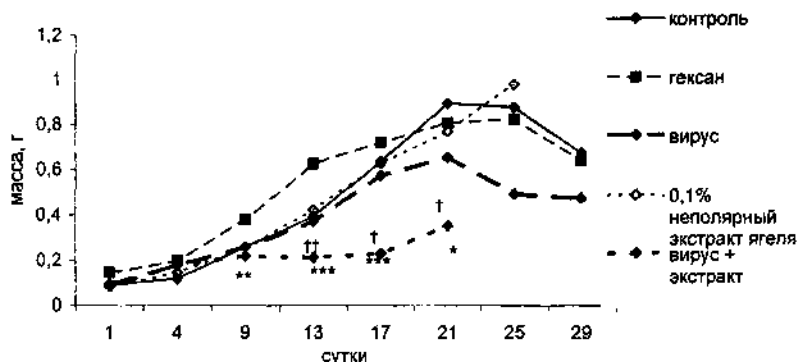


Рис. 9 Влияние неполярного экстракта ягеля на массу гусениц непарного шелкопряда инфицированных ВЯПЛd. Данные проанализированы с использованием т-теста. Звездочками отмечены точки, достоверно отличающиеся от соответствующих точек в варианте «гексан», крестиками – в варианте «вирус» (*, † при $P \leq 0,05$; †† при $P \leq 0,01$; *** при $P \leq 0,001$).

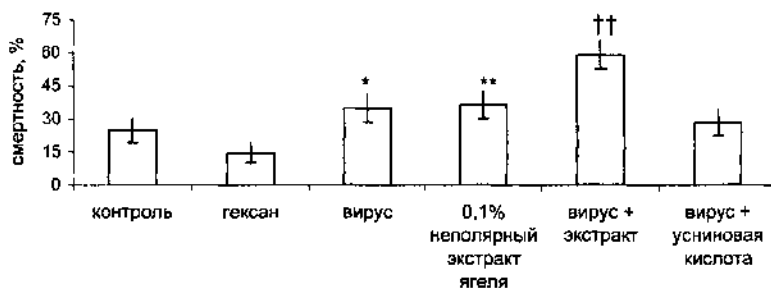


Рис. 10 Влияние экстракта ягеля и ВЯПЛd на общую смертность личинок непарного шелкопряда на 17 сутки после инфицирования. Данные проанализированы с использованием т-теста. Звездочками отмечены варианты, достоверно отличающиеся от варианта «гексан», крестиками – от всех вариантов на гистограмме (* при $P \leq 0,05$; **, †† при $P \leq 0,01$).

Для определения действующего начала в данном экстракте, его разделили на отдельные составляющие. Сотрудниками Института органической химии СО

РАН было установлено, что основными составляющими данного экстракта являются перлатоликовая кислота, усниновая кислота, а также третий компонент пока неизвестной химической природы. Мы установили, что совместное воздействие ВЯП и усниновой кислоты вызывало достоверное 2-кратное увеличение смертности гусениц от вируса ядерного полиэдроза (рис. 11).

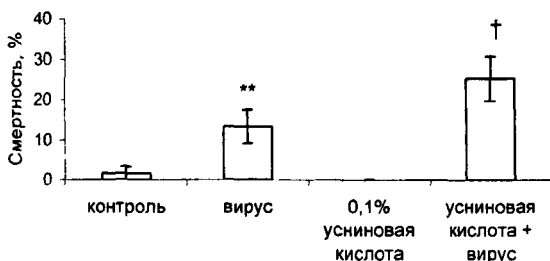


Рис. 11. Влияние усниновой кислоты и бакуловируса на смертность личинок непарного шелкопряда от ВЯП. Данные проанализированы с использованием т-теста. Звездочками отмечены варианты, достоверно отличающиеся от контроля, крестиками – от всех вариантов на гистограмме († при $P \leq 0,05$; ** при $P \leq 0,01$).

Проведенная работа показывает, что неполярная вытяжка из оленьего мха, несомненно, оказывает воздействие на чувствительность гусениц непарного шелкопряда к ВЯП. Не исключено, что значительную роль в данном эффекте играет усниновая кислота. Известно, что усниновая кислота обладает антифидантным воздействием по отношению к гусеницам *Spodoptera littoralis* [Emmerich et al., 1993]. Вероятно, вследствие данного воздействия наблюдали снижение массы гусениц. Не исключено, что усниновая кислота обладает либо непосредственным токсическим эффектом на гусениц непарного шелкопряда, либо репеллентными свойствами, тем самым, снижая потребление фитомассы растения. Кроме того, известно антагонистическое действие усниновой кислоты на многие микроорганизмы (бактерии, грибы, простейшие) [Cocchiello et al., 2002; Ingolfsson, 2002]. Вполне возможно, что усниновая кислота оказывает негативное действие на симбионтную флору насекомого, в результате чего жизнеспособность фитофага значительно снижается.

Таким образом, мы полагаем, что ключевую роль в синергическом эффекте неполярного экстракта ягеля и ВЯП на организм непарного шелкопряда играет именно усниновая кислота.

Заключение

Изучение поздней стадии инфекционного процесса личинок непарного шелкопряда вызванного инфицированием вирусом ядерного полиэдроза в низких дозах показало, что при инокуляции не наблюдается деструкционных процессов и образование вируса в клетках среднего кишечника, а также жирового тела, мальпигиевых сосудов, эпителия трахей. Отмечено образование вируса в клетках гиподермы и гемоцитах.

Установлено, что таниновая кислота (фенол, который участвует в энтоморезистентности многих растений) обладает фагостимулирующими

свойствами по отношению к гусеницам непарного шелкопряда, питающимся искусственной питательной средой. При добавлении танина в ИПС чувствительность гусениц к ВЯПЛd повышалась, в то время как при питании на листьях березы наблюдалась обратная картина. Данный результат свидетельствует о проявлении различных свойств танина в зависимости от условий в просвете среднего кишечника насекомого. Известно, что биологическая активность полифенолов в значительной степени обусловлена их способностью образовывать фенол-белковые конъюгаты с низким коэффициентом диссоциации [Rhoades, Cates, 1976; Appel, 1993; Ayres et al., 1997], а также в смещении окислительно-восстановительных реакций в сторону окисления [Summers, Felton, 1994; Bi, Felton, 1995], что может приводить к угнетению обменных процессов у насекомого при пероральном воздействии данного аллелохемика [Bernays, 1978; Steinly, Berenbaum, 1985; Lindroth, Peterson, 1988]. Однако, в наших исследованиях на искусственном и естественном корме не было установлено супрессивного воздействия таниновой кислоты на состояние непарного шелкопряда. Мы предположили, что механизм воздействия данного аллелохемика на организм *L. dispar*, в первую очередь, заключается в смещении окислитель-антиокислительного баланса в среднем кишечнике насекомого, а не в связывании с белками, поскольку известно, что устойчивость фенол-белковых конъюгатов снижается при высоком значении pH, которое в частности отмечается у непарного шелкопряда [Berenbaum, 1980; Martin, Martin, 1983; Schultz and Lechowicz, 1986]. Вероятно, при питании гусениц на ИПС условия в просвете кишечника (окислительно-восстановительный потенциал, pH, наличие фенолоксидаз растений, поверхностно-активных веществ и других вторичных метаболитов) не являются оптимальными для окисления полифенолов и образования промежуточных продуктов окисления. Несмотря на то, что соотношение $RSSR/RSN$ свидетельствует об увеличении интенсивности окислительных процессов при добавлении максимальной тестируемой концентрации танина, вероятно, данный аллелохемика может выступать как эффективная ловушка для АКМ. Как следствие этого наблюдается увеличение массы насекомых и увеличение смертности гусениц при их инфицировании, что может объясняться эффективным антиокислительным протектированием вирионов ВЯПЛd в просвете кишечника насекомого.

Иначе обстоит картина при питании гусениц на листьях березы. Возможно, в данном случае таниновая кислота в большей степени подвержена окислению до хинонов по сравнению с искусственной питательной средой, поскольку в листьях растений содержатся фенолоксидазы, что приводит к увеличению количества окисленных тиолсодержащих веществ в среднем кишечнике. Не исключено, что продукты окисления таниновой кислоты оказывают повреждающее воздействие на свободные вирионы в просвете среднего кишечника и на клетки среднего кишечника, в том числе и инфицированные. В результате наблюдается снижение количества погибших насекомых от вируса при добавлении в корм таниновой кислоты.

Результаты, полученные в эксперименте на непарном шелкопряде, питающемся листьями дефолированной березы и листьями, обработанными таниновой кислотой, позволяют предположить что, либо таниновая кислота не играет существенной роли в замедленной индуцированной резистентности березы против непарного шелкопряда, либо таниновая кислота воздействует на *L. dispar* только в комплексе изменений, происходящих в растении при дефолиации. В то же время, полученные данные однозначно свидетельствуют о наличии замедленной индуцированной резистентности березы по отношению к непарному шелкопряду при ее тотальной дефолиации. Кроме того, одним из возможных механизмов данного воздействия является индукция в листьях березы факторов, ингибирующих активность неспецифических эстераз в среднем кишечнике насекомого.

В исследованиях по изучению действия вторичных метаболитов *Cladonia uncialis* L. на состоянии непарного шелкопряда установлено увеличение чувствительности гусениц непарного шелкопряда к ВЯП, при питании листьями, обработанными гексановым экстрактом ягеля. На основе полученных данных предполагается, что ключевую роль в воздействии неполярного экстракта ягеля на восприимчивость *L. dispar* к вирусу играет усниновая кислота. Мы полагаем, что данный эффект обусловлен антифидантными и антимикробными свойствами усниновой кислоты. Кроме того, не исключается вероятность повреждения усниновой кислотой перитрофической мембраны.

Таким образом, проведенные исследования показывают что, вторичные метаболиты растений оказывают существенное влияние на взаимодействие непарного шелкопряда, как с растением-хозяином, так и с ВЯП. Механизмы воздействия аллелохимиков на организм *L. dispar* могут существенно отличаться, однако, в наших экспериментах показано, что данное воздействие сопровождается изменением баланса оксиданты-антиоксиданты в среднем кишечнике насекомого и, вероятно, вследствие этого формируется восприимчивость или устойчивость непарного шелкопряда к энтомопатогенному вирусу.

Выводы

1. При инфицировании гусениц *L. dispar* низкими дозами вируса ядерного полиэдроза не наблюдается деструкции клеток среднего кишечника и образование в них вируса. Отмечено развитие вируса только в клетках гиподермы и гемоцитах.
2. Питание гусениц фитофага на ИПС, содержащей таниновую кислоту приводит к увеличению их чувствительности к вирусу. Активность детоксицирующих ферментов в кишечнике гусениц при воздействии таниновой кислоты не изменялась, но отмечалось накопление окисленных тиол-содержащих компонентов.
3. Выращивание гусениц на побегах березы, обработанных таниновой кислотой приводило к снижению чувствительности насекомых к вирусу. В среднем

кишечнике отмечалось накопление окисленных тиол-содержащих компонентов и снижение активности каталазы.

4. При выращивании насекомых на побегах дефолированных деревьев, снижалась масса гусениц и увеличивалась их общая смертность, однако чувствительность к инфицированию вирусом не изменялась. Активность неспецифических эстераз в ткани среднего кишечника снижалась, а количество окисленных тиолов увеличивалось.

5. Обработка корма вытяжкой неполярным растворителем из ягеля увеличивает общую смертность гусениц, инфицированных вирусом. Обработка корма компонентом вытяжки – усниновой кислотой – приводит к снижению массы гусениц и количества самок в популяции, а при совместном воздействии кислоты и вируса увеличивается смертность гусениц от полиэдроза.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Глулов В.В., Хвоцевская М.Ф., Крюкова Н.А., Лозинская Я.Л., Дубовский И.М., **Мартемьянов В.В.** Формирование клеточного иммунитета насекомых (Insecta): образование активированных кислородных метаболитов в гемоцитах // Беспозвоночные животные Южного Зауралья и сопредельных территорий: Материалы Всероссийской конференции. Курган. – 1998. – С.93-95.

2. Khvoshevskaya M.F., Krukova N.A., Lozinskaya Ja.L., Dubovski I.M., **Martemyanov V.V.**, Glupov V.V. Metabolic activity in haemocytes of insects // Book of Abstracts. V1th European Congress of Entomology (Brunnhofner V. & Soldan T. eds.), Ceske Budejovice. August 23-29. – 1998. – P.73.

3. Хвоцевская М.Ф., Лозинская Я.Л., Крюкова Н.А., Дубовский И.М., **Мартемьянов В.В.** Продукция активированных кислородных метаболитов гемоцитами насекомых лесных вредителей // Сохранение и защита горных лесов: Материалы международного симпозиума (ред. ТокторолиевБ.А.). Ош. 5-10 октября. – 1999. – С.26-28.

4. Дубовский И.М., **Мартемьянов В.В.** Изменение метаболической активности гемоцитов личинок большой вошиной огневки *Galleria mellonella* при патогенезе // Материалы XXXVI международной научной студенческой конференции “Студент и научно-технический прогресс”(ред.Невинский Г.А.). Новосибирск. – 1998. – С.7-8.

5. Глулов В.В., Хвоцевская М.Ф., Дубовский И.М., **Мартемьянов В.В.** Метаболическая активность гемоцитов насекомых при фагоцитозе. Проблемы энтомологии в России (Медведев Г.С.). Санкт-Петербург. 23-26 сентября. – 1998. – Т.1. – С.84-85.

6. Glupov V.V., Khvoshevskaya M.F., Lozinskaya Y.L., DubovskiyI.M., **Martem'yanov V.V.**, Sokolova J.Y. Application of the method NBT-reduction for

studies on the production of reactive oxygen species in Insect haemocytes. *Cytobios.* – 2001. – V.106. – P.165-178.

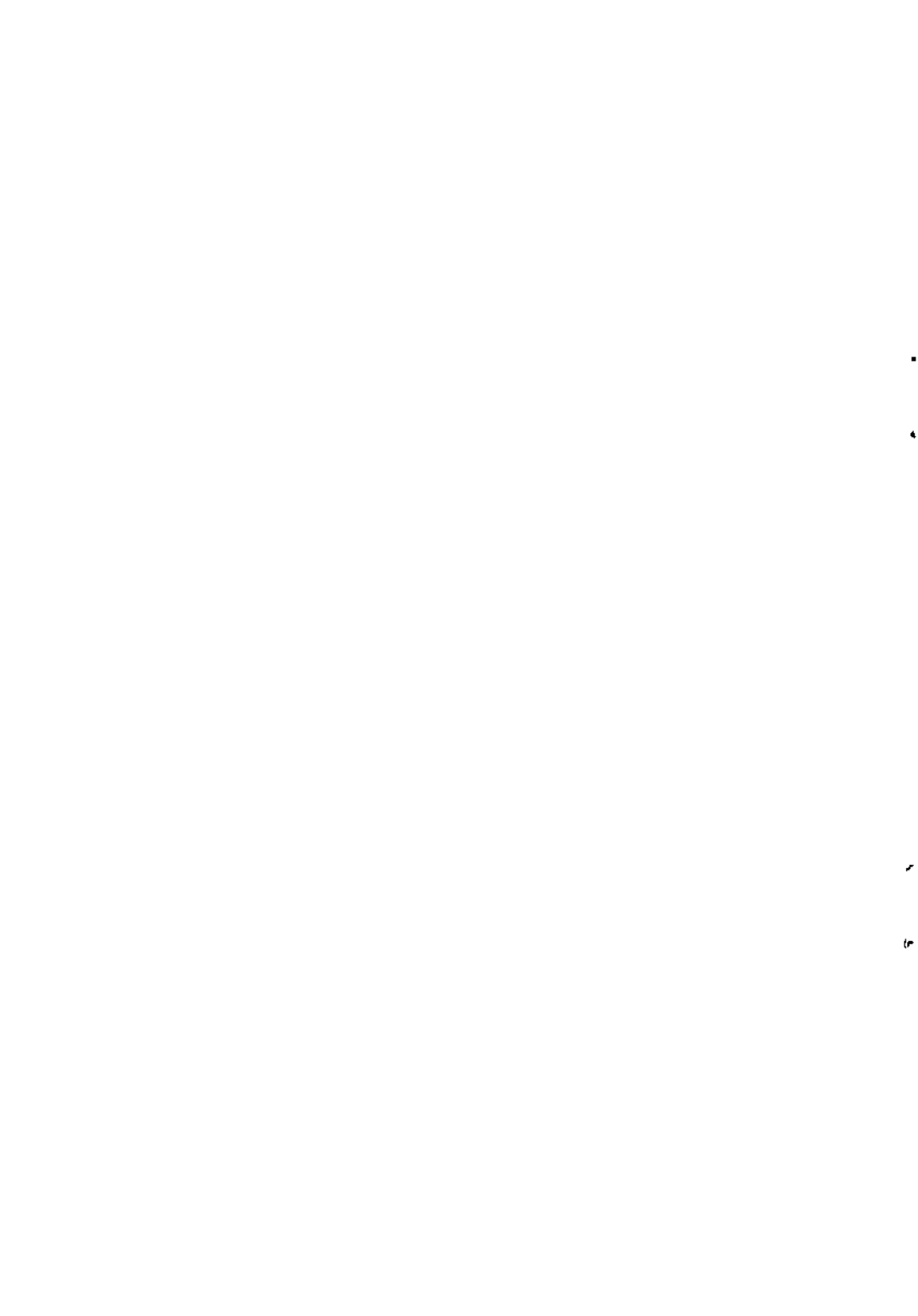
7. **Мартемьянов В.В.**, Бахвалов С.А. Влияние кормового растения на количество гемоцитов обладающих фенолоксидазной активностью и гемоцитов генерирующих кислородные радикалы в гусеницах непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L., Lepidoptera). // XII Съезд Русского энтомологического общества. Санкт-Петербург, 19-24 августа 2002. С.228.

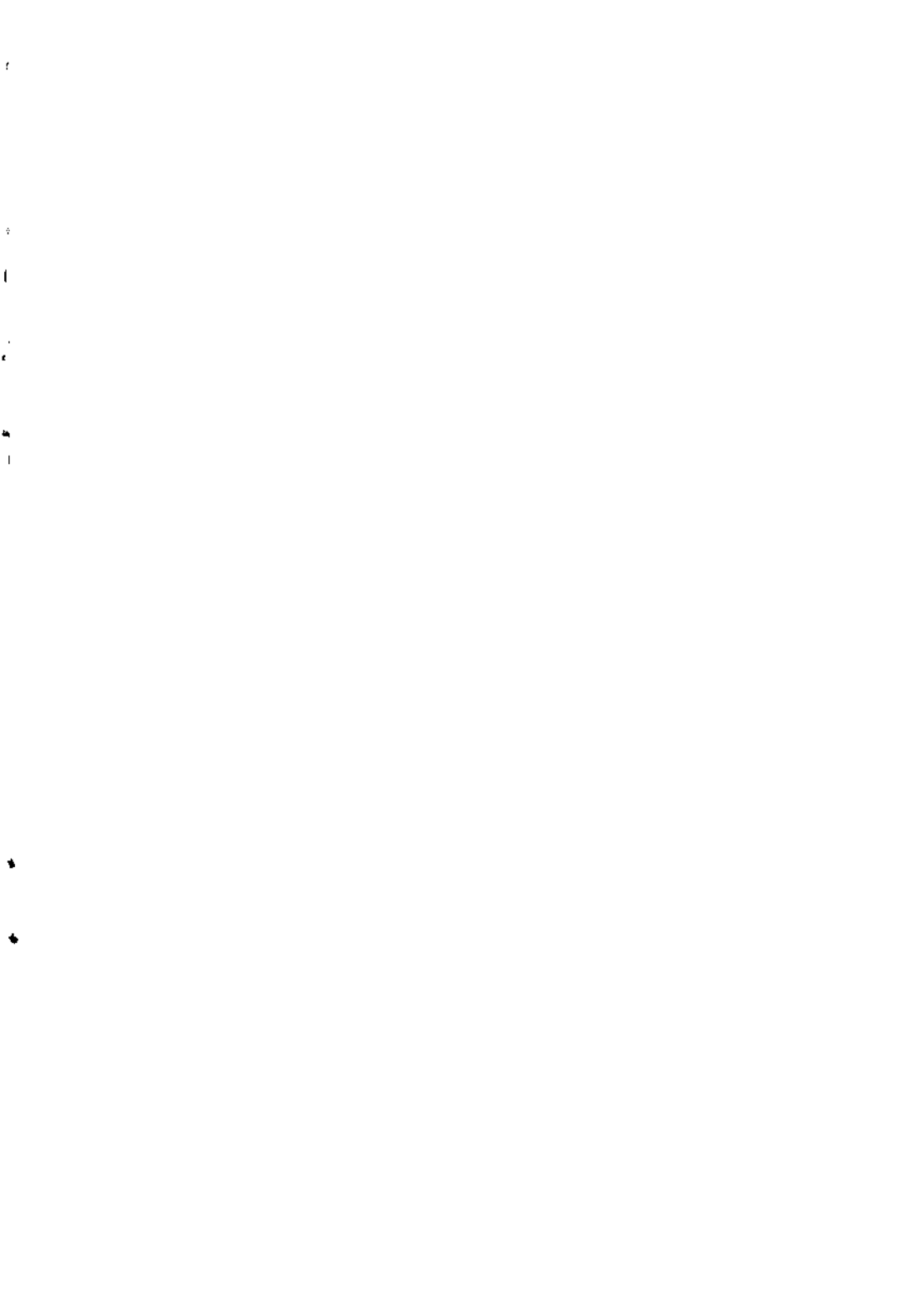
8. S. A. Bakhvalov, V.V. **Martemyanov**. Effect of host plant on reactive oxygen species generation in haemocytes of *Lymantria dispar* L. larvae. // Book of Abstracts, VIIth European Congress of Entomology, Thessaloniki, Greece, October 7-13, 2002. – P.45.

9. С. А. Бахвалов, А. В. Ильиных, В. Н. Жимерикин, **В. В. Мартемьянов**. Динамика численности шелкопряда-монашенки *Lymantria monacha* L. и непарного шелкопряда *L. dispar* L. (Lymantriidae, Lepidoptera): роль кормового ресурса и вирусной инфекции //Евраз. энтомол. журн. –2002. –Т. 1. –С. 101-108.

10. С. А. Бахвалов, В. Н. Жимерикин, **Мартемьянов В. В.** Экологическая плотность и чувствительность к вирусной инфекции рыжего соснового пилильщика (*Neodiprion sertifer* Geoffr.) в сосновых насаждениях с неоднородными лесорастительными условиями // Евраз. энтомол. журн. –2003. Т.2. –С. 261-264.

11. **В.В. Мартемьянов**, С.А. Бахвалов Воздействие неполярных экстрактов багульника (*Ledum sp.*), оленьего мха (*Cladonia sp.*) и вируса ядерного полиэдроза на структурные показатели популяции непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) // Сибирская зоологическая конференция. Новосибирск, 15-22 сентября.2004. – С. 392-393.





№ - - 9 0 4

РНБ Русский фонд

2005-4

48919