

УДК 574.578.4

ЕНТОМОПАТОГЕННІ ВІРУСИ ЯК РЕГУЛЯТОРИ ЧИСЕЛЬНОСТІ ШКІДЛИВИХ КОМАХ

В. Л. Васильєва, Н. М. Лебединець

Київський НДІ епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського МОЗ України, узвіз Промислів Яр, 4, Київ, 03038 Україна

Одержано 3 лютого 2000

Энтомопатогенные вирусы как регуляторы численности вредных насекомых. Васильева В. Л., Лебединец Н. М. — В статье приведены основные биологические характеристики энтомопатогенных вирусов семейства Baculoviridae, наиболее вероятных потенциальных инсектицидов. Охарактеризованы взаимоотношения в паразито-хозяинной системе «вирус (возбудитель болезни)–насекомое (хозяин вируса)», которая обеспечивает существование этих антагонистических видов в природе. От уровня изученности механизмов этих процессов в большой степени зависит эффективность регулирования человеком численности вредных насекомых в агробиоценозах.

Ключевые слова: энтомопатогенные вирусы, бакуловирусы, биометод защиты растений, насекомые-вредители растений, вирозы насекомых.

Entomopathogenic Viruses as the Regulators of Number of the Destructive Insects. Vasylyeva V. L., Lebedinets N. M. — Main biological characteristics of the entomopathogenic viruses of the family Baculoviridae, as the best of potential insecticides are presented. Interaction in the system parasite-host, namely the virus (causative agent of disease) versus the insect (sensitive organism), which is responsible for existence of these antagonistic species in the nature, is characterized. It should be noted that the progress of man in the regulation of the number of destructive insects in agrobiocenosis is dependent to main effective extent on the level of studying of these mechanisms.

Key words: entomopathogenic viruses, baculoviruses, biomethod of protection of plants, destructive insects of plants, viroses of insects.

Сьогодні немає сумніву, що боротьба зі шкідливими видами комах за допомогою отрутохімікатів має більше недоліків, ніж позитивів. Динамічне поєднання інтегрованих методів захисту рослин дасть можливість контролювати чисельність шкідливих організмів в агросистемах та створити умови для їхньої саморегуляції в природних біоценозах (Акимов, Зерова, Колодочка, 1997). Застосування мікроорганізмів — збудників хвороб шкідливих комах — складає істотну частину біологічного методу.

В природних біоценозах упродовж віків існували й існують механізми і чинники, що регулюють чисельність кожного виду. Серед таких чинників поряд з вищими організмами, такими, як паразитичні та хижі членистоногі, комахоїдні птахи чи ссавці, значне місце посідають ентомопатогенні мікроорганізми: віруси, бактерії, гриби, найпростіші. Штучне внесення мікробіологічного агента в агробіоценоз під час масового розвитку в ньому шкідників викликає спалах хвороби і зниження їхньої чисельності. Хвороботворний збудник не знищує цілком популяцію шкідника, а лише знижує його чисельність, можливо, на роки, доки знову не виникнуть сприятливі умови для його масового розмноження. Останнє можна передбачити і попередити. Саме в цьому і полягає стратегія регуляції чисельності комах-шкідників людиною.

Еволюційна усталеність відносин між паразитами, шкідниками та їх живителями є вельми динамічною, нетривкою: під впливом різних факторів вона може порушуватись і призводити як до масового розмноження шкідників та загибелі рослини-живителя, так і до активізації збудника чи до його депресії. Внесення ентомопатогенних мікроорганізмів до популяції шкідників в період їх масового розмноження викликає хвороби і загибель комах, дає змогу знизити їх чисельність і шкодочинність до економічно безпечного рівня, що і є кінцевою метою мікробіологічного методу захисту рослин.

Серед ентомопатогенних мікроорганізмів найбільш перспективними інсектицидами можна вважати віруси родини Baculoviridae в першу чергу тому, що цій родині притаманна висока вибірковість патогенної дії: вони вражають лише один чи декілька споріднених видів і не завдають шкоди іншим. Така специфічність гарантує від різких зрушень в біоценозах, зберігаючи весь комплекс паразитичних та хижих комах, комах-запилювачів, іншу корисну ентомофауну. Крім цього, бакулові-

руси не виявляють помітного негативного впливу на теплокровних тварин і людину (Васильєва, 1997; Васильєва, Гураль, 1989).

Біологічні зв'язки ентомопатогенних вірусів зі своїми хазяями (комахами) різноякісні, складні і зумовлюються тривалістю їх спільної еволюції. Надзвичайно вузька специфічність чи спеціалізація, коли циркуляція вірусу може відбуватися в межах лише одного біологічного виду, також свідчить про давність їх взаємовідносин (Громашевский, Васильєва, 1970; Andrewes, 1957).

Циркуляція бакуловірусів у межах популяції свого хазяїна відбувається як горизонтально (поширення маніфестної інфекції в популяції хазяїна), так і вертикально (передача латентного вірусу від батьків потомству). Останній тип передачі для бакуловірусів може бути непомітним або не головним, але він сприяє збереженню вірусу як виду. Зміна переважаючого типу поширення вірусу залежить від екологічних та клімато-географічних флуктуацій в природі, від космічних впливів тощо. Більш детально ці проблеми будуть розглянуті нижче.

Специфіка епізоотичного процесу вірозів головним чином визначається внутрішньоклітинним паразитуванням вірусів, нездатністю їх до репродукції поза клітиною хазяїна. В навколишньому середовищі (поза клітиною) віруси можуть існувати певний час без розмноження. Для бакуловірусів це може тривати декілька років завдяки формуванню в організмі комахи специфічних форм — так званих тілець-включень (ТВ) у вигляді поліедрів чи гранул, що дозволяє вірусу виживати за екстремальних умов навколишнього середовища. ТВ складаються з інертного кремнійвміщуючого білка, до якого хаотично включені віріони: пучками — в поліедрах або ж поодиночі — в гранулах. Хвороби, під час яких утворюються поліедри, мають назву поліедрозів, а коли формуються гранули, — гранульозів. Здатність формувати ТВ дещо нагадує утворення спор бактеріями, проте механізми цих процесів зовсім різні (Тарасевич, 1973).

Бакуловірусам притаманно також здатність передаватися спадково наступним поколінням трансфазово та трансваріально у вигляді латентного вірусу, який не викликає маніфестної хвороби, проте знижує активність популяції шкідника і за певних обставин може активізуватися. Завдяки цьому в біоценозах відбуваються періодичні спалахи спонтанних епізоотій, що є основою природної регуляції паразито-хазяїнських відносин (Гулій, Голосова, 1975). Таким чином, мікроорганізми і паразитичні комахи діють в різних інтервалах щільності популяції, що, зазвичай, і відбувається в природі.

За умов низької вірулентності збудника можуть існувати й інші типи епізоотій, коли динамічна рівновага складається не на популяційному, а на організмовому рівні. Це характерно для вірусів взагалі, а для вірусів комах — особливо. Проте вирішальним чинником динаміки чисельності популяції комах є епізоотії вірусних хвороб, які спричинені збудником з високою вірулентністю.

В. В. Гулій і М. А. Голосова (1975) описують 3 типи вірусних епізоотій серед личинок комах: гострі — зі смертністю 60–100%, підгострі — 15–59%, та хронічні — менше 15%. Для личинок, що мають потаємний спосіб життя в плодах, пагонах, смертність може складати менше 5–10%. Найбільш висока смертність і швидкоплинність епізоотій буває у колоніальних комах, наприклад пильщиків. Динамічна рівновага в системі відновлюється завдяки скороченню числа чутливих особин серед популяції комах, та загибелі більшої частини популяції вірусу поза організмом хазяїна.

Так звані спонтанні епізоотії частіше виникають на спаді масового розмноження шкідників, коли останні вже встигли спричинити невідворотної шкоди рослинам. Як показали численні спостереження, на виникнення спонтанних епізоотій та їх поширення впливають умови зовнішнього середовища (температура, вологість, сонячна радіація, інтоксикація отрутохімікатами тощо), а також чисельність та щільність популяції шкідника, стадія розвитку гусениці. Неприятливі умови знижують стійкість комах до інфекції та сприяють активізації латентного вірусу. Вірусні епізоотії як правило, починаються поступово, з поодиноких випадків. Захворюваність та смертність гусениць деякий час знаходиться на низькому рівні, потім йде період інтенсивного зростання захворюваності. Епізоотія охоплює майже всю популяцію і майже всю її знищує упродовж короткого часу (Гулій, Голосова, 1975).

Поширення вірусів ядерних поліедрозів та гранульозів відбувається багатьма шляхами, але головним чином — горизонтально, по типу кишкових інфекцій (фекально-оральним шляхом). Проте більшості бакуловірусів притаманне поширення гемолімфо-оральним шляхом, коли вірус потрапляє в навколишнє середовище не тільки з кишечника хворої гусениці, а й після розриву її кутікули, коли з хворої гусениці з залишками гемолімфи витікають біліони ТВ, які забруднюють листову поверхню рослин. Чутливі до вірусу гусениці заражуються, поїдаючи забруднене вірусами листя. Таким чином, перший етап механізму передачі — вихід збудника у навколишнє середовище; другий — перебування вірусу в навколишньому середовищі і третій — проникнення до чутливої особини-хазяїна. На другому етапі вірус, знаходячись на об'єктах навколишнього середовища, поширюється за допомогою комплексу біологічних та абіотичних чинників.

Біологічні передовачі тобто організми, в яких бакуловірус здатний розмножуватись, крім свого біологічного хазяїна, не відомі. Хижі оси, мурашки, різні групи мух — тахіни, саркофагіни, мусцини та інші, комахоїдні птахи тощо беруть участь лише у механічній передачі вірусу, так само як абіотичні фактори (вітер, пил тощо). Проте визначити місце кожного фактору та його питому вагу в поширенні вірусів вдається не завжди (Ignoffo, 1968). Джерелом спонтанної вірусної епізоотії завжди є хворі комахи чи носії латентної інфекції. І чим вищою буде щільність популяції комах-хазяїна, тим з більшою інтенсивністю відбуватиметься розсіювання вірусу в осередку розмноження та охоплення комах захворюванням.

Тривале збереження ентомопатогенних вірусів в період депресії комах після епізоотії забезпечує вертикальний шлях передачі інфекції потомству — трансфазово та трансваріально. Під час епізоотії частина комах, частіше за все особини старшого віку, виживає. Вірус зберігається в їхньому організмі в процесі метаморфозу до імаго і далі через яйце може передаватися потомству латентно.

Явище латентності вивчено недостатньо. Вважається, що вірус у клітинах хазяїна може переходити в стан провірусу, включеного до ядерного апарату клітини-хазяїна, і передаватися від клітини до клітини, розмножуючись синхронно з їх поділом. Частина личинок-вірусоносіїв виживає і проходить метаморфоз, хоча плодючість комах при цьому знижується. Латентна інфекція за певних проволучих умов, які пов'язані головним чином з підвищенням щільності популяції, станом кормової бази, несприятливою температурою тощо, може активізуватися.

Шляхи передачі вірусу в осередку розмноження комахи-хазяїна мають багато спільного і підкоряються загальним законам і закономірностям, які стосуються збудників інфекційних хвороб людини і тварин (Громашевский, Васильева, 1970), хоча є свої відмінності. Так, відомо, що комахи не здатні продукувати антитіла, і тому можливості мобілізації захисних сил організму вельми обмежені. Така мобілізація відбувається шляхом інтенсифікації процесів продукування фагоцитів. Відсутність набутого імунітету надає епізоотології хвороб комах характерних рис, які не зустрічаються в епідеміології хвороб теплокровних тварин. Те, що віруси в природі здатні викликати велику смертність серед комах-шкідників в період масового їх розмноження, вже не викликає сумнівів. Проте не завжди так відбувається. Будь-яка природня епізоотія починається з поодиноких випадків, кількість яких збільшується, інфекція починає поширюватися радіально, численними шляхами передачі, але не завжди спалах її припадає на період, коли переважають ранні личинкові стадії ураженої генерації комах. Гусениці можуть закінчити харчування і піти на лялькування. Тоді масова захворюваність і смертність, як правило, виникають в наступному поколінні і, головним чином, серед гусениць старшого віку. За цей час комахи встигають нанести значної шкоди рослинам.

Динаміка штучних епізоотій дещо відрізняється від динаміки спонтанних. Під час штучної епізоотії, яка спрямована на масове знищення комах з метою захисту рослин від об'їдання, необхідною умовою є одночасне інфікування комах по всій території осередку їх розмноження. Тоді після інкубаційного періоду (6–12 діб) відбувається масове захворювання гусениць з високою смертністю, і протягом короткого терміну (12–28 діб з моменту обробки вірусною суспензією) гине 90–100% комах. Під час масової захворюваності гусениць об'їдання ними рослин продовжується, проте воно стає значно меншим, нижче економічно небезпечного рівня, бо гусениця вже в інкубаційному періоді припиняє або зменшує активність живлення.

Ефективність штучних епізоотій залежить також від вірулентності, дози та строків застосування вірусу. Молодші стадії гусениць найбільш вразливі, і смертність серед них найвища. Якщо ж осередок масового розмноження комах обробляється вірусним препаратом в період, коли гусениці досягли вже старшого віку (IV–V стадії), епізоотія, як правило, не набирає достатнього розмаху, гусениці закінчують харчуватись і йдуть на лялькування. При цьому інфекція не переривається, від гусениці вона переходить до лялечки, і далі – до імаго, проте, форма існування вірусу в цих стадіях розвитку комах вже інша, латентна, а рівень загибелі шкідників від поліедрозу низький. Через деякий час за певних умов вірус може активізуватися і призвести до виникнення нового епізоотичного спалаху.

Після епізоотії упродовж декількох років чисельність комах залишається на низькому рівні, який не має економічного значення. Цьому сприяє персистенція (стабільне перебування) вірусу в популяції комах, трансфазова та трансваріальна передачі його наступним генераціям. Персистенція вірусу підтверджується наявністю безсимптомного вірусоносійства серед комах, виникненням окремих випадків гострої з характерними ознаками хвороби, а також епізодичними спалахами хвороби з масовою смертністю в місцях підвищеної щільності популяції. Серед внутрішніх причин, що активізують інфекцію, найбільше значення має перехід комахи з однієї стадії розвитку до іншої, що постійно супроводжується клінічним проявом хвороби та загибеллю певної кількості особин.

В міжепізоотичний період в колишньому осередку масового розмноження комах відбувається накопичення вірусу в ґрунті. Деякі дослідники стверджують, що, незважаючи на здатність вірусу накопичуватись та зберігати вірулентність в ґрунті, роль останнього у виникненні вірусних епізоотій обмежена (Орловская, 1989; Margulis, 1981).

Спостереження багатьох вчених показали, що масова захворюваність комах під час штучної епізоотії закінчується різким спадом їх чисельності, іноді — майже повною загибеллю популяції. Упродовж багатьох років така популяція не може досягти значної чисельності (Орловская, 1989). Отже, вірусологічний метод боротьби з комахами-шкідниками ґрунтується на міжвидових антагоністичних взаємовідносинах збудників хвороб та їх хазяїв, специфічних морфо-фізіологічних та екологічних особливостях вірусів, а також на відсутності виникнення спадкової стійкості у комах та нешкідливості вірусів комах для навколишньої фауни і флори. Враховуючи екологічні особливості бакуловірусів, можна неупереджено стверджувати, що вони є майже ідеально придатними до використання у стабільних тривалих програмах захисту рослин від шкідників.

Головною стратегією боротьби з комахами-шкідниками є приготування вірусного матеріалу в контрольованих умовах і обробка ним рослин в такий період, коли комахи ще не завдали відчутної шкоди. Отже, основна стратегія застосування вірусів базується на штучному прискоренні їх контакту із шкідливими комахами або перенесенні контакту на більш ранній період онтогенезу комах, поки вони максимально чутливі до інфекції.

Конкретні тактичні заходи застосування вірусів принципово не відрізняються від тих, що застосовуються при хімічних обробках.

Іншим стратегічним напрямком застосування вірусів є їх інтродукція. Нагадаємо 2 приклади успішної інтродукції: завезення вірусів ялинового пильщика *Gilpinia (=Diprion) hercynica* до Східної Канади у 1937–1938 рр. та вірусу соснового пильщика *Neodiprion sertifer* Geoffr на територію Північної Америки у 1953 р., під час масового розмноження шкідників, які не мали власних вірусів. Протягом кількох років віруси, що були розпилені з літаків над лісами, викликали значні епізоотії в популяціях комах і тим самим захистили ліси на великих територіях (Bird, Burk, 1961). На сьогодні обидва ці віруси стали звичайними для Американського континенту і утримують чисельність шкідників на більш-менш безпечному рівні.

Не менш вражаючі результати боротьби в осередках масового розмноження *N. sertifer* на насадженнях сосни на значних територіях лісгоспів Ростовської обл., що була проведена у 1969–1971 рр. під керівництвом Біологічного інституту АН СРСР (м. Новосибірськ). Залежно від застосованої дози одноразова обробка дерев вірусною суспензією сприяла загибелі 75% гусениць і більше.

Неодноразово було доведено, що ефективність інфекційного агента не обмежується лише високою смертністю шкідника, вона визначається і тривалим проявом цієї дії, нешкідливістю для теплокровних тварин і корисних комах та економічною ефективністю в порівнянні з хімічними обробками (Васильєва, 1997; Miltenburger, 1980; Payne, 1982). Наш власний досвід також підтверджує ці результати. Так, у 1980 р. великі масиви яблуневих садів в радгоспі Новоолександрівський Яготинського р-ну Київської обл. були уражені непарним шовкопрядом. Тоді проти нього був застосований препарат Вірин-ЕНШ. Після декількох років спостережень відзначали зниження чисельності шкідника на 78–95% і до цього часу його чисельність утримується на низькому рівні (ефект післядії). У хворих личинках виявляється вірус ядерного поліедрозу, ідентичний внесеному. За весь час спостережень не було виявлено будь-якої негативної дії вірусу на людей, що брали участь в обробці саду, а також на місцеву фауну чи флору (Яценко та ін., 1990).

Вивчення безпеки вірусних інсектицидів для здоров'я людини та тварин здійснювалось, як правило, на державному рівні, починаючи з 70-х років у багатьох країнах світу: Англії, США, Німеччині. Були проведені численні експерименти на представниках різних класів тваринного світу і жодного разу не виявлено шкідливого впливу вірусів на нецільові об'єкти (Ignoffo, 1968, 1973; Хейм-

пел, 1976; Safety aspects..., 1978). Багаторічні дослідження, проведені лабораторією медичної оцінки вірусних інсектицидів Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб, підтвердили безпеку вірусних препаратів для людини, теплокровних тварин і довкілля (Васильєва, 1983; Васильєва, Гураль, 1989).

Отже, вірусологічний метод захисту рослин від шкідників та хвороб якісно та докорінно відрізняється від хімічного і має певні переваги над останнім. Екологічна доцільність — ось головний критерій необхідності та перспективності вірусологічного методу захисту рослин від шкідливих комах при достатній технічній та економічній ефективності. Біологічний метод, особливо вірусологічний, потребує ще суттєвих технологічних доробок, значної просвітницької роботи серед користувачів, реклами з боку розробників препаратів та державної підтримки. Проте всі ці заходи будуть значною мірою перекриті позитивними результатами в сільськогосподарському виробництві і збереженні здоров'я людей та довкілля.

- Акимов И. А., Зерова М. Д., Колодочка Л. А. Фундаментальные исследования паразитических хищных членистоногих в развитии биологических методов защиты растений // Вестн. зоологии. — 1997. — 31, № 1–2. — С. 5–15.
- Васильєва В. Л. Итоги и задачи научных исследований по безопасности вирусных инсектицидов // Молек. биология. — Киев : Наук. думка, 1983. — 34. — С. 19–27.
- Васильєва В. Л. Медичні аспекти застосування вірусів для захисту рослин в Україні // Мед. весті. — К. : Медицина України. — 1997. — № 3. — С. 6–8.
- Васильєва В. Л., Гураль А. Л. Оценка безопасности для человека и окружающей среды вирусов, используемых для борьбы с вредными насекомыми // Гигиена и санитария. — 1989. — № 1. — С. 43–48.
- Громашевский Л. В., Васильєва В. Л. Филогенетические взаимоотношения и механизм передачи в процессе эволюции вирусов // Вестн. АМН СССР. — 1970. — № 12. — С. 48–58.
- Гулий В. В., Голосова М. А. Вирусы в защите леса от вредных насекомых. — М. : Лесн. пром-ть, 1975. — 168 с.
- Орловская Е. В. Использование вирусов в борьбе с хвоелистогрызущими насекомыми в СССР // Информац. бюл. ВПС МОББ. — 1989. — № 27. — С. 69–72.
- Тарасевич Л. М. Вирусы насекомых в единой классификации вирусов // Изв. АН СССР. Сер. биол. — 1973. — № 5. — С. 696–705.
- Хеймел А. Безопасность применения энтомопатогенных микроорганизмов для человека и позвоночных животных // Микроорганизмы в борьбе с вредными насекомыми и клещами. — М. : Колос, 1976. — С. 373–390.
- Яценко В. Г., Руднев А. Г., Васильєва В. Л. и др. Эффективность и безопасность новых препаративных форм Вирин-ЭНШ против непарного шелкопряда в садах : Тез. докл. II Симп. стран СЭВ по микроб. пестицидам (15–19 окт. 1990). — Протвино, 1990. — С. 126–127.
- Andrewes C. H. Factors in virus evolution // Adv. Virus Res. — 1957. — 4. — P. 3–21.
- Bird F. T., Burk F. M. Artificially disseminated virus as a factor controlling the European spruce saw-fly, *Diprion hercyniae* (HTG) in the absence of introduced parasites // Can. entomol. — 1961. — 93. — P. 228–238.
- Dahlsten D. L. Pesticides in an era of integrated pest management // Environment. — 1983. — 25, N 10. — P. 45–54.
- Ignoffo C. M. Specificity of Insect viruses // Bull. Entomol. Soc. America. — 1968. — 14, N 4. — P. 265–276.
- Ignoffo C. M. Effect of entomopathogens on vertebrates // Ann. N. J. Acad. Sci. — 1973. — 217, N 1. — P. 141–164.
- Margulis L. Symbiosis in cell evolution live and its environment on the Early Earth. — San Francisco, 1981. — P. 350–365.
- Miltenburger H. I. Viral pesticides: hazard evaluation for non target organisms and safety testing // Ecol. bul. — Stockholm, 1980. — N 31. — P. 57–74.
- Payne C. C. Insect viruses as control agents // Parasitology. — 1982. — N 4. — P. 35–63.
- Safety aspects of Baculoviruses as biological insecticides. Symposium proceedings / Ed. H. G. Miltenburger. — New York, 1978. — 293 p.