

В. В. Гулий, М. А. Голосова

ВИРУСЫ В ЗАЩИТЕ ЛЕСА ОТ ВРЕДНЫХ НАСЕКОМЫХ

815050

**ВОЛОГОДСКАЯ
областная библиотека
им. И. В. Бабушкина**



Издательство
«ЛЕСНАЯ ПРОМЫШЛЕННОСТЬ»
Москва 1975

Вирусы в защите леса от вредных насекомых. Гу-
лий В. В., Голосова М. А. М., «Лесная промышленность», 1975 г., 168 с.

В книге рассмотрена роль этомопатогенных вирусов в регуляции численности насекомых-фитофагов, показаны особенности патогенеза, патоморфологии и эпизоотологии болезней у массовых видов вредителей. Особое внимание уделено вопросам практического использования возбудителей вирусных болезней в борьбе с хвое- и листогрызущими насекомыми в лесах СССР. Изложены некоторые методические приемы работы с различными группами энтомопатогенных вирусов, связанные с их применением в защите леса.

Книга рассчитана на специалистов по защите растений, а также может быть полезна студентам-биологам.

Табл. 35, ил. 59, библиогр.— 357 назв.

Г $\frac{40506-103}{037(01)-75}$ 44-75

ВВЕДЕНИЕ

Лесное хозяйство несет существенный ущерб от вредной деятельности насекомых-фитофагов, поэтому на огромных территориях ежегодно проводят профилактические и истребительные мероприятия. Современная система лесозащиты предполагает прежде всего создание устойчивых к вредителям насаждений и применение рациональной системы лесохозяйственных мероприятий в целях предупреждения массового размножения насекомых. В случаях, когда численность вредителей начинает превышать экономический порог вредоносности, используют истребительные приемы, причем ведущее место среди них принадлежит химической борьбе. Химические средства защиты леса находят применение ежегодно на площади, превышающей 1 млн. га. Выпуск ядохимикатов постоянно возрастает. Например, в США ежегодно производят свыше 0,5 млн. т пестицидов, в Англии расход инсектицидов составляет 960 т в год, в ФРГ применяют более 1350 препаратов. Интенсивно развивается промышленное производство ядохимикатов и в нашей стране.

В результате широкого применения инсектицидов решена проблема борьбы на больших площадях с саранчой, малярийными комарами, сибирским шелкопрядом, различными видами грызунов и др. В то же время обнаружилось серьезные недостатки химического метода защиты растений. Один из них связан с возникновением устойчивых к ядам популяций насекомых, причем явление устойчивости распространено довольно широко. Так, в 1968 г. на заседаниях Международной организации ФАО прослушано 650 сообщений о возникновении устойчивости у 228 видов насекомых и клещей. Нередко возникает полигенная устойчивость, т. е. когда в результате применения одного препарата возникают формы, устойчивые к другим препаратам, что имеет важное экономическое значение, так как вынуждает повышать нормы расхода ядохимиката или изыскивать новые препараты.

Широкое применение ядохимикатов нарушает исторически сложившуюся динамику биоценоза. Гибель полезных насекомых и клещей порождает регулярные вспышки массовых размножений различных насекомых-фитофагов. Исследования показывают, что регулярное применение пестицидов может привести даже к увеличению численности вредителей.

В настоящее время в лесозащите намечается разумное ограничение применения химических средств, что дает возможность предотвратить загрязнение окружающей среды и сохранить биоценозы.

В связи со сложившейся обстановкой в последние 15—20 лет особенно интенсивно разрабатывают новые способы борьбы с вредителями: биологические, биофизические, генетические и др.

Внимание исследователей все в большей степени привлекает возможность получения микробных препаратов. Их преимущества перед искусственно синтезированными веществами заключаются в следующем: они, как правило, не вносят ничего качественно нового в биоценоз, действуют высокоспецифично, способны в ряде случаев при минимальных концентрациях вызывать массовые эпизоотии в популяциях чувствительных насекомых-хозяев и распространяются за пределы обрабатываемых территорий. Зачастую внесенные в популяцию насекомого-вредителя инфекционные агенты становятся сочленами биоценоза и в течение многих лет играют важную роль, ограничивая численность вредного вида. Наряду с этим микробиологические препараты можно рассматривать как удобное средство построения интегрированных систем защиты лесонасаждений.

В обширном комплексе энтомопатогенных микроорганизмов, оказывающих влияние на динамику численности фитофагов, одно из важных мест занимают вирусы. Они широко распространены в природе, часто вызывают естественные эпизоотии среди насекомых и могут поддерживать их численность на низком уровне. Отдельные примеры искусственного применения препаратов, созданных на основе энтомопатогенных вирусов, показали их высокую эффективность. Известно около 300 видов насекомых мировой фауны, для которых зарегистрированы вирусные болезни, и число их продолжает расти.

В СССР до начала 60-х годов работы в области вирусной патологии насекомых проводили на хозяйственно-полезных видах — тутовом и дубовом шелкопрядах и медоносной пчеле. С развитием микробиологического метода борьбы с вредными насекомыми исследования вирусных болезней в популяциях хвое- и листогрызущих насекомых расширились, что привело к разработке многих теоретических вопросов и первым практическим успехам.

Материалом для настоящей книги послужили полевые и лабораторные исследования авторов в лесных насаждениях различных районов СССР, а также данные отечественной и зарубежной литературы по инфекционной патологии и вирусологической борьбе с насекомыми — вредителями леса.

ГЛАВА I. ВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ И ИХ РАСПРОСТРАНЕНИЕ В ПОПУЛЯЦИЯХ НАСЕКОМЫХ — ВРЕДИТЕЛЕЙ ЛЕСА

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ

Изучение вирусов, поражающих насекомых-фитофагов, тесно связано с общим прогрессом вирусологии как науки. Первые сведения о энтомопатогенных вирусах получены в первые 10-летия XX в., что было предопределено классическими исследованиями Д. И. Ивановского, который показал, что заразное начало, вызывающее мозаичную болезнь табака, проходит через фарфоровые фильтры [72]. Таким образом, впервые было доказано существование фильтрующихся инфекционных агентов и найден метод дифференцирования возбудителей вирусных заболеваний от возбудителей болезней иной природы. Аналогичные эксперименты с энтомопатогенными вирусами были проведены позже [188, 305].

Вирусы, связанные с насекомыми, представляют обширную и разнообразную группу инфекционных агентов. Однако наибольшее внимание исследователей привлекают возбудители полиэдрозов; они имеют большое экономическое значение, так как нередко оказывают существенное влияние на численность вредных насекомых. Возбудители вирусных болезней насекомых служат удобной моделью для решения многих важных вопросов молекулярной биологии и вирусологии. Это обусловлено в значительной мере тем, что вирусные включения, формирующиеся в клетках хозяев, достигают 20—30% и более сухого веса погибшей личинки, а сами насекомые удобны для постановки лабораторных опытов. В частности, вирус ядерного полиэдроза тутового шелкопряда, наряду с вирусом табачной мозаики, в течение многих лет являлся классическим объектом при установлении целого ряда общебиологических закономерностей.

Большое общебиологическое и практическое значение исследований в области вирусологии насекомых предопределило быстрые темпы их развития. Об этом свидетельствуют следующие факты. В 1949 г. Э. Штейнхауз [186] насчитывал немногим бо-

лее 100 видов, восприимчивых к вирусам; через 10 лет эта цифра удвоилась [288] и к 1970 г. возросла почти в 3 раза [264, 157].

Изучение элементарного химического состава ядерных полиэдров тутового шелкопряда показало содержание следующих элементов, %: углерода (54,3), водорода (7), азота (14,2), фосфора (0,31), серы (1,5), хлора (0,07), железа (0,005). Все они характерны для клеток растений, животных и бактерий. В результате исследования состава очищенного белка полиэдров, выделенных из различных чешуекрылых насекомых, обнаружено 16 аминокислот. Процентное соотношение их примерно одинаково независимо от видовой принадлежности хозяина [205]. О химическом составе гранул до настоящего времени сведений в литературе мало. Известны работы Е. Веллингтона, который с помощью хроматографии установил близость аминокислотного состава белков вирусных частиц из гранул, полученных от гранулезных гусениц *Sacoecia marginata* Hbn. и *Choristoneura fumiferana* Clem. Химические анализы различных групп энтомопатогенных вирусов не выявили в них особых различий. В то же время биохимические исследования позволили сделать вывод, что вирусные частицы из ядерных полиэдров и гранул содержат ДНК, а из цитоплазматических — РНК [202].

Таким образом, энтомопатогенные вирусы представляют собой гетерогенную группу, где различия между отдельными представителями значительно больше, чем среди клеточных организмов. Если нормальными компонентами растительной, животной или бактериальной клетки являются белки, РНК, ДНК, липиды, углеводы, ферменты и некоторые другие соединения, то вирусы содержат лишь один тип нуклеиновой кислоты — ДНК или РНК. Функция хранителя генетической информации у вирусов ядерного полиэдроса всех типов и гранулеза выполняет двуспиральная ДНК, а у вирусов возбудителей цитоплазматического полиэдроса — однонитчатая РНК [337].

Исследования, выполненные на бактериофагах, вирусах растений и животных, показали универсальность правила, постулировавшего, что вирион может содержать лишь один тип нуклеиновой кислоты — ДНК или РНК [164]. К настоящему времени обнаружилось лишь два исключения из этого правила. Первое — у представителей группы хламидозоа, к которой относятся крупные и сложно устроенные возбудители трахомы, пситтакоза, лимфогранулемы и некоторых других, содержащие одновременно ДНК и РНК. На этом основании многие исследователи считают их самостоятельной группой, занимающей

промежуточное положение между вирусами и риккетсиями. Второе исключение наблюдается у вирусов ядерного полиэдроа и гранулеза. Впервые этот факт был установлен советскими исследователями на ядерных полиэдрах тутового и дубового шелкопряда [132, 155]. В дальнейшем присутствие двух нуклеиновых кислот было обнаружено в ядерных полиэдрах американской белой бабочки *Hypathria cunea* Drury, гранулах сибирского шелкопряда *Dendrolimus sibiricus* Tschtw и озимой совки *Agrotis segetum* Schiff. [157].

РНК не входит в состав вирионов, а содержится в белке полиэдра. Происхождение и роль ее до настоящего времени остается не выясненной. То, что заражение клетки и репродукция вируса происходят посредством очищенных вирионов, говорит о второстепенном значении РНК в процессе инфекции. Тем не менее исследования [160] показали ее связь с инфекционными свойствами полиэдров. Получены высокоинфекционные для гусениц тутового шелкопряда щелочные растворы ядерных полиэдров, содержащие оба типа нуклеиновых кислот и белок. После воздействия на растворы РНК-азы и ДНК-азы их инфекционность исчезла. Эти опыты были первой попыткой выяснения роли РНК полиэдров в их инфекционности. Косвенным подтверждением инфекционности РНК являются факты ее обнаружения в теле гусениц тутового шелкопряда вскоре после заражения ядерным полиэдрозом.

В течение последних 15—20 лет установлена субмикроскопическая структура некоторых полиэдров и гранул. М. Дэй [228] с помощью электронного микроскопа установил макромолекулярную кристаллическую решетку ядерных полиэдров тутового шелкопряда, определил размер белковых молекул и величину элементарной ячейки. Параллельные исследования К. Моргана [292, 293] показали, что молекулы полиэдренного белка эллипсоидны и расположены в гексагональной системе. Г. Бергольд [202, 203] установил закономерную связь между внешней формой полиэдров и их молекулярным строением: чем правильнее молекулярная решетка белковых молекул, тем совершеннее кристалл полиэдра. Молекулярное строение белка гранул аналогично полиэдренному белку.

Элементарные вирусные частицы — вирионы расположены в ядерных полиэдрах одиночно или пучками и имеют форму палочек; их число в пучках может меняться от 2 до 19 [204]; в гранулах заключена одна вирусная частица, реже две.

Вирионы, как ядерных полиэдров, так и гранул имеют сложное строение. Снаружи они одеты двумя оболочками — внутренней и внешней. Детали структуры вирусных частиц были уста-

новлены К. Смитом и Г. Хиллсом [339], которые показали, что внутренняя оболочка вирусной частицы при гранулезе капустной белянки *Pieris brassicae* L. спиралевидно утолщена. Позже подобные образования были обнаружены у ядерных полиэдров крапивницы *Aglais urticae* L. Исследования ядерных полиэдров, проведенные в последние годы, показали, что внутренняя часть палочковидных вирионов заполнена нуклеиновой кислотой [76, 204].

Таким образом, структура палочковидных вирусов насекомых существенно отличается от аналогичных по форме вирусов растений, вызывающих мозаичную болезнь табака, у которых имеется внутренний канал и РНК расположена спирально вдоль цилиндра. Экспериментальные исследования показали особое строение вируса гранулеза сибирского шелкопряда: центральная часть вирусной частицы представляет собой тяж ДНК в форме стержня размером около 25×270 мкм, вытянутого вдоль оси вирусной частицы и окруженного двумя оболочками — внутренней и внешней. Согласно предложенной модели упаковка высокомолекулярной циклической ДНК внутри вирусной частицы гранул сибирского шелкопряда осуществляется путем ряда последовательных спирализаций с образованием суперспирали высшего порядка в форме стержня, вытянутого вдоль оси вирусной частицы [177].

Структура вирионов цитоплазматических полиэдров долгое время оставалась неизвестной. Первое сообщение по этому вопросу дали Я. Хосака и К. Айзава [256]. Они установили икосаэдрическую форму с двумя концентрическими оболочками. Каждая оболочка имеет 12 субъединиц, представляющих собой пустые пентагональные призмы с выступами с наружной стороны в виде четырех трубок. Хроматографические и электрофоретические исследования цитоплазматического вируса из гусениц *Laotioe poruli* показали, что они содержат 0,9% РНК и не содержат ДНК [387]. Анализ вирусов пяти видов насекомых дал сходное количество РНК.

По мере увеличения числа видов вирусов, патогенных для насекомых, все острее встает необходимость определения их места в общей системе микроорганизмов.

К сожалению, систематика микроорганизмов далека от совершенства, поскольку еще отсутствуют единые объективные критерии для установления филогенетического родства. Исследователи нередко пользуются случайными признаками при выявлении различия или сходства видов и вариантов, что приводит к таксономической путанице.

Существующая в настоящее время классификация вирусов насекомых включает несколько родов, предложенных рядом авторов.

Я. Вейзер [357] на основе преимущественно существующих родовых таксонов предложил систему классификации энтомопатогенных вирусов, которая может удовлетворить нужды практической диагностики (табл. 1). В основу классификации положены характер локализации вирусов в тканях и клетках хозяина, а также морфология включений и вирионов. По мере накопления знаний о энтомопатогенных вирусах выявлено, что эти инфекционные агенты нельзя рассматривать как обособленную группу микроорганизмов. Более правильно использовать универсальную классификацию для всех вирусов независимо от круга поражаемых хозяев.

Таблица 1

Система классификации энтомопатогенных вирусов по Я. Вейзеру [354]

Высший таксон	Род	Авторы
Тип Virales		R. S. Breed, E. G. Murray, A. P. Hitchens [218]
Подтип Zoophaginae		F. O. Holmes [255]
Семейство Borreli- paseae		F. O. Holmes [255]
Подсемейство Borreli- poideae		J. Weiser [357]
	Borrelina	A. Paillet [306]
	Birdia	J. Weiser [357]
	Smithia	G. H. Bergold [201] J. Weiser [357]
Подсемейство Paillo- telloideae		J. Weiser [357]
	Vagoia	J. Weiser [357]
	Xerosia	J. Weiser [357]
	Pailletella	E. A. Steinhaus [345] J. Weiser [357]
Подсемейство Bergol- dioideae		E. A. Steinhaus [347] G. Benz [196] J. Weiser [357]
	Bergoldia	
	Capsula (virus)	
Подсемейство Morato- roideae		A. Krieg [278] F. O. Holmes [255]
	Pseudomorator	
	Morator	

На IX Международном конгрессе по микробиологии (Москва, 1966) были одобрены предложения и рекомендации по номенклатуре и классификации вирусов, разработанные Временным комитетом по номенклатуре вирусов (ВКНВ). По предложению ВКНВ все вирусы выделены в самостоятельный тип *Vira*. Основой таксономии является элементарная вирусная частица — вирион. Классификация базируется на типе нуклеиновой кислоты и анатомии вириона. При этом для характеристики вириона наиболее существенными признаками являются тип симметрии, количество капсомеров (для вирусов с кубической симметрией), диаметр нуклеокапсида (для вирусов со спиральной симметрией) и наличие наружной оболочки. В дальнейшем ВКНВ принял дополнительные критерии: число нитей нуклеиновой кислоты, молекулярный вес вириона, процентное содержание нуклеиновой кислоты, очертания вириона и капсида, константу седиментации вириона, нуклеотидный состав.

Согласно новым принципам номенклатуры и классификации все основные представители вирусов насекомых отнесены к семи различным группам (табл. 2). Для каждой группы предложен типовой вид [158].

Таблица 2

Основные группы энтомопатогенных вирусов

Группа или род	Типовой вид	Член или возможный член вирусов насекомых	Типовой вид вируса насекомых
Baculovirus	—	А. Группа вируса ядерного полиэдроза В. Группа вируса гранулеза	Вирус ядерного полиэдроза тутового шелкопряда (<i>Bombyx mori</i>) Вирус гранулеза еловой хвоевертки (<i>Choristoneura fumiferana</i>)
Poxvirus	Вирус вакцины	Вирус оспы насекомых	Вирус оспы майского хруща (<i>Melolontha melolontha</i>)
Iridovirus	—	Иридисцентный вирус (<i>Tipula</i>)	Радужный вирус болотной долгоножки (<i>Tipula paludosa</i>)
Parvovirus	Латентный крысинный вирус (<i>Kilham</i>)	Вирус денсонуклеоза	Вирус денсонуклеоза большой воициной моли (<i>Galleria mellonella</i>)
Группа вирусов цитоплазматического полиэдроза (близка к <i>Reovirus</i>)	—	Вирус цитоплазматического полиэдроза	Вирус цитоплазматического полиэдроза тутового шелкопряда (<i>Bombyx mori</i>)
Rhabdovirus	Вирус везикулярного стоматита	Вирус <i>Drosophila</i>	Вирус сигма дрозофилы (<i>Drosophila melanogaster</i>)
Enterovirus	<i>Poliovirus tupe 1</i>	Вирус острого паралича пчел	Вирус острого паралича пчел (<i>Apis mellifera</i>)

Основная информация о том или ином вирусе может быть записана в виде криптограммы. Так, криптограмму вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда *Bombyx mori* L можно записать в виде

D/2 : 80/10 — 15 : И/Е : 1/О.

Первая пара криптограммы показывает, что вирус содержит ДНК Д и она двунитчатая — 2; 80 млн. — молекулярный вес ДНК; 10—15% — содержание ДНК; И — вирион продолговатой формы с параллельными сторонами; Е — нуклеокапсид продолговатый с параллельными сторонами и незакругленными углами; 1 — систематическая принадлежность инфицируемого хозяина (в данном случае беспозвоночное *Invertebrate*); О — систематическая принадлежность переносчика (в данном случае переносчик неизвестен).

Трудности классификации энтомопатогенных вирусов связаны с их малой изученностью. Для большинства вирусов, поражающих лесных насекомых, еще не определены морфологические признаки и биохимические свойства. Исследователям еще предстоит выполнить большой объем работ, чтобы получить информацию, достаточную для объективного суждения о месте возбудителей вирозов дендрофильных насекомых в общей системе вирусов.

ОСНОВНЫЕ ТИПЫ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАСЕКОМЫХ

Ядерный полиэдроз общего типа. Ядерно-полиэдренные заболевания широко распространены в популяциях хвое- и листогрызущих чешуекрылых насекомых. Эти болезни сопровождаются появлением в клетках различных тканей многочисленных внутриядерных белковых включений вирусной природы. Включения имеют форму многогранников, поэтому болезни названы полиэдрозами. Размеры полиэдров колеблются в пределах 0,3—15 мк. В белковом матриксе полиэдров расположены вирионы в форме палочек длиной 200—400 и шириной 20—50 мк. Включения развиваются в ядрах клеток различных тканей, поэтому рассматриваемые заболевания обозначают как ядерные полиэдрозы общего типа.



Рис. 1. Гусеницы березовой пяденицы, погибшие от полиэдроза

В случае типичной формы протекания болезни насекомые становятся малоподвижными, прекращают питание, покровы их приобретают светлую окраску и при механических воздействиях легко разрываются, освобождая содержимое тела. У больных насекомых нередко изменяются реакции поведения. Большинство личинок хвое- и листогрызущих чешуекрылых при ядерном полиэдрозе поднимаются в верхние части крон, где погибают. Колониальные виды насекомых нередко теряют колониальный инстинкт. Так, при ядерном полиэдрозе общего типа яблонной моли гусеницы не укрываются под листовой пластинкой, а распределяются по всему объему паутинового гнезда. Больные и погибшие насекомые удерживаются брюшными ложноножками за субстрат и свисают вниз головой (рис. 1, 2). Трупы их быстро темнеют в связи с развитием гнилостных процессов. У чешуекрылых насекомых, гусеницы которых покрыты волосками (шелкопряды, стрельчатки, волнянки), внешние признаки полиэдроза менее выражены (рис. 3, 4). В некоторых случаях типич-

ное проявление полиэдроза может существенно нарушаться. В Красноярском крае и Бурятской АССР нам удалось наблюдать эпизоотии ядерного полиэдроза среди гусениц хвойной волнянки. Помимо типичной формы проявления полиэдроза, связанной с изменением цвета покровов и разжижением тела, в основных насаждениях Баргузинского лесхоза наблюдались и некоторые специфические особенности. Прекращавшие питание гусеницы вредителя быстро подсыхали и падали с крон деревьев. Мумифицированные насекомые сохраняли форму тела и окраску, что было связано с высокой температурой и низкой влажностью воздуха в Забайкалье летом 1969 г.

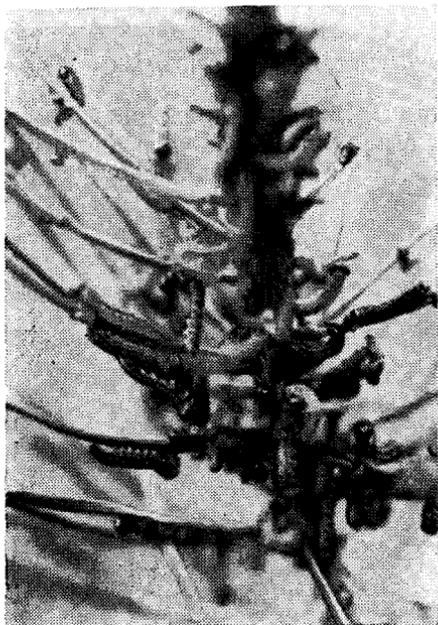


Рис. 2. Колония личинок рыжего соснового пилильщика, погибших от полиэдроза

В настоящее время количество чешуекрылых насекомых, поражаемых вирусами-возбудителями ядерных полиэдрозов общего типа, превышает 200 видов и число их продолжает расти. В большинстве случаев подробные данные о возбудителях и болезнях отсутствуют. Виды чешуекрылых насекомых — вредителей леса на территории СССР, в популяциях которых отмечен ядерный полиэдроз, приведены в табл. 3. Несомненно, с течением времени круг насекомых — хозяев полиэдренных вирусов будет расширяться. Некоторые полиэдренные вирусы, известные за рубежом, могут представлять интерес для интродукции. Это касается возбудителей полиэдрозов ивового

древоточца *Cossus cossus* L., лунки серебристой *Phalera bucephala* L. и некоторых других видов насекомых.

Ядерный полиэдроз кишечного типа. Долгое время ядерные полиэдрозы кишечного типа рассматривали вместе с ядерными полиэдрозами общего типа. Однако Я. Вейзер [357] на основании специфики тканевого тропизма и круга поражаемых хозяев выделил возбудителей кишечных ядерных полиэдрозов в отдельный род *Birdia*. В дальнейшем исследования Я. Кривинчиковой и Г. Бергольда [280, 281] подтвердили правомочность существования этого рода энтомопатогенных вирусов в силу антигенного

**Виды насекомых — вредителей леса, в популяциях которых
обнаружен ядерный полиэроз**

Вид насекомого	Место обнаружения болезни	Авторы
Вредители хвойных пород		
<i>Oscneria monacha</i> L.	Амурская обл.	В. В. Гулий [36]
<i>Orgyia antiqua</i> L.		Г. М. Иванов [69]
<i>Panthea coenobita</i> Esp.	Новосибирская обл.	В. В. Гулий [40]
<i>Dasychira abietis</i> Schiff.	Читинская обл., Красноярский край, Бурятская ССР	В. В. Гулий [36] В. Н. Жимерикин [55]
<i>Selenephora lunigera</i> Esp.	Иркутская обл. Амурская обл.	А. В. Гороховников, Е. В. Орловская, Ш. Фодор [30]
<i>Dendrolimus pini</i> L.	Воронежская и Белгородская области	В. В. Гулий [40] Е. В. Орловская [113]
<i>Thaumetopoea pityocampa</i> Schiff.	Башкирская АССР	»
<i>Panolis flammea</i> Schiff.	Томская обл.	В. В. Гулий [40]
<i>Bupalus piniarius</i> L.	Воронежская обл.	Е. В. Орловская [113]
<i>Zeiraphera diniana</i> Gn.	Иркутская обл.	А. С. Плешанов [120]
<i>Evetria resinella</i> L.	Бурятская АССР	В. В. Гулий [36]
Вредители лиственных пород		
<i>Porthetria dispar</i> L.	Различные районы европейской и азиатской частей СССР	Е. В. Орловская [113]
<i>Euproctis chrysorrhoea</i> L.	Черновицкая и Оренбургская области	»
<i>Malacosoma neustria</i> L.	Закарпатская обл., Белорусская ССР, Куйбышевская и Воронежская области, Приморский край, Армянская ССР	»
<i>Lasiocampa quercus</i> L.	Алтайский край	В. В. Гулий [36]
<i>Euproctis karghalica</i> Moore.	То же	В. В. Гулий [40]
<i>Hyphantria cunea</i> Drury.	Закарпатская обл.	Е. В. Орловская [113]
<i>Stilpnotia salicis</i> L.	Киргизская ССР и Воронежская обл., Томская, Новосибирская и Омская области	В. В. Гулий [36] »
<i>Dasychira pudibunda</i> L.	Грузинская ССР, Марийская АССР, Саратовская обл.	» » Е. В. Орловская [113]

Вид насекомого	Место обнаружения болезни	Авторы
<i>Operophtera brumata</i> L. <i>Erannis defoliaria</i> L.	Грузинская ССР	Ц. А. Чхубианишвили [174]
<i>Apoheima hispidaria</i> Schiff.	Воронежская и Саратовская области	М. А. Голосова [25]
<i>Phigalia pedaria</i> F.		»
<i>Biston hirtaria</i> Cl.	Волгоградская обл.	А. С. Симонова [140]
<i>Boarmia extersaria</i> Hd.	Воронежская обл.	Е. В. Орловская [113]
<i>Biston vetularia</i> L.	Воронежская, Омская и Новосибирская области	» В. В. Гулий, А. С. Коршунова [43]
<i>Cacoecia crataegana</i> Hd.	Саратовская обл.	М. Ф. Морозова [103]
<i>Hyponomeuta evonymellus</i> L.	Приморский край	Е. В. Орловская [113]
<i>Hyponomeuta malinellus</i> Zell.	Киргизская ССР	А. Я. Лескова [89]
<i>Tortrix viridana</i> L.	Московская обл.	М. А. Голосова [27]
<i>Lithocolletis populifoliella</i> L.	Новосибирская обл.	В. В. Гулий [40]
<i>Aporia crataegi</i> L.	Закарпатская, Тернопольская, Черновицкая и Киевская области, Молдавская ССР, Новосибирская и Томская области, Узбекская ССР	Е. В. Орловская [113]
<i>Dielephila lineata livornica</i> Esp.	Грузинская ССР	» В. П. Лукьянчиков [94]
<i>Dictyoploca japonica</i> Btl.	Грузинская ССР	В. В. Гулий [40]
	Приморский край	» Ц. А. Чхубианишвили [174] Л. П. Чельшева [172]

родства их представителей. Включения, характерные для возбудителей ядерного полиэдроза кишечного типа, локализованы в ядрах клеток эпителия среднего отдела кишечника. Размер их колеблется в пределах 0,5—1,5 мк. Элементарные вирусные частицы расположены одиночно в белковом матриксе полиэдра. Величина вирионов $20 \div 70 \times 200 \div 400$ мкм.

На территории СССР ядерные полиэдрозы кишечного типа обнаружены у трех видов семейства Tenthredinidae (Hymenoptera): рыжего соснового, черно-желтого соснового и тополевого (осинового) волосатого пилильщика (табл. 4).

Впервые ядерный полиэдроз кишечного типа отмечен у рыжего соснового пилильщика [235]. Подробное описание болезни появилось значительно позже [215]. В настоящее время имеются сведения о проявлении этой болезни в европейской и северо-американских популяциях пилильщика [247, 282, 300]. В СССР полиэдроз среди личинок этого вида вредителя также известен.

Личинки рыжего соснового пилильщика, пораженные ядерным полиэдрозом кишечного типа, характеризуются рядом специфических признаков. Они становятся вялыми и прекращают питание. В одной колонии насекомых можно обнаружить особей, находящихся на разных этапах инфекционного процесса и без заметных отклонений от нормы. Личинки в ходе болезни не теряют колониального инстинкта. Одновременно с прекращением питания последние сегменты их тела прочно прикрепляются



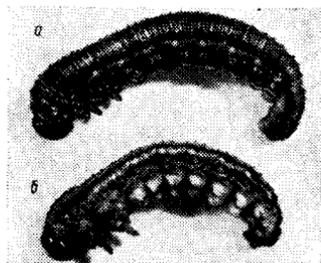
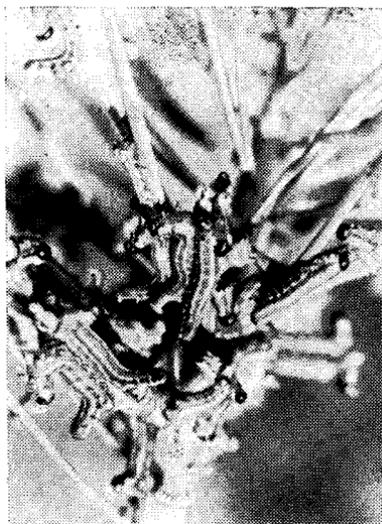
Рис. 3. Гусеница стрельчатки пси, погибающая от полиэдроза



Рис. 4. Гусеница пятнистой волнянки, погибающая от ядерного полиэдроза

к побегам и хвое кормового растения. В этот период времени личинка еще поднимает переднюю часть тела в ответ на раздражение. На конечных этапах инфекционного процесса головная капсула пилильщика прикрепляется к субстрату смолистыми выделениями из ротового отверстия. При типичном проявлении заболевания к моменту гибели покровы ложногусениц светлеют. Основной рисунок тела сохраняется (рис. 5, 6). Вирусные включения локализуются в ядрах клеток эпителия среднего отдела кишечника. В острой фазе болезни полиэдры попадают в гемолимфу и могут обнаруживаться в цитоплазме форменных элементов: фагоцитах, макро- и микронуклеоцитах. Одновременно они проникают в просвет заднего отдела кишечника.

Полиэдроз черно-желтого пилильщика, обнаруженный в Томской обл., развивался одновременно с кристаллообразующими



↑
Рис. 6. Личинки рыжего соснового пилильщика:
а — здоровая; б — больная полидрозом

←
Рис. 5. Колония здоровых личинок рыжего соснового пилильщика

бактериями *Bacillus thuringiensis* и простейшими (микроспоридии и гемогрегарины), поэтому типичные признаки вироза не проявились. Пораженные ложногусеницы прекращали питание. После гибели быстро темнели и мумифицировались, длительно

Таблица 4

Виды насекомых — вредителей леса, в популяциях которых обнаружен ядерный полидроз кишечного типа

Вид насекомого	Место обнаружения болезни	Автор
<i>Diprion sertifer</i> Geoffr.	Башкирская АССР,	Е. В. Орловская [113]
	Эстонская ССР,	»
	Латвийская ССР,	»
	Ленинградская,	»
	Воронежская,	»
<i>Diprion similis</i> Hart.	Оренбургская,	»
	Томская,	В. В. Гулий [34]
	Волгоградская и	»
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	Ростовская области	»
	Томская обл.	В. В. Гулий [33]
	Новосибирская,	В. В. Гулий [40]
	Курганская,	»
	Омская и Томская области,	»
Алтайский край	»	

сохраняясь на хвое деревьев. Полиэдренные включения (основной диагностический признак болезни) локализуются в клетках эпителия среднего отдела кишечника.

Из листогрызущих диприонид кишечным полиэдрозом болеет тополевый (осиновый) волосатый пилильщик. Болезнь у этого вида впервые обнаружена в Канаде [334].

Эпизоотия ядерного полиэдроза кишечного типа среди ложногусениц тополевого волосатого пилильщика впервые зарегистрирована в 1966 г. в Томской обл. (Верхне-кетский лесхоз). В дальнейшем пораженные вирусом личинки найдены в различных районах Западной Сибири (Новосибирская, Омская и Курганская области) и на Алтае (Кулундинский р-н, с. Ключи).

Больные ложногусеницы тополевого (осинового) волосатого пилильщика прекращают питание, утрачивают колониальный инстинкт и беспорядочно передвигаются в кроне дерева. В острой фазе инфекции из анального отверстия личинки начинают выделяться светлая жидкость, которая быстро темнеет на воздухе из-за развития гнилостных процессов. Такие личинки оставляют на листовой пластинке белый след с большим количеством вирусных включений. Кутикула личинок приобретает желтоватый оттенок и в течение всего периода болезни сохраняет прочность. Капля жидкости, выделяющейся в ответ на раздражение личинки, не теряет своей характерной окраски, как у рыжего соснового пилильщика, а остается прозрачной в течение всего хода инфекционного процесса. Больные личинки укорачиваются и прочно прикрепляются к листовой пластинке клейкой жидкостью, выделяющейся из ануса. В таком состоянии насекомые остаются живыми в течение 24—48 ч. У фиксированных к субстрату личинок тургор ослабевает, серо-зеленый тон окраски светлеет и спинной сосуд не просматривается (рис. 7, 8). Трупы личинок могут длительно

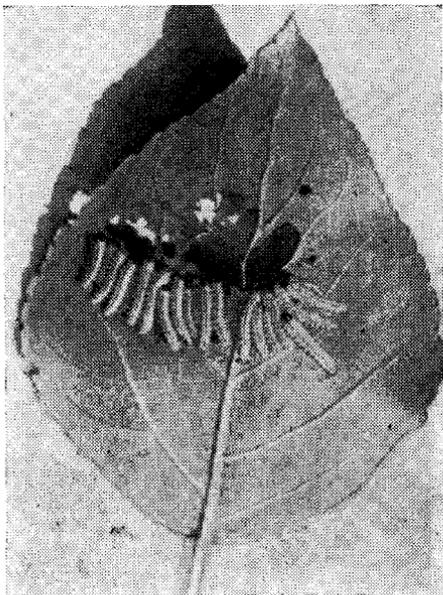


Рис. 7. Колония здоровых ложногусениц тополевого волосатого пилильщика

815050

ВОЛОГОДСКАЯ 17
областная библиотека
им. И. В. Бабушкина

ное время сохраняться на листьях. Полиэдры локализуются в ядрах клеток эпителия среднего отдела кишечника. В острой фазе инфекции они обнаруживаются также в цитоплазматических каплях секрета цилиндрических и бокаловидных клеток, в просвете кишечника и гемоцитах.

Гранулез. Впервые гранулез описан у капустной белянки *Pieris brassicae* L. [306]. В течение последующих двух 10-летий эта болезнь была отмечена у озимой совки *Euxoa segetum* Schiff. [307], пестрокрылки *Peridroma margaritosa* Haw. [346] и листовертки *Caesocia turipana* Hb [200].



В 1949 г. Э. Штейнхауз выделил возбудителей гранулезов в отдельный род *Bergoldiavirus*. Вирусы этой группы образуют в клетках насекомых-хозяев овальные белковые включения — гранулы размером 250—800 мкм. Элементарные вирусные частицы величиной $30 \div 100 \times 200 \div 400$ мкм имеют палочковидную форму. Представители этого рода вирусов размножаются в клетках жирового тела и некоторых других тканей. Внешние признаки болезни в значительной мере сходны с признаками ядерных полиэдрозов общего типа. Первым признаком инфекции служит отсутствие у гусениц аппетита. Цвет кутикулы изменяется и становится молочно-белым, иногда с розоватым оттенком. В большинстве случаев наблюдаются отставание в росте и резкое проявление сегментации. В ходе развития инфекции насекомые становятся вялыми. Цвет гемолимфы изменяется от зеленого до молочно-белого. В настоящее время известно более 50 видов чешуекрылых насекомых, подверженных заболеванию гранулезом, которые приносят вред лесу (табл. 5).

Рис. 8. Больные и погибшие от полиэдроза ложногусеницы тополевого волосатого пилильщика

Вирус гранулеза сибирского шелкопряда в эксперименте поражает гусениц соснового шелкопряда. Сливовая плодовая жорка

**Виды насекомых — вредителей леса, в популяциях
которых обнаружен гранулез**

Вид насекомого	Место обнаружения болезни	Авторы
Вредители хвойных пород		
Dendrolimus sibiricus Tschetw.	Тувинская АССР, Новосибирская обл. Сахалин, Иркутская обл. Камчатка	В. И. Полтев, В. П. Лукьянчиков [125] Е. В. Орловская [113] В. В. Гулий [33]
Dioryctria adietella Schiff.	Томская обл.	В. В. Гулий, В. Н. Жимерикин [41]
Вредители лиственных пород		
Huphantria cunea Drury.	Закарпатская обл.	Л. М. Тарасевич [157]
Pugana anachoreta Schiff.	Новосибирская обл.	В. В. Гулий [40]
Carposarsa pomonella L.	Томская обл.	В. В. Гулий [39]

Laspeyresia funebrana Tr. чувствительна к вирусу гранулеза яблонной плодовой гнили *Carposarsa pomonella* L. Для интродукции из-за рубежа представляют интерес возбудители гранулеза пихтовой листовертки-толстушки *Sacoecia turgipana* Hb и листовенной листовертки *Semasia diniana* Gn.

Цитоплазматический полиэдроз. Первый цитоплазматический полиэдроз описан в Японии у тутового шелкопряда [267]. В дальнейшем заболевания этого типа обнаружены у хвое- и листогрызущих насекомых [244]. Г. Бергольд [201] выделил возбудителей цитоплазматических полиэдрозов в отдельный род *Smithia*. Представители этого рода характеризуются образованием в чувствительных клетках насекомых-хозяев полиэдров диаметром 0,3—15 мк. Вирусные частицы сферической формы заключены в белок полиэдра и имеют размер около 65 мк. В каждом полиэдре содержится много сотен вирусных частиц. Вирусы развиваются в цитоплазме эпителиальных клеток среднего кишечника.

Сведения о географическом распространении болезни приведены в табл. 6.

В наибольшей степени изучен цитоплазматический полиэдроз непарного шелкопряда. Заболевание этого вредителя, возникшее в результате перекрестного заражения вирусами из *Diacrisia purpurata* L, *Arctia villica* L. или *Sphinx ligustri* L, впервые описано Н. Ксеросом. В Чехословакии выделены цитоплазматиче-

ческие полиэдры из лабораторной популяции непарного шелкопряда.

Присутствие цитополиэдров в клетках эпителия среднего кишечника обнаружено у гусениц из Амурской обл., болеющих ядерным полиэдрозом. Симптомы двойной инфекции не отличались от проявления типичного ядерного полиэдроза. Смешанная инфекция ядерного и цитоплазматического полиэдроза обнаружена также у гусениц старшего возраста медведицы кая *Arctiasaja* L. в лесополосах степной Кулунды в 1971 г. и у гусениц стрельчатки пси *Arconicta psi* L. в березово-осиновых насаждениях Омской обл.

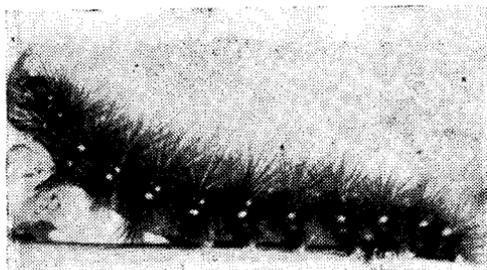


Рис. 9. Гусеницы медведицы кая (норма)

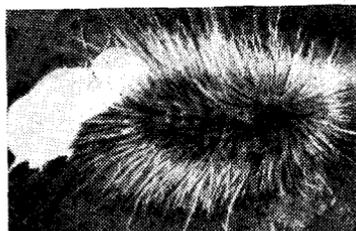


Рис. 10. Гусеница медведицы кая, больная ядерно-цитоплазматическим полиэдрозом

В острый период болезни у гусениц медведицы из анального отверстия выделяется белая густая жидкость, содержащая массу включений (рис. 9, 10). Жидкость, подсыхая, прикрепляет гусеницу к субстрату, и в таком состоянии она живет еще несколько дней. В этот период передний конец тела остается подвижным, и поверхность субстрата оказывается покрытой белыми выделе-

Таблица 6

Виды насекомых — вредителей леса, в популяциях которых обнаружен цитоплазматический полиэдроз

Вид насекомого	Место обнаружения болезни	Автор
<i>Dasychira pudibunda</i> L.	Грузинская ССР	Е. В. Орловская [113]
<i>Huphantria cunea</i> Drury.	Закарпатская обл.	»
<i>Euproctis chrysorrhoea</i> L.	Оренбургская и Куйбышевская области	»
<i>Lymantria dispar</i> L.	Амурская обл.	А. С. Симонова [141]
<i>Arctia caja</i> L.	»	В. В. Гулий [40]
<i>Arconicta psi</i> L.	»	»

ниями из ротового отверстия. Гусеница сморщивается, гибнет и мумифицируется. Включения локализованы в цитоплазме клеток эпителия среднего кишечника.

Больные гусеницы стрельчатки отстают в росте, однако до самых поздних этапов развития инфекционного процесса сохраняют активность. Пестрая окраска, присущая гусеницам в норме и включающая желтые, красные, темно-синие, коричневые и белые оттенки, резко тускнеет. Покров становится серым с восковым оттенком. Анальное отверстие у всех особей закрыто несоизмерно большой пробкой розового цвета. В мазках из тела пробки обнаруживается масса вирусных включений.

Экспериментально установлена чувствительность большого количества видов чешуекрылых к вирусам цитоплазматического полиэдроза [337].

Учитывая способность указанной группы энтомопатогенных вирусов к межродовой и межсемейственной перекрестной передаче, следует интродуцировать некоторых возбудителей цитоплазматических полиэдрозов в леса СССР и в первую очередь вирус, поражающий хвойного коконопряда *Dendrolimus spectabilis* Btl. в Японии. Этот инфекционный агент может стать дополнительным биотическим фактором, регулирующим численность двух видов важнейших хвоегрызущих вредителей — сибирского и соснового шелкопрядов.

Ромбидоз (сфероидоз) или оспа насекомых. Болезнь впервые обнаружена во Франции в 1960 г. у личинок западного майского хруща *Melolontha melolontha* L. и садового хрущика *Phyllopertha horticola* L., затем в Болгарии у ивового древоточца *Cossus Cossus* L. [10], в Чехословакии у гусениц зимней пяденицы [9], а также среди некоторых других видов насекомых, не встречающихся на территории СССР.

Больные личинки постепенно светлеют вследствие пролиферации жирового тела, которое приобретает пенистую структуру. Нередко через кутикулу просматриваются матовые зоны. В жировом теле присутствует большое количество веретено- и яйцевидных белковых включений размером до 10 мк, реже 20 мк. Вирусные частицы расположены равномерно по всему телу включений. Они округлой формы размером около 300 мкм.

Роль сфероидоза в популяциях лесных насекомых и, в частности майских хрущей, на территории нашей страны не изучена. Имеется единственное указание Е. В. Орловской [113] об обнаружении этого заболевания у личинок восточного майского хруща *Melolontha hippocastani* Fabr. в Марийской АССР. Исследования французских ученых показали возможность использования возбудителя сфероидоза для микробиологической борьбы

с личинками хруща [260]. Однако практические подходы к реализации такой возможности недостаточно изучены.

Денсонуклеоз. Заболевание впервые обнаружено у гусениц вошинной моли *Galleria mellonella* L. [291]. Возбудитель болезни представляет собой икосаэдр диаметром 20—23 мк, развивается в ядрах клеток жирового тела и интересен тем, что может поражать представителей различных семейств отряда чешуекрылых насекомых. Ц. А. Чхубианишвили [175] экспериментально воспроизвела денсонуклеоз у соснового шелкопряда. Однако известный в настоящее время возбудитель денсонуклеоза не может рассматриваться в качестве потенциального средства борьбы с вредителями, так как его активность слишком низка. Воспроизвести заболевание удастся, как правило, лишь при инъекциях большого количества инфекционного материала. Кроме того, вирус довольно быстро инактивируется вне организма хозяина. В сухом состоянии полная инактивация происходит в течение 10 суток при температуре 20—30° С [302].

Болезни насекомых, вызываемые радужными вирусами. Заболевания этого типа известны у многих видов двукрылых насекомых. Впервые радужный вирус найден у болотной долгоножки *Tipula paludosa* Meig.

Больные насекомые приобретают различные оттенки — от розового до фиолетового. Жировое тело гипертрофируется, гемолимфа приобретает молочный цвет. Вирусные тельца имеют форму икосаэдра диаметром 120—130 ммк и способны образовывать кристаллы.

В настоящее время болезни, вызываемые радужными вирусами, зарегистрированы также у двух видов чешуекрылых — *Chilo suppressalis* L, *Wiseana cerviata* Hb. [273] и у жесткокрылого *Sericesthis pruinosa* Dalm. [349]. При экспериментальном заражении к радужному вирусу из болотной долгоножки оказались восприимчивыми гусеницы непарного шелкопряда и личинки восточного майского хруща [24]. Как и в случае денсонуклеоза, заражение радужными вирусами дополнительных хозяев удавалось лишь при введении в полость тела насекомых огромных доз вируса.

Малоизученные вирусные заболевания. Вирусная патология насекомых является наиболее интенсивно разрабатываемой областью инфекционной патологии беспозвоночных; ежегодно появляются публикации о вирусных болезнях у все большего количества видов дендрофильных насекомых. Наименее изучены болезни, вызываемые вирусами не образующими включений, у некоторых чешуекрылых, а также летаргия майского хруща и некоторые другие.

Возможно, эти болезни играют значительно большую роль в динамике численности насекомых-фитофагов, чем это принято считать в настоящее время. Не исключено, что многие естественные эпизоотии, описанные как эпизоотии бактериальной, грибной, протозойной или иной природы, могут быть связаны с вирусами, не образующими включения. Подобное предположение в какой-то степени подтверждают неудачные попытки искусственного воспроизведения эпизоотии с помощью сапрофитных и полусапрофитных микроорганизмов. Однако несмотря на кажущуюся неперспективность практического применения энтомопатогенных вирусов насекомых, не образующих включений в силу их малой стабильности во внешней среде, оценка действительной роли этих инфекционных агентов в природе является весьма актуальной.

На современном этапе развития инфекционной патологии насекомых и микробиологического направления в защите растений наиболее доступны для практического использования возбудители полиэдрозов всех типов, гранулезов и сфероидозов. Перечисленные болезни широко распространены в популяциях важнейших хвое- и листогрызущих насекомых. Как показывают исследования последних лет, полиэдрозы и гранулезы встречаются и у скрытоживущих видов фитофагов, таких как побеговьян-смолевщик *Evetria resinella* L., шишковая огневка *Dioxyctria abietella* Schiff., яблонная плодоярка *Carpocapsa pomonella* L., тополевая минирующая моль *Lithocolletis populifoliella* L. и др. [40]. Не исключено наличие этих болезней у стволовых вредителей и вредителей регенеративных органов из отрядов жесткокрылых и перепончатокрылых. Так, югославский исследователь К. Сидор [325] сообщил о полиэдрозе златки *Melanophila picta* Pall., Н. И. Валецкая [8] — о полиэдрозе желудевого долгоносика *Curculio glandium* Marsch., А. А. Евлахова и О. И. Швецова [52] — о полиэдрозе синего соснового рогохвоста *Paurugus juvencus* L.

Дальнейшие микробиологические исследования в популяциях лесных дендрофильных насекомых позволят существенно расширить представление о круге хозяев энтомопатогенных вирусов; не исключена возможность обнаружения новых типов возбудителей вирусной природы, пригодных для использования в биологическом регулировании численности насекомых-фитофагов.

ГЛАВА II. ПАТОМОРФОЛОГИЯ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАСЕКОМЫХ

В период развития инфекционного процесса в различных органах и тканях насекомых происходит комплекс сложных изменений, характер которых зависит от биологических особенностей вирусов и прежде всего от их сродства с клетками общего эмб-

рионального происхождения. Данные о локализации возбудителей на всех этапах развития насекомого служат теоретической основой практического использования патогенов в защите растений. Они необходимы для точной диагностики возбудителя, дают возможность судить о путях выделения инфекционного агента из организма фитофага и, следовательно, служат эпизоотологии.

В Советском Союзе и за рубежом опубликовано большое количество работ о патологических изменениях тканей у насекомых при различных вирусных заболеваниях. Однако подавляющая часть гистологических исследований выполнена на небольшом числе видов насекомых-хозяев, таких как тутовый и дубовый шелкопряды, еловый общественный пилильщик и некоторые другие [109, 136, 169, 195]. Закономерности патоморфологии вирусных инфекций, установленные для одних видов, не могут быть распространены на представителей всего класса насекомых, так как проявления патологии часто различны даже при болезнях одного типа у близкородственных особей.

В данном разделе приведен материал по патоморфологии полиэдрозов и гранулезозов ряда хвое- и листогрызущих насекомых, которые наносят вред лесным насаждениям на территории СССР и которые в ряде случаев были неизвестны в качестве хозяев энтомопатогенных вирусов. Кроме того, привлечены публикации последних лет по патологии насекомых. В основу рассмотрения характера патоморфологии положены онтогенетическое родство тканей насекомых и их функциональная связь.

КЛЕТОЧНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КРОВЕНОСНОЙ СИСТЕМЫ И ЖИРОВОГО ТЕЛА

Кровеносная система, жировое тело, эритроциты и перикардиальные клетки морфологи и физиологи рассматривают как единое функциональное целое, развивающееся в процессе онтогенеза из материала мезодермальных сомитов [58, 59, 70, 87, 185].

Опубликован ряд работ о нормальной гистологии элементов кровеносной системы и жирового тела по результатам изучения морфофизиологических показателей рассматриваемых образований [88, 168]. Основная часть исследований выполнена на тутовом и дубовом шелкопрядах, медоносной пчеле [145, 183, 184]. В течение последних 10—15 лет появились публикации, посвященные нормальной картине гемолимфы некоторых массовых хвое- и листогрызущих насекомых [80, 85, 129, 146].

Накопление данных по нормальной гематологии различных видов насекомых позволило условно выделить среди клеточных элементов 5—6 основных типов: пролейкоциты, макро- и микро-нуклециты, эозинофилы или гранулоциты, эритроциты и фагоциты.

Наши исследования нормальной картины гемолимфы у личинок ивовой волнянки, туркестанской златогузки, хохлатки-отшельницы, шишковой огнев-

ки, пятнистой ноцницы, стрелчатки пси, черно-желтого, рыжего соснового и тополевого волосатого пилильщикова показали, что приведенная классификация может быть принята за основу при изучении гематологии всех перечисленных видов чешуекрылых и перепончатокрылых насекомых [40, 150].

Люминесцентная микроскопия фиксированных и нативных препаратов гемолимфы, окрашенных акридиновым оранжевым, подтверждает данные, полученные с помощью обычных световых микроскопов [4]. Морфологические особенности каждого типа клеток, выявленные в фиксированных мазках при окраске азур-эозином по Гимза-Романовскому и полученные с помощью наведенной люминесценции, следующие.

Пролейкоциты — впервые дал им определение А. Голланд [254]. По другим классификациям это эмбриональные элементы [226], малые гемоциты или прогемоциты [128]. По мнению некоторых гематологов [59, 145], этот тип клеток в процессе генезиса дает начало всем остальным форменным элементам крови у насекомых. При значительной искусственной кровопотере количество пролейкоцитов резко возрастает и появляются переходные формы к другим типам клеток [83]. Основную массу пролейкоцита составляет ядро, интенсивно окрашивающееся азур-эозином в темно-фиолетовый цвет. Цитоплазма узкой полосой окружает ядро и имеет базофильную реакцию. Нередко ядро маскируется цитоплазмой. Форма клеток округлая, часто неправильная; размер в пределах 5—12 мк. При окраске акридиновым оранжевым цитоплазма этого типа клеток люминесцирует оранжевым различной интенсивности. Ядро зеленое.

Макронуклеоциты — отличаются от пролейкоцитов более крупными размерами (10—20 мк). Ядро их, как и у предыдущего типа клеток, крупное и компактное, его диаметр составляет в среднем $\frac{3}{4}$ диаметра клетки. Окраска цитоплазмы варьирует от фиолетово-синей до светло-фиолетовой. Форма клеток, как правило, овальная. Общий фон люминесценции тусклый. В цитоплазме обнаруживаются мелкие гранулы красных тонов. Ядро желтовато-зеленое.

При витальном флуорохромировании характер свечения несколько меняется: ядро приобретает изумрудно-зеленый цвет, часто выявляются оранжевые ядрышки.

Микронуклеоциты — форменные элементы, выполняющие трофическую функцию. Ядра клеток небольшие (3—4 мк), имеющие интенсивную базофильную реакцию. Цитоплазма широкая с многочисленными включениями, содержащими жир. Форма клеток овальная, размеры 5—10 мк. На флуорохромированных жидких и фиксированных препаратах ядра микронуклеоцитов люминесцируют ярко-зеленым. В цитоплазме всегда при-

сутствуют крупные красные включения и различной формы вакуоли, имеющие вид темных овальных пятен.

Эозинофилы — или зернистые клетки. Цитоплазма целиком заполнена зернами овальной формы, которые окрашиваются по Гимза-Романовскому в темно-фиолетовый цвет. Небольшое компактное ядро обычно скрыто зернами и обнаруживается лишь при разрушении клетки. Эозинофильные гранулы цитоплазмы имеют белковую природу [5, 163], эозинофилы шаровидной формы размерами от 6—7 до 15—20 мк. После обработки акридиновым оранжевым гранулы люминесцируют ярко-красным, ядро зеленое.

Эноцитиды — участвуют в обменных процессах и осуществляют выделительную функцию [86, 146, 162]. Ядро клеток небольшое, с весьма четкой структурой — удлинённые чечевицеобразные фиолетовые зерна величиной 2—4 мк. Цитоплазма массивная, светлая со множеством зерен темного цвета. Величина клеток 14—30 мк. При витальном и суправитальном окрашивании гемолимфы акридиновым оранжевым ядро люминесцирует в виде отдельных ярко-зеленых зерен, равномерно расположенных на темном поле. Цитоплазма в этом случае темно-зеленая с большим количеством мелких оранжевых гранул, образующих ажурную сеть. Единично обнаруживаются ланцетовидные включения, не воспринимающие краситель.

Фагоциты — обычно ланцетовидные клетки. Ядро крупное, рыхлое, красящееся азур-эозином в фиолетово-сиреневые тона. Протоплазма широким слоем окружает ядро и имеет слабо выраженную базофильную реакцию. Клетки морфологически и генетически весьма близки к макронуклеоцитам. В случае овальной формы их диаметр равен 10—20 мк, в ланцетовидном состоянии они достигают в длину 20—40 и в ширину 8—15 мк. После окраски акридиновым оранжевым фагоциты люминесцируют аналогично пролейкоцитам.

Прижизненные наблюдения в условиях *in vitro* за форменными элементами гемолимфы не позволяют обнаружить столь характерные отличия для каждого из описанных видов фагоцитов. В этих условиях лишь по размерам клеток и соотношению массы ядра и цитоплазмы их можно отнести к тому или иному типу. Овальная форма клеток в фиксированных мазках является результатом вторичных изменений, связанных с их гибелью. В переживающих культурах все типы гемоцитов имеют многочисленные псевдоподии различной формы и размеров (рис. 11).

Перечисленные типы форменных элементов гемолимфы находятся в соотношении, которое постоянно меняется в процессе индивидуального развития насекомых, особенно при линьке, ме-

таморфозе, диапаузе и т. д. Гемограммы, характерные для нормального физиологического состояния личинок, установлены для златогузки [85], боярышницы [147], соснового и сибирского шелкопрядов [8], шишковой огневки [165] и некоторых других видов. Они могут служить в качестве исходных при установлении патологической картины форменных элементов гемолимфы при вирусных заболеваниях. В табл. 7 приведены гемограммы здоровых

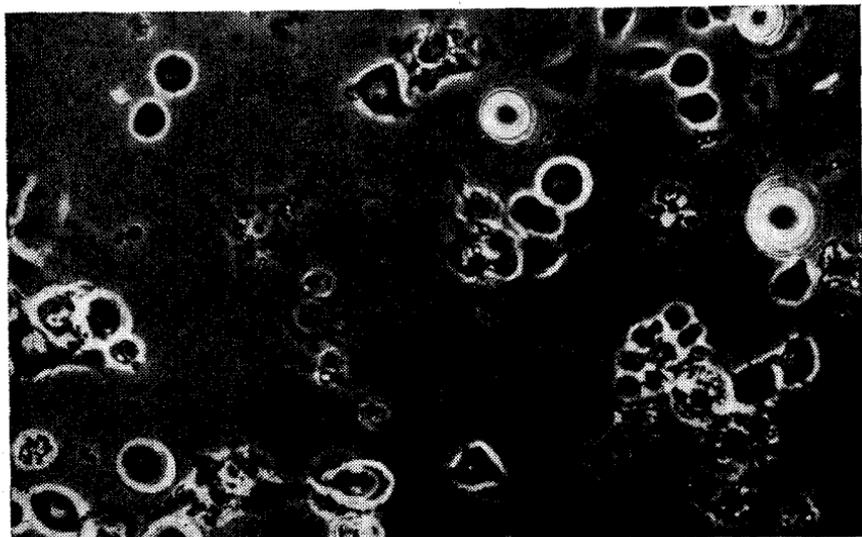


Рис. 11. Гемоциты из ложногусениц черно-желтого соснового пилильщика в условиях *in vitro* (фазовый контраст 40×10)

личинок насекомых-фитофагов 3-го возраста, в табл. 8 — размеры гемоцитов (мк) у личинок средних возрастов некоторых хвое- и листогрызущих насекомых.

Весь комплекс патоморфологических изменений клеток при различных вирусных заболеваниях можно подразделить на две группы: первая сопровождает все типы вирусных заболеваний, вторая объединяет специфические изменения, характерные лишь для определенного типа болезней. Изменения затрагивают клеточную поверхность, цитоплазму с органоидами и ядро. В условиях патологии клеточная поверхность претерпевает иногда те же изменения, что и в норме. Однако если в нормально функционирующей клетке аномалии проявляются редко, то в условиях патологии количество их резко возрастает. К подобным

Гемограммы здоровых личинок насекомых-фитофагов 3-го возраста

Вид насекомого	Клетки гемолимфы ($M \pm m$), %						
	пролей- кочиты	макропу- клеоциты	микропу- клеоциты	эозино- филы	эоцито- иды	фагоциты	мертвые клетки
<i>Leucoma salicis</i> L.	2,1±0,9	17,3±0,4	51,2±1,1	0,5±0,2	0,3±0,1	8,0±0,3	7,8±0,2
<i>Euproctis karghalica</i> Moore	1,3±0,3	41,1±1,2	39,5±2,1	2,0±0,8	1,5±0,2	5,9±0,1	4,6±0,4
<i>Pygaera anachoreta</i> Schiff.	6,8±0,5	29,3±0,9	48,7±1,8	1,1±0,1	0,6±0,1	11,3±0,8	5,6±0,6
<i>Dioryctria abietella</i> F.	25,3±2,1	18,1±1,7	21,5±1,2	4,8±0,3	2,1±0,1	21,6±1,8	7,2±2,1
<i>Panthea coenobita</i> Esp.	18,3±0,6	12,6±0,5	39,4±0,9	8,0±0,2	0,2±0,1	9,2±0,3	11,9±0,9
<i>Acronicta psi</i> L.	8,7±0,2	14,6±0,4	42,1±2,1	1,2±0,1	0,5±0,2	10,1±0,6	3,4±2,1
<i>Diprion similis</i> Hart.	5,5±0,3	17,3±0,6	17,8±0,4	—	2,8±0,3	19,8±1,1	34,2±2,1
<i>Diprion sertifer</i> Geoffr.	21,5±0,5	12,2±0,7	31,4±0,9	—	0,8±0,3	23,2±0,6	13,5±1,2
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	0,0±0,6	15,0±0,2	16,2±0,8	—	2,5±0,5	15,5±0,8	35,0±1,8

Таблица 8

Размеры гемоцитов у личинок средних возрастов некоторых хвое- и листогрызущих насекомых, мк

Вид насекомого	Пролей- кочиты	Макропу- клеоциты	Микропу- клеоциты	Эозино- филы	Эоци- тоиды	Фагоциты
<i>Leucoma salicis</i> L.	6,0±0,8	14,0±2,3	6,1±0,4	9,1±4,8	19,1±1,8	12,2±2,1
<i>Euproctis karghalica</i> Moore	6,1±0,5	14,2±1,9	7,3±0,8	10,2±5,8	22,9±0,9	14,1±1,9
<i>Dioryctria abietella</i> F.	5,8±0,9	15,4±0,9	5,9±0,2	13,4±4,9	24,8±2,3	10,3±2,3
<i>Pygaera anachoreta</i> Schiff.	9,1±1,1	17,1±2,0	8,3±0,6	7,9±4,3	15,9±2,4	11,8±2,1
<i>Acronicta psi</i> L.	7,1±1,0	15,9±3,1	5,8±1,1	6,8±5,1	19,1±3,1	8,9±1,8
<i>Panthea coenobita</i> Esp.	11,3±0,8	18,1±1,9	9,2±0,9	14,9±6,0	27,1±2,8	13,1±2,2
<i>Diprion sertifer</i> Geoffr.	10,1±0,4	16,2±1,4	8,1±0,3	—	18,8±4,1	9,5±3,1
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	10,3±0,4	14,9±1,8	8,0±0,9	—	17,1±3,9	9,4±2,9

изменениям можно отнести образование аномальных псевдоподий, впячиваний, сферул и вуалей.

При всех типах вирусных заболеваний насекомых у гемоцитов наблюдается образование крупных выростов цитоплазмы — псевдоподий размерами 3—20 мк. Количество их может составлять 1—3 и более. Подобные образования возникают обычно у макронуклеоцитов и фагоцитов и при гранулезах чешуекрылых. В теле псевдоподий встречаются крупные вакуоли. Форма псевдоподий может быть разнообразной — от крупных широких лопастей до небольших игольчатых выростов размером 3—7 мк (рис. 12).

Обычным проявлением вирусной патологии является появление на поверхности микро- и макронуклеоцитов, пролейкоцитов и фагоцитов, большого количества шаровидных выростов цитоплазмы. В некоторых случаях они мономерны и занимают всю поверхность гемоцита; при этом их размер колеблется от 1 до 2—3 мк (рис. 13). В ходе инфекционного процесса шаровидные выросты цитоплазмы или пузыри отделяются от клетки и попадают в плазму. Иногда они достигают $\frac{1}{3}$ и более объема гемоцита, напоминая образование, возникающее в клетках при помещении их в неизотоническую среду или в среду с изменяющейся осмотической концентрацией. Округлые выросты характеризуют процесс поточитоза и впервые описаны Х. Золингером. Эти образования показаны на клетках крови туркестанской златогузки при ядерном полиэдросе и хохлатки-отшельницы при гранулезе (рис. 14, 15). Крайней формой описанных неспецифических изменений является клазматоз, возникающий в острой фазе заболевания. При этом дегенерирующие клетки теряют целые участки цитоплазмы, и в гемолимфе больных насекомых обнаруживается большое количество отдельных фрагментов клеток и ядер, лишенных цитоплазмы.

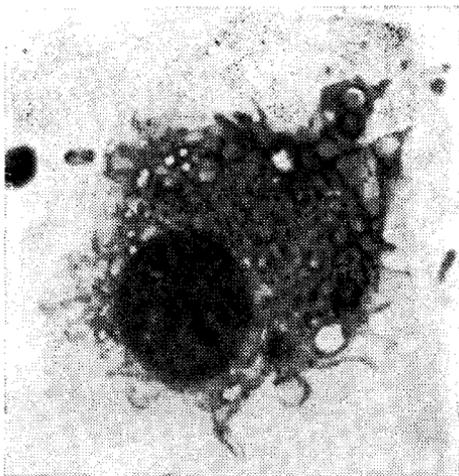


Рис. 12. Псевдоподии у макронуклеоцита при ядерном полиэдросе (азур-эозин 90×10)

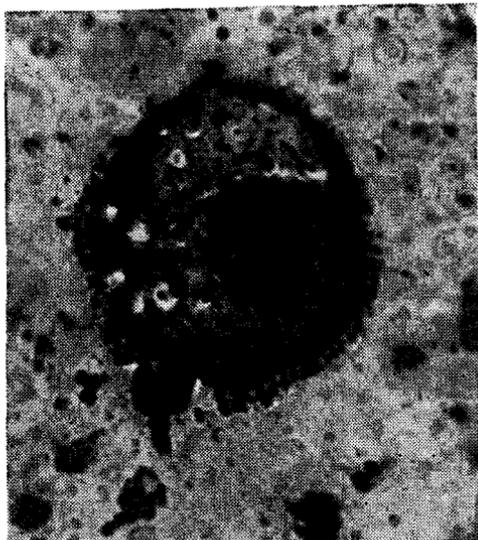


Рис. 13. Цитоплазматические выросты на поверхности макрофагита из гусениц ивовой волнянки при ядерном полиэдросе (азур-эозин, 90×10)

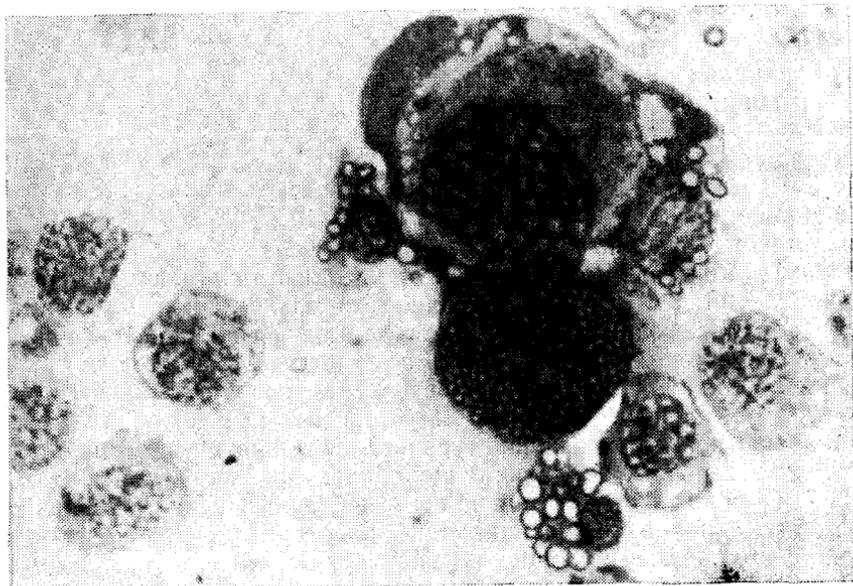


Рис. 14. Клетки крови туркестанской златогузки при ядерном полиэдросе (азур-эозин, 90×10)

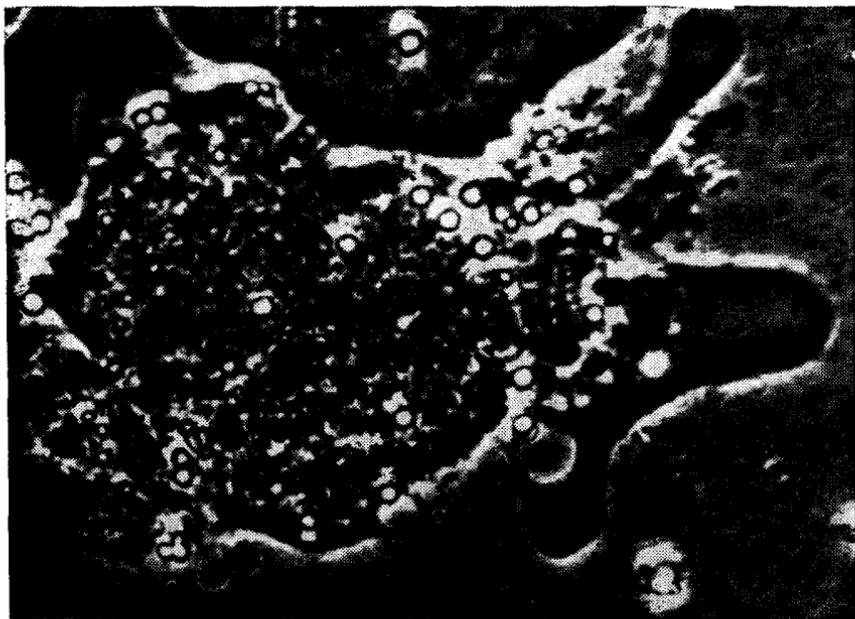


Рис. 15. Гемоцит хохлатки-отшельницы при гранулезе (нативный препарат, фазовый контраст, 90×10)



Рис. 16. Вакуоли в цитоплазме гемоцитов ивовой волнянки при ядерном полиэдрозе (азур-эозин, 90×10)

К неспецифическим изменениям в гемоцитах можно отнести образование в цитоплазме вакуолей размерами от 1—2 до 5—6 мк и более. В патологических формах клеток они многочисленны. Образование вакуолей связывают обычно с набуханием митохондрий [123]. Возникая первоначально диффузно по всей глубине цитоплазмы, вакуоли с развитием инфекции увеличиваются в размерах, часто сливаются в одно или несколько гигантских образований, оттесняющих ядро к периферии клетки.

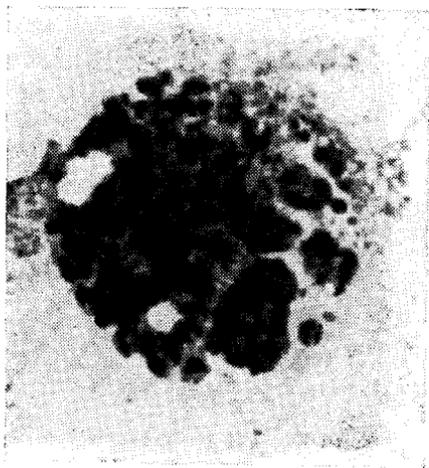


Рис. 17. Макронуклеоцит шишковой огневки при гранулезе (азур-эозин, 90×10)

Ход их развития завершается разрывом клеточной мембраны, выходом содержимого в плазму и отторжением участков цитоплазмы (рис. 16).

При поражении различными вирусными агентами у насекомых происходит ряд изменений в ядре, которые, как клеточная поверхность и цитоплазма, могут быть неспецифическими и специфическими. Первые из них сводятся к нарушению структуры ядра: хроматин конденсируется в плотные базофильные массы неправильной формы; у энцитозидов, например, многочисленные зерна, характерные для здоровых ядер, образуют небольшое число глыбок хроматина, располагающихся бес-

порядочно. Аналогичные изменения претерпевают ядра клеток, в которых в период инфекционного процесса не формируются никакие включения вирусной природы. Специфические изменения при гранулезе насекомых сводятся к гипертрофии, полной дезинтеграции ядер макронуклеоцитов и фагоцитов, где формируются вирусные гранулы (рис. 17).

При флуорохромировании мазков гемолимфы больных насекомых растворами акридинового оранжевого гемоциты при всех типах виروزов люминесцируют преимущественно красным. Свечение ядер гаснет. Вирусные включения, формирующиеся в ядрах гемоцитов или фагоцитированные цитоплазмой, не воспринимают краситель и имеют вид темных округлых зерен.

Помимо структурных изменений гемоцитов, у насекомых, пораженных вирусными заболеваниями, существенно нарушается

состав. В целом гемограммы личинок независимо от типа заболевания характеризуются общими закономерностями (табл. 9).

Жировое тело насекомых, представленное внутренними и наружными пластинами, имеет форму многочисленных лопастей и долек, которые заполняют пространство между органами. В норме оно состоит из крупных, сильно вакуолизированных клеток. Из цитологических особенностей отметим лишь присутствие в плазме клеток ложных ядер, содержащих соли мочевой кислоты [308]. Регулярно эти образования обнаруживаются у ложногусениц сосновых пилильщиков (рис. 18). У нормально развивающихся личинок насекомых клетки жирового тела (трофоциты) чрезвычайно богаты непостоянными структурами — включениями или параплазмой. Последняя представлена трофическими включениями, основную массу которых составляют капли жира. В процессе жизнедеятельности насекомых жировые включения претерпевают постоянные изменения, отражающие повседневный метаболизм клетки.

Как показали исследования, при патологических состояниях клетки жирового тела значительно меняют объем, что характерно для всех насекомых, пораженных кишечными формами полиэдроза. Особенно быстро протекает этот процесс в тот период, когда личинки прекращают питание, так как, начиная с этого момента, всю энергию на про-

Таблица 9
Гемограммы личинок некоторых видов насекомых фитофагов при различных вирусных болезнях

Вид насекомого	Тип заболевания	Клетки гемолимфы $M \pm m, \%$						
		пролей-коциты	макро-нуклео-циты	микро-нуклео-циты	эозино-филы	эозино-тоиды	фагоциты	мертвые клетки
<i>Euproctis karghalica</i> Moore	Ядерный полиэдроз	$0,5 \pm 0,1$	$28,1 \pm 0,7$	$31,0 \pm 1,6$	—	$0,5 \pm 0,2$	$12,3 \pm 0,8$	$27,1 \pm 2,9$
<i>Panthea coenobita</i> Esp.	То же	$12,0 \pm 0,3$	$18,5 \pm 0,8$	$26,3 \pm 1,9$	$1,1 \pm 0,2$	—	$18,4 \pm 0,9$	$23,9 \pm 4,1$
<i>Diprion sertifer</i> Hart.	Кишечный полиэдроз	$8,5 \pm 0,8$	$5,6 \pm 0,4$	$14,8 \pm 1,1$	—	$4,2 \pm 0,2$	$2,0 \pm 0,3$	$30,3 \pm 3,8$
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	То же	$2,3 \pm 0,5$	$6,4 \pm 0,4$	$3,3 \pm 0,7$	—	$3,9 \pm 0,1$	$3,6 \pm 0,4$	$71,2 \pm 5,1$
<i>Pygaera anachoreta</i> Schiff.	Гранулез	$9,4 \pm 0,3$	$22,6 \pm 1,1$	$21,8 \pm 0,9$	$4,2 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,1$	$8,0 \pm 0,2$	$33,7 \pm 2,8$
<i>Diorctyria abietella</i> F.	То же	$12,6 \pm 0,8$	$11,5 \pm 0,3$	$16,9 \pm 1,1$	—	—	$7,8 \pm 0,7$	$51,8 \pm 4,5$

цессы жизнедеятельности организм черпает в запасном энергетическом материале трофоцитов. У ложногусениц тополевого (осинового) волосатого пилильщика в острой фазе заболевания ядерным полиэдрозом кишечного типа диаметр клеток во внутреннем пласте уменьшается до 80—90 мк при норме 130—160 мк [33]. Размеры клеток уменьшаются в силу резкого сокращения запасов липидов. Подобные закономерности характерны для всех насекомых при кишечных формах вирусных заболеваний, тогда репродукция вируса осуществляется лишь в эпителиальных клетках среднего отдела кишечника.

Описанные изменения в параплазме трофоцитов можно отнести к неспецифическим, так как они могут быть вызваны не

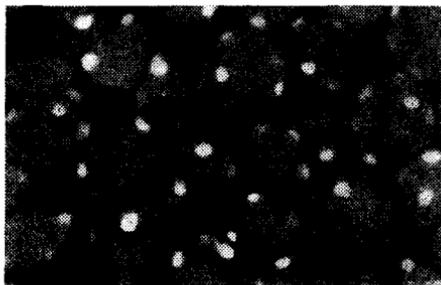


Рис. 18. Ложные ядра в трофоцитах рыжего соснового пилильщика (МБС-1X ×200)

только вирусными поражениями, но и иными факторами, нарушающими трофическую функцию кишечника: поражением микроспоридиями, алиментарным голоданием и т. д. К числу специфических изменений клеток жирового тела относятся изменения, происходящие в ядре при полиэдрозах и гранулезах у чешуекрылых насекомых. При ядерных полиэдрозах ядра клеток жирового тела гипертрофируются за счет

формирования в них вирусных включений (рис. 19). Однако ядерная мембрана, как правило, сохраняет целостность до самых последних этапов инфекционного процесса.

Гранулезы сопровождаются также ясно выраженной гипертрофией ядер клеток жирового тела. Ядро увеличивается до полного заполнения клетки. В этот период обнаруживается характерная особенность — появляется интенсивно красящаяся гематоксилином хроматиновая сеть. В острой фазе заболевания ядро разрушается, и его содержимое смешивается с цитоплазмой (рис. 20). В жировом теле у насекомых обнаруживаются группы мелких округлых клеток, связанных, видимо, с процессами регенерации, вызванными размножением вируса (рис. 21). Гранулы обнаруживаются в ядре и цитоплазме чувствительных к инфекции клеток.

Жировое тело является основным местом репродукции оспенных вирусов, которые обнаружены в течение последних лет у не-

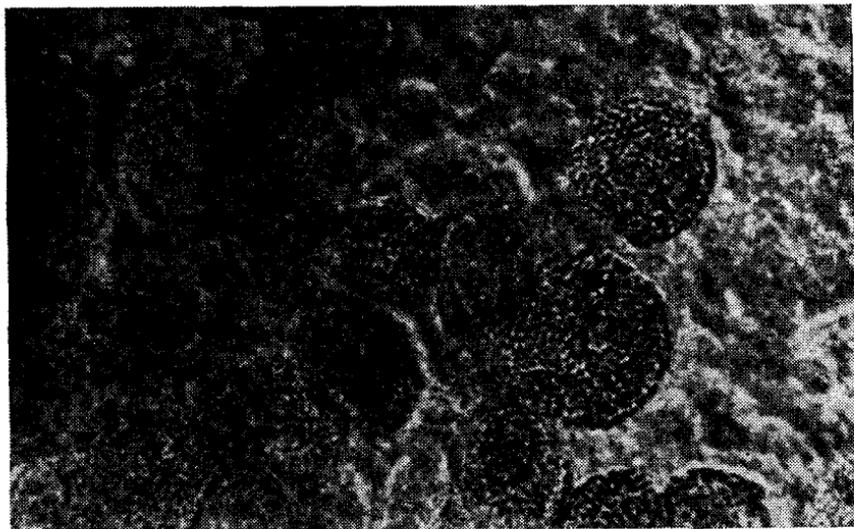


Рис. 19. Клетки жирового тела гусеницы стрельчатки-зайчик при ядерном полиэдрозе (фазовый контраст, 40×10)

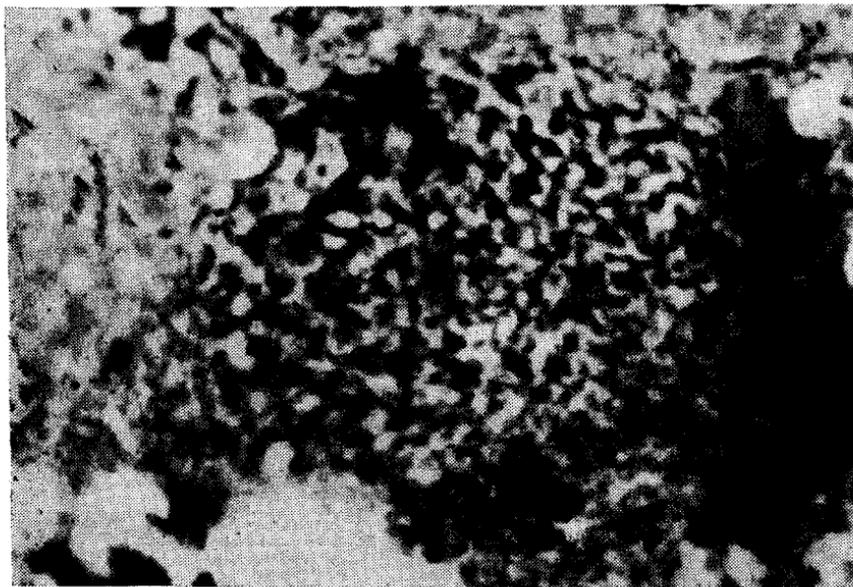


Рис. 20. Полная дезинтеграция ядра при гранулезе у шишковой огневки (азур-эозин, 90×10)



Рис. 21. Группа мелких клеток в жировом теле гусеницы шишковой огневки, больной гранулезом (окраска по Браше, 40×10)

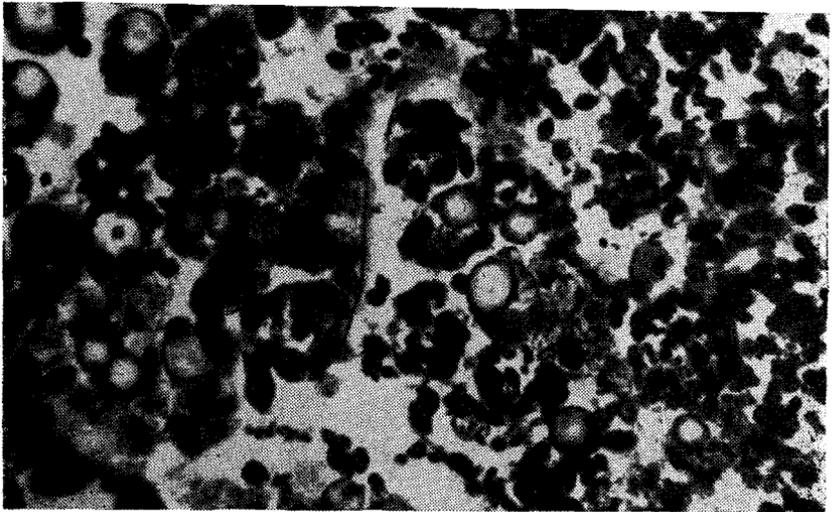


Рис. 22. Клетки жирового тела майского хруща, инфицированного энтомооспенным вирусом (окраска по Гейденгайду, $\times 500$)

которых видов чешуекрылых, жесткокрылых и прямокрылых насекомых. Вирусные включения, сопровождающие энтомооспепные заболевания, имеют ромбовидную форму. Пораженные клетки теряют включения жира и в острой фазе инфекции принимают характерный пенообразный вид (рис. 22).

КЛЕТКИ ГИПОДЕРМЫ И ТРАХЕАЛЬНОГО МАТРИКСА

Клетки гиподермы и эпителий трахей служат местом формирования и локализации вирусных включений при ядерных полиэдрозах и гранулезах. Поражения гиподермы при этих заболеваниях определяют характерные изменения покровов тела личинок. В острой фазе болезни клетки гиподермы полностью разрушаются (рис. 23). При типично протекающих ядерных полиэдрозах трахеи насекомых в острой фазе болезни становятся белыми, что обусловлено гипертрофией ядер эпителиальных клеток, окружающих хитиновые каркасы трахей (рис. 24).

У насекомых, болеющих гранулезами, возникают, как правило, локальные поражения клеток гиподермы и эпителия трахей. Участки с клетками, где происходит репродукция вируса, увеличиваются в 2—3 раза и более, что приводит к образованию характерных вздутий (рис. 25).

ТКАНИ СРЕДНЕГО ОТДЕЛА КИШЕЧНИКА И МАЛЬПИГИЕВЫ СОСУДЫ

Из тканей эндодермального происхождения, формирующих средний отдел кишечника, наиболее характерным изменениям подвергаются клетки кишечного эпителия, которые являются местом репродукции всех представителей родов *Smithiavirus* и *Birdiavirus*.

При цитоплазматических полиэдрозах чешуекрылых насекомых диаметр среднего отдела кишечной трубки увеличивается в 2—3 раза. Кольцевые и продольные мышечные волокна истончаются за счет значительного растяжения. Кишечник с поверхности приобретает розоватый оттенок. Цитоплазма эпителиальных клеток переполняется вирусными включениями. Ядро при этом остается интактным и лишь в некоторых случаях, испытывая давление включений, деформируется и даже разрушается, смешиваясь с содержимым цитоплазмы. Подобные гистологические изменения затрачивают только цилиндрические клетки кишечного эпителия, бокаловидные клетки и регенерационные гнезда остаются интактными. Ядра эпителиальных клеток кишечника подвергаются, кроме того, специфическим изменениям

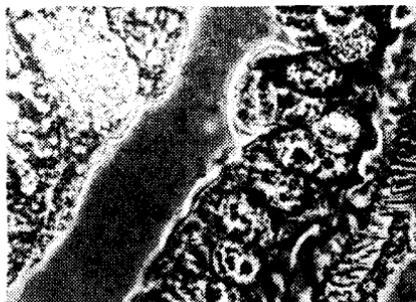


Рис. 23. Гиподерма гусениц непарного шелкопряда при ядерном полиэд-розе (фазовый контраст, 40×10)

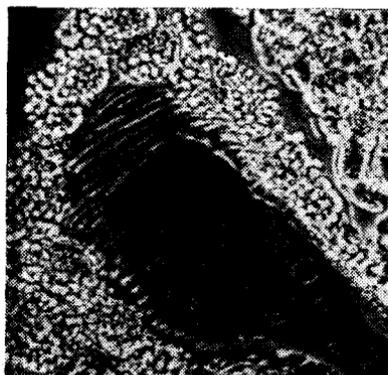


Рис. 24. Срез через трахею гусеницы монашенки при ядерном полиэд-розе (фазовый контраст, 40×10)



Рис. 25. Трахея при гранулезе хохлатки-отшельницы (нативный препарат, фазовый контраст, 40×10)

при полиэдрозах кишечного типа и некоторых гранулезах. У ложногусениц пилильщиков гипертрофируется большая часть ядер, и частично они разрушаются (рис. 26). Подобная патология наблюдается как у бокаловидных, так и у цилиндрических эпителиальных клеток. Группы мелких клеток из регенерационных гнезд не претерпевают видимых изменений.

У всех видов насекомых, чувствительных к представителям рода *Birdiavirus*, при малом увеличении микроскопа видна крапчатость кишечника, обусловленная увеличенными ядрами эпителиальных клеток. При этом у личинок некоторых видов пилильщиков, например у тополевого волосатого, ядра

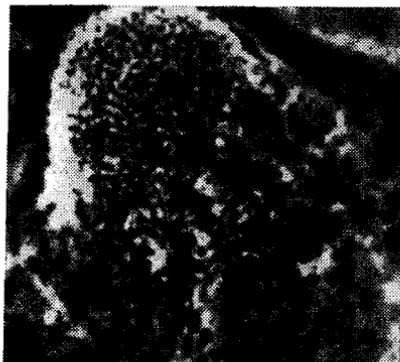


Рис. 26. Ядро эпителиальной клетки среднего кишечника личинки рыжего соснового пилильщика на конечных этапах инфекционного процесса (нативный препарат, фазовый контраст, 70×10)

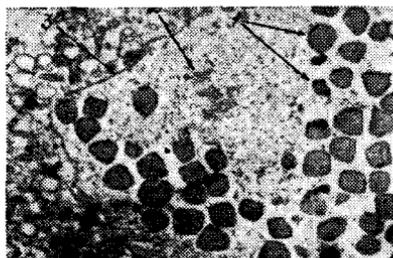


Рис. 27. Ультратонкий срез через эпителиальную клетку среднего кишечника ложногусеницы тополевого волосатого пилильщика при ядерном полиэдрозе ($\times 15\ 000$):

1 — полиэдры; 2 — разрушенное ядрышко; 3 — ядерная мембрана

эпителия нередко соприкасаются друг с другом, в то время как у сосновых пилильщиков между ними всегда остается пространство 15—20 мк. На ультратонких срезах через эпителиальные клетки среднего отдела кишечника личинок пилильщиков, больных полиэдрозом, можно видеть массу вирусных включений, расположенных по всему ядру (рис. 27). Ядро гипертрофировано, но сохраняет целостность. Изменения органоидов носят неспецифический характер и близки к изменениям, которые наблюдаются при патологии невирусной природы.

Эпителиальные клетки тонкого кишечника при гранулезах характеризуются гипертрофией. В ядрах формируется характерная хроматиновая сеть, идентичная обнаруженной в ядрах жирового тела.

Мальпигиевы сосуды у насекомых, пораженных различными вирусными заболеваниями, обычно не меняют присущей им в норме структуры. Слой крупных клеток, выстилающих базальную мембрану, сохраняет морфологическую целостность. Поражению, связанному с локализацией вирусных включений, подвергаются клетки в основании сосудов при ядерных полиэдрозах и гранулезах у некоторых видов насекомых, в частности у яблонной плодовой жоржки. Из числа изменений, присущих всем типам вириозов, следует указать на отсутствие в просветах мальпигиевых сосудов экскреторных гранул, что обусловлено общим нарушением выделительных функций в острой фазе заболевания.

НЕРВНАЯ ТКАНЬ, МЫШЦЫ И ТКАНИ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ОРГАНОВ

В нервной и мышечной тканях, а также в тканях, формирующих половые железы, при спонтанном возникновении заболеваний всех типов, специфических изменений не наблюдается. В теле нервных ганглиев и поперечнополосатых мышц постоянно присутствуют мелкие разветвления трахей и трахеолы с звездчатыми клетками, которые являются местом репродукции вирусов ядерного полиэдроза и в некоторых случаях гранулеза. Это существенно затрудняет интерпретацию гистологических картин. В частности, Л. Оссовский [303], описывая гистопатологию бабочки-мешочницы, видимо, ошибочно сообщил о поражении нервных и невроглиальных клеток. Специальные исследования румынских ученых [149] показали, что в цитоплазме отдельных крупных клеток из нервных ганглиев, в частях, заключенных в вогнутости ядра, присутствуют группы трахеол. Это служит доказательством, что такие ядра принадлежат гигантским конечным трахейным клеткам, а не невронам. При микроскопировании ганглиев брюшной нервной цепочки гусениц различных насекомых обнаруживается большое количество полиморфных гранул липофусцина, которые можно принять за вирусные включения (рис. 28).

Тканевые поражения у личинок при полиэдрозах и гранулезах, возникающие в естественных популяциях насекомых, показаны соответственно в табл. 10 и 11.

Анализ данных табл. 10 и 11 показывает, что при спонтанном возникновении вириозов тканевые поражения строго локализованы. При ядерных полиэдрозах кишечного типа у ложногусениц рыжего соснового, черно-желтого и тополевого волосатого пилильщикова, а также при цитоплазматических полиэдрозах непарного шелкопряда, стрельчатки пси и медведицы каковы специфические изменения происходят лишь в эпителиальных клетках среднего отдела

Тканевые поражения некоторых видов насекомых при полиэдразах

Насекомое-хозяин	Ткани, пораженные вирусом	Эмбриональное происхождение тканей
Кишечные ядерные полиэдрозы		
<i>Diprion sertifer</i> Geoffr.	Эпителий среднего отдела кишечника	Энтодерма
<i>Diprion similis</i> Hart.	То же	»
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	»	»
Ядерные полиэдрозы общего типа		
<i>Biston betularia</i> L.	Эпителий трахей, гиподерма, трихогенные клетки	Эктодерма
<i>Dasychira abietis</i> Schiff.	Гемоциты, жировое тело	Мезодерма
	Эпителий трахей, клетки гиподермы	Эктодерма
<i>Leucoma salicis</i> L.	Гемоциты, жировое тело, перикардальные клетки	Мезодерма
	Эпителий, жировое тело, перикардальные клетки, клетки шелкоотделительных желез	»
<i>Euproctis chrysorrhoea</i> L.	Мальпигиевы сосуды *	Эктодерма
	Эпителий трахей, гиподерма	Энтодерма
<i>Euproctis karghalica</i> Moore	Гиподерма	Мезодерма
	Гемоциты, жировое тело	Эктодерма
<i>Panthea coenobita</i> Esp.	Эпителий трахей, гиподерма	Мезодерма
	Гемоциты, жировое тело	Эктодерма
<i>Hyphantria cunea</i> Drury	Гиподерма, эпителий трахей	Мезодерма
	Жировое тело, гемоциты	Эктодерма
<i>Malacosoma neustria</i> L.	Жировое тело	Мезодерма
	Гиподерма, эпителий трахей	»
<i>Arctia caja</i> L.	Эпителий трахей, гиподерма, эпителий заднего отдела кишечника	Эктодерма
	Гемоциты, жировое тело	»
» » »	Гемоциты, жировое тело	Мезодерма
Цитоплазматические полиэдрозы		
<i>Ocnèria dispar</i> L.	Эпителий среднего отдела кишечника	Энтодерма
<i>Hyphantria cunea</i> Drury.	То же	»
<i>Acronicta psi</i> L.	»	»
<i>Arctia caja</i> L.	»	»

* Существует мнение, что мальпигиевы сосуды — производные энтодермы.

Тканевые поражения гусениц чешуекрылых при гранулезе

Насекомое-хозяин	Ткани, пораженные вирусом	Эмбриональное происхождение тканей
Carpocapsa pomonella L.	Жировое тело, гемоциты Гиподерма, эпителиальные клетки трахей, мальпигиевы сосуды	Мезодерма Эктодерма
Archips murinana Hb. [258]	Жировое тело Гиподерма, эпителий трахей	Мезодерма Эктодерма
Dioryctria abietella F.	Жировое тело, гемоциты Гиподерма, эпителий тонкого отдела кишечника	Мезодерма Эктодерма
Pygaera anachoreta Schffi.	Эпителий трахей, гиподерма, эпителий мальпигиевых сосудов	
Dendrolimus sibiricus Tschetw. [93]	Жировое тело, гемоциты Эпителий трахей Гиподерма Гемоциты, жировое тело Эпителий кишечника	Мезодерма Эктодерма Мезодерма Энтодерма

кишечника, имеющих эндодермальное происхождение. Ядерные полиэдры общего типа, широко распространенные среди чешуекрылых, сопровождаются патологическими изменениями производных эктодермы и мезодермы. Вирусные включения формируются в ядрах эпителиальных клеток трахей, гиподермы, жирового тела и гемоцитов. У гусениц ивовой волнянки, кроме того, обнаруживается деструкция ядер клеток мальпигиевых сосудов, а у туркестанской златогузки — слюнных желез и поперечнополосатой мускулатуры.

На основании приведенных фактов можно сделать вывод, что при ядерных полиэдрах чешуекрылых насекомых локализация вирусных включений и вызываемые ими специфические поражения наблюдаются в клетках тканей экто- и мезодермального происхождения. Устойчивыми к заражению оказываются высокоспециализированные клетки, дифференцирующиеся на ранних стадиях эмбриогенеза и развивающиеся в процессе онтогенеза прямолинейно. Аналогичным тканевым тропизмом обладают возбудители гранулезов.

Описанные поражения тканей личинок насекомых-фитофагов наблюдаются при спонтанном проявлении вирусных болезней в природе. Однако эти закономерности можно нарушить в условиях экспериментального воспроизведения заболеваний *in vivo* и особенно *in vitro*.

Например, несмотря на высокую специфичность тканевого тропизма вирусов цитоплазматического полиэдра, известно развитие включений, харак-

терных для этих инфекционных агентов, в культурах клеток яичников из куколок эвкалиптового бражника *Antheria eucalypti* Scott. [243], а также в переживающих *in vitro* оболочках семенниковых пузырьков и в соединительной ткани семенников [98]. В культивируемых яичниках непарного шелкопряда формируются включения при заражении вирусами ядерного и цитоплазматического полиэдрозов, а также гранулами из капсульной белянки.

Приведенные факты свидетельствуют о возможной восприимчивости широкого круга тканей различного эмбрионального

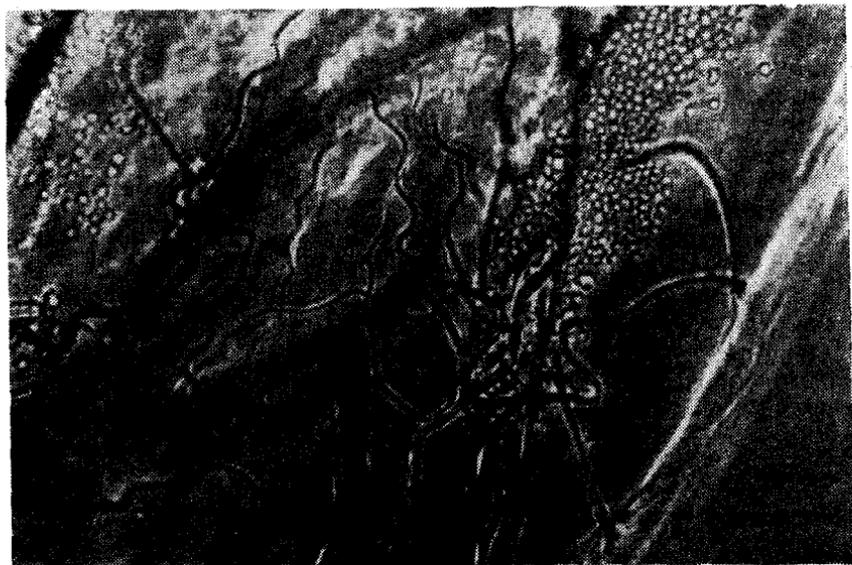


Рис. 28. Зерна липофусцина в нервной ткани гусеницы медведицы кая при ядерном полиэдрозе (нативный препарат, фазовый контраст, 40×10)

происхождения к энтомопатогенным вирусам. Однако препятствием к реализации потенциальных возможностей продуктивного взаимодействия микро- и макроорганизма служат защитные механизмы целостного организма.

ГИСТОПАТОЛОГИЯ ТКАНЕЙ ПРИ МЕТАМОРФОЗЕ НАСЕКОМЫХ

Болезни вирусной природы проявляются преимущественно у личинок насекомых. Некоторые исследователи, например Г. Бергольд [199], долгое время определяли их как болезни личинок. Чувствительность ряда видов чешуекрылых в фазах

куколки и имаго к экспериментальному заражению вирусами ядерного полиэдроза описана в работах Р. Вайлом. Наблюдения в природе и гистологическое изучение материала показывают ограниченную подверженность покоящихся фаз и имаго насекомых-фитофагов поражению различными энтомопатогенными вирусами.

Прежде чем говорить о непосредственной гистопатологии покоящихся фаз и имаго насекомых-фитофагов, следует рассмотреть основные закономерности внутренних перестроек некоторых тканей, поскольку их эмбриональное происхождение, как правило, определяет отношение к вирусам.

В ходе метаморфоза большая часть личиночных тканей насекомых замещается имагинальными: из производных эктодермы полному замещению подвергается гиподерма; взамен личиночного монослоя клеток, подстилающего кутикулу, формируются новые клетки за счет материала имагинальных дисков. Процессы, происходящие в передней и задней кишках, аналогичны вышеописанному: эпителиальные клетки частично отторгаются и попадают в просвет кишечника или включаются в стенку имагинальных отделов его эктодермальной части; полностью разрушаются слюнные и шелкоотделительные железы; существенной перестройке подвергается трахейная система, где в значительной степени происходит смена клеток трахеального матрикса. Тканевые элементы, составляющие нервную систему, развиваются прямолинейно. В ходе метаморфоза происходит преимущественно деление и дифференцирование групп личиночных клеток, которые приводят к усложнению элементов, формирующих головные ганглии.

Частичной перестройке подвергаются производные мезодермы. У чешуекрылых и перепончатокрылых насекомых *de novo* формируются мышцы конечностей и половых придатков. Некоторая часть личиночных мышц функционирует у имаго без каких-либо перестроек. Практически не меняется спинной кровеносный сосуд. В то же время происходит замещение жирового тела за счет групп дифференцированных мезодермальных клеток. Половая система развивается без сопровождающих метаморфоз процессов гистологиза, и развитие носит прямолинейный прогрессивный характер. В ходе формирования имаго, помимо роста и дифференцирования соответствующих эмбриональных зачатков, эктодермальные половые протоки соединяются с мезодермальным аппаратом половых желез.

Эпителий средней кишки сбрасывается в просвет кишечника в фазе зонимфы у пилильщикова и в фазе предкуколки у чешуекрылых. В этот период новая стенка кишечника представлена

мелкими эмбриональными клетками (рис. 29). В случае диапаузы вновь сформированный эпителий прекращает дифференцирование и окончательно имагинальная средняя кишка формируется у куколки.

Происхождение имагинальных элементов средней кишки у насекомых недостаточно ясно. Некоторые исследователи считают, что замещающие клетки

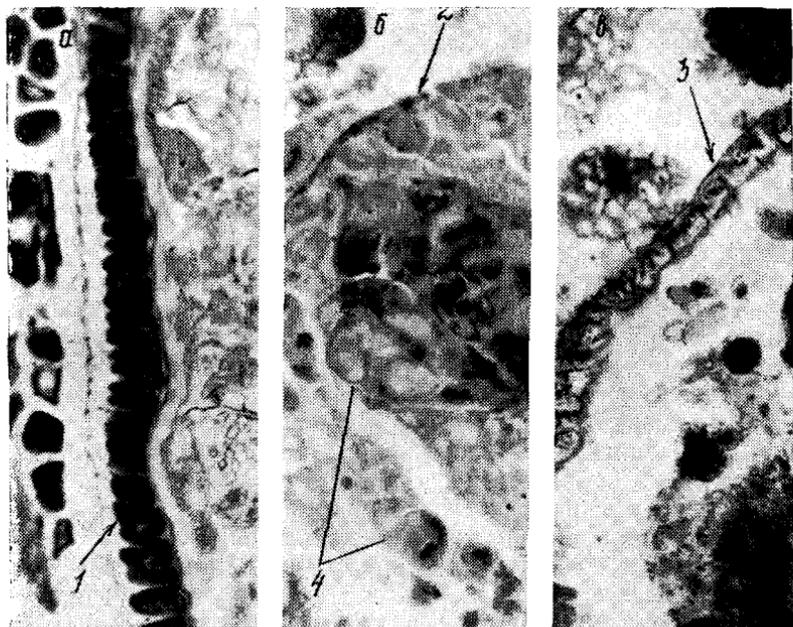


Рис. 29. Перестройка эпителиальных клеток среднего отдела кишечника рыжего соснового пилильщика (гемотаксилин-эозин, 20×10):

а — личиночный эпителий; *б*, *в* — этапы отторжения личиночного эпителия у эонимфы; 1 — личиночный эпителий; 2, 3 — эпителий эонимфы и предкуколки; 4 — остатки личиночного эпителия в просвете кишечника

средней кишки имеют энтодермальное происхождение [75, 127], в то время как специальное изучение процессов развития яйцеда *Prestwichia aquatica* Lubb. показало наиболее вероятное их развитие от недифференцированных полостных элементов мезодермального происхождения [71]. Таким образом, до настоящего времени назвать определенно группы эмбриональных клеток, дающие начало эпителию средней кишки, не представляется возможным.

У насекомых, пораженных ядерными полиэдрозами общего типа и гранулезами, гибель, как правило, наступает в фазе личинки. Если инфицируются личинки старших возрастов, процессы гистолиза, происходящие при метаморфозе, не благоприятны.

ятствуют развитию заболеваний, и насекомые достигают фазы имаго. Недифференцированные группы эмбриональных клеток, весьма устойчивых к заражению вирусами, формируют целый ряд имагинальных тканей. В зависимости от степени поражения личиночных тканей возбудителями заболеваний насекомые гибнут в ходе метаморфоза.

Так, при поражении участков жирового тела и гемолимфы не обеспечивается защита организма от микрофлоры, попадающей в полость тела, и насекомые быстро гибнут от септицемии. Этим объясняется наличие высокого «пика» смертности фитофагов при эпизоотиях в фазах предкуколки и куколки чешуекрылых и в фазе эонимфы у пилильщиков. Если личинки старшего возраста имеют несущественные поражения тканей, то метаморфоз проходит все этапы. Взрослые особи в таких случаях имеют ряд уродств; особенно часто наблюдается деформация крыльев и брюшка. В фазе имаго у чешуекрылых могут также наблюдаться обычные формы поражения экто- и мезодермальных тканей как при ядерных полиэдрозах общего типа, так и при гранулезах.

В случае цитоплазматических полиэдрозов и ядерных полиэдрозов общего типа патологические изменения находятся в тесной связи с процессами перестройки кишечника в ходе метаморфоза. У больных личинок старшего возраста пораженные клетки эпителия средней кишки отторгаются и попадают в просвет кишечника, реже в полость тела — в ходе морфологических перестроек пищеварительного тракта. Пилильщики в фазах пронимфы, куколки и имаго, как правило, имеют в различных участках грудных и брюшных сегментов скопления эпителиальных клеток с остатками пищи из содержимого кишечника. Указанные образования подвергаются меланизации и имеют вид опухолей; при их исследовании элементы истинной клеточной пролиферации не выявлены, поэтому целесообразно их обозначить как «псевдоопухоли». Опухолоподобные образования встречаются у многих видов насекомых [318]. Однако последовательное изучение их природы и причин образования проведено лишь на различных линиях *Drosophila* [250].

Из обширного отряда перепончатокрылых насекомых опухоли были впервые обнаружены у елового пилильщика *Diprion hercyniae*. Ф. Берд [209] связывал появление этих образований с вирусной инфекцией насекомых. М. Нуортева [300, 301], основываясь на работах Берда, предложил оригинальный метод выявления опухолей у рыжого соснового пилильщика; по результатам своих исследований, он рассмотрел закономерности распространения полиэдроза у этого вредителя на территории Финляндии. Однако в работе В. А. Смирнова [333] показано, что опухолоподобные образования у хвойных пилильщиков *Neodiprion swainei* и *Diprion hercyniae* возникают независимо от их инфицирования вирусами.

Таким образом, появились две точки зрения на природу опухолеподобных образований и перепончатокрылых-фитофагов. Для решения этого вопроса проведены специальные исследования перепончатокрылых насекомых-хозяев энтомопатогенных вирусов и также видов не чувствительных к вирусам [44]. Данные по видовому составу, числу проанализированных насекомых и встречаемости псевдоопухолей приведены в табл. 12.

Таблица 12

Встречаемость псевдоопухолей среди различных видов перепончатокрылых насекомых

Насекомые		Фаза развития	Количество псевдоопухолей
вид	количество		
<i>Lyda nemoralis</i> Thoms	56	Имаго	1
» » »	50	Эонимфа	0
<i>Diprion sertifer</i> Geoffr.	100	Имаго	18
» » »	100	Эонимфа	0
<i>Diprion similis</i> Hart.	50	Имаго	2
<i>Rhogogaster viridis</i> L.	3	»	1
<i>Aptesis basizonius</i> Grav.	50	»	0
<i>Lamachus eques</i> Htg.	50	»	0

Особенно часто обнаруживаются псевдоопухолы у взрослых особей рыжего соснового пилильщика. Это свободноплавающие в полости тела или располагающиеся в просвете кишечника структуры плотной консистенции от темно-коричневого до черного цвета. Форма их разнообразна: большей частью это вытянутые или овальные тела размером от $0,5 \times 0,5 \times 0,8$ до $0,8 \times 0,8 \times 3$ мм, реже правильной шаровидной формы диаметром $0,2-1$ мм. В одном насекомом может встречаться от одной до пяти-шести псевдоопухолей. Локализуются они преимущественно в брюшной полости и нередко легко просматриваются через хитин, особенно у насекомых, лишенных темного пигмента (рис. 30).

Опухолевидные образования у черно-желтого соснового пилильщика отличались правильной округлой формой и мелкими размерами ($0,2-0,3$ мм). Присутствовали они лишь у 2 из 50 просмотренных самок, причем число их составляло в одном случае 57, в другом 49. У других видов насекомых псевдоопухолы встречались единично и не имели определенной формы.

Гистологические исследования показали, что псевдоопухоль в своей основе состоит из темно-коричневых аморфных масс. В большинстве случаев в срезах можно встретить структуры, сохранившие морфологию ядра эпителиальных клеток кишечника (рис. 31). Псевдоопухоль в различных фазах развития насекомых характеризуется более или менее выраженной меланизацией: у пронимф хвойных пилильщиков пигмент обычно

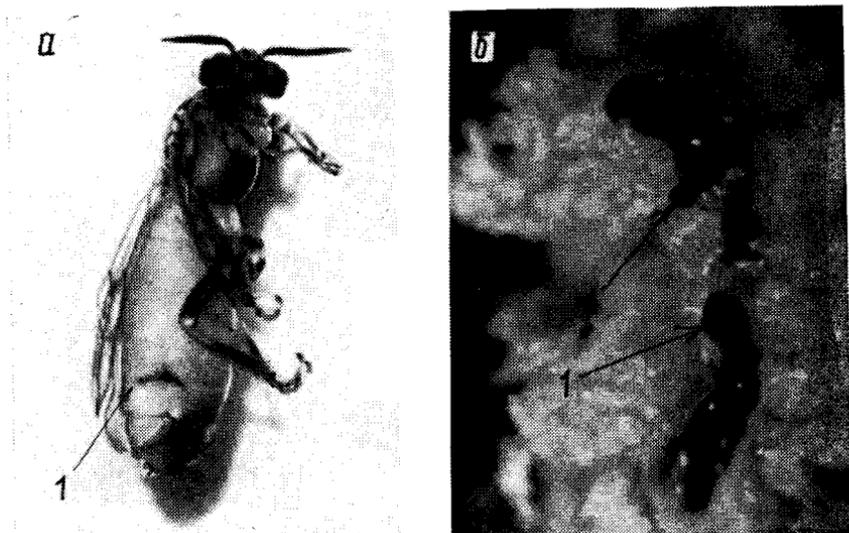


Рис. 30. Самка имаго:

а — рыжего соснового пилильщика с псевдоопухолью; *б* — препарированная куколка; *1* — дисты

располагается в виде единичных пятен величиной 5—20 мк, у имаго они пигментированы полностью (рис. 32). Снаружи они одеты плотным слоем волокнистых структур темно-коричневого цвета, которые нередко разветвляются, охватывая со всех сторон внутреннее содержимое. На поверхности присутствуют веретеновидные клетки, по-видимому, формирующие наружную плотную оболочку в процессе генезиса псевдоопухолей.

При метаморфозе насекомых ряд тканей и клеток перестраивается, новые клеточные элементы формируются на месте разрушающихся участков тканей за счет материала имагинальных дисков. В процессе роста и дифференцирования клеточного материала имагинальных дисков специфических изменений, характеризующих ту или иную вирусную инфекцию не наблюдается,

они появляются у взрослых особей. В частности, пилильщики приобретают чувствительность к вирусам, вызывающим полиэдроз, лишь в тот период, когда в среднем отделе кишечника полностью завершаются процессы перестройки. Таким образом, и в фазе имаго у насекомых сохраняется сродство вирусов с клетками тканей, имеющими одинаковое эмбриональное происхождение. Общий характер патологических изменений личиночного и имагинального эпителия среднего отдела кишечника говорит об их развитии из элементов энтодермы.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВКЛЮЧЕНИЙ

Наиболее характерным показателем вирусных заболеваний у насекомых-фитофагов являются специфические включения, формирующиеся в пораженных клетках. Различают включения полиэдренные и гранульные. Первые формируются в ядре или цитоплазме различных клеток и соответственно подразделяются на ядерные и цитоплазматические. Из числа дифференцированных структур невирусной природы, близких по размерам и форме, к полиэдрам и гранулам относятся кристаллы уратов и белковые клеточные образования, освобождающиеся в период гистогенеза [279, 376]. К ним следует отнести также зерна меланина в форме тетраэдров из эпителиальных клеток кишечника некоторых листогрызущих чешуекрылых.

Ядерные полиэдренные включения близки по форме у насекомых при различных типах заболеваний. В оптическом микроскопе они имеют сферическую форму в нативном и окрашенном

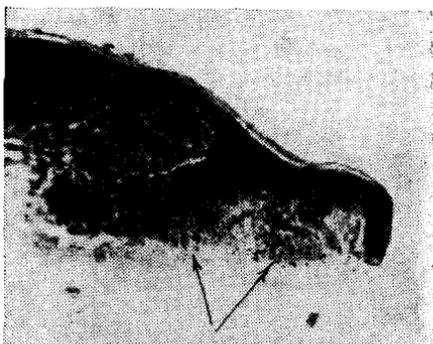


Рис. 31. Ядра эпителиальных клеток на срезе участка псевдоопухли рыжего соснового пилильщика (20×10)



Рис. 32. Полностью меланизированная псевдоопухоль в полости тела рыжего соснового пилильщика (гематоксилин-эозин, 20×10)

виде (рис. 33). Размер их колеблется в довольно широких пределах как у различных насекомых, так и в одной особи. Включения, формирующиеся в одном ядре, как правило, близки по размерам [16]. Размеры полиэдренных включений в насекомых некоторых видов приведены в табл. 13.

Ядерные белковые включения, сопровождающие полиэдрозы чешуекрылых и перепончатокрылых насекомых, различаются по форме.

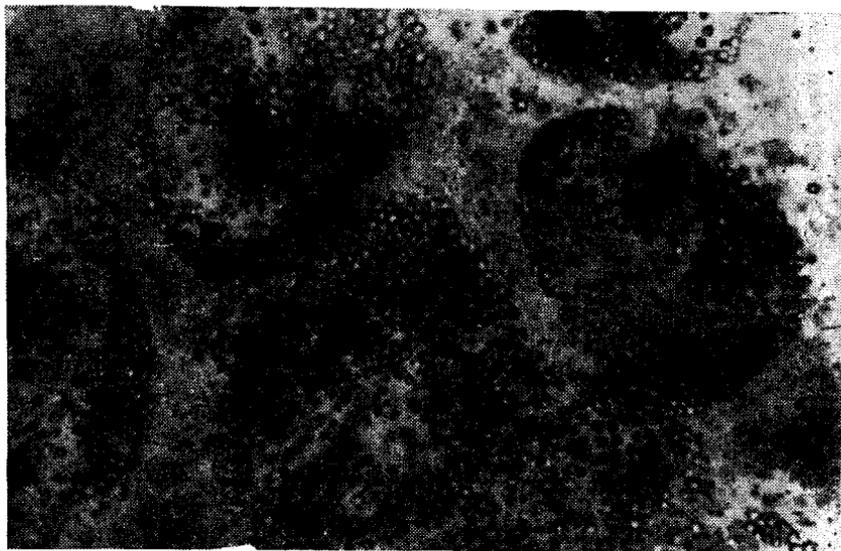


Рис. 33. Ядерные полиэдры из стрелчатки пси (нативный препарат, фазовый контраст, 40×10)

Полиэдры тутового шелкопряда ромбододекаэдрические и имеют вид шестигранников в оптическом разрезе [204], полиэдры большой вошинной моли гексаэдрические, что обуславливает их квадратный вид в проходящих лучах электронного микроскопа. Включения, образующиеся при полиэдрозе шелкопряда-монашенки, как правило, тетраэдрические, а у бабочки-медведицы *Panaxia dominula* L. — прямоугольные [337]. С. М. Гершензон [20] установил, что различные формы полиэдров, возникающих в чувствительных клетках насекомых-хозяев, принадлежат к гексатетраэдрической группе образований кубической кристаллографической сингонии. В пределах этой группы выделяются следующие формы: тетраэдры (вирусы сиреневого бражника), тетраромбододекаэдры (вирус тутового шелкопряда), тетрагексаэдры (вирус непарного шелкопряда). Р. Григорова [248] отнесла полиэдры ивовой волнянки к три-тетраэдрической группе кристаллов. К. Смит [337] считает, что при полиэдрозе непарного шелкопряда формируются полиэдры неправильной формы. Анало-

гичные факты известны и для цитоплазматических полиэдров. Размер включений варьирует обычно в более широких пределах [192, 354]. Определение точных морфологических характеристик вирусных включений имеет важное значение при идентификации возбудителей, так как вирус контролирует форму полиэдров и гранул [19, 20].

Реконструкция кристаллических форм по оптическим разрезам в лучшем случае может дать представление о периметре ортогональной проекции (рис. 34); воссоздание истинной формы представляет значительные трудности. Исключения составляют простые формы кристаллов — тетраэдры и гексаэдры. В многочисленных публикациях о морфологии полиэдренных включений сообщается о формах оптических разрезов [94, 95, 140, 141, 144], что не всегда позволяет воссоздать пространственные формы.

Применив в работе метод самооттененных угольных реплик, мы пришли к выводу, что все полиэдренные включения можно разделить на три класса изометрической сингонии: гексоктаэдрический, дидодекаэдрический и гексатетраэдрический. Первый из них, известный в кристаллографии как кубическо-голоэдрический, образует 7 пространственных форм: куб, ромбододекаэдр, октаэдр, пирамидальный куб, тригон-триоктаэдр, тетрагон-триоктаэдр и гексоктаэдр. Исходная форма этого класса гексоктаэдр; куб, ромбододекаэдр и октаэдр встречаются в виде единственной формы.

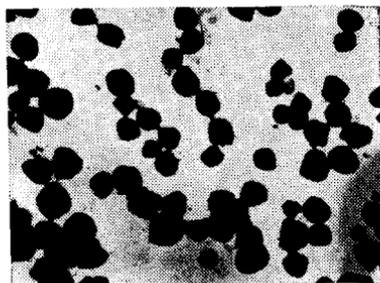


Рис. 34. Ядерные полиэдры туркестанской элатогузки в оптическом разрезе ($\times 3000$)

Дидодекаэдрический класс в качестве основной формы имеет дидодекаэдр. К этому же классу относится гемиздрический аналог пирамидального куба — пентагондодэкаэдр. Остальные формы остаются неизменными, совпа-

Таблица 13

Размеры включений, сопровождающих полиэдросы насекомых

Насекомое-хозяин	Тип болезни	Размер ($M \pm m$)
Mamestra pisi L.	Ядерный полиэдроз	2,11 \pm 0,66
Mamestra brassicae L.	» »	1,77 \pm 0,54
Panthea coenobita Esp.	» »	2,67 \pm 0,75
Lithocolletis populifoliella Tr.	» »	1,44 \pm 0,40
Acronicta psi L.	» »	3,15 \pm 0,44
Acronicta leporina L.	» »	1,35 \pm 0,35
Larentia comitata L.	» »	1,95 \pm 0,53
Evotria resinella L.	» »	1,93 \pm 0,41
Neodiprion sertifer Geoffr.	Кишечный полиэдроз	1,26 \pm 0,35
Dendrolimus spectabilis Btl.	Цитоплазматический полиэдроз	1,97 \pm 0,48
Acronicta psi L.	То же	1,12 \pm 0,37

дая геометрически с голоэдрическими формами: тетрагонтриоктаэдр, тригонтриоктаэдр, октаэдр, ромбододекаэдр и куб. Комбинация октаэдра и пентагондододекаэдра образует форму, похожую на правильный геометрический икосаэдр с равновеликими гранями. Гексатетраэдрический или тетраэдрический класс имеет в качестве основной формы гексатетраэдр и его производные: тетраэдр, тригонритетраэдр и тетрагонритетраэдр.

При изучении геометрических форм телец-включений методом самооттенивающих угольных реплик, как и другими методами, выявляется несовершенство скульптуры кристаллических граней. С одной стороны, это объясняется справедливостью закона П. Грота, который заключается в следующем: чем проще

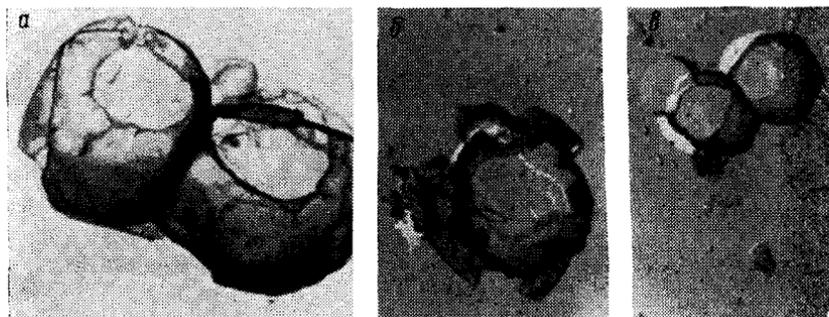


Рис. 35. Угольные реплики:

a — с ядерных полиэдров стрелчатки пси; *b* — то же, пятистой волнянки; *в* — с цитополлиэдров стрелчатки пси ($\times 12100$)

химический состав вещества, тем выше симметрия его кристаллов и, наоборот, чем сложнее химический состав вещества, тем ниже симметрия его кристаллов [126]. В силу этого среди органических соединений, отличающихся весьма сложным химическим составом, каковыми являются вирусные включения, не может быть большого числа высокосимметричных кристаллов. С другой стороны, включения являются особыми образованиями, содержащими десятки и сотни вирусных частиц, каждая из которых может нарушать процесс кристаллизации полиэдрного белка.

У большинства полиэдрных телец методом угольных реплик выявляются скульптурные образования на кристаллических гранях (рис. 35). Подобные образования можно рассматривать как придаточные или аксессуарные, связанные с ростом кристаллов. Согласно морфологической классификации Н. Н. Шефтала [181] их следует отнести к вициналям. Вицинали в виде бугров могут быть как единичными, так и множественными.

Кристаллографическая характеристика включений, сопровождающих ядерный полиэдроз у различных видов чешуекрылых и перепончатокрылых насекомых, приведена в табл. 14.

Таблица 14

Кристаллографическая характеристика ядерных полиэдров

Насекомое-хозяин	Преобладающая геометрическая форма	Класс кубической сингонии	Характер вициналий
<i>Selenephora lunigera</i> Esp.	Ромбододекаэдр	Гексактаэдрический	Единичные овальные впадины
<i>Oscneria monacha</i> L.	Тетраэдр	Гексатетраэдрический	То же
<i>Euproctis karghalica</i> Moore	Пентагондододекаэдр	Дидодекаэдрический	Вicinaлии отсутствуют
<i>Stilpnotia salicis</i> L.	То же	То же	То же
<i>Biston betularia</i> L.	Ромбододекаэдр	Гексаоктаэдрический	Единичные овальные впадины
<i>Arctia caja</i> L.	То же	То же	То же
<i>Acronicta psi</i> L.	Тетрагексаэдр	Гексактаэдрический	Множественные бугры
<i>Panthea coenobita</i> L.	Ромбододекаэдр	То же	Штриховка в виде углубленных бороздок
<i>Neodiprion sertifer</i> Geoff.	Тетрагонтри-тетраэдр	Гексатетраэдрический	Множественные бугры
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	То же	То же	То же

Как видно из табл. 14, наиболее часто встречающаяся форма ядерных полиэдров — ромбододекаэдр. Она характерна для представителей различных семейств чешуекрылых насекомых.

Пентагондодокаэдрическая форма вирусных включений появляется при ядерных полиэдрозах ивовой волнянки и турецкой златогузки. Принимая во внимание, что геном вириона, по данным ряда авторов [20, 130], определяет характер включения, можно предполагать, что у этих двух видов насекомых заболевания вызывает один вирус или близкие его разновидности. Помимо основной геометрической формы включений, у одного вида насекомого-хозяина, как правило, присутствует незначительное количество нехарактерных кристаллов.

Для цитоплазматических включений характерна форма пентагондодокаэдра. Присмотр угольных реплик с поверхности цитополлиэдров из стрелчатки пси не выявил иных геометрических фигур. Кристаллы, формирующиеся при цитоплазматических полиэдрозах, обладают в отличие от ядерных более высокой симметрией. Ребра и грани их всегда хорошо выражены.

Поверхность таких граней имеет особый микрорельеф. Наиболее характерно наличие ряда впадин и бугров, связанных с местоположением вирусных частиц. В жидких средах поверхностно расположенные вирионы вымываются из белкового матрикса, что приводит к образованию на гранях овальных впадин, ограниченных небольшими наплывами.

Белковые включения, формирующиеся при полиэдрозах и гранулезах насекомых, согласно исследованиям Г. Бергольда [203] имеют макромолекулярную и паракристаллическую решетку. Молекулы расположены в кубическом порядке, который не нарушается присутствием вирусных частиц. В связи с этим включения, образующиеся при гранулезах, можно отнести к округлым формам кривогранных кристаллов. Размеры гранул, сопровождающих заболевания у некоторых видов насекомых, приведены в табл. 15.

Таблица 15

Размеры включений при гранулезах насекомых

Насекомое-хозяин	Средние размеры, мк	
	длина	ширина
<i>Carpocapsa pomonella</i> L.	390—400	195—210
<i>Dyorictria abietella</i> Schiff.	600—650	440—460
<i>Pygaera anachoreta</i> F.	395—415	190—215
<i>Archips murinana</i> Hd.	360	230
<i>Dendrollmus sibiricus</i> Tschtw.	412	247
<i>Hyphantria cunea</i> Drury.	500—600	250—350

В случае болезни майского хруща, вызываемой оспоподобным вирусом, включения длиной 2—20 и шириной 1—18 мк имеют яйцеобразную форму, что дало основание исследователям назвать болезни этого типа сфероидозами. В начальный период генезиса включения возникают в виде мелких иголок, затем приобретают ромбическую форму и, наконец, яйцеобразную. Элементарные вирусные частицы сферические и близки по структуре к вирусу осповакцины.

Белковые включения вирусной природы при сфероидозе зимней пяденицы имеют размер $10 \div 12 \times 6 \div 8$ мк. После обработки слабыми растворами щелочей в матриксе включений просматриваются овальные тельца диаметром до 0,4 мк. Цито- и кариовключения являются важными показателями вирусных заболеваний у насекомых и имеют большое диагностическое значение. Известно, что они содержат около 5% вируса,

а остальная часть представляет собой инертный белок, окружающий вирусные частицы. Современные морфологические, биохимические и иммунологические исследования показывают вирусную природу белка включений. С. М. Гершензон [15, 16] установил, что геометрическая форма полиэдрированных кристаллов определяется особенностями вируса, а не свойствами клеток насекомого-хозяина. Пассажи возбудителя через несколько видов чувствительных личинок не приводят к изменению формы включений и их физико-химических свойств. Сравнение антигенной структуры различных тканей насекомых-хозяев с белками полиэдрированных включений и вирусных частиц показало близкое родство компонентов полиэдров [1].

Белок, составляющий основную массу полиэдров и гранул, надежно защищает вирусные частицы от воздействия неблагоприятных факторов внешней среды и способствует сохранению и распространению возбудителей вирусозов в природе.

Высокая устойчивость основных групп энтомопатогенных вирусов к температурным, механическим и иным воздействиям служит одной из основных предпосылок создания биологических препаратов для защиты растений с относительно высокими показателями стабильности.

ГЛАВА III. ПАТОГЕНЕЗ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАСЕКОМЫХ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВИРУСОВ

ПРОНИКНОВЕНИЕ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ВИРУСОВ В ОРГАНИЗМЕ

В естественных условиях энтомопатогенные вирусы попадают в организм насекомого, как правило, вместе с кормом. Не исключен и парэнтеральный путь заражения при микротравмах личинок, которые происходят особенно часто у хвоегрызущих видов насекомых. Возбудители вирусных болезней могут проникать в гемолимфу и в результате деятельности паразитов и хищников [39].

В исследованиях последних лет показаны пути внедрения вирусов ядерного полиэдроза и гранулеза в эпителий кишечника личинок чешуекрылых насекомых и начальные этапы размножения. В просвете кишечника нуклеокапсиды, освободившиеся из телец-включений, проникают в цилиндрические клетки. При этом уже в течение первых 2 ч после заражения вирионы

прикрепляются к микроворсинкам клеток, и вирион без наружной оболочки проникает в микровыrost, а затем в цитоплазму; в ядро через поры ядерной мембраны попадает содержание нуклеокапсида, где происходит первая репликация палочковидных вирусов [352]. Сформировавшиеся вирионы освобождаются из ядра, попадают в цитоплазматические вакуоли, затем переносятся к базальной мембране и выходят в гемоцель. Вирионы могут распадаться непосредственно в просвете кишечника на субвирусные частицы, которые и проникают в гемолимфу. Инфекционность субвирусных частиц доказана специальными экспериментами.

При ядерных и цитоплазматических полиэдрозах всех типов и при гранулезе клетки кишечного эпителия насекомых служат местом первого репродукционного цикла вирусов. Включения в этих клетках при ядерных полиэдрозах и гранулезе, как правило, не образуются. Однако возбудители могут через эпителий кишечника проникать во все органы и ткани с током гемолимфы [227]. Возможность дальнейшего продуктивного взаимодействия вирусов с клетками различных тканей зависит от их взаимного сродства.

Проведены специальные исследования экспериментально полученного патологического материала с целью изучения динамики развития гранулезной инфекции и уточнения места локализации включений в инфицированной клетке. Динамика ядерного полиэдроза прослежена у гусениц непарного шелкопряда и туркестанской златогузки, а также у ложногусениц рыжего соснового и тополевого (осинового) волосатого пилильщика при ядерных полиэдрозах кишечного типа, характерных для перепончатокрылых насекомых. Особое внимание уделено развитию гранулезной инфекции как наименее изученной.

Применение для обнаружения возбудителя гранулеза высокочувствительного метода флуоресцирующих антител позволило установить, что при пероральном введении высоковирулентных гранул гусеницам хохлатки-отшельницы специфическое свечение возникает через 24 ч после попадания гранул в пищеварительный тракт в околядерной зоне цитоплазмы клеток жирового тела. Параллельный просмотр гистологических срезов, окрашенных гематоксилинэозином по Фельгену и Браше, в обычном световом микроскопе не выявляет каких-либо специфических морфологических изменений в клетках.

Специфический антиген в гиподерме удается обнаружить через 48 ч после заражения гусениц. С течением времени интенсивность свечения околядерных зон в клетках жирового тела и гиподермы увеличивается. Параллельно возникают очаги

люминесценции в клетках эпителия трахеального матрикса и макроукулеоцитах. Антигены включений выявляются в виде широких ярко люминесцирующих зон по периферии и в околоядерных участках цитоплазмы. На конечных этапах инфекционного процесса в тканях можно наблюдать клетки, находящиеся на различных стадиях патологии. Отдельные клетки теряют цитоплазму, а ядра, увеличенные в 2—6 раз, разрыхляются и в некоторых случаях люминесцируют сплошными пятнами. Свечение околоядерных зон обнаруживается также в клетках эпителия трахей и некоторых форм гемоцитов — макроукулеоцитов, фагоцитов и микроукулеоцитов. Таким образом, включения формируются прежде всего в клетках жирового тела. В дальнейшем вирусный антиген появляется последовательно в клетках гиподермы, трахеального матрикса и гемоцитах.

Применение флуоресцирующих антител позволило установить, что при алиментарном заражении гусениц первые признаки люминесценции комплекса антиген-антител в гемоцитах наблюдаются через 48 ч с момента попадания гранул в пищеварительный тракт. Слабое свечение начинает проявляться дисперсно в цитоплазме гемоцитов. Еще через 24 ч в околоядерных участках клеток обнаруживаются интенсивно люминесцирующие зоны. В этот период присутствие гранул в клетках с помощью обычных гистологических методов не обнаруживается. В острой фазе инфекционного процесса оболочка клеток частично или полностью разрушается, свечение распространяется по всей цитоплазме; в некоторых случаях наблюдается также свечение гипертрофированного ядрышка. Появление специфического свечения форменных элементов крови до выхода в плазму сформировавшихся гранул после разрушения клеток жирового тела говорит о размножении вируса в гемоцитах.

При субкутальном введении гусеницам инфекционного материала обнаруживается агглютинация гранул. Затем конгломераты включений, абсорбированные поверхностью гемоцитов, исчезают, и свечение распространяется дисперсно на всю цитоплазму. Агглютинация гранул и их абсорбция гемоцитами происходят в первые 2 ч после введения инфекта в тело насекомого. Через 24 ч интенсивно люминесцирующие зоны отмечаются в околоядерных областях клеток, и дальнейший процесс нарастания патологических изменений протекает так же, как и в случае алиментарного заражения. Интенсивно разрушаются ядра клеток жирового тела, затем гиподермы и эпителия трахеального матрикса. Наименьшее количество люминесцирующих участков обнаруживается по ходу трахейных стволов, в то

время как клетки жирового тела и гиподермы полностью вовлекаются в инфекционный процесс.

В случае экспериментального воспроизведения ядерных полиэдрозов кишечного типа включения формируются в ядрах клеток эпителия среднего кишечника независимо от способа введения инфекционного материала. Однако при инъекциях полиэдров ложногусеницам соснового и тополевого волосатого пилильщикова антиген выявляется во всем слое эпителиальных клеток. Пероральное заражение личинок приводит первоначально к поражению групп клеток, лежащих ближе к заднему отделу кишечника. Инфекционный процесс распространяется на все участки среднего отдела кишечника в течение 72—96 ч.

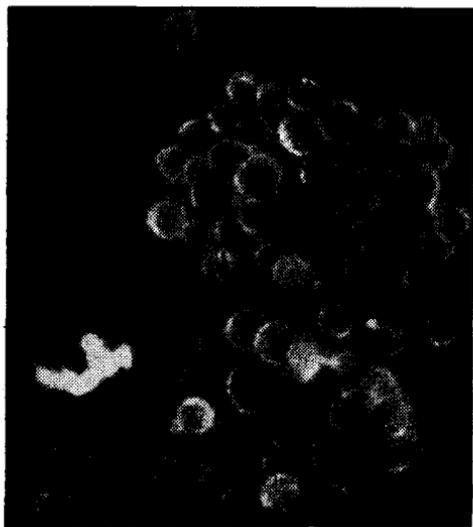


Рис. 36. Гемоциты непарного шелкопряда с фагоцитированными ядерными полиэдрами через 2 ч после инъекции (иммунофлуоресценция, 9×10)

нию в цитоплазме форменных элементов (рис. 36, 37). Комплексные антигены телец-включений начинают выявляться синхронно в периферических зонах ядер клеток жирового тела и гемоцитов. Вслед за этим специфическое свечение появляется в клетках трахеального матрикса, гиподермы и некоторых других. При алиментарном заражении насекомых общая топография локализации включений не меняется, однако в гемолимфе развитие патологических изменений задерживается примерно на 24 ч. Последовательность тканевых поражений следующая: жировое тело, эпителий трахеального матрикса, гиподерма, гемоциты, поперечнополосатые мышцы, мальпигиевы сосуды и шелкоотделительные железы.

При ядерных полиэдрозах общего типа в развитии инфекционного процесса также наблюдаются некоторые особенности, зависящие от способа введения вируса в организм насекомого. Интралимфальное введение полиэдров способствует их активному фагоцитозу и постепенному разруше-

В ходе развития вирусных болезней происходят сложные биохимические изменения в клетках всех тканей насекомых, которые могут служить основой для разработки ранней диагностики патологических изменений. Наиболее характерны нарушения обмена нуклеиновых кислот, что связано с их особой ролью в органическом мире. Одним из самых характерных свойств нуклеиновых кислот является способность к сохранению

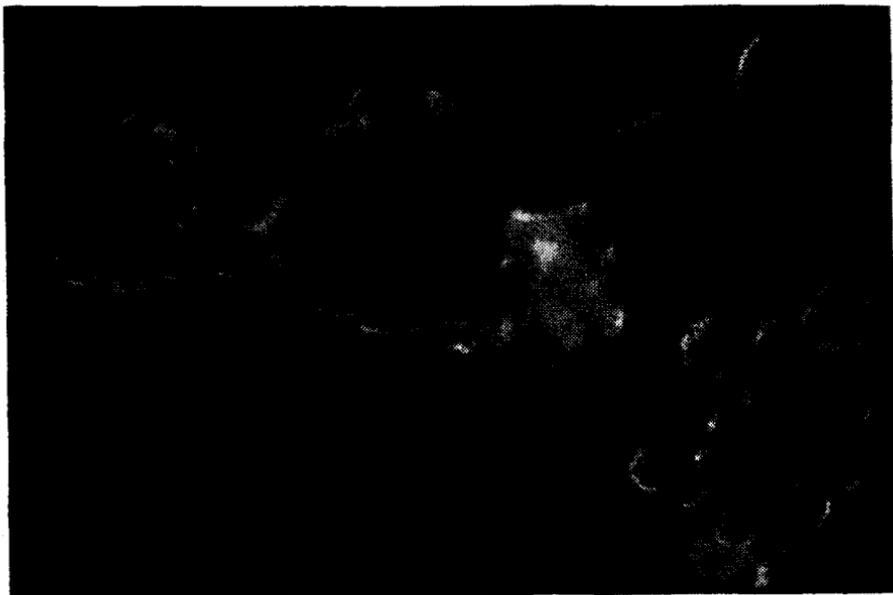


Рис. 37. Группа гемоцитов из непарного шелкопряда через 24 ч после инъекции ядерных полиэдров (иммунофлуоресценция, 90×10)

и передаче биологической информации. При участии этих соединений образуются белковые молекулы, обуславливающие процессы обмена веществ. Помимо синтеза белка и передачи наследственных свойств, нуклеиновые кислоты играют особую роль в размножении вирусов, поэтому нуклеиновому обмену при вирозах насекомых уделяется большое внимание. В частности, установлено, что в процессе образования вирусных включений-полиэдров увеличивается содержание ДНК при одновременном уменьшении количества РНК. Суммарное содержание ДНК и РНК остается постоянным [159]. С. М. Гершензон [73] выделил инфекционную РНК из больных полиэдрозом гусениц

тутового шелкопряда. Е. Ф. Уланова [167] на гусеницах 1-го возраста тутового шелкопряда показала изменения нуклеиновых кислот, происходящие в ходе развития инфекции и связанные с образованием в ядрах клеток полиэдров. Известны более ранние работы по этому вопросу, выполненные рядом исследователей на личинках насекомых при ядерных полиэдрозах [136, 196, 245]. Имеющиеся данные относятся преимущественно к тутовому шелкопряду, инфицированному вирусом ядерного полиэдроза общего типа.

Для выяснения динамики изменения нуклеиновых кислот у хвое- и листогрызущих насекомых нами применен метод люминесцентной микроскопии с акридиновым оранжевым. Этот краситель использован в связи с тем, что установлена способность акридинового оранжевого при взаимодействии с нуклеиновыми кислотами придавать ДНК зеленую, а РНК красную флуоресценцию [63, 64, 65, 100]. Способ комплексообразования зависит от вторичной структуры нуклеиновых кислот. Двухжелевая нативная ДНК и спирализованные участки РНК связываются с отдельными молекулами акридинового оранжевого так, что образование димеров оказывается невозможным. Молекулы флуорохрома встраиваются между нуклеотидами нативной ДНК. Подобная связь наблюдается между тремя парами нуклеотидов. Расстояние между молекулами акридинового оранжевого при этом настолько велико, что образование димеров исключается и комплекс флуоресцирует зеленым.

Денатурированные ДНК и РНК представляют по своей структуре больше возможностей для присоединения акридинового оранжевого в условиях, аналогичных условиям в насыщенных растворах красителя. Это приводит к красной флуоресценции [101]. Установленная метахромазия находит применение в патологии насекомых. Так, люминесцентномикроскопическое изучение нуклеиновых кислот при вирусных болезнях насекомых проведено у долгоножки, инфицированной вирусом полиэдроза и радужным вирусом [190].

Изменения в содержании нуклеиновых кислот при ядерном полиэдрозе гусениц тутового шелкопряда показаны Л. М. Тарасевич [156], Е. Ф. Улановой [166, 167] и некоторыми другими исследователями. Нами этот вопрос изучен на примере кишечного полиэдроза у пилильщиков (рыжего соснового и тополевого волосатого) и ядерного полиэдроза общего типа у туркестанской златогузки.

Поскольку некоторые экспериментальные воздействия влияют на характер люминесценции компонентов ядра, затрудняя интерпретацию получаемых результатов, мы с целью более точной

идентификации ДНК обрабатывали контрольные препараты ДНК-азой, а также применяли гистохимические реакции Фельгена и Браше. Для идентификации РНК использовали РНК-азу.

Как уже отмечалось, вирус ядерного полиэдроза развивается у пилильщиков только в ядрах эпителиальных клеток среднего отдела кишечника. Эпителий здоровых ложногусениц обоих видов пилильщиков в основной своей части состоит из однотипных цилиндрических клеток с крупными продолговатыми ядрами. Единично встречаются бокаловидные клетки. На поперечных срезах личинок видно, что цилиндрические клетки эпителия имеют форму прямоугольника размером 118—135 мк. На плечатых препаратах со стороны щеточной каемки эти клетки имеют форму шестиугольника со сглаженными углами. Отношение высоты клетки к поперечнику основания составляет примерно 3:1. Основания клеток примыкают к базальной мембране, а с апикальной стороны ограничены щеточной каемкой высотой примерно 20—30 мк. Ядра нормально функционирующих клеток кишечного эпителия размером 40—60 мк располагаются в центральной части цитоплазмы, несколько ближе к основанию клетки. Нативные ядра эпителиальных клеток в обычном световом микроскопе оптически гомогенны. С помощью метода фазовых контрастов обнаруживается оболочка ядра, а внутри — от одного до нескольких округлых, преломляющих свет ядрышек.

В ядрах нормально функционирующих клеток кишечного эпителия присутствуют гранулы, дающие положительную реакцию Фельгена и содержащие большое количество ДНК. Ядрышки родственны пиронину и содержат РНК. При окрашивании клеток кишечного эпителия акридиновым оранжевым ядро имеет зеленую люминесценцию из-за наличия ДНК, цитоплазма и ядрышки — красную или оранжево-красную из-за наличия РНК. Подтверждением этому является обработка препаратов соответствующими нуклеазами, снимающими свечение. Характер люминесцентномикроскопических картин существенно меняется в зависимости от концентрации флуорохрома.

Указанные особенности цветового свечения эпителия клетки среднего кишечника проявляются при концентрации акридинового оранжевого 50—100 мкг/мл, соответствующей разведению 1:50 000—1:100 000. С понижением содержания красителя в растворе внеядрышковый хроматин люминесцирует диффузно-зеленым; ядрышки более ярких тонов; цитоплазма тускло-зеленая и содержит большое количество ярко-красных цитоплазматических гранул. При использовании режимов флуорохромирования внеядрышковая часть ядер приобретает диффузное

зеленое свечение в виде сети. Интенсивно люминесцирующая зеленая сеть выявляется не только в ядрах эпителиальных клеток среднего кишечника, но и в гемоцитах и клетках жирового тела. Зеленое свечение является результатом адсорбции акридинового оранжевого на ядерной ДНК, что было впервые показано советскими исследователями на культурах клеток [102]. В опытах дезоксирибонуклеиновая природа люминесцирующей ярко-зеленым ядерной сети подтверждалась гасящим эффектом ДНК-азы. В препаратах нормально функционирующих клеток кишечного эпителия подобная сеть выявлялась после их фиксации и окраски по Фельгену.

Из числа морфологических признаков, характерных для клеток, обработанных акридиновым оранжевым в норме, следует отметить наличие в цитоплазме большого количества ярко-красных гранул размером 0,5—3 мк, особенно в окооядерной зоне.

Через 24 ч после заражения личинок вирусами ядерного полиэдроза в чувствительных клетках насекомых происходят сложные изменения. Микроскопия препаратов, окрашенных по Фельгену и Браше, показывает нарушение нормальной структуры большей части ядер: ядрышки несколько разбухают, при этом их пиронинофильная реакция полностью сохраняется; хроматин агрегируется в отдельные тяжи, и масса ядра увеличивается. В процессе развития инфекции агрегирующийся хроматин ядра приобретает Фельген-отрицательную реакцию. Через 24 ч с момента заражения у ложногусениц тополевого (осинового) волосатого пилильщика в ядрах эпителия появляется периферическая кольцевая зона, которая не окрашивается обычными гистологическими красителями. В кольцевой зоне и в отдельных участках центральной части ядра начинается формирование полиэдренных телец. На первых этапах генезиса они представляют собой мельчайшие зерна, напоминающие гранулы, образующиеся при гранулезе насекомых, которые лежат на грани разрешения обычных световых микроскопов. С момента образования кольцевой зоны и формирования полноценных вирусных включений проходит примерно 35—40 ч.

Одновременно с появлением зачатков полиэдров преимущественно по периферии ядра в центральной его части формируется хроматиновая зона с находящимися здесь же ядрышками, которые в этот период частично разбухают, и их содержимое освобождается. В некоторых клетках ядрышки сохраняют морфологическую целостность до самых последних этапов инфекционного процесса, когда ядро полностью разрушается, переполняясь полиэдрами. Деструкцию ядрышек можно наблюдать и на электронномикроскопических снимках с ультратонких

срезов кишечного эпителия (см. рис. 27). На данном этапе развития инфекционного процесса в центральной части ядра хроматин образует различной формы и величины островки, в которых отмечено присутствие нуклеиновых кислот. При обработке срезов рибонуклеазой глыбки хроматина, окрашенные реактивом Шиффа в пурпурно-красный цвет, приобретают резко выраженную ячеистую структуру, что свидетельствует о наличии в хроматине помимо ДНК некоторого количества РНК. Различные цитохимические реакции постоянно обнаруживают в центральной хроматиновой массе присутствие ДНК.

По мере созревания полиэдров гипертрофия ядра нарастает. Центральная хроматиновая масса редуцируется и на срезах обнаруживаются лишь небольшие островки хроматина. Развитие вируса завершается разрывом ядерной оболочки и выходом созревающих включений в цитоплазму. У осинового волосатого пилильщика, тельца-включения по выходе из ядра попадают, как правило, в апикальную часть клетки и затем в основной своей массе в просвет кишечника. Полиэдры обнаруживаются в цитоплазматических каплях секрета и в тех случаях, когда микроскопически не выявляется нарушение ядерной оболочки. Можно предполагать, что какое-то количество включений проникает через ядерную оболочку и с секретом выводится за пределы клетки.

Люминесцентная микроскопия эпителия среднего кишечника показывает что здоровые нативные клетки в видимой части спектра практически не обладают свечением. На срезах ложногусениц тополевого и рыжего соснового пилильщиков, обработанных раствором акридинового оранжевого на фосфатном буфере с рН-5,91 в соотношении 1 : 50 000, через 24—30 ч после заражения клетки вирусом в структуре ядра происходят изменения. Зона зеленой люминесценции, характерная для нормально функционирующего ядра, сокращается в 2 раза и более и отходит от ядерной мембраны. Параллельно с этим появляются тускло люминесцирующие и совершенно темные зоны.

Участки, люминесцирующие зеленым, через 48 ч после попадания включений в пищеварительный тракт обособляются, формируя центральную хроматиновую массу. Центральная хроматиновая масса люминесцирует зеленым, причем на различных этапах инфекционного процесса цвет остается без изменений, меняется лишь его интенсивность. Наиболее яркая люминесценция наблюдается в центральной части в период формирования обширной зоны, не обнаруживающей признаков какого-либо свечения. Зеленая зона, соответствующая образованию, за которым в литературе укрепилось название «центральной хромати-

новой массы», не всегда расположена центрально. Нередко она представлена группой овальных образований, которые могут находиться в любой точке ядра, или может быть вытянутой и многолопастной. Через 96 ч после заражения область зеленой зоны редуцируется и может совершенно исчезнуть, однако во многих ядрах интенсивно люминесцирующие островки остаются до полного распада ядер.

В обширных зонах, где отсутствует люминесценция, формируются вирусные включения. В острый период болезни, наступающий у ложногусениц пилильщиков через 96—120 ч после заражения, завершается образование полиэдров, ядерная мембрана лопается и клетка гибнет. В этот период в препаратах можно обнаружить отдельные ядра эпителиальных клеток среднего кишечника, в которых помимо центральной ДНК-содержащей хроматиновой массы, обнаруживается большое количество зерен 0,5—1,5 мк, люминесцирующих оранжево-красным. Обработка РНК-азой в значительной мере снимает оранжево-красную люминесценцию, что позволяет предполагать их рибонуклеиновую природу. Возможно, что ядро, находящееся в патологическом состоянии, в некоторых случаях интенсивно продуцирует ядерную РНК, транспорт которой в цитоплазму нарушается под действием вирусной инфекции.

Принятые режимы флуорохромирования препаратов акридиновым оранжевым в острый период развития инфекционного процесса интенсивно окрашивают цитоплазму и остатки хроматина, и все структуры люминесцируют оранжево-красным, что свидетельствует о резком увеличении проницаемости клеточной оболочки и ядерной мембраны; не люминесцирует лишь периферическая зона ядра. Вирус развивается не во всех клетках. Отдельные группы цилиндрических клеток остаются интактными у ложногусениц рыжего соснового пилильщика до самых последних этапов инфекционного процесса. Однако в острый период болезни и в период, предшествующий гибели насекомого, такие клетки начинают интенсивно воспринимать акридиновый оранжевый и люминесцируют диффузно яркими красными точками.

При экспериментальном воспроизведении ядерного полиэдра общего типа туркестанской златогузки динамика клеточных изменений аналогична описанной для ложногусениц пилильщиков при кишечных полиэдрозах, но патологические процессы развиваются с меньшей скоростью. Тушение люминесценции в периферических участках ядра инфицированных вирусом клеток происходит после 48 ч с момента заражения, начало формирования вирусных включений в ядре — через 96—120 ч.

Гистохимические реакции Фельгена, Браше и метод люминесцентной микроскопии с применением акридинового оранжевого позволили проследить характер изменения состава нуклеиновых кислот в клетках насекомых при различных типах заболеваний.

У ложногусениц рыжего соснового и тополевого (осинового) волосатого пилильщиков при заражении ядерным полиэдрозом кишечного типа в первый период развития инфекционного процесса (примерно 24—30 ч) наблюдаются формирование ДНК-содержащей центральной зоны и тушение люминесценции в периферических участках. В подострый период болезни (от 30 до 72 ч) содержание РНК в ядре увеличивается, и в нелюминесцирующей зоне появляются зачатки вирусных включений; острый период характеризуется завершением формирования полиэдров, резким повышением сродства клеточного материала акридиновому оранжевому и разрушением клеток. Формирование центральной хроматиновой массы, люминесцирующей зеленым, отмечено также у гусениц тутового шелкопряда при ядерном полиэдрозе общего типа [167]. Следует отметить, что общая масса хроматина в ходе всего инфекционного процесса не меняет цвета люминесценции, что свидетельствует о стабильности ее качественного содержания.

В начальный период инфекционного процесса наблюдается только временное тушение люминесценции, что, видимо, соответствует перестройке в метаболизме клетки, направленной на синтез свойственной вирусу дезоксирибонуклеиновой кислоты и веществ, образующих белковый матрикс полиэдров. В целом же исследования показывают, что в клетках насекомых, пораженных различными вирусами, происходят если не идентичные, то весьма близкие процессы, связанные со стимуляцией геномом вируса синтеза ненужной для клетки чужеродной ДНК и ряда других компонентов, что приводит в случае продуктивного взаимодействия системы вирус-клетка к гибели клетки, а в случае инклюзионных энтомопатогенных вирусов и к гибели насекомых-хозяев.

ВИРУЛЕНТНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ И УСЛОВИЯ РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

Условия возникновения и течения инфекционного процесса у насекомых определяются в первую очередь биологическими свойствами возбудителя, основным из которых является его вирулентность. В современной микробиологии под вирулентностью понимают степень патогенности данного штамма инфекционного

агента для определенного вида животного в конкретных условиях естественного или искусственного заражения [117, 153].

Проблема вирулентности энтомопатогенных вирусов сложна и слабо разработана. Вся сложность в том, что вирулентность — признак, который находится в тесной зависимости от комплекса различных факторов. Возможность возникновения инфекционного процесса определяется не только дозой и качеством энтомопатогенного вируса, нередко решающее значение имеет состояние макроорганизма [67].

Энтомопатогенные вирусы меняют вирулентность под действием различных факторов внешней среды как в естественных условиях, так и в лаборатории. Свежевыделенные штаммы обладают наиболее высокими показателями вирулентности, которые с течением времени снижаются в зависимости от условий и длительности хранения [298]. Вирулентность энтомопатогенных вирусов изменяется и при пассажах через организм несвойственных насекомых-хозяев.

Так, вирус ядерного полиэдроза ивовой волнянки после пассажа через гусениц непарного шелкопряда существенно повышал вирулентность [112]. Известны единичные случаи выделения более вирулентных штаммов вирусов путем отбора из распространенных в природе [304], а также повышения вирулентности энтомопатогенного вируса в результате пассажей через особей того же вида, собранных в другой местности [328].

Как показывают полевые и лабораторные опыты, эффективность вирусов зависит от фазы развития насекомого и его физиологического состояния [259, 261]. Поэтому при оценке вирулентности того или иного энтомопатогенного вируса необходимо учитывать его биологические особенности, состояние насекомого-хозяина и внешние факторы, воздействующие как на покоящиеся формы вируса, так и на систему микро—макроорганизм.

При попадании вируса в организм чувствительного насекомого начинается инфекционный процесс. Однако в течение некоторого времени зараженная особь не проявляет каких-либо клинических признаков заболевания; это так называемый инкубационный период. Экспериментальное заражение личинок насекомых вирусами различных родов показало, что его продолжительность зависит от ряда факторов. Основными из них являются вирулентность инфекционного агента и состояние насекомого-хозяина, которое определяется комплексом показателей среды (температура, влажность, инсоляция, питание и т. д.). Как показывают данные табл. 16, инкубационный период при заболеваниях всех типов варьирует в широких пределах: минимальными сроками характеризуются ядерные полиэдрозы кишечного типа, поражающие пилильщиков; далее следуют ядерные полиэдрозы общего типа, для которых обычным является

инкубационный период 7—12 суток. Максимальная продолжительность инкубационного периода при ядерных полиэдрозах у личинок различных видов чешуекрылых насекомых не превышает 20 суток; значительно большие сроки инкубации отмечаются при цитоплазматических полиэдрозах и гранулезах.

Таблица 16

Длительность инкубационного периода у личинок насекомых при различных заболеваниях

Насекомое-хозяин	Заболевание	Длительность инкубации, сутки
<i>Dasychira abietis</i> L.	Ядерный полиэдроз общего типа	7—12
<i>Panthea coenobita</i> Esp.	То же	8—14
<i>Euproctis karghalica</i> Moore	»	6—11
<i>Ocneria dispar</i> L.	»	8—14
<i>Stilpnotia salicis</i> L.	»	8—16
<i>Aporia crataegi</i> L.	»	9—18
<i>Biston betularia</i> L.	»	7—11
<i>Acronicta psi</i> L.	»	5—12
<i>Acronicta leporina</i> L.	»	6—14
<i>Arctia caja</i> L.	»	8—16
<i>Neodiprion sertifer</i> Geoffr.	Ядерный полиэдроз кишечного типа	3—17
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	То же	3—12
<i>Ocneria dispar</i> L.	Цитоплазматический полиэдроз	14—20
<i>Carpocapsa pomonella</i> L.	Гранулез	7—15
<i>Dioryctria abietella</i> Schiff.	»	8—21
<i>Pygaera anachoreta</i> F.	»	6—15
<i>Pygaera anastomosis</i> L.	»	5—7

Рассмотрим основные факторы, влияющие на величину инкубационного периода при различных типах заболеваний. Вирулентность, как одно из важнейших биологических свойств возбудителя, играет ведущую роль на всех этапах инфекционного процесса. Применение различных концентраций вирусных включений позволяет изменять длительность инкубационного периода. Так, при экспериментальном заражении личинок II возраста рыжего соснового пилильщика ядерным полиэдрозом с титрами включений $7,2 \cdot 10^4$ и $4,3 \cdot 10^3$ (мл) инкубационный период составил 5 и 6 суток соответственно. Дальнейшее многократное увеличение дозы вирусных включений (до $7,2 \cdot 10^6$) позволило уменьшить период от момента заражения до проявления первых клинических симптомов до 3 суток. Более высокие концентрации инфекционного агента не приводили к дальнейшему сокращению инкубационного периода [56].

При прочих равных условиях экспериментального заражения выявляется зависимость инкубационного периода от возраста личинки. Личинки I и II возрастов у большинства насекомых независимо от типа заболевания характеризуются

коротким инкубационным периодом. Исключение составляют некоторые виды насекомых, зимующие в фазе гусеницы 2 возраста. В частности, у гусениц II возраста туркестанской златогузки и желтогузки длительность инкубационного периода возрастает по сравнению с I возрастом почти в 2 раза (табл. 17).

Таблица 17

Сроки инкубационного периода при заражении личинок насекомых разных возрастов

Насекомое-хозяин	Заболевание	Титр включений	Возраст личинки	Минимальный инкубационный период, сутки
<i>Euproctis karghalia</i> Moore.	Ядерный полиэдроз общего типа	$8 \cdot 10^7$	1	5
<i>Euproctis similis</i> Fssl.	То же	$8 \cdot 10^7$	1	5
<i>Neodiprion sertifer</i> Geoffr.	Ядерный полиэдроз кишечного типа	$2 \cdot 10^7$	2 4	4 6
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	То же	$2 \cdot 10^7$	2 4	3- 6
<i>Pygaea anachoreta</i> F.	Гранулез	$5 \cdot 10^6$ $5 \cdot 10^6$	2 4	6 8

Отмечается различие в инкубационном периоде при ядерном полиэдрозе у личинок насекомых из географически отдаленных популяций. Результаты серии опытов по экспериментальному заражению гусениц европейской златогузки из Воронежской обл., где в 1971 г. численность вредителя нарастала и колонии насекомых характеризовались высокой жизнеспособностью, показали, что с момента попадания инфекта в организм до проявления первых признаков болезни проходит в среднем 8—9 суток. В опытах с гусеницами златогузки из Ростовской обл., где к 1971 г. очаги затухали и популяция была ослаблена, инкубационный период растягивался до 15 суток и более. Наблюдавшаяся гибель насекомых до указанного срока носила неспецифический характер.

Минимальные сроки инкубационного периода отмечаются при заражении энтомопатогенными вирусами их основных хозяев. Основным хозяином энтомопатогенного вируса принято считать тот вид насекомого, в естественных популяциях которого периодически проявляется данное заболевание. Вирус ядерного полиэдроза туркестанской златогузки вызывает инфекционный

процесс у основного насекомого-хозяина с инкубационным периодом 8 суток. Представители этого же рода *Euroctis* желтогузка и европейская златогузка при заражении названным вирусом проявляют первые признаки болезни на 9—13 сутки [28].

Из числа основных факторов внешней среды наиболее показательно влияние температуры на инкубационный период болезни. Это объясняется тем, что температурный оптимум насекомого-фитофага идентичен или весьма близок к таковому энтомопатогенного вируса. Зависимость инкубационного периода болезни от температурного фактора показана на примере ядерного полиэдроза кишечного типа рыжего соснового пилильщика (рис. 38). Подобная зависимость характерна для всех типов вирусных болезней насекомых. Е. Т. Дикасова [47] для гранулеза гусениц озимой совки I и II возрастов отмечает длительность инкубационного периода, равную 9—10 суткам при 16—18°C и 4—5 суткам при 18—23°C.

Относительная влажность воздуха также может влиять на начальные этапы инфекционного процесса. Обычно в естественных условиях континентального климата показатели относительной влажности и температуры воздуха находятся в тесной обратной пропорциональной зависимости. Высокая температура воздуха сопровождается низкой влажностью и наоборот. В опытах по экспериментальному заражению насекомых в условиях высокой относительной влажности воздуха не отмечается какого-либо закономерного изменения в длительности инкубационного периода. Однако при низкой влажности инкубационный период болезни значительно сокращается, так как на начальных этапах заболевания снижается интенсивность питания, что нарушает водный обмен. Влияние инсоляции на ход инфекционного процесса и, в частности на длину инкубационного периода, видимо, ничтожно. Насекомые в местах естественного обитания всегда имеют возможность избежать избытка ультрафиолетовых излучений.

Облучение гусениц III возраста хохлатки-отшельницы ультрафиолетовой лампой БУФ-30, имеющей на расстоянии 50 см от



Рис. 38. Зависимость величины инкубационного периода от среднесуточной температуры у ложногусениц рыжего соснового пилильщика при ядерном полиэдрозе кишечного типа

центра бактерицидный поток 1110 мбакт, в течение 1; 5; 10; 30 и 60 мин и последующее пероральное заражение вирусом гранулеза не вызвали изменений в длительности инкубационного периода. Насекомые, облучаемые в течение 60 мин, были несколько угнетены, однако инфекционный процесс протекал без видимых изменений.

Значение пищевого фактора в развитии инфекционного процесса наиболее обстоятельно изучено при полиэдрозе тутового шелкопряда, капустной совки и гранулезе озимой совки [47, 113, 191]. В исследованиях отмечено, что при кормлении насекомых несвойственными им растениями инфекционный процесс усиливается. Указанное явление, видимо, связано с ослаблением организма насекомого и активизацией сапрофитной микрофлоры. Подобное предположение подтверждается тем, что наибольший выход вирусного материала получен в оптимальных условиях содержания личинок. При качественном недоедании вирусные заболевания у насекомых нередко осложняются септицемией. Это приводит к быстрой их гибели, с которой репродукция вируса прерывается.

Наибольшей биологической активностью обладают свежевыделенные вирусы. Вирулентность может ослабнуть в процессе их изоляции из патологического материала и в период хранения. Значения летальных доз, вызывающих гибель 50% насекомых (LD_{50}), для некоторых энтомопатогенных вирусов приведены в табл. 18. Идентичные условия изоляции вирусных включений

Таблица 18

Дозы вирусных включений, вызывающие гибель 50% личинок при пероральном введении инфекционного материала

Насекомое-хозяин	Возраст личинки	LD_{50}	Величина 95% доверительных пределов
<i>Euproctis karghalica</i> Moore	I	11	±2
» » »	II	1 698	±146
<i>Panthea coenobita</i> Esp.	III	1 268	±93
<i>Arctia caja</i> L.	I	55	±6
» » »	II	632	±40
<i>Neodiprion sertifer</i> Geoffr.	I	90	±12
» » »	IV	150	±19
» » »	VI	25 600	±1270
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	II	40	±10
» » »	III	120	±21
<i>Pygaea anachoreta</i> F.	II	798	±34
» » »	IV	1 005	±79

из погибших личинок и единая методика опытов по искусственному заражению насекомых позволяют судить о сравнительной вирулентности выделенных из природы инфекционных агентов.

Как показывают данные табл. 18, дозы вирусных включений, вызывающие гибель 50% личинок при пероральном введении, варьируют в широких пределах. Наибольшей вирулентностью обладают вирусы ядерного полиэдроза туркестанской златогузки, медведицы кая, тополевого (осинового) волосатого и рыжего соснового пилильщика.

Эффективность энтомопатогенных вирусов в значительной степени зависит от фазы развития насекомого. Наибольшей чувствительностью обладают личинки. Восприимчивость личинок меняется в зависимости от возраста; при этом чувствительность личинки в процессе развития снижается. Эта закономерность характерна для возбудителей всех типов болезней. Так, эффективная летальная доза вирусных включений, вызывающая 50%-ную смертность от ядерного полиэдроза кишечного типа рыжего соснового пилильщика, для ложногусениц I возраста составляет примерно 90 полиэдров на особь, а IV — 150; почти в такой же пропорции возрастает LD_{50} и для ложногусениц тополевого (осинового) волосатого пилильщика.

При исследовании возрастной чувствительности насекомых к энтомопатогенным вирусам обращает внимание резкое увеличение показателей LD_{50} для возбудителей ядерного полиэдроза туркестанской и европейской златогузок (рис. 39), медведицы кая при переходе от I ко II возрасту, в котором гусеницы зимуют. Отмечена высокая устойчивость к заражению возбудителем септицемии гусениц сибирского шелкопряда III и IV возрастов в период, предшествующий зимовке [31, 124, 152]. Резкое повышение устойчивости готовящихся к зимовке личинок наблюдается и у других видов насекомых. Для выяснения возможной зависимости рассматриваемого явления от характера диапаузы были проведены опыты на двух видах златогузки и на гусеницах медведицы кая и хохлатки-отшельницы. Последняя оказалась удобным объектом эксперимента из-за способности зимовать в фазах гусеницы различных возрастов и куколки. Насекомые этого вида в период, предшествующий зимовке, не претерпевают глубоких перестроек физиологических функций, о чем свидетельствуют поведенческие реакции. После разрушения зимнего гнезда гусеницы сразу же приступают к активному питанию, нормально линяют и окукливаются. Причем приготовившись к зимовке, они могут развиваться с любого возраста до фазы куколки. С наступлением неблагоприятных условий, в первую очередь похолодания, гусеницы II и последующих возрастов образуют гнездо и таким образом зимуют. Для выведения

насекомых из диапаузирующего состояния не требуется воздействие низкой температуры. Заражение гусениц хохлатки-отшельницы I—IV возрастов вирусом гранулеза с титром включений $5 \cdot 10^6$ (мл) вызвало гибель $56=100\%$ насекомых в зависимости от возраста. Резких различий в смертности среди групп особей I и II возрастов не отмечено (рис. 40). Таким образом, резко выраженная резистентность личинок некоторых видов насекомых

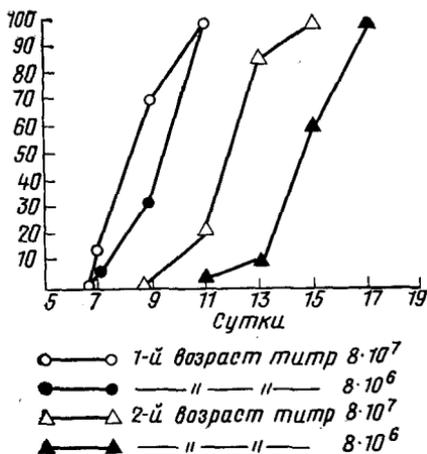


Рис. 39. Гибель гусениц туркестанской златогузки I—II возрастов при заражении возбудителем ядерного полиэдроза.

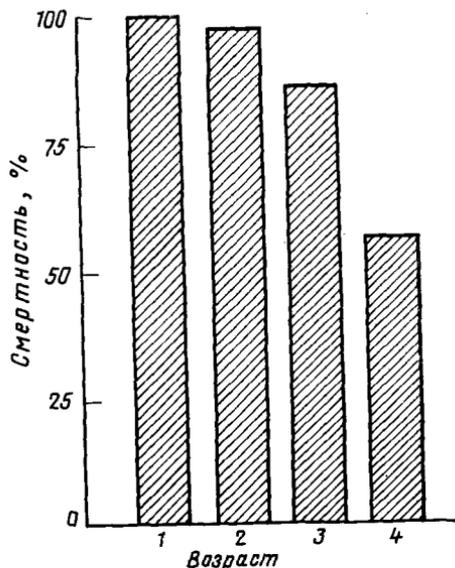


Рис. 40. Чувствительность гусениц хохлатки-отшельницы I—IV возрастов к возбудителю гранулеза (титр включений $5 \cdot 10^6$ в 1 мл).

к инфекционным агентам связана с глубокими изменениями физиологических функций организма в период подготовки к диапаузе.

Помимо туркестанской и европейской златогузок, желтогузки, сибирского шелкопряда и медведицы кая, отмеченную закономерность можно распространить на ивовую волнянку, луччатого шелкопряда, боярышницу и на другие виды насекомых, которые впадают в глубокую осеннюю диапаузу в фазе личинки II возраста.

Устойчивость насекомых к энтомопатогенным вирусам резко повышается также в конце личиночной фазы. У личинок насе-

комых старшего возраста устойчивость к заражению энтомопатогенными вирусами возрастает в десятки и сотни раз по сравнению с личинками младших возрастов.

Так, для ложногусеницы VI возраста рыжего соснового пилильщика доза включений вируса ядерного полиэдроза кишечного типа, вызывающая 50%-ную смертность, составляет 25 600 единиц на особь, что примерно в 280 раз превышает аналогичную дозу для ложногусениц I возраста. В последующие дни личиночной фазы пилильщиков с трудом удается заразить ядерным полиэдрозом даже высокими концентрациями вирусных включений. Насекомые, получившие в конце активной фазы высокие дозы вируса, в большей части (70—80%) нормально заканчивают развитие; меньшая часть их гибнет от септицемии в первые день—два после заражения, что, видимо, связано с попаданием в организм чужеродного белка, способствующего ослаблению насекомого и активизации сапрофитной микрофлоры.

Энтомопатогенный вирус, высоковирулентный к личинкам основного насекомого-хозяина, может вызывать заболевание у группы близких видов насекомых. Однако в первом пассаже эффективность вируса для дополнительных насекомых-хозяев низка. На рис. 41 показан характер гибели гусениц II возраста трех видов насекомых из рода *Euproctis* от вируса ядерного полиэдроза, первоначально выделенного из туркестанской златогузки. Через 25 суток после заражения вирусными включениями в титре $8 \cdot 10^7$ погибло 44% гусениц европейской златогузки, тогда как гусеницы основного насекомого-хозяина погибли все через 14 суток. Второй пассаж вируса через гусениц европейской златогузки вызвал гибель этого вида вредителя уже на 72%.

Таким образом, при оценке вирулентности энтомопатогенного вируса имеют значение не только биологические характеристики того или иного штамма, но также вид и физиологическое состояние заражаемого насекомого. Отмеченные закономерности, достаточно хорошо известные в инфекционной патологии человека и теплокровных животных, принимают особенно четко выраженные формы у насекомых, что в значительной мере может быть связано с их пойкилотермностью и отсутствием адаптивных иммунологических процессов.

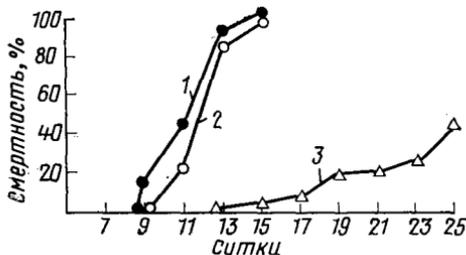


Рис. 41. Гибель гусениц II возраста трех видов рода *Euproctis* при заражении вирусом ядерного полиэдроза (титр $8 \cdot 10^7$ в 1 мл):

1 — туркестанская златогузка; 2 — желтогузка; 3 — европейская златогузка

УСТОЙЧИВОСТЬ ВИРУСНЫХ ВКЛЮЧЕНИЙ К РАЗЛИЧНЫМ ЭКСТРЕМАЛЬНЫМ ФАКТОРАМ

Энтомопатогенные вирусы, образующие в процессе репродукции белковые включения типа полиэдров и гранул, способны длительное время сохранять инфекционную активность в различных условиях хранения.

Известны факты, когда ядерные полиэдры тутового шелкопряда продолжали вызывать полиэдроз у гусениц после 20-летнего хранения при температуре 4° С [348], а включения, образующиеся при кишечной форме полиэдроза елового общественного пилильщика *Diprion hercyniae* Hart, инактивировались лишь после 12-летнего пребывания при 4,5° С [298]. В противоположность этому элементарные вирусные частицы, находящиеся вне белкового матрикса тела-включения, довольно быстро теряют активность. Как показали работы О. И. Швековой [179], проведенные на возбудителе ядерного полиэдроза тутового шелкопряда, разрушение включений приводит к быстрой потере ими инфекционных свойств.

Нами изучалось влияние различных внешних воздействий на целостность белковых включений *Birdiavirus diprionis* Shd. различного возраста с одновременным определением биологической активности полиэдров на ложногусеницах рыжего соснового пилильщика. Для разрушения включений использовали боратные буферные смеси (компоненты: кристаллическая бура, соляная кислота и едкий натрий) с различными значениями рН и 0,25%-ный раствор трипсина в кислой (рН=4,5) и щелочной (рН=9,5) средах при температуре 18 и 36° С. Используемые в опыте вирусные включения — полиэдры выделяли из больших ядерным полиэдрозом ложногусениц рыжего соснового пилильщика. Исследовали включения непосредственно из гемолимфы погибающих насекомых, а также после хранения в течение трех месяцев в сухом виде при комнатной температуре. Кроме того, в нашем распоряжении находился материал из Ленинградской обл., хранившийся при комнатной температуре в течение 9 лет.

Результаты исследований показали, что полиэдры *Birdiavirus diprionis* с течением времени резко меняют степень устойчивости к различным внешним воздействиям. Скорость растворения их в буферных системах зависит от величины рН и возраста включений. В процессе растворения можно выделить три этапа: набухание, фрагментацию и распад. Первый этап связан с увеличением размера полиэдров в 2—3 раза; при этом углы ребер исчезают и включения приобретают округлую форму. В дальнейшем на одной из сторон набухших включений появляются изъязвления и происходит фрагментация на 3—5 и более участков, которые первое время не распадаются, сохраняя вид бесформенных глыб или цепочек. И, наконец, на 3-м этапе фрагментированный

полиэдр распадается на мелкие образования, лежащие на грани разрешения обычных световых микроскопов.

Свежeweделенные вирусные включения из рыжего соснового пилильщика фрагментируются и распадаются при $pH=12,37$ через 25 мин. Включения 3-летней давности растворяются через 330 мин, т. е. процесс растворения замедляется в 13 раз. Более устойчивы полиэдренные тельца, выделенные из материала 6-летней давности. Они не проявляют никаких признаков распада после 24-часового пребывания в буфере с $pH=12,37$. На морфологию таких включений не оказывает заметного влияния трипсин при различных показателях pH и температуре его оптимальной ферментативной активности. Происходящие процессы денатурации белка вирусных включений не приводят к столь быстрой потере ими вирулентных свойств. Ядерные полиэдры из рыжего соснового пилильщика, хранившиеся при комнатной температуре в течение 4 лет, сохраняли высокие показатели вирулентности. Активность вируса существенно изменяется при хранении в течение 9 лет. В случае скармливания ложногусеницам включений такого возраста развивается типичный полиэдроз, однако резко увеличивается инкубационный период болезни. Процент смертности снижается в 2 раза. Таким образом, полная инактивация вируса не происходит (рис. 42).

Возбудитель гранулеза хохлатки-отшельницы сохраняет вирулентные свойства в случае хранения в течение 5 лет при температуре $4^{\circ}C$ в 50%-ном глицерине на фосфатном буфере. Характер гибели гусениц хохлатки-отшельницы III возраста от гранулеза при заражении вирусными включениями различного возраста показан на рис. 43.

Вирусные включения теряют биологическую активность при воздействии ультрафиолетовых лучей. Лучи кварцевой лампы

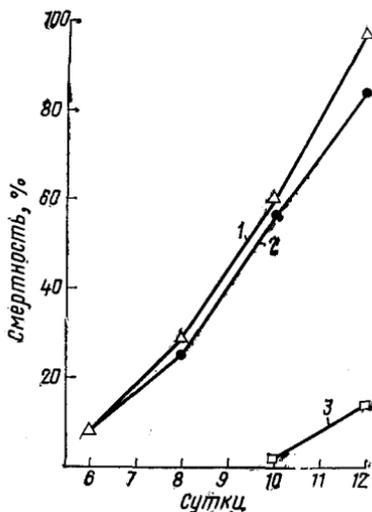


Рис. 42. Смертность личинок II возраста рыжего соснового пилильщика от полиэдроза при заражении включениями, хранившимися различные сроки (концентрации включений $5^5 \cdot 10^6$ в 1 мл): 1 — свежепастеризованные; 2 — четырёхлетние; 3 — девятилетние

БУФ-30. полностью инактивировали включения возбудителя ядерного полиэдроза из тополевого волосатого пилильщика за 3,5 ч с расстояния 50 см от источника излучения (рис. 44). При этом облучению подвергали очищенные полиэдры; их наносили на кварцевые стекла и подвергали двусторонней экспозиции.

Для определения степени сохранения вирулентности вирусных включений в природных условиях были проведены специальные опыты. В сосновых насаждениях Большинского лесничества Ростовской обл. кроны сосен были обработаны суспензиями

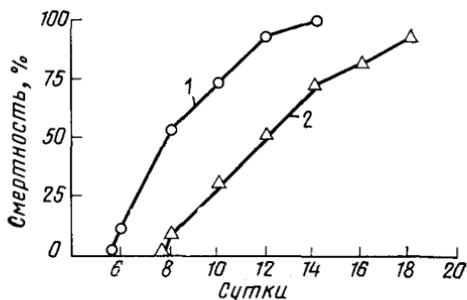


Рис. 43. Гибель гусениц хохлатки-отшельницы от возбудителя гранулеза:

1 — свежепассированного; 2 — хранившегося при 4° С (титр $5 \cdot 10^6$ в 1 мл)

вирусных включений *Birdiavirus diprionis* лабораторным пульверизатором с пневматическим насосом. Для обработки использовали водные суспензии чистых вирусных включений и включений, содержащих остатки тканей насекомого-хозяина. Титр полиэдренных телец в обоих вариантах составил $5 \cdot 10^6$ в 1 мл. Через 30 суток после обработки насаждений на ветви были высажены колонии личинок V возраста ры-

жего соснового пилильщика. В каждом варианте опыта использовали 400 ложногусениц.

С 29 апреля по 29 мая, т. е. в период, когда вирус находился в кроне в течение 25—30 ч, шли морозящие дожди; остальной период времени стояла ясная погода. О влиянии месячной инсоляции на включения, распыленные в кронах деревьев, можно судить по результатам гибели ложногусениц от ядерного полиэдроза кишечного типа. Данные представлены на рис. 45 [169]. Контролем служили вирусы, хранившиеся в обычных условиях. Контрольная группа насекомых полностью погибла. Незначительная часть их завила коконы, в которых зонимфы продолжали гибнуть. Во 2-м варианте, где использовали неочищенные вирусные включения, смертность ложногусениц к моменту завивки кокона составила 73%. От кишечного полиэдроза рыжий сосновый пилильщик продолжал гибнуть и в фазе зонимфы. Общая смертность была равна 82%. Заметно снизилась вирулентность инфекционного агента в 3-м варианте опыта, в котором были взяты полиэдренные тельца без примесей. Общая смертность в фазе личинки не превысила 50%. В последующие

6 суток в коконах погибло 18% эонимф. Таким образом, в природе, непосредственно в кронах деревьев, вирусные включения сохраняли активность, по крайней мере, в течение месяца. Высокоочищенный инфекционный агент инактивируется значительно быстрее, чем в случае нахождения совместно с остатками тканей насекомого-хозяина.

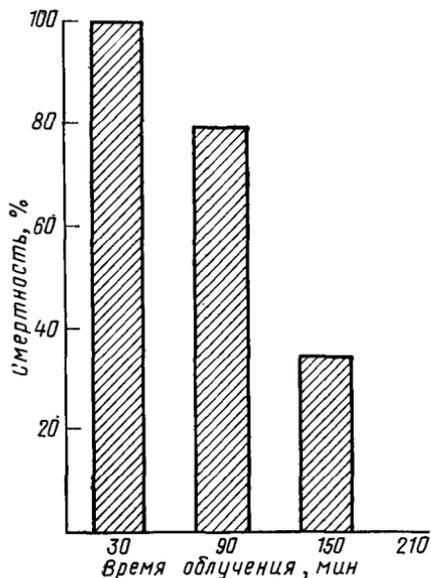


Рис. 44. Активность полиэдров из тополевого волосатого пилильщика после воздействия УФ-лучей

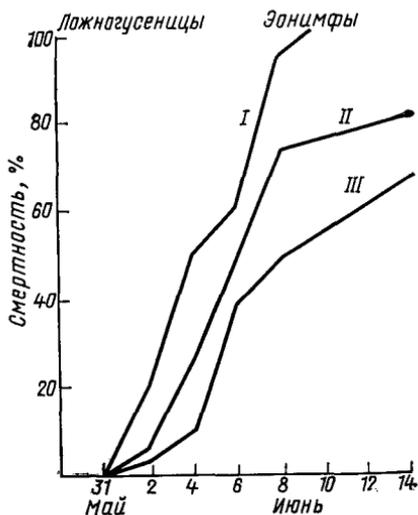


Рис. 45. Активность вирусных включений, находившихся в течение месяца в кроне сосен:

I — контроль; II — неочищенная взвесь; III — очищенная взвесь

Вирулентность энтомопатогенных вирусов относится к числу наиболее лабильных признаков, так как определяется не только биологическими свойствами возбудителя болезни, но и состоянием насекомого-хозяина. Температура и влажность воздействуют на развитие болезни как через физиологические функции насекомого, так и непосредственно в период пребывания вируса во внешней среде.

Исследования, проведенные с вирусом ядерного полиэдроза рыжего соснового пилильщика, показывают тесную связь динамики инфекционного процесса с показателями температуры. Иные факторы внешней среды имеют в данном случае второ-

степенное значение. Даже такой мощный по биологическому действию агент, как УФ-лучи, не оказывает существенного влияния на развитие инфекционного процесса. В то же время вирус, находящийся вне организма насекомого-хозяина, под действием УФ-излучений резко снижает вирулентные свойства.

Как показывают результаты опытов, отклонения отдельных факторов внешней среды от средних уровней оказывают существенное влияние на покоящиеся формы вирусов, циркулирующих в среде обитания насекомого-хозяина, и на течение инфекционного процесса в организме. Однако представители рассматриваемой группы инфекционных агентов обладают довольно высокой устойчивостью по отношению к ряду внешних воздействий. Подобная устойчивость, возникшая в результате длительного эволюционного процесса, позволяет инклюзионным энтомопатогенным вирусам переживать резкие колебания природных факторов и способствует широкому распространению их в популяциях насекомых.

ВИДОВАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ

Вирусные болезни типа полиэдрозов и гранулезов известны в настоящее время лишь среди насекомых. В литературе есть сведения о попытках передачи возбудителей рассматриваемых заболеваний иным группам живых организмов. Все они привели к отрицательным результатам.

В 1967 г. появилась серия работ зарубежных исследователей, посвященных отношению клеточных линий млекопитающих к энтомопатогенным вирусам. Были испытаны линии HeLa (карцинома человека), FL (амниотические клетки человека), FS (почки свиньи), L (карцинома мыши), AGMK (почки африканской зеленой мартышки), HEK (почки человеческого эмбриона), W 1—38 (диплоидные эмбриональные клетки человеческого легкого). При этом инфекционный материал вносили в виде нативных включений и вирионов ядерного полиэдроза тутового шелкопряда, хлопковой совки, цитоплазматического полиэдроза тутового шелкопряда и радужного вируса долгоножки. Ни в одном случае репродукция вирусов не отмечена [264].

Радужный вирус, первоначально выделенный из рисовой долгоножки, относится к возбудителям, обладающим наиболее широким спектром патогенности, однако и для этого инфекционного агента не установлена межклассовая передача в условиях *in vivo*. С. М. Гершензон [24] испытывал видовую специфичность этого вируса на более чем 40 видах организмов, относящихся к основным систематическим группам: простейших, кишечнополостных, червей, мягкотелых, членистоногих, рыб, амфибий, рептилий и млекопитающих. В ходе опытов воспроизвести заболевание удалось лишь у некоторых видов насекомых, в том числе у вредителей леса — непарного шелкопряда и майского хруща.

Японские исследователи показали возможность формирования полиэдров в культуре амниотических клеток человека, зараженных дезоксирибонуклеино-

вой кислотой, выделенной из вируса ядерного полиэдроа тутового шелкопряда [236].

При оценке специфичности энтомопатогенных вирусов возникает ряд существенных трудностей. Основная из них — идентификация вирусов. Не всегда можно с уверенностью сказать — произошло истинное заражение насекомого или активирована скрытая инфекция. Известные в литературе факты, касающиеся специфичности, во многих случаях противоречивы.

Г. Бергольд считает, что каждый вирус имеет первоначального хозяина, но это не исключает возможность инфицирования ряда дополнительных хозяев, которые, возможно, могут быть менее восприимчивы, чем основной хозяин [202]. С. М. Гершензон [15] испытал восприимчивость 60 видов насекомых из 18 семейств отряда чешуекрылых и одного семейства отряда перепончатокрылых к семи вирусам ядерного полиэдроа. При этом к вирусу, выделенному из китайского дубового шелкопряда, оказались восприимчивы 24 вида насекомых и невосприимчивы 30, к вирусу из тутового шелкопряда — соответственно 11 и 26, из непарного шелкопряда — 6 и 14; к вирусу из боярышницы оказались невосприимчивыми 14 видов насекомых.

Наряду с фактами о перекрестной передаче вирусов между видами одного семейства и различных семейств немало сведений, показывающих более высокий уровень специфичности рассматриваемых инфекционных агентов. В частности, изучение видовой специфичности вируса серой волосистой пяденицы *Phigalia pedaria* F. на 21 виде насекомых из разных семейств отряда чешуекрылых и перепончатокрылых показало, что у шести видов (бурополосой пяденицы *Biston hirtaria* Cl., обдирало каемчатой *Erannis marginaria* F., непарного и кольчатого шелкопрядов, европейской златогузки и яблонной моли) наблюдалась гибель от полиэдроа за счет активации латентных вирусов. Вирус ядерного полиэдроа желтоусой пяденицы активировал развитие латентной инфекции у гусениц бурополосой пяденицы, пяденицы — обдирало каемчатой и яблонной моли. Истинная перекрестная передача наблюдалась лишь между ядерными полиэдрами серой волосистой и желтоусой пядениц [141, 142].

Исследования последних лет показывают довольно ограниченный спектр патогенности вирусов ядерного полиэдроа. Наиболее детально изученный патоген из совки *Heliothis zea* Bod. можно передать четырем видам насекомых этого же рода: *H. virescens*, *H. paradoxa*, *H. phloxiphage*, *H. armigera*.

Совки из других родов (*Spodoptera exiqua*, *S. frugiperda*) и ряд представителей других семейств и отрядов насекомых остаются интактными [262, 263]. Вирус ядерного полиэдроа листовертки *Pandemis lamprosana* не удалось передать другим видам чешуекрылых (*Choristoneura fumiferana*, *Ch. rosaceans*, *Archips acerivoranus*, *A. argyrospilus*, *A. packardianus*, *Malacosoma americana*, *Leucoma salicis*, *Bombyx mori* и некоторым другим), даже в том случае, когда скармливались или инъектировались большие дозы телец-включений или вирионов [331].

Значительно большим спектром патогенности обладают вирусы цитоплазматического полиэдроа. Вирус этого типа

первоначально выделенный из гусениц *Vanessa cardui* L., оказался вирулентным по отношению к 11 видам четырех семейств чешуекрылых, но не поражал представителей перепончатокрылых [296].

Вирусы ядерного полиэдроза кишечного типа и гранулезы наиболее специфичны из всех известных групп. К. Иньоффо [264] в специальном обзоре, посвященном спектру патогенности различных групп энтомопатогенных вирусов, приводит только 6 успешных случаев перекрестных передач вирусов гранулезы из 52 известных попыток. Как правило, передачи осуществлялись в пределах одного рода или близких родов [340].

Рассматриваемый вопрос имеет большое теоретическое и практическое значение при изучении динамики численности насекомых, а также при выборе критериев прогноза массовых размножений фитофагов и применении энтомопатогенных вирусов в защите растений. Однако даже для наиболее изученных возбудителей ядерных полиэдрозов общего типа имеющиеся в литературе факты не позволяют сделать определенные выводы.

Так, вирус ядерного полиэдроза из *Samia ricini* L., по данным одних авторов, передается гусеницам тутового шелкопряда, другие отмечают невозможность такой передачи [264]. Р. В. Глезер [242] сообщил о восприимчивости тутового шелкопряда к ядерным полиэдрам из непарного шелкопряда. Г. Бергольд [198] в аналогичном случае получил положительный результат. Этот же автор сообщил об экспериментальном перекрестном заражении непарного, соснового шелкопряда и монашенки их собственными вирусами ядерного полиэдроза. В опытах же К. Смита и Н. Ксероса [338] гусеницы непарного шелкопряда оказались невосприимчивыми к вирусу ядерного полиэдроза монашенки. Подобные примеры можно было бы продолжить.

Причиной возникающих противоречий может служить явление активации скрытого заболевания в случае, если насекомые взяты из популяций, в которых уже присутствует возбудитель. Кроме того, не исключена возможность неконтролируемого смещения вирусов, принадлежащих к различным типам при изоляции их из насекомых, несущих двойную инфекцию.

Помимо экспериментального заражения насекомых в условиях лаборатории, для выяснения характера видовой специфичности энтомопатогенных вирусов важно установить характер природных эпизоотий, особенно в комплексных очагах насекомых-фитофагов. Эпизоотия, охватившая ту или иную популяцию насекомого, приводит к быстрому обогащению биоценоза инфекционным агентом, что оказывает влияние на виды, принадлежащие к одной общей экологической нише с основным насекомым-хозяином. Только наблюдения в природе за ходом эпизоотии могут дать возможность оценить роль инфекционного агента в патологии фитофага. В частности, радужный вирус,

первоначально выделенный из рисовой долгоножки *Tirula rufidosa* Meig., оказался патогенным в эксперименте для большого количества насекомых, в том числе хвое- и листогрызущих. Однако до настоящего времени в литературе нет ни одного указания на естественное заражение насекомых-фитофагов указанным возбудителем.

Учитывая изложенные факты, мы постоянно уделяли внимание насекомым, развивающимся совместно с видами, среди которых возникали остропротекающие эпизоотии с высокой смертностью личинок.

Так, в 1963—1965 гг. в припоселковых кедряках Томской обл. наблюдались очаги массового размножения сосновых пилильщиков [77]. В урочище Ипатово Коларовского лесничества на площади около 30 га преобладал рыжий сосновый пилильщик. В его популяции в июне 1966 г. возникла эпизоотия ядерного полиэдроза кишечного типа. Сопутствующие пилильщику виды насекомых и периоды их активного питания приведены в табл. 19.

Таблица 19

Состав комплексных очагов хвоегрызущих насекомых в Ипатовской даче Томского лесхоза (1965)

Вид насекомого	Среднее количество личинок старших возрастов на одну крону, шт.	Период активного питания личинок	
		начало	конец
<i>Neodiprion sertifer</i> Geoffr.	5000—9000	25,05	23—25,06
<i>Diprion similis</i> Hart.	8—15	Июль	Август
<i>Diprion pini</i> L.	Единично	Июнь	»
<i>Gilpinia frutetorum</i> F.	3—5	»	»
<i>Gilpinia laricis</i> Jur.	3—5	»	»
<i>Lyda nemoralis</i> Thoms.	Единично	5—10,06	5—10,07
<i>Dendrolimus sibiricus</i> Tschw.	»	15—20,05	Сентябрь
<i>Sphinx pinastri</i> L.	»	Август	»
<i>Bupalus piniarius</i> L.	40	»	»

Эпизоотия ядерного полиэдроза кишечного типа, которая совместно с активной деятельностью паразитических и хищных насекомых привела к затуханию очага, обогатила биоценоз вирусом. Гибель пилильщика наблюдалась во 2-й декаде июня, т. е. в период, совпадающий или предшествующий личиночной фазе сопутствующих видов хвоегрызущих насекомых. Однако обнаружить аналогичное заболевание удалось лишь у личинок черно-желтого соснового пилильщика, относящегося к тому же роду, что и рыжий сосновый пилильщик. Последующие лабораторные опыты подтвердили близость возбудителей полиэдрозов этих видов насекомых. В течение всего 1965 г. и в последующие 4 года в Ипатовской даче ни у одного вида насекомого из числа отмеченных в табл. 19 ядерный полиэдроз кишечного типа не обнаруживался.

Представляет интерес анализ течения вирусных эпизоотий в очагах непарного шелкопряда и сопутствующих ему видов в юго-восточной части Амурской обл. Массовые размножения непарного шелкопряда в этом районе были обнаружены в 1965 г. Общая площадь насаждений, заселенных вреди-

телем, достигла в 1966 г. 160 тыс. га. В Сукромлинском очаге (Свободненский лесхоз) в среднем на одно дерево монгольского дуба приходилось 396 гусениц [96]. Повсеместно в Амурской обл. в популяциях непарного шелкопряда в 1966 г. наблюдались эпизоотии ядерного полиэдроза. Гибель гусениц старших возрастов достигала 95—100%. В результате имело место резкое разрежение популяции вредителя. В 1967 г. заболевание проявлялось в течение всего периода питания гусениц. В это же время отмечена гибель от ядерного полиэдроза монашенки и лунчатого шелкопряда в лиственнично-березовых насаждениях, где все виды хвое- и листогрызущих насекомых (табл. 20) находились в контакте. Морфологические исследования вирусных включений, изолированных из погибших гусениц монашенки и непарного шелкопряда, показали их достаточно четкое различие. У 1-го вида насекомого-хозяина преобладали тетраэдрические формы полиэдров с оптическим разрезом в виде треугольника, а у 2-го — тетрагексаэдрические кристаллы с нечетко выраженной восьмиугольной проекцией.

Таблица 20

Состав комплексного очага хвое- и листогрызущих насекомых в Шимановском лесхозе Амурской обл. в 1967 г.

Вид насекомого	Среднее количество личинок старших возрастов на одно дерево, шт.	Период питания личинок	
		начало	конец
<i>Lymantria dispar praeterea</i> Kard.	18	20 мая	25—30 июня
<i>Ctenia monacha</i> L.	27	»	»
<i>Cryla antiqua</i> L.	3	Май	Июль
<i>Selenophora lunigera</i> Esp.	7	»	Июнь
<i>Dendrolimus undans fasciatella</i> Men.	Единично	Июнь	Сентябрь
<i>Cimbex femorata</i> L.	12	»	Июль
<i>Pristiphora</i> Sp.	42	»	»
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	8	»	Август

Ядерные включения, характерные для лунчатого шелкопряда, оказались близкими по форме и размерам к полиэдрам из непарного шелкопряда. Однако последующее экспериментальное заражение ростовских и самаркандских популяций непарного шелкопряда вирусом из лунчатого шелкопряда не дало положительных результатов, что позволяет сделать вывод о наличии в популяциях хвое- и листогрызущих вредителей на территории Амурской обл. заболеваний у трех видов насекомых, вызванных специфическим возбудителем. Встречавшиеся повсеместно личинки дубового шелкопряда, античной волнянки, большого березового и тополевого (осинового) волосатого пилильщика и некоторых других видов насекомых на протяжении всего вегетационного периода не обнаруживали никаких признаков вирусной патологии.

Обширный материал по затронутому вопросу дали комплексные очаги листогрызущих вредителей на березе в Омской и Новосибирской областях в 1970—1971 гг. В течение 1970 г. в комплексе преобладала березовая ядница (табл. 21). Высокая численность отмечена также двуцветной и ольховой хохлаток. Весь обширный комплекс насекомых-фитофагов довольно близок по биологическим и экологическим особенностям. Эти виды чешуекрылых зимуют в фазе куколки в лесной подстилке и верхнем слое почвы, а гусеницы

питаются на березе, осине и некоторых других видах древесной и кустарниковой растительности во вторую половину лета и в начале осени. В результате деятельности комплекса вредителей к середине августа 1970 г. на отдельных участках, в частности в Венгеровском лесхозе, листва была полностью объедена. Гусеницы березовой пяденицы погибли на 90—95% от типично протекающего ядерного полиэдроза. В значительно меньшей степени проявлялся ядерный полиэдроз у ольховой хохлатки. Повсеместно погибли от кишечной формы вирусной инфекции ложногусеницы тополевого (осинового) волосатого пилильщика. У других видов насекомых, погибающих от недостатка пищи, не отмечено специфических изменений в тканях, характерных для вирусных заболеваний.

Таблица 21

**Видовой состав насекомых комплексных очагов
в березово-осиновых колках (Омская обл., 1970 г.)**

Вид насекомого	Среднее количество личинок старших возрастов на одно дерево, шт.	Начало периода активного питания личинок
<i>Biston betularia</i> L.	350—400	Июль
<i>Notodonta dromedarius</i> L.	50	3-я декада июля
<i>Leucodonta bicoloria</i> Schiff.	148	То же
<i>Lophopterix camelina</i> L.	76	»
<i>Hilophila prasinana</i> L.	38	»
<i>Acronicta psi</i> L.	5	»
<i>Acronicta leporina</i> L.	4	»
<i>Calocasia coryli</i> L.	Единично	»
<i>Phalera bucephala</i> L.	12	»
<i>Smerinthus ocellatus</i> L.	7	»
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	47	Июль

Примечание. Конец периода активного питания личинок — август месяц.

Все виды насекомых могли нормально завершать развитие и окукливаться при искусственном докармливании в условиях лаборатории. В течение 1971 г. комплексные очаги листогрызущих вредителей на березе продолжали оставаться действующими. Единично отмечались гусеницы березовой пяденицы, среди которых, как и в предыдущем году, проявлялся полиэдроз. Кроме того, болели гусеницы стрелчатки пси и стрелчатки лепорины. Возбудители полиэдрозов этих видов насекомых имели четкие различия по размерам и форме, т. е. возможность перекрестной передачи можно было легко исключить.

Таким образом, в результате наблюдений, проведенных в природных популяциях вредителей, не обнаружено прямое влияние какого-либо возбудителя вирусного заболевания на комплекс фитофагов. Массовая эпизоотия, проявляющаяся среди личинок одного вида насекомого, не распространяется на сопутствующий ему энтомокомплекс. При этом даже виды одного рода могут оставаться интактными.

Для детального рассмотрения особенностей видовой специфичности вновь выделенных энтомопатогенных вирусов в условиях лаборатории были проведены специальные опыты по перекрестному заражению различных видов насекомых. Результаты опытов приведены в табл. 22 и 23. Восприимчивость лесных насекомых к 10 различным вирусам проверена Е. В. Орловской [113]; результаты опытов показаны в табл. 24.

Таблица 22

Результаты заражения различных видов чешуекрылых вирусом ядерного полиэдроза туркестанской златогузки

Вид заражаемого насекомого	Семейство	Возраст	Результат (заражение произошло +, не произошло —)
<i>Euproctis karghalica</i> Moore.	Orgyidae	2	+
<i>Euproctis similis</i> Fssl.	»	2	+
<i>Euproctis chrysorrhoea</i> L.	»	2	+
<i>Stilpnotia salicis</i> L.	»	4	—
<i>Ocneria dispar</i> L.	»	2	—
<i>Acronicta psi</i> L.	Noctuidae	4	—
<i>Arctia caja</i> L.	Arctiidae	2	—
<i>Biston betularia</i> L.	Geometridae	4	—
<i>Biston hirtaria</i> Cl.	»	3	—

Таблица 23

Результаты опытов по заражению чешуекрылых вирусами родов *Bergoldiavirus* и *Smithiavirus*

Заражаемое насекомое	Вирусы, использованные для заражения			
	<i>Bergoldiavirus pygaerae</i>	<i>Bv. dendrolimus</i>	<i>Bv. dioryctriae</i>	<i>Smithiavirus</i> Sp.
<i>Gygaera anachoreta</i> F.	+	—	—	—
<i>Pygaera anastomosis</i> L.	+	—	—	—
<i>Puproctis similis</i> Fssl.	—	—	—	—
<i>Eyorictria abietella</i> Schiff.	—	—	+	—
<i>Dalleria mellonella</i> L.	—	—	—	—
<i>Dendrolimus sibiricus</i> Tschw.	—	+	—	—
<i>Dendrolimus pini</i> L.	—	+	—	—
<i>Panthea coenobita</i> Esp.	—	—	—	—

Как показывают полевые наблюдения и эксперименты, энтомопатогенные вирусы, образующие включения, характеризуются высокой специфичностью. Чаще всего удается заразить

Количество погибших, %, дендрофильных чешуекрылых от вирусов, выделенных из насекомых, встречающихся в одном биоценозе [113]

Насекомое, из которого выделены вирусы	Виды заражаемых вирусом насекомых							
	<i>S. salicis</i>	<i>P. dispar</i>	<i>E. chryso-rhoea</i>	<i>M. neustria</i>	<i>Hyponomeu-ta malinella</i>	<i>H. padella</i>	<i>Hyphantria cunea</i>	<i>D. pini</i>
Borrelinavirus — ядерные полиэдросы								
<i>Aporia crataegi</i> L.	—	0	0	0	0	0	0	—
<i>Malacosoma neustria</i> L.	—	0	0	63	0	0	0	—
<i>Stilpnotia salicis</i> L.	64	4	—	—	—	—	—	—
<i>Oneria dispar</i> L.	14	92	0	0	0	0	0	—
<i>Euproctis chryso-rhoea</i> L.	—	0	40	—	0	0	—	—
<i>Hyphantria cunea</i> Druri	—	0	0	—	0	0	35	—
<i>Lymantria monacha</i> L.	—	—	—	—	—	—	—	0
<i>Dendrolimus pini</i> L.	—	—	—	—	—	—	—	5
<i>Neodiprion sertifer</i> Geoffr.	—	—	—	—	—	—	—	0
Bergoldiavirus — гранулез								
<i>Dendrolimus sibiricus</i> Tschtm.	—	—	—	—	—	—	—	20

вирусом насекомых, принадлежащих к одному роду. Типичным примером является возбудитель ядерного полиэдроза туркестанской златогузки, способный вызывать типично протекающее заболевание у европейской златогузки и желтогузки, но не заражающий другие виды волнянок. В некоторых случаях не удается воспроизвести и внутриродовое перекрестное заражение. Так, экспериментальное инфицирование нескольких видов рода *Mamestra* (*M. thalassinae*, *M. contigua*, *M. persicariae*) вирусом ядерного полиэдроза капустной совки дало негативные результаты; не составляют исключения и представители родов *Birdiavirus* и *Bergoldiavirus*.

С учетом полученных данных и ряда публикаций по инфекционной патологии насекомых различные группы энтомопатогенных вирусов по степени видовой специфичности можно расположить в следующем порядке. Наиболее резко выраженной видовой специфичностью обладают вирусы, вызывающие у насекомых гранулезы и полиэдросы кишечного типа. Все известные случаи перекрестной передачи касаются лишь личинок видов одного рода. Затем следуют представители рода *Borrelinavirus*. Среди возбудителей ядерных полиэдрозов общего типа отме-

чается в некоторых случаях передача между насекомыми из разных родов, но не в пределах одного семейства. Так, *Vogelnavirus stilpnotiae* поражает не только основного насекомого-хозяина — ивовую волнянку, но и гусениц европейской златогузки и непарного шелкопряда. В меньшей степени специфичность выражена у вирусов рода *Smithiavirus*.

В литературе известно достаточное количество фактов, свидетельствующих о значительно большем круге насекомых, чувствительных к представителям рода *Vogelnavirus*. Однако анализ этих фактов нередко говорит о вероятной активации скрытых форм заболеваний. Это подтверждается в первую очередь тем, что в опытах использовали насекомых, известных как хозяев тех или иных энтомопатогенных вирусов. За редким исключением не удалось заразить особей, в природных популяциях которых рассматриваемые инфекционные агенты не обнаруживались. Довольно широкое распространение латентно протекающих инфекций в некоторых популяциях дендрофильных насекомых на территории Черновицкой, Белгородской, Воронежской и некоторых других областей и возможность активации таких заболеваний чужеродными вирусами показана Е. В. Орловской [113].

В опытах по перекрестной передаче вируса цитоплазматического полиэдроза К. Смит [337] наблюдал заражение гусениц *Polygonia c—album* L. и *Phalera bicarbala* L. цитополиэдрами из медведицы кая; однако гибель незначительного числа насекомых в опыте не давала возможности с определенностью говорить об истинном перекрестном заражении.

На основании данных о течении эпизоотий в комплексных очагах хвое- и листогрызущих насекомых можно сделать вывод, что контакт больных особей одного вида со здоровыми особями других видов не приводит к заражению последних. Исключение могут составить в некоторых случаях лишь представители близких в систематическом отношении насекомых.

ГЛАВА IV. РОЛЬ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ В ДИНАМИКЕ ЧИСЛЕННОСТИ ЛЕСНЫХ НАСЕКОМЫХ-ФИТОФАГОВ

ЭПИЗООТИИ В ПОПУЛЯЦИЯХ НАСЕКОМЫХ

Анализ вспышек массового размножения типичных хвое- и листогрызущих чешуекрылых и пилильщиков показывает, что эпизоотии вирусных болезней часто являются решающим фактором динамики численности. Особенно остро эпизоотии проявляются в условиях континентального климата, подверженного частым и резким колебаниям.

Так, пандемические вспышки одного из опаснейших лесных вредителей монашенки *Lymantria monacha* L. на всей территории ее массового размно-

жения в Европе в 1898—1900, 1917—1927 [316]; 1939—1942 и 1955—1958 гг. [12] закончились развитием вирусной эпизоотии. На Русской равнине за последние 100 лет было 6 пандемических вспышек кольчатого шелкопряда *Malacosoma neustria* L., затухание которых было связано с вирусными и бактериальными заболеваниями гусениц. Вспышки массового размножения непарного шелкопряда *Osperia dispar* L. практически все прекращались эпизоотиями вирусных болезней [9, 111, 114, 272]. Очаги златогрузки *Euproctis chrysorrhoea* L. затухают чаще всего под влиянием эпизоотий ядерного полиэдроза [84, 122, 173].

Еловый пилильщик *Gilpinia hercyniae* Htg., являющийся обычным вредителем в Европе, находится под контролем вируса кишечного полиэдроза, который держит его на низком уровне численности, не давая развить вспышку массового размножения. В 30-е годы этот пилильщик был одним из самых опасных вредителей леса в восточных провинциях Канады, пока из Европы не был завезен вирус, решивший проблему вспышек этого вредителя. Вирус кишечного полиэдроза способен быстро распространяться в популяциях елового пилильщика, вызывая катастрофическое вымирание личинок. В настоящее время, находясь под вирусным контролем, еловый пилильщик уже не представляет в Канаде опасности для леса [216].

Осиновый волосатый пилильщик *Cladius viminalis* Fall. сильно вредил лиственным лесам провинции Квебек в Канаде. В 1957 г. возникла естественная вирусная эпизоотия, которая привела к почти полному исчезновению вредителя [334]. Природные эпизоотии вирусных заболеваний отмечены у американских видов кольчатого шелкопряда *Malacosoma americana* Fabr. и *Malacosoma disstria* Hbn, волнянки *Heterocampa eucostigma* F., пяденицы *Lambdina fiscelacia* L., американской белой бабочки *Huphantria cunea* Drury [151].

Вирусным эпизоотиям за рубежом посвящен ряд обзоров [231, 278, 343, 350, 355, 356].

На территории Советского Союза известны вирусные эпизоотии в популяциях лесных вредителей, сыгравшие большую роль в динамике численности. Одна из самых значительных пандемических вспышек массового размножения кольчатого шелкопряда 1948—1952 гг., охватившая центральные районы Белоруссии, Восточную Украину, Северный Кавказ, Ростовскую, Оренбургскую, Куйбышевскую, Пензенскую, Ульяновскую, Тамбовскую и Курскую области, юг Воронежской области и Башкирскую АССР, прекратилась под влиянием вирусных и бактериальных заболеваний гусениц. Позже в Закарпатской обл. УССР вирус ядерного полиэдроза прекратил вспышку массового размножения кольчатого шелкопряда и вызвал глубокую депрессию численности этого вредителя [111]. В очагах сибирского шелкопряда *Dendrolimus sibiricus* Tschw. эпизоотия гранулеза отмечена в хвойных насаждениях Тувинской АССР [91, 125].

На динамику численности рыжего соснового пилильщика *Neodiprion sertifer* Geoffr. большое влияние наряду с комплексом энтомофагов и энтомофторовыми грибами оказал вирус кишечного полиэдроза, снизивший плотность популяции вредителя в сосновых насаждениях Хоперского заповедника в 1959 г. на 50—60% [13]. Вспышка массового размножения лунчатого шелкопряда *Selenephera lunigera* Esp. в Киренском р-не Иркутской обл. в 1965—1967 гг. сопровождалась эпизоотией ядерного полиэдроза [30]. Очаги краснотелости *Dasychira pudibunda* L. в Брянской обл. затухли в 1967 г. под действием болезни, вызванной вирусом цитоплазматического полиэдроза [45].

Изучение вспышки массового размножения пядениц-шелкопрядов рода *Biston* в 1958—1961 гг. на юго-востоке РСФСР показало, что эпизоотия ядерного полиэдроза сыграла решающую роль в динамике численности этих вредителей в 1961 г. Критическим периодом в жизненном цикле пядениц-шелкопрядов оказалась эпизоотия полиэдроза, определившая дальнейший ход

динамики численности. Ядерный полиэдроз этой группы пядениц на территории Советского Союза ранее не отмечался, поэтому мы подробно изучили эпизоотию этого заболевания, приведшего к полному затуханию вспышки на всем юго-востоке.

Наблюдения за популяциями пядениц-шелкопрядов показали, что в период нарастания численности и в 1-й год кульминации вспышки большие полиэдрозом гусеницы отсутствовали. Болезнь вспыхнула во 2-й год кульминации (1961), когда гусеницы достигли IV—V возрастов. Эпизоотия носила острый и скоротечный характер и длилась всего одну декаду. Первые погибшие гусеницы были обнаружены 26 мая, в следующие дни смертность от полиэдроза стремительно возрастала. Сначала больные и погибшие гусеницы встречались по опушкам и в разреженных насаждениях, затем болезнь быстро распространилась под пологом леса и охватила огромную массу гусениц. В течение 11 суток все гусеницы практически вымерли. Максимум болезни отмечен между 1 и 4 июня. Вспышка массового размножения пядениц полностью прекратилась, что подтвердилось осенним учетом куколок, численность которых в сентябре 1961 г. составила 0,3 шт. на 1 м² против 74 шт. в 1960 г. Во время всего хода эпизоотии учитывалась смертность гусениц на учетных площадках, заложённых под кронами деревьев. В табл. 25 приведена динамика смертности гусениц, характеризующая развитие эпизоотии.

Таблица 25

Динамика изменения плотности популяции пядениц-шелкопрядов во время эпизоотии 1961 г.

Дата	Количество гусениц на 1 м ²		Смертность за сутки, %
	мертвых	живых	
3/V	4,0	184,9	2,1
1/VI	22,2	180,9	12,3
2/VI	92,2	158,7	57,9
3/VI	50,8	66,5	76,3
4/VI	14,2	15,7	89,3
5/VI	1,5	1,5	99,5
7/VI	0	0	0

При детальном учете после 8 июня гусениц на листьях в кроне обнаружить не удалось. Это позволило считать гибель популяции практически полной и рассчитать смертность по суммарному количеству погибших гусениц. По смертности за сутки можно определить ускорение развития процесса эпизоотии. До конца эпизоотии суточная смертность непрерывно увеличивалась. Это типичная закономерность течения эпизоотии полиэдроза.

Согласно большинству накопленных в настоящее время данных, развитие эпизоотии среди насекомых стимулируется ростом плотности популяции, при котором инфекция быстро передается и распространяется. При высокой численности вредителей создаются неблагоприятные трофические условия, связанные с голоданием насекомых, конкуренцией за пищу и питанием малопродуктивным кормом. Это приводит к физиологии-

ческому ослаблению организма насекомых и повышает их восприимчивость к патогенным вирусам и другим микроорганизмам, находящимся во внешней среде. С другой стороны, среди многих популяций насекомых распространено скрытое вирусносительство. Скрытая инфекция неопределенно долго сохраняется в латентной форме в популяциях хозяина, трансвариально передается из поколения в поколение, не проявляясь болезненными симптомами. Однако под воздействием стрессоров латентный вирус может перейти в активную форму и вызвать острый инфекционный процесс. В роли стрессоров могут выступать пессимальные условия температуры и влажности, голод, неблагоприятный корм, скученность, хронические болезни невирусного происхождения (нозематоз, риккетсиоз и др.).

На низком уровне численности насекомых эпизоотии наблюдаются редко и не носят такого острого характера, как при высокой плотности популяции. В литературе имеется ограниченное число указаний на такие эпизоотии, например, у елового пилильщика *Diprion hercynia* Htg. в Канаде и некоторых видов чешуекрылых [356].

Напряженность эпизоотического процесса в популяции насекомого можно выразить показателем, характеризующим смертность фитофага от вирусной болезни ($M = (D/N) 100$, где M — показатель смертности, D — число особей, погибших от вироза, N — общее количество особей). Наблюдения за течением естественно протекающих эпизоотий в 96 популяциях насекомых-вредителей леса позволили выявить характерные особенности вирусных болезней у различных биологических групп фитофагов: хвое- и листогрызущих видов и видов, живущих изолированно в плодах, побегах и листьях [32, 36, 43]. Показатели интенсивности эпизоотического процесса для некоторых видов насекомых — вредителей леса при вирозах приведены в табл. 26.

Наблюдения за ходом гибели насекомых от инклюзионных вирусов в природе позволяют выделить 3 формы протекания эпизоотий: острую (эксплозивную), подострую (субэксплозивную) и хроническую, или вялую (торпидную). Для острых эпизоотий характерны высокие показатели смертности — 60—100%; эта форма наблюдается у пилильщиков при кишечных полиэдрозах и у некоторых чешуекрылых при проявлении полиэдрозов общего типа. Подострые эпизоотии проявляются у чешуекрылых при ядерных полиэдрозах и гранулезах, смертность достигает 15—60%. Показатели, не превышающие 15%, характеризуют вялые эпизоотии.

Как показывают данные табл. 26, течение эпизоотий связано не только с типом болезни, но и с биологическими особен-

Показатели смертности личинок насекомых от вирусных болезней

Вид насекомого	Тип болезни	Место наблюдений (время)	Показатель смертности, %
<i>Neodiprion sertifer</i> Geoffr.	Ядерный полиэдроз кишечного типа	Томский лесхоз, Ипатьевская дача (1965)	85
<i>Cladius viminalis</i> Fall.	То же	Верхне-Кетский лесхоз, Томская обл. (1966)	89
<i>Lithocolletis populi-foliella</i> Tr.	Ядерный полиэдроз общего типа	Новосибирск (1971)	1
<i>Evetria resinella</i> L.	То же	Улан-Удэ (1969)	10
<i>Dasychira abietis</i> L.	»	Баргузинский лесхоз Бурятской АССР (1969)	95
<i>Euproctis karghalica</i> Moore.	»	Кулундинский лесхоз Алтайского края (1971)	66
<i>Panthea coenobita</i> Fsp.	»	Бердский лесхоз Новосибирской обл. (1971)	87
<i>Aporia crataegi</i> L.	»	Томский лесхоз Томской обл. (1967)	16
»	»	Чаткальский заповедник Ташкентской обл. (1967)	8
<i>Biston betularia</i> L.	»	Омская обл. (1970)	96
<i>Acronicta psi</i> L.	Ядерный полиэдроз общего типа + цитоплазматический полиэдроз	Омская обл. (1971)	8
<i>Carposapsa pomonella</i> L.	Гранулез	Тимирязевский учебно-опытный лесхоз Томского района Томской обл. (1967)	6
<i>Diorctria abietella</i> Schiff.	»	Томский лесхоз, Ипатьевская дача (1966)	12
<i>Pygaera anachoreta</i> F.	»	Новосибирск (1971)	13

ностями насекомых-хозяев. У всех видов чешуекрылых насекомых, у которых личинки ведут скрытый образ жизни и контакт между отдельными особями ограничен, болезни проявляются спорадически, т. е. менее 5—10%. Подобные эпизоотии отмечены у карпофагов: шишковой огневки, яблонной плодовой при гранулезе, у побеговьюна-смолевщика и тополевой моли-пестрянки при ядерном полиэдрозе общего типа.

Приведенные результаты полевых наблюдений позволяют сделать вывод, что у насекомых-фитофагов вирусные болезни

всех типов первоначально проявляются, как правило, у личинок старшего возраста. Смертность ложногусениц первых возрастов отмечена лишь в популяциях тополевого волосатого пилильщика. Однако это не исключает первоначального возникновения эпизоотии среди ложногусениц старших возрастов в годы, предшествующие наблюдениям.

Наиболее опустошительные эпизоотии вызывают вирусы ядерного полиэдроза кишечного и общего типа у хвоегрызущих и некоторых видов листогрызущих насекомых, живущих открыто. Особой скоротечностью характеризуется эпизоотический процесс у колониальных личинок. Динамика развития ядерного полиэдроза кишечного типа прослежена на протяжении ряда лет в условиях подзоны южной тайги на примере рыжего и черно-желтого сосновых пилильщиков.

Так, в припоселковых кедрчачах сел Губино, Ипатово и Лучаново Томской обл. в 1964 г. резко возросла численность рыжего и черно-желтого сосновых пилильщиков. Весной 1965 г. в центральной части очага (территория Ипатовской дачи) на каждое дерево приходилось до 24 тыс. яиц вредителя. В период активного питания личинок в кронах деревьев находилось от 2 до 12 тыс. ложногусениц. Кишечный полиэдроз проявлялся у личинок последних возрастов за несколько дней до массового ухода в подстилку. Болезнь протекала в острой форме. В течение 4 суток от полиэдроза погибло 85% насекомых, оставшаяся часть популяции вредителя завила коконы. В фазе эонимфы погибло 51% особей, в дальнейшем единично гибли пронимфы, куколки и имаго. Ход последующего размножения пилильщика был несколько нарушен в результате низких январских температур в 1966 г. (от 40,6 до 44,9%), которые вызвали 100%-ную гибель яиц. Однако кладки яиц были инфицированы, так как насекомые, выводившиеся из материнала, собранного поздней осенью, гибли до третьей линьки с типичными признаками ядерного полиэдроза. В течение 1966—1968 гг. в Ипатовской даче гнезда пилильщика обнаруживались единично, а в подстилке сохранялся незначительный запас диапаузирующих эонимф.

Дальнейшее резкое увеличение численности фитофага произошло в 1970 г. Причем центр очага сместился в насаждения, где смертность личинок от полиэдроза в ходе эпизоотии 1965 г. была минимальной. В данном случае первоначально возникшая эпизоотия привела к затуханию очага пилильщика. Численность насекомого нарастала в постэпизоотический период в зависимости от степени насыщенности вирусом биоценоза. Относительно быстрый рост плотности популяции связан с длительной диапаузой рыжего соснового пилильщика в условиях Сибири, позволяющей насекомым не только переносить экстремальные воздействия низких температур, но также уходить из-под контроля биотических факторов [81].

В популяции черно-желтого соснового пилильщика, массовое размножение которого наблюдалось в припоселковых кедрчачах Томского лесхоза в 1965 г., ядерный полиэдроз первоначально проявлялся, как и у рыжего пилильщика, среди личинок старшего возраста. У этого вида насекомого вирусная болезнь осложнялась присутствием микроспоридий, гемогрегарин и спорообразующих бактерий *Vacillus thuringiensis* Berl. В результате деятельности комплекса биотических факторов популяция черно-желтого соснового пилильщика уже в 1966 г. была сведена к минимуму. В дальнейшем нарастания численности вида не наблюдалось.

Из числа насекомых, живущих в фазе личинки колонияльно, эпизоотии ядерного полиэдроза наблюдались у тополевого волосатого пилильщика в пос. Ключевка Томской обл. Первая волна эпизоотии привела к гибели 80% ложногусениц старшего возраста. В последующие годы фитофаг встречался единично [33, 36].

Эпизоотии, возникшие у колониальных личинок насекомых, настолько опустошительны, что сводят популяцию к минимуму в течение одного вегетационного периода. Виды, для которых типично одиночное существование в фазе личинки, после первой волны эпизоотии, вызванной даже высокоактивным инфекционным агентом, могут сохранять высокую численность в случае обилия корма. В данной ситуации следующее поколение вредителя бывает достаточно многочисленным, несмотря на продолжающуюся гибель личинок во всех возрастах.

Например, в насаждениях Цасучейской дачи Ононского лесхоза, где было отмечено массовое размножение хвойной волнянки, ядерный полиэдроз возник среди гусениц, когда объедание крон местами достигло 60—80%. В результате погибло 70—75% гусениц, однако численность молодого поколения оставалась высокой и колебалась от 17 до 6150 экземпляров на дерево (наблюдения и учеты проведены В. Н. Жимерикиным). Проявившееся первоначально среди гусениц старшего возраста заболевание распространилось и на молодое поколение. Эпизоотия носила эксплозивный характер. Скопления погибших насекомых наблюдались на вершинах деревьев, среди хвоя текущего года, вокруг стволов, на подросте и лесной подстилке. Наибольшая смертность (порядка 80%) отмечена на участках древостоев с высокой численностью вредителя. Анализ гусениц, переживших эпизоотию и содержащихся до января в лабораторных условиях, показал, что 95% их поражено полиэдрозом. Тем не менее, во 2-й декаде мая следующего года основная масса зимующих гусениц поднялась в крону и приступила к питанию. Гибель насекомых от полиэдроза прогрессировала от младших возрастов к старшим, и к концу лета очаг практически прекратил существование.

Аналогичное проявление эпизоотий ядерного полиэдроза среди гусениц хвойной волнянки наблюдалось в 1969 г. в сосновых насаждениях Баргузинского лесхоза Бурятской АССР. Остропротекающие эпизоотии в условиях обилия корма проходили в 1967 г. в амурских популяциях лунчатого шелкопряда и шелкопряда-монашенки. Поколения вредителей 1968 г. были многочисленны, и среди гусениц всех возрастов обнаруживался полиэдроз.

Острота эпизоотического процесса у листогрызущих насекомых несколько ниже за счет быстрого возобновления кроны, что нередко обеспечивает удовлетворительный кормовой режим фитофага в ряде поколений, а также приводит к существенной стерилизации зоны филлосферы. Возбудители вирусных болезней у насекомых, живущих в плодах и побегах, поражают небольшой процент популяции.

При обследовании в 1967 г. гусениц яблонной плодожорки в посадках яблони на территории Тимирязевского учебно-опытного лесхоза (Томская обл.) отмечено около 3% особей, больных гранулезом. Гусеницы болели в последнем возрасте, незадолго до окукливания. Зараженность плодов вре-

дителем составляла 100%. Аналогичное проявление гранулеза отмечено в популяциях шишковой огневки в августе 1966 г. в Ипатовском кедровнике [41, 57].

Ядерные полиэдрозы общего типа у чешуекрылых, личинки которых развиваются изолированно и не контактируют друг с другом, также не носят эпизоотического характера.

Так, в ряде районов Новосибирска и Москвы в течение последних лет наблюдалось массовое размножение тополевой минирующей моли-пестрянки. В 1969—1971 гг. местами в каждом листе дерева питались до пяти гусениц, однако полиэдроз проявлялся ежегодно среди 0,1—1% насекомых. Низкими показателями смертности характеризовался ядерный полиэдроз общего типа среди побеговыюна-смолевщика в сосновых насаждениях пригородной зоны Улан-Удэ [43].

Цитоплазматические полиэдрозы отмечены в популяциях непарного шелкопряда на Дальнем Востоке, а также у гусениц медведицы кая в лесополосах степной Кулунды и у стрельчатки пси в березово-осиновых насаждениях северной лесостепи Западной Сибири. Во всех случаях цитоплазматические полиэдрозы проявлялись как сопутствующая инфекция при массовых эпизоотиях ядерного полиэдроза. Личинки с двойным заболеванием встречались единично, следовательно, этот тип заболеваний не может играть существенную роль в динамике численности насекомых-фитофагов.

Приведенные факты позволяют сделать ряд выводов. Интенсивность эпизоотических процессов, вызываемых энтомопатогенными вирусами, зависит в значительной мере от биологических особенностей насекомых-хозяев. Эксплозивные эпизоотии характерны прежде всего для тех видов насекомых, которые живут в фазе личинки колониально. Из числа хвое- и листогрызущих насекомых, личинки которых обитают рассеянно в кронах кормовых растений, наиболее высокая интенсивность эпизоотического процесса наблюдается у хвоегрызущих видов.

Спорадическое проявление вирусных инфекций отмечается у насекомых, проходящих фазу личинки внутри кормовых субстратов. В этом случае вирулентность возбудителя болезни играет, видимо, второстепенную роль.

При возникновении вирусных эпизоотий среди колониальных насекомых (тополевый волосатый и хвойные пилильщики) численность их снижается до хозяйственно неощутимого уровня уже в 1-й эпизоотический год. Хвое- и листогрызущие насекомые после 1-й волны эпизоотии могут сохранять высокую численность. Подобное развитие процесса характерно при обилии корма. В случае скрыто живущих видов насекомых инфекция

проявляется эпизоотически в течение ряда лет, и вирус не оказывает решающего влияния на снижение численности популяции фитофага.

СВОЙСТВА СИСТЕМЫ ВИРУС-ХОЗЯИН

Плотность популяции многих видов насекомых сильно меняется от генерации к генерации. В этих условиях сохранение вируса затруднено без специальных приспособлений, обеспечивающих переживание периодов низкой плотности. Переживанию вируса способствует 2 фактора: его высокая устойчивость, обеспечивающая сохранение в ценозах в течение нескольких лет [223, 268, 303], а также латентность и трансовариальная передача.

В лесных биоценозах, где прошли массовые естественные эпизоотии среди насекомых, верхний слой почвы может годами содержать вирулентные вирусные включения. Концентрирующийся в подстилке и верхних слоях почвы вирус может попасть в область филлосферы при участии активно передвигающихся сочленов биоценоза, прорастании семян различных растений и т. д. Теоретически вирус может перенести любой биотический или абиотический фактор, движущийся через популяцию, что способствует постоянному столкновению насекомого-хозяина с инфекционным агентом.

Явление латентности с физиологической точки зрения плохо изучено. Считается, что вирус, обычно активно размножающийся в клетках хозяина и убивающий их, переходит в особое состояние (состояние провируса); включаясь в ядерный аппарат клетки, размножается только синхронно с ее делением и передается в таком виде от одного клеточного поколения к другому [21]. Это явление известно только у вирусов и бактерий и подробно изучено в так называемых лизогенных штаммах. Однако нам нет необходимости касаться вопросов механизма этого явления. С точки зрения эпизоотологии достаточно знать, что часть личинок младших возрастов после заражения не погибает, окукливается и дает имаго, которые откладывают жизнеспособные яйца. Обычно плодовитость при этом значительно снижается [297]. В популяциях латентная инфекция распространена всегда достаточно широко, чтобы вызвать высокую смертность при провокационном режиме [110, 189, 229, 230].

Биологический смысл латентности заключается в возможности длительного сосуществования паразита и хозяина, что приводит к максимизации математического ожидания логарифма коэффициента размножения особи в среде, колеблющейся

по закону, близкому к логнормальному [137, 224]. Поскольку латентная инфекция активизируется стрессорами, которые прямо или косвенно связаны с плотностью популяции, адаптивность латентности возрастает.

Пути передачи вирусной инфекции у насекомых, как известно, достаточно разнообразны. Вирусы могут передаваться через покровы или рот (с пищей), хищниками, паразитами и трансовариально на поверхности или внутри яиц. Особенностью этих путей, за исключением последнего, является то, что их эффективность резко снижается вместе с уменьшением плотности популяции хозяина.

В отличие от вирусов позвоночных, вирусы, патогенные для насекомых-вредителей леса, не имеют промежуточных хозяев. Насекомые не способны к продуцированию антител, и их защитные реакции осуществляются только гемоцитами, поэтому возможности мобилизации защитного механизма сильно ограничены [317]. Мобилизация осуществляется путем включения в циркуляцию ранее продуцированных клеток и интенсификации процесса продуцирования фагоцитов. Введение любых посторонних частиц в значительных количествах снижает фагоцитоз [206]. Через 1—3 ч после инъекции количество фагоцитов в крови увеличивается, а после 48—72 ч снижается. Насекомые, по-видимому, не способны приобретать стойкий иммунитет. Однако В. Левис и С. Винсон [286] сообщили об ускорении инкапсуляции яиц паразита при вторичном заражении *Heliothis zea* Bod. Отсутствие приобретенного иммунитета придает характерные черты эпизоотологии насекомых, не встречающиеся в эпидемиологии.

Большой теоретический интерес представляет сообщение о различной интенсивности фагоцитарной реакции и вследствие этого различной восприимчивости к ядерному полиэдрозу двух типов гусениц *Malacosoma neustria* L. — активных и пассивных [285].

ПУТИ РАЗВИТИЯ ЭПИЗООТИЙ

Эпизоотия развивается при коэффициенте размножения вируса больше единицы и затухает при меньшем значении. Высоковирулентные возбудители всегда имеют высокий коэффициент размножения внутри неиммунного хозяина, и динамическое равновесие в системе устанавливается путем сокращения числа восприимчивых особей, в результате чего подавляющая часть популяции микроорганизмов вне хозяина гибнет. Это типичный случай развития эпизоотий, эпидемий и эпифитотий. Он хорошо изучен. В частности, известно большое число математических

моделей, описывающих поведение системы патоген-хозяин, взаимодействующей вышеописанным образом. Большинство попыток описания эпизоотий насекомых исходит из этой типичной схемы. Однако имеется и другая возможная схема взаимодействия — при низкой вирулентности возбудителя [22]. Динамическое равновесие устанавливается внутри особей хозяина не на популяционном, как в первом случае, а на организменном уровне. Такая схема типична для вирусов вообще и для вирусов насекомых, по нашему мнению, в особенности. В этом случае внутри организма вирусные частицы размножаются по классической схеме, которую можно описать моделью $\frac{dx_t}{dt} = Rx_{t-p}(1 - x_t)$ с решением

$$x_t = 1 - (1 - x_0) \exp \left[- \int_0^t p R x_{t-p} dx \right],$$

где p — латентный период; x_t — доля зараженных клеток; t — время; R — величина, зависящая от внешних факторов и часто принимающая нулевое значение [121].

Е. Танада считает, что развитие эпизоотии в популяции насекомых определяют 3 первичных фактора: патогенный организм, восприимчивые насекомые-хозяева в рамках популяции и пути переноса возбудителя от невосприимчивых хозяев. Внешним условиям отводится второстепенная роль. Он указывает, что инфекционность, или способность распространения, является одним из наиболее важных факторов, влияющих на эпизоотии в популяциях насекомых [354, 355].

По Я. Вейзеру [357], взаимодействие между вирусом и его хозяином складывается по следующей схеме. Во время вспышки массового размножения хозяина вирус широко распространяется в популяции и вызывает его гибель. После кризиса ценоз насыщен возбудителем и почти все особи хозяина заражаются. Поскольку хозяев мало, новое поколение вируса не компенсирует процесса естественного очищения ценоза, происходящего в результате инактивации вируса и выноса его из зоны обитания насекомых. Постепенно заболеваемость насекомых снижается и происходит новая вспышка хозяина. Этот цикл завершается на протяжении 9—11 лет. Описанная система взглядов довольно слабо подтверждается фактами.

К. Дойн наблюдал развитие эпизоотии непарного шелкопряда, вызванной совместным действием вируса ядерного полиэдроза и бактерии *Streptococcus faecalis* [231]. В результате трансвариальной передачи возбудителя часть гусениц была заражена и погибла в первых возрастах. Трупы были сконцентрированы на вершинах деревьев, откуда инфекция могла распространяться по кронам деревьев вниз. Действительно, в дальнейшем приблизительно 96% насекомых погибло, и вспышка массового размножения непарного шелкопряда затухла. Прекращению эпизоотии способствовал ливень, который, вероятно, смыл полиэдры с листьев.

И. Шонхер [323] обработал колонии рыжего соснового пилильщика суспензией полиэдров *Borghelinavirus dirgionis*. Через 8 суток обработанные колонии погибли; через 3 недели болезнь распространилась на колонии в радиусе 3 м и одновременно возникли отдельные очаги инфекции на удалении 200 м. О расширении очагов инфекции после обработки сообщают В. В. Гулий и В. Н. Жимерикин [42], проводившие вирусологическую борьбу с рыжим сосновым пилильщиком в Ростовской обл.

Приведенные примеры свидетельствуют о том, что в определенных условиях может возникнуть острая вирусная эпизоотия, распространяющаяся в популяции.

В эпизоотологии вирусных болезней насекомых можно выделить 3 механизма передачи: контактный, через факторы внешней среды и через переносчиков. В процессе трансфазной и трансгенерационной передачи важное значение приобретают тканевый тропизм возбудителей и особенности биологии насекомых-хозяев. Вирусные заболевания насекомых протекают, как правило, по типу кишечных инфекций, и в подавляющем большинстве случаев возбудитель проникает в организм через пищеварительный тракт. Предпосылкой для этого служит способность основных групп эпитомпатогенных вирусов длительно существовать во внешней среде. Известны случаи, когда вирусы ядерного полиэдроза не теряли вирулентность после 20-летнего хранения [337]. Это доказывает также легкость экспериментального заражения через корм, предварительно обработанный вирусной суспензией.

Механизмы передачи могут быть различными. Ложногусеницы пилильщики и личинки некоторых других насекомых в ответ на раздражение выделяют из ротового отверстия каплю жидкости, формирующуюся за счет содержимого переднего отдела кишечника и секрета слюнных желез. Как показывает микроскопический анализ, эта жидкость у больного насекомого содержит включения в период достаточной активности личинки. При помещении больных ложногусениц рыжего соснового пилильщика в здоровые гнезда болезнь передается. Эффективность такой передачи находится в прямой зависимости от количества инфицированных личинок, приходящихся на определенную группу здоровых особей. Передача возбудителей кишечного полиэдроза контактным путем имеет важное значение, поскольку наибольшее количество эпизоотий с ярко выраженным эксплозивным характером наблюдается у насекомых, личинки которых держатся колониями.

Помимо прямого контакта больных насекомых со здоровыми, происходит косвенный контакт, преимущественно через кормовой субстрат, на который инфекционное начало в виде вирусных включений попадает различными способами. Источ-

ником инфекции являются больные и погибшие насекомые. Личинки некоторое время после инкубационного периода болезни не теряют активность и рассеивают вирус с выделениями кишечника. Анализы экскрементов ложногусениц рыжего соснового пилильщика из популяций, естественно и искусственно зараженных ядерным полиэдрозом кишечного типа, показали наличие включений в довольно высоких титрах, величина которых находится в прямо пропорциональной зависимости от интенсивности эпизоотии (табл. 27). Особенно большое количество вируса после гибели насекомых попадает во внешнюю среду и в первую очередь на кормовой субстрат. Трупы личинок быстро разлагаются, и жидкость, содержащая в случае ядерных полиэдрозов от 0,5 до 6 млрд. включений, рассеивается в местах обитания насекомых. Таким образом осуществляется 1-й этап в механизме передачи — выход возбудителя болезни из организма насекомого во внешнюю среду; 2-й этап охватывает период пребывания во внешней среде и 3-й — проникновение в чувствительную особь.

Таблица 27

Содержание вирусных включений в экскрементах ложногусениц рыжего соснового пилильщика

Место сбора материала	Смертность насекомых в очагах, %	Содержание включений в 1 г образца
Нижне-Кундрюченское лесничество Ростовской обл. (май 1968)	25	$7 \cdot 10^2$
Коларовское лесничество Томской обл. (июнь 1965)	50	$4 \cdot 10^3$
То же	85	10^7
Большинское лесничество Ростовской обл. (май 1969)	98—100	$6 \cdot 10^7$

Характер движения инфекции зависит в значительной степени от биологических особенностей насекомых-хозяев. У личинок, живущих изолированно в плодах и побегах, а также у насекомых-минеров передача возбудителей затруднена, и болезни не принимают форму эксплозивных эпизоотий.

Открыто живущие хвое- и листогрызущие насекомые концентрируются обычно в верхних частях кормовых растений, что связано с хорошо выраженным положительным фототаксисом. Больные насекомые, прекратившие питание, не теряют эту особенность и нередко гибнут в верхних ярусах крон. Колония личинок рыжего соснового пилильщика, двигаясь вниз по мере

объедания хвои, оставляет на вершине побега погибших особей. Дожди размывают трупы и тем самым способствуют распространению инфекционного начала на нижние участки крон.

Принимать участие в механической передаче возбудителей могут и живые переносчики; в зависимости от закономерности или случайности этого явления значение их в эпизоотологии вирусных болезней насекомых различно. Наиболее важная роль принадлежит различным группам мух: тахинам, саркофагинам, мусцидам и некоторым другим. Мухи активно разыскивают погибших и больных личинок, питаются их содержимым и в результате разносят возбудителей болезней.

Так, в условиях Тимирязевского учебно-опытного лесхоза (Томская обл.) отмечено интенсивное посещение мухами инфицированных гнезд ложногусениц тополевого волосатого пилильщика. Их привлекали выделения кишечника ложногусениц, содержащие в большом количестве инфекционные полиэдры, легко задерживающиеся на пульвиллах и хоботке мух. В течение часа с одного листа тополя на котором находилось несколько ложногусениц в острой фазе инфекции, было поймано 50 экземпляров мух, относящихся к шести видам: *Sarcophaga carnaria carnaria* L., *Ravinia striata* F., *Seoptera vibrans* L., *Tanipeza longimana* Fall., *Hydrotaea dentipes* F., *Anthomyia pluvialis* L. В основных насаждениях Нижне-Кундрюченского лесничества трупы личинок рыжего соснового пилильщика активно посещали тахины *Ceratomia nigripes* Fall. Популяции непарного шелкопряда в Амурской обл. в период массовых эпизоотий ядерного полиэдроза на 55—85% были поражены мухами — саркофагинами. При этом наибольшую активность проявили *Parasarcophaga albiceps* Meig., *P. harpax* Pand., *P. tuberosa* Pand., *Kramerea schutzei* Kram., *Pseudosarcophaga affinis* Fall [69].

В природе наблюдается интралимфальное проникновение вируса в организм насекомого. Подобный путь возможен при механических микротравмах в результате падений, особенно у хвоегрызущих насекомых, и в связи с деятельностью паразитических и хищных насекомых. Переносить энтомопатогенные вирусы могут также хищные клопы из семейства Reduviidae.

В дальневосточных популяциях непарного шелкопряда в эпизоотический период клопы рода *Rhinocoris* активно нападали на гусениц средних и старших возрастов. На гусениц дубовой зеленой листовертки в Московской обл. активно охотились хищные клопы рода *Anthocoris*. Питание клопов *Sarcocoris pudicus* Poda и *Picromerus bidens* L. гусеницами совок отмечено в Новосибирске. Питающиеся большими насекомыми клопы, передвигаясь рассеивают вирус вместе с выделениями кишечника.

Таким образом, вирусные включения, находясь во внешней среде, распространяются под влиянием комплекса абиотических и биотических факторов. Возбудитель сохраняется и проникает в чувствительную особь в результате ряда приспособительных механизмов. К важнейшим из них можно отнести массивность выделения вируса из организма пораженного насекомого и способность вирусных частиц, заключенных в белковом мат-

риксе полиэдров и гранул, в течение длительного времени сохранять биологические свойства.

Для подтверждения разбираемой системы взглядов необходимо, во-первых, установить присутствие вируса в ценозе после массового размножения в количестве, достаточном для заражения значительной части популяции; во-вторых, показать, что при большой плотности всегда после внесения инфекции развивается эпизоотия, вызывающая высокую смертность.

В пользу второй схемы, в которой решающая роль отводится трансва-риальной передаче, можно привести следующие факты. Вирусы в популяциях насекомых довольно часто развиваются не постепенно, а внезапно, что подтверждает описанная выше эпизоотия пядениц-шелкопрядов в Хоперском заповеднике (рис. 46).

На первый взгляд может показаться, что мы имеем дело с типичной S-образной кривой развития эпизоотии, соответствующей модели

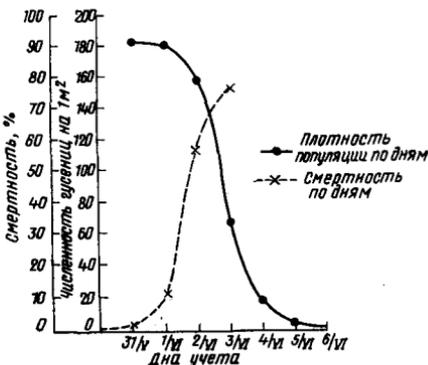


Рис. 46. Смертность гусениц и изменение плотности популяций, пядениц-шелкопрядов в период эпизоотий 1961

$$\frac{dx}{dt} = a [x(t - b)] [1 - x(t - b)] dt,$$

где x — часть погибших особей в популяции;
 a, b — параметры;
 t — время.

нормальной), отражающая разброс в устойчивости особей σ и среднее время протекания болезни a

Однако если учесть, что период от заражения до гибели в вирусозах насекомых продолжается примерно неделю, то становится очевидной совершенно иная природа кривой. Это типичная кривая распределения (типа

$$F(t) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{+\infty} \exp -\frac{1}{2} \left(\frac{t-a}{\sigma} \right)^2 dt,$$

где $F(t)$ — число гусениц, погибших к моменту t .

Рассмотренная вспышка полиэдроза пядениц-шелкопрядов возникла в результате аномального скачка температуры, отмеченного за неделю до эпизоотии, так как гусеницы, взятые в лабораторию до этого момента, окукливались нормально, а взятые после — погибли от полиэдроза. Обе группы выкармливали листьями из очага [26].

К. Ауер [193] проследил две эпизоотии вирусоза в популяции *Zeiriferia griseana* L. Вирусоз возникал в частях популяции, существенно сокративших свою кормовую базу. Распространения эпизоотии на части популяции, не испытывавшие недостатка в корме, не наблюдалось, т. е. опять-таки эпизоотия определялась не распространением вируса во внешней среде, а активизацией латентной инфекции.

Рассмотренные примеры достаточно убедительны, но по другим видам трудно привести подобные данные и приходится пользоваться косвенными доказательствами.

Если предположить, что вирусы насекомых высоковирулентны и развитие эпизоотий тормозит процессы их передачи в раздраженных популяциях, то в таких условиях вспышки вирозов в разреженных популяциях невозможны и при высокой плотности популяции не может наблюдаться низкая смертность, вызванная вирусами, во всяком случае в течение нескольких генераций. Однако есть прямые указания на то, что вспышки болезней могут происходить при весьма низкой численности хозяина [216, 222, 356]. Е. В. Орловская [115], суммировавшая данные о вспышках вирозов, указывает, что в условиях массового размножения вредителей леса эпизоотии возникают не всегда, в то же время даже в разреженных популяциях вирус широко распространен.

Видимо, в настоящее время трудно представить единую для всех вирусных болезней схему развития эпизоотического процесса и в этом направлении еще предстоит работа по сбору фактического материала. Все же имеет смысл наметить некоторую общую схему.

Выше было показано, что вирус передается через среду по двум каналам — перорально и трансвариально. Какой канал имеет решающее значение, пока остается неясным. С учетом этих положений эпизоотологию насекомых можно представить упрощенной схемой (рис. 47), которая может быть формализована в виде матрицы стохастического процесса Марковского типа. Однако эмпирического материала для построения конкретной модели накоплено еще недостаточно.

Намеченная схема наглядно показывает недостаточность наших знаний в области эпизоотологии. Мы не знаем практически ничего определенного о каждом из каналов, по которым передается инфекция. Можно только предполагать, что эпизоотологические процессы в популяциях насекомых носят нерегулярный характер, так как в их развитии большую роль играет случайный, внешний по отношению к системе элемент. Можно предполагать, что в колеблющихся популяциях насекомых максимум латентной зараженности приходится на послевспышечный период, и впоследствии она медленно снижается. Эту точку зрения подтверждают многочисленные указания на высокую смертность насекомых из затухших очагов при пониженной их восприимчивости к внешнему инфицированию и результаты исследований популяций с постоянно высокой и постоянно низкой плотностью [221]. Смертность от вирозов гусениц непарного шелкопряда в лабораторных условиях [222] достигает в популяциях с низкой плотностью 0,3—2,9 и в популяциях с высокой плотностью 22,2—40,8%.

Можно также предполагать, что канал трансвариальной передачи достаточно надежен, так как в противном случае было бы трудно объяснить равномерную зараженность популяции и одновременность вспышек вирозов на больших территориях [359]. Наоборот, канал передачи через внешнюю среду при низкой численности малоэффективен и начинает играть существенную

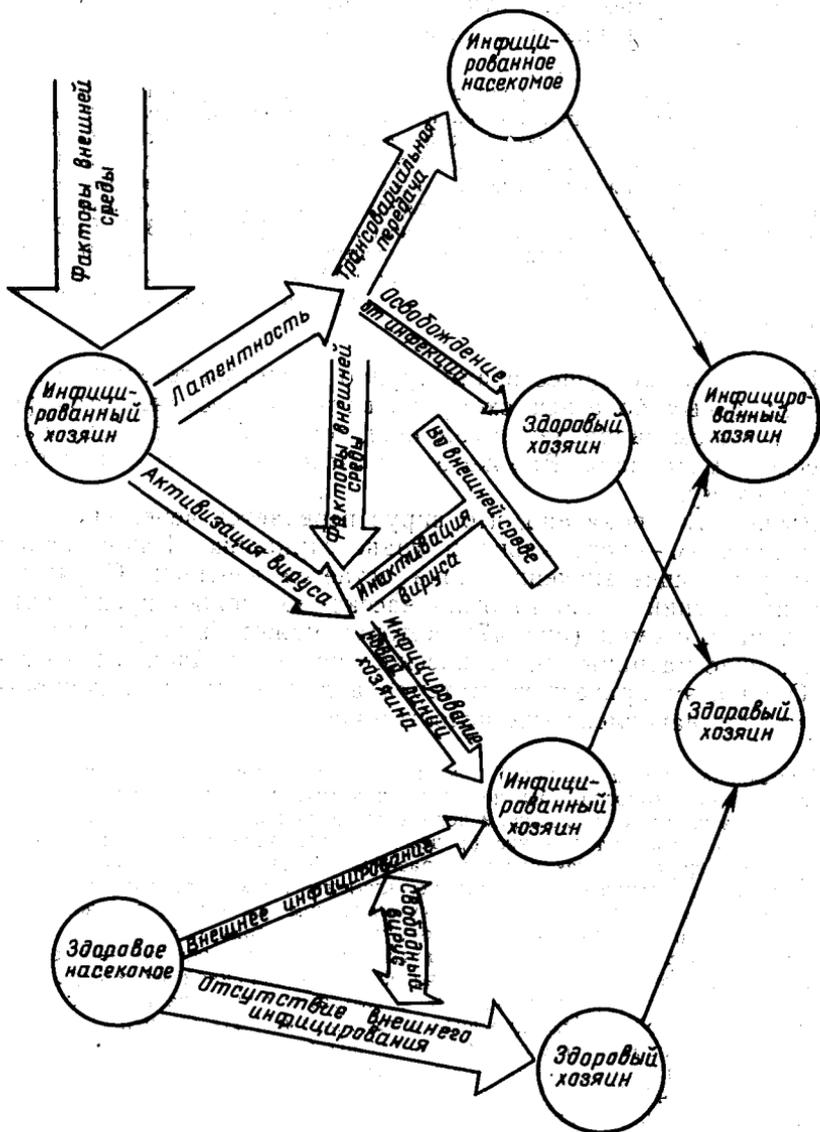


Рис. 47. Структурная модель эпизоотий

роль только при высоких плотностях популяции хозяина. Число зараженных этим путем насекомых и описывается функцией вида $y = N(l-S)(l-a^{-QNS})$, где N — плотность популяции хозяина; S — доля инфицированных особей.

Таким образом, развитие эпизоотий насекомых определяется потоками вирулентного начала по двум каналам, и их течение обуславливается суммой этих потоков и балансом между ними и внешней средой.

ГЛАВА V. ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ В ЗАЩИТЕ ЛЕСА

ПУТИ НАКОПЛЕНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА

Практическое применение энтомопатогенных вирусов в защите леса предполагает разработку путей накопления инфекционного начала, способов внесения патогена в популяцию вредителя, методов оценки эффективности вирусологической борьбы и др.

Долгое время основным препятствием для широкого применения вирусов являлось отсутствие доступных производству методов массового получения инфекционного материала. В настоящее время известны, по крайней мере, 3 принципиальные возможности культивирования энтомопатогенных вирусов: инфицирование нативными вирусами чувствительных насекомых [38, 47], использование культур клеток насекомых [104, 361] и заражение вирусными нуклеиновыми кислотами клеток, не родственных насекомым, но получение которых в массовых количествах не представляет особых трудностей [236].

Исследования последних лет показывают реальную возможность использования субклеточных систем для размножения вирусов [7]. Несмотря на широкие принципиальные возможности культивирования энтомопатогенных вирусов, единственное практическое применение на современном этапе развития микробиометода имеет лишь 1-й путь, что связано с разработкой множества приемов массового разведения насекомых на синтетических и полусинтетических питательных средах в условиях лабораторных и промышленных инсектариев. Все вирусные препараты против вредных насекомых в нашей стране и за рубежом созданы на основе массового культивирования насекомых. Иные возможности накопления энтомопатогенных вирусов находятся в стадии лабораторных опытов.

Наиболее пригодны для размножения вирусов насекомые в фазе личинки. Способы получения большого количества личинок и пути их заражения различны. Первые опыты по практическому применению возбудителей полиэдрозов всех типов и гранулезов проводились с использованием материала, собранного непосредственно в природе. Этот метод не получил широкого распространения из-за большой трудоемкости и полной зависимости от случайных факторов. Большое распространение получил метод искусственного заражения насекомых в изолированном пространстве. Личинок для заражения собирают в природе или выращивают в лаборатории.

В Канаде используют два метода содержания соснового пилильщика *Neodiprion swainei* Midd. на естественном корме. В одном случае личинок выращивают в ящиках с сетчатым дном, куда помещают срезанные ветви сосны и опрыскивают их суспензией вируса в концентрации 1 млн. полиэдров в 1 мл. На 75 тыс. личинок требуется 50 мл суспензии. Больных и мертвых личинок собирают через 1—12 суток и используют для приготовления препарата. Во втором случае монтируют вертикально в виде карусели проволочные рамы. Ветви сосны с колониями пилильщика прикрепляют по всей площади рамы. Опрыскивание хвои вирусной суспензией и сбор личинок осуществляют, как и в случае содержания в ящиках [330].

Накапливают инфекционный материал для борьбы с рыжим сосновым пилильщиком следующим образом. В местах с высокой заселенностью сосновых культур вредителем ложногусениц собирают отряхиванием на полиэтиленовую пленку. Насекомых концентрируют в марлевых полах с открытым верхом, куда постоянно помещают свежий корм для предотвращения расплозания личинок. Насекомых заражают непосредственно в полах с нормой расхода вирусных включений 1 млрд. на 100 тыс. личинок IV возраста. При оптимальной температуре (25—27° С) гибель насекомых начинается уже на 4—5 сутки после заражения. Через 8—10 суток материал сортируют. При этом 75—80% насекомых гибнет от типично протекающего ядерного полиэдроза кишечного типа, 20—25% завивает коконы. В фазе зонимфы смертность составляет обычно 20% и выше; остальная часть насекомых дает имаго. Количественный выход инфекционного материала при заражении некоторых насекомых-вредителей показан в табл. 28.

Количество инфекционного материала, получаемого при заражении природных популяций насекомых, может существенно меняться. Сопутствующие патогены (бактерии, грибы, паразитические простейшие) обычно снижают выход вируса, так как личинки гибнут на ранних этапах инфекционного процесса. Факторы среды, оказывающие влияние на физиологическое состояние насекомых, прежде всего температура и качество корма,

Количественный выход вирусных включений при заражении насекомых

Вид насекомого	Фаза развития и возраст	Тип вирусных включений	Количество включений из одной особи	Автор
<i>Lymantria dispar</i> L. То же	Гусеница V возраста То же	Ядерные полиэдры То же	$1,3 \cdot 10^9$ $4 \cdot 10^9$	L. A. Vasiljevic E. B. Орловская [115]
<i>Thaumetopea pityocampa</i> Schiff.	Гусеница	Цитоплазмённые полиэдры	$1,5 \cdot 10^9$	R. Koyama, K. Katagiri [276]
<i>Dendrolimus spectabilis</i> Bult.	То же	То же	$5 \cdot 10^8$	То же
<i>Diprion sertifer</i> Geoffr.	Личинка IV возраста	Кишечные ядерные полиэдры	$2,7 \cdot 10^8$	F. T. Bird [214]
То же	Личинки V — VI возрастов	То же	$1 \cdot 10^9$	B. B. Гулий [38]
»	Зонимфа	»	$0,5 \cdot 10^9$	»

оказывают влияние и на продукцию вирусов. Оптимальные условия содержания личинок благоприятны и для развития возбудителей вирозов. Существенное значение имеет вирулентность вирусов.

Как известно, выкормка тутового шелкопряда для получения шелка в настоящее время рентабельна на естественном корме. Хвоя и листья лесных пород дешевле листьев шелковицы и, естественно, дешевле любой искусственной среды. Поэтому стремление использовать для массового разведения лесных насекомых естественный корм представляется оправданным. Однако стоимость корма составляет небольшую часть стоимости размножения вирусов, основные затраты приходятся на заработную плату. Положительные и отрицательные стороны метода можно рассмотреть на примере массового размножения вируса ядерного полиэдроза на личинках *Neodiprion sertifer* Geoffr [315].

Пилильщика выкармливали непосредственно в очаге массового размножения в контейнерах 25, 18 и 14 дюймов с 6-дюймовыми заслонками со всех сторон и 8-дюймовым вентиляционным отверстием в крышке инсектария, снабженного мощной вытяжной трубой для устранения группового эффекта. Использовали личинок, собранных в природе. Вирусную суспензию вводили с кормом (10^7 полиэдров на 1 мл) путем опрыскивания хвои из ручного опрыскивателя; расход 4 мл на контейнер. В контейнере содержалось 100 коло-

ний или 2 тыс. личинок. Смертность достигала «пика» на 8 сутки после инокуляции. Контейнеры вручную очищали от остатков корма и экскрементов и выбирали погибших личинок. Эта операция была наиболее трудоемкой — за один рабочий день удавалось получить 8 унций пораженных полиэдрозом личинок. После очистки суспензию хранили при 4° С и рН=7.

Производительность инсектария, обслуживаемого шестью рабочими, составляла $1,39 \cdot 10^{14}$ полиэдров в сезон, стоимость получения $1 \cdot 10^8$ полиэдров (одна личинка) — 1 цент. На 1 акр расходуется $3 \cdot 10^9$ полиэдров, т. е. себестоимость вирусного препарата 0,74 долл./га.

Методы сбора патологического материала в природе или заражение насекомых, собранных в естественных популяциях вредителей с целью получения инфекционного материала для практического применения, можно рассматривать как 1-й этап в развитии вирусологической защиты леса. Несмотря на доступность и высокую эффективность, эти методы, видимо, не получают широкого распространения, так как требуют больших затрат ручного труда и зависят от природных факторов.

В настоящее время проводят работы по созданию вирусных препаратов на промышленной основе. В этом случае насекомых разводят в инсектариях в течение всего года на искусственных питательных средах. Различают 3 группы питательных сред в зависимости от состава входящих ингредиентов: олигодические — вещества естественного происхождения; меридические — одно вещество с химически неопределенным составом, обычно растительного происхождения; холиодические, или синтетические. Наиболее широкое применение находят меридические среды. Ниже приведена пропись одной из наиболее характерных по составу полусинтетической среды для разведения яблонной плодовой жоржки (табл. 29), которая полностью удовлетворяет пищевые потребности гусениц [313]. Агар и казеин придают среде необходимую консистенцию и служат источником азота. С зародышами пшеницы насекомые получают белок, витамины и минеральные соли. Синтетические среды содержат наборы аминокислот, жиры (обычно растительное масло и холестерин), углеводы, витамины, смесь минеральных солей и вещества, поддерживающие определенное время физические свойства среды. В настоящее время рецептура искусственных питательных смесей разработана для многих видов насекомых, которые приносят вред лесу.

Главным преимуществом массового разведения насекомых на искусственном корме является возможность круглогодичной стационарной работы. Однако при небольшом объеме производства оно не окупает резкого увеличения трудоемкости процесса. Увеличение стоимости субстрата практически с нуля при использовании естественного корма до нескольких рублей при

**Состав полусинтетической среды для разведения
яблонной плодовой гни**

Компоненты	Количество вещества на 100 г среды	Компоненты	Количество вещества на 100 г среды
Казеин, г	3,5	Витамины, г	0,9
Цистеин, г	0,2	2 М КОН, мл	3,0
Зародыши пшеницы, г	3,0	Агар, г	3,0
Соли Вессона, г	3,0	Ингибитор плесени, мл	2,2
Сахароза, г	3,0	Дистиллированная вода, г	100
Сафлоровое масло, г	0,3		

использовании полусинтетических сред можно не принимать во внимание, так как оно составляет ничтожную часть затрат на размножение вируса.

И. Харпер [251] размножил вирус ядерного полиэдроза *Peridroma sacia*, используя искусственные среды. Яйца тщательно очищали и стерилизовали с поверхности 0,8%-ным хлороксом в течение 30 мин, затем промывали и высушивали; выкармливали в чашках Петри по 20 гусениц до IV возраста при относительной влажности 90—100% и температуре 25° С. Затем осуществляли инокуляцию, гусениц пересаживали в кубы — по 10 особей в каждый на свежую среду. После развития вироза трупы гусениц мацерировали в растворе Варинга с малым количеством буфера. Полученную суспензию фильтровали и отстаивали при 4° С. После многократного удаления верхних слоев с помощью сифона осуществляли центрифугирование на центрифуге с зональным ротором, затем равновесное центрифугирование и наконец центрифугирование в градиенте плотности сахарозы на ультрацентрифуге [171].

При выращивании личинок до IV возраста трудовые затраты составили 1 чел.-день на 300 особей, т. е. трудоемкость выращивания на искусственной среде в несколько раз выше, чем с использованием вышеописанной простой техники. Полный цикл получения вируса требует трудовых затрат в 1 чел.-месяц на 3 тыс. гусениц. Для поддержания маточной культуры 200 гусениц требуется около 10 ч рабочего времени. На полусинтетических питательных средах выращены многие виды насекомых — вредителей лесного хозяйства (табл. 30).

Размножение насекомых на искусственных питательных средах позволяет получать однородный биологический материал в течение всего года независимо от наличия личинок в природе и механизировать все трудоемкие процессы. Однако при этом необходимо учитывать некоторые стороны эволюционной экологии вирусов. В частности, многими экспериментами показано, что вирусы насекомых формируются в значительной мере под влиянием семейной К-селекции, направленной на отбор средне-

и низковирулентных штаммов [187, 296]. В качестве примера можно привести результаты изучения перестройки генофонда вируса миксаматоза (рис. 48). В течение короткого времени после контакта с новым видом хозяина — кроликами в 1950 г. гено-

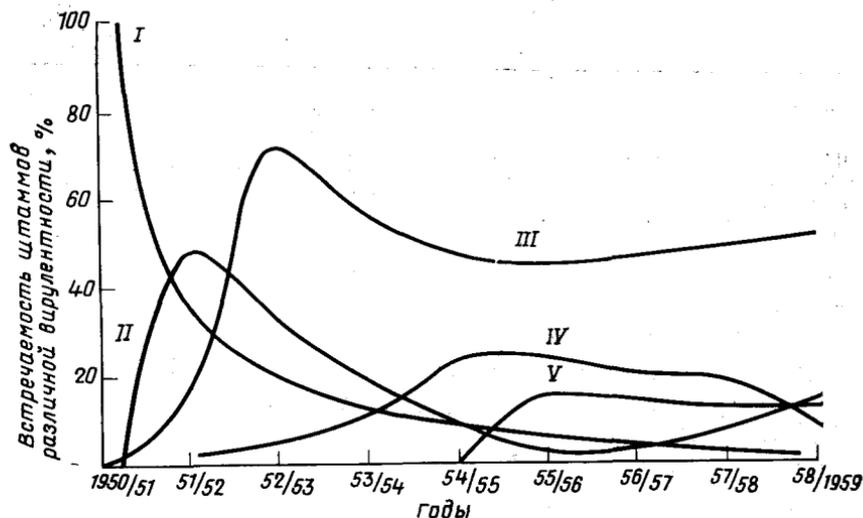


Рис. 48. Изменение в соотношении штаммов вируса миксомы различной вирулентности в Австралии за 10 лет коэволюции:
I, II, III, IV, V — штаммы

фонд популяции вирусов перестроился в направлении понижения вирулентности. Следует отметить, что хорошо известный факт повышения вирулентности вируса после нескольких пасса-

Таблица 30
Насекомые-фитофаги, культивируемые на питательных средах [170]

Вид насекомого	Среда
<i>Hyphantria cunea</i> Drury	Полусинтетическая
<i>Zeuzera pyrina</i> L.	»
<i>Anarsia lineatella</i> Z.	»
<i>Lymantria dispar</i> L.	Синтетическая и полусинтетическая
<i>Dioryctria abietella</i> Schiff.	Олигодическая
<i>Cacoecia reticulata</i> Hb.	Полусинтетическая
<i>Laspeyresia molesta</i> Busck.	Синтетическая

жей на одном хозяине не противоречит отмеченной закономерности и не имеет отношения к рассматриваемой проблеме.

Вироzy, вызванные полиэдро- и гранулообразующими вирусами, в острой форме могут протекать за 5—20 суток. Срок развития хозяина обычно бывает большим. В этих условиях количество вирусов в одной личинке возрастает с ее возрастом экспоненциально, а поскольку наиболее восприимчивы личинки первых возрастов, то коэффициент размножения вируса пропорционально возрастает с уменьшением вирулентности.

Таким образом, с одной стороны, вирусы насекомых далеко не реализуют свою потенциальную вирулентность, а с другой, есть все основания предполагать, что в условиях массового разведения селекция на повышение вирулентности перспективна и даже может быть проведена очень легко при отборе вирусосодержащих частиц из первых погибших в культуре индивидуумов. В настоящее время стратегия массового разведения направлена на максимизацию выхода полиэдров без учета их вирулентности. Вирусы размножают на ослабленном искусственном корме хозяине таким образом, чтобы добиться гибели личинок в последних возрастах. Это соответствует селекции на низкую вирулентность. Наиболее перспективным направлением в массовой культуре вирусов является размножение их на культурах клеток.

Серьезные успехи в этой области достигнуты Т. Грейсом [243], добившимся размножения вируса цитоплазматического полиэдроза в переживаемых клетках насекомого. А. Беллет [194] получил семь пассажей радужного вируса на подобной культуре. Методом флуоресцирующих антител выявлены очаги инфекции. Из 80 вирионов, адсорбированных на клетке, в среднем один образует очаг размножения. Из одной клетки получается 40 тыс. вирионов (рис. 49). В 1970 г. Р. Гудвин [310] добился репликации ядерного полиэдроза в культуре гемоцитов насекомых.

Разработан метод размножения ядерного полиэдроза на тканях, культуруемых *in vitro*, перспективный для промышленного использования [309].

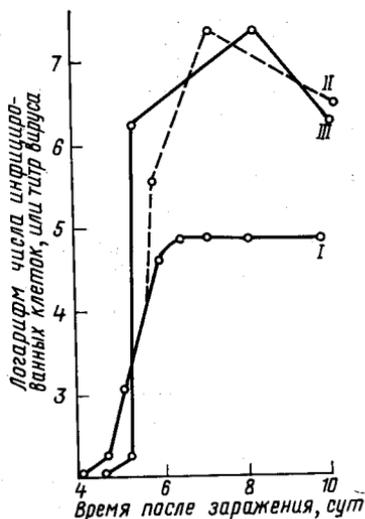


Рис. 49. Размножение радужного вируса в тканевой культуре: I — клетки, в которых возникли очаги инфекции; II — титр вируса внутри клеток; III — титр вируса в культуральной жидкости

Методика размножения вирусов в культурах тканей разработана в Институте молекулярной биологии АН УССР [105]. Последними работами В. Д. Милосердовой и Е. М. Сухорада [106] показана возможность выращивания *in vitro* клеток насекомых и использования их для размножения вирусов, не только свойственных данному насекомому, но и чужеродных энтомопатогенных вирусов. Это открывает еще большие перспективы для получения вирусных препаратов. Среды и технология культивирования разработаны детально [243, 344].

В качестве примера техники размножения вирусов лесных вредителей рассмотрим размножение ядерного полиэдрообразующего вируса пяденицы *Lambdina fiscellaria somparia* на культуре клеток гемоцитов *Malacosoma disstria*. Использовали суспензионную культуру гемоцитов линии IPR166, в течение долгого времени поддерживаемую в культуре (25 пересевов) на модифицированной среде Грассе в полистироловых флаконах. Зараженную гемолимфу после извлечения охлаждали до нуля, разбавляли в 25 раз базовой средой, центрифугировали и стерилизовали путем фильтрования — 1—2 мл полученной очищенной суспензии добавляли в культуру клеток, поддерживаемую до инокуляции при 28° С. Вирус размножался при 25° С. Вирулентность полученного вируса проверяли на гусеницах *Lambdina fiscellaria fiscellaria*, воспитывавшихся на бальзамической пихте. В тестовых гусеницах обнаружен полиэдроз. Полученный вирус полностью сохранял свою вирулентность [327].

Размножение вируса в культурах клеток открывает широкие перспективы микробиологической борьбы. При этом легко автоматизировать процесс и свести к минимуму энергетические потери; открываются широкие возможности селекции. Таким образом, этот метод совмещает достоинства двух вышеописанных и не имеет их недостатков.

Предполагается, что в дальнейшем микробиологическая борьба будет развиваться по пути размножения в культурах клеток высоковирулентных штаммов вируса, способных вызывать в диких популяциях эксплозивные эпизоотии. Возможно, что окажутся рентабельными комбинированные методы, сочетающие поддержание высоковирулентных штаммов вируса на клеточных культурах с размножением вируса перед его использованием в полевых условиях.

ПОЛУЧЕНИЕ ВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ И ОЦЕНКА ИХ АКТИВНОСТИ

На основе массового разведения насекомых на искусственных питательных средах в СССР создан и проходит испытание вирусный препарат Вирия-энш против непарного шелкопряда. Фирмы США выпускают несколько вирусных препаратов для защиты растений и в том числе поливириод для борьбы с сосновыми пилильщиками. Известны 2 биопрепарата на основе вирусов цитоплазматического полиэдроза японского производства, которые находят применение в истребительных мероприятиях

против хвойного коконопряда *Dendrolimus spectabilis* Bult и непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L.

Исходным материалом для получения вирусных препаратов в настоящее время служат, как правило, трупы насекомых, погибших от вироза (рис. 50).

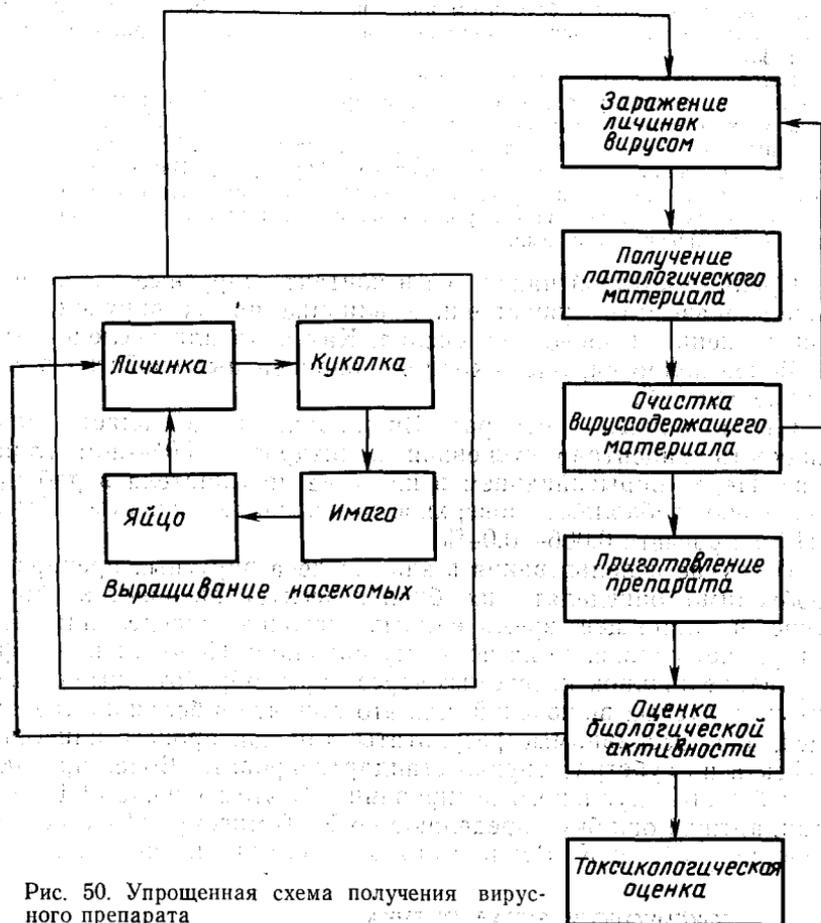


Рис. 50. Упрощенная схема получения вирусного препарата

Первые опыты с практическим использованием вирусов в большинстве случаев не предусматривали очистку включений от тканей насекомого-хозяина. Параллельно применяли «пассивный» метод очистки материала: вирусосодержащие трупы насекомых помещают толстым слоем в плотно закрывающиеся широкогорлые банки и оставляют при комнатной температуре на 4—5 недель. Ткани насекомых при этом полностью разлагаются, освобождая

вирусные включения (полиэдры, гранулы), обладающие значительной устойчивостью к гниению. Благодаря высокой удельной плотности они оседают на дно сосуда и образуют белый осадок вирусных телец-включений [47]. В других случаях высушенные трупы насекомых растирают, готовят суспензию в воде, которую фильтруют через несколько слоев марли и центрифугируют; осадок с вирусными включениями высушивают. Чтобы высушенный продукт хорошо диспергировался в воде при изготовлении рабочей суспензии, концентрат смешивают с бентонитом или лактозой [364]. Высокоочищенные вирусные включения получают с применением органических полярных растворителей [33].

Готовые препараты помимо инфекционного начала могут содержать наполнители, стабилизирующие вещества и прилипатели. В качестве наполнителей можно использовать бентонит, глину, тальк, каолин. Из прилипателей известны 0,1%-ная метилцеллюлоза [322], коллоидал Х-77, тритон Х-100, твин-2, алкиларилполигликоль диэтилового эфира [364]. Введение в состав вирусных препаратов некоторых ингредиентов, в частности 1%-ного сухого снятого молока, обеспечивает хорошую защиту действующего начала от инaktivации солнечными лучами.

Среда, с которой находятся в контакте вирусные включения, может оказывать существенное влияние на их вирулентность при хранении и после применения. Как показали исследования, наиболее полно вирусы сохраняют вирулентные свойства в глицерине [62, 134].

Отечественный препарат Вирин-энш представляет собой жидкость-концентрат суспензии полиэдров в 50%-ном глицерине. Перед опрыскиванием в качестве прилипателя в рабочую суспензию добавляют поверхностно-активное вещество (ПАВ) ОП-7 из расчета 0,006—0,04%.

В случае использования в защите леса вирусных препаратов необходимо определять их биологическую активность. Отсутствие в настоящее время единых методик определения ЛД₅₀ затрудняет сравнение их по этому признаку. Пероральное инфицирование личинок насекомых через корм, обработанный суспензиями вирусных включений, как это принято в большинстве случаев, дает несравнимые результаты, так как процесс нанесения инфекта на субстрат трудно стандартизировать. Более пригоден способ индивидуального дозирования. В этом случае ЛД₅₀ и ее стандартную ошибку определяют по К. Томпсону [99] с использованием таблиц К. Вейла методом скользящих средних.

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ВИРУСОВ

Энтомопатогенные вирусы действуют высокоселективно и не вызывают загрязнения окружающей среды. Применение вирусов против вредителей-фитофагов не может в силу биологических особенностей этих инфекционных агентов существенно влиять

на структуру биоценозов. Снижение численности вредного насекомого под действием вируса приводит к изменениям плотности популяций паразитов и хищников, но эти изменения можно рассматривать как косвенный результат межвидового взаимодействия фитофага с организмами, не являющимися для них пищей. Внесение в популяцию вредителя в период нарастания его численности высокоспецифичного инфекционного агента поддерживает численность насекомого-фитофага на низком уровне, не приводя его к полной гибели, т. е. дает возможность энтомофагам с низкой зоной активности, регулировать в дальнейшем численность насекомых на низком уровне [11].

Примером могут служить работы канадских исследователей с еловым общественным пилильщиком *Diprion hercyniae*. Массовое размножение этого вредителя было успешно ликвидировано с помощью вируса ядерного полиэдроза кишечного типа. После спада численности вредителя низкий уровень его популяции сдерживался паразитическими насекомыми. Таким образом, микроорганизм и паразиты действовали в пределах различных интервалов плотности популяции, что обычно происходит и без вмешательства человека.

Энтомопатогенные вирусы, циркулируя в биоценозе, сталкиваются не только с насекомыми, но и с другими животными. Искусственное применение рассматриваемой группы микроорганизмов приводит к резкому увеличению их в природе, поэтому необходимо тщательно изучать взаимодействие всех сочленов биоценоза с тельцами-включениями и вирионами энтомопатогенных вирусов на всех уровнях организации живой материи.

Опыты на лабораторных животных не показали какой-либо патогенности или токсичности инклюзионных вирусов. В частности, ядерные полиэдры из *Neodiprion swainei*, *Galleria mellonella* и *Erannis tiliaria* при пероральном введении мышам не оказывали на них никакого вредного влияния. Причем в пищеварительный тракт попадало довольно большое количество включений: 3 раза в сутки по 120—150 млн. в течение 9 суток. В экспериментах, собранных во время и после опыта, включения не обнаруживались. Скармливание эскрементов восприимчивым видам насекомых не вызывало их заболевания [336]. При введении белым мышам и морским свинкам ядерных полиэдров из *Heliothis zea* в виде телец-включений, вирионов или полиэдренного белка посредством ингаляции, перорального введения, внутривенно, подкожно, внутрибрюшинно и в мозг положительных результатов не получено. Из 155 подопытных животных ни у одного не отмечено никаких патологических изменений в тканях и органах, лишь одна особь погибла от острой пневмонии [264].

Скармливание больших количеств телец-включений различным видам птиц также не приводило к отклонениям. Полиэдры, пассированные через кишечник птиц, сохраняют морфологическую целостность и инфекционность для насекомых-хозяев [240]. Вирусные включения, попадая в пищеварительный тракт позвоночных, могут разрушаться под действием желудочного и кишечного соков или сохранять морфологическую целостность. В последнем случае сохраняется и их инфекционность.

В США проведены опыты по скармливанию человеку вируса ядерного полиэдроза хлопковой совки *Heliothis zea*. Десяти добровольцам, мужчинам

и женщинам в возрасте от 21 до 60 лет, вводили перорально инфекционные включения в желатиновых капсулах. Каждый человек в течение 5 суток принял около 6 млрд. полиэдров. Контрольной группе добровольцев вводили капсулы с эквивалентным количеством белка из тканей гусениц совки. Обе группы испытуемых подвергали медицинскому обследованию за день до начала опыта и затем на 10-е и 30-е сутки. Никаких различий в состоянии здоровья лиц обеих групп не обнаружено [253]. Тельца-включения испытуемого вируса инактивируются в желудочном соке человека на 50% за 40 мин и на 100% за 120 мин при температуре 37° С.

К. Иньоффо [264] в обзоре, посвященном видовой специфичности энтомопатогенных вирусов, подвел итоги опытов по определению влияния этой группы инфекционных агентов на позвоночных животных. Оказалось, что вирусы 22 ядерных полиэдрозов, шести гранулезов, шести вирусов, не образующих телец-включений, и одного цитоплазматического полиэдроза были опробованы против 20 видов позвоночных из четырех различных классов: амфибии (1 вид), рыбы (7 видов), птицы (6 видов) и млекопитающие (4 вида). Всего в экспериментах использовано около 4200 особей. Материал вводили различными способами. При этом ни в одном случае не отмечены токсичность, патогенность или аллергенность вирусного материала. Вирус ядерного полиэдроза хлопковой совки *H. zea* применяли 1—15 раз в сезон в течение нескольких лет на больших площадях различных сельскохозяйственных культур. Не отмечено ни одного случая токсичности или патогенности включений по отношению к людям, работавшим с ними. Не передается этот вирус и различным видам беспозвоночных, обитающих в общих стадиях с насекомым-хозяином.

Взаимодействие энтомопатогенных вирусов с клетками позвоночных исследовали и в условиях *in vitro*. Семь линий клеток млекопитающих опробованы на восприимчивость к ядерным полиэдрозам *Bombux mori* и *Heliothis zea*, цитоплазматическому полиэдрозу *Bombux mori* и радужному вирусу долгоножки *Tirula pallidosa*. Ни в одном случае не отмечено продуктивного взаимодействия системы вирус-клетка.

У рассматриваемой проблемы есть еще один аспект. В последние 10 лет получены данные о мутагенном действии вирусов. Одним из первых было сообщение С. И. Алиханяна [3], работавшего с фагами актиномицетов. Позднее была показана мутагенная активность вирусов герпеса, кори, ветряной оспы и др. Эти вирусы вызывают в клетках хозяев хромосомные и хроматидные aberrации. Исследования мутагенного действия включений вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда и радужного вируса долгоножки при кормлении ими личинок дрозофилы и инъекции имаго показали, что они вызывают достоверное повышение сцепленных с полом рецессивных летальных мутаций в 3—5 раз [2]. Характер вызываемых вирусами мутаций — хромосомные aberrации. Способность вирусов вызывать и генные мутации в настоящее время не известна. Предполагают, что мутагенное действие вирусов аналогично действию крупных полимерных молекул [23].

Работы по изучению мутагенной активности вирусов, пригодных для использования в биометодe, должны быть продолжены. Однако нет оснований предполагать, что эти инфекционные агенты могут быть более активными в отношении мутагенного действия, чем, например, обширные группы вирусов теплокровных животных, вирусов, поражающих растения, и некоторых других, с которыми человек и его предки сосуществовали в течение тысячелетий.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ПРОТИВ ВРЕДИТЕЛЕЙ ЛЕСА

Усилившийся в последние годы интерес к вирусам как агентам биологической борьбы способствует интенсивному изучению вредителей-фитофагов и ежегодному открытию десятков новых возбудителей вирусозов. К настоящему времени достаточно полная информация по естественному распространению вирусов и возникновению вирусных эпизоотий получена лишь для некоторых вредителей леса, поэтому для исследователей в этом направлении открываются широкие перспективы.

Вирусы ядерного полиэдроза кишечного и общего типа достаточно хорошо изучены и давно применяются в борьбе с насекомыми. Изучение гранулеза и цитоплазматического полиэдроза показывает, что возбудители этих болезней также могут быть использованы против вредителей леса.

В нашей стране и за рубежом накоплен некоторый опыт практического использования вирусов против лесных вредителей-фитофагов. Наибольшие успехи достигнуты в борьбе с пилильщиками и отдельными видами чешуекрылых.

В настоящее время находят практическое применение различные методы использования энтомопатогенных вирусов. Чаще всего проводят сплошную обработку насаждений инфекционным материалом или интродукцию вирусов в популяции насекомых на ограниченном пространстве [113]. Известны опыты по расселению инфицированных особей в здоровые популяции фитофагов [38]. Лучшие практические результаты дает сплошная обработка насаждений.

Первые успешные опыты вирусологической борьбы, ставшие классическими, относятся к концу 30-х — началу 40-х годов. В 1939 г. против личинок елового общественного пилильщика *Gilpinia hegsumiae* в Канаде (шт. Онтарио) был применен вирус полиэдроза. Вирусной суспензией опрыскали 7 деревьев. Возникшая эпизоотия быстро охватила весь очаг площадью около 1000 га. Ежегодно повторяясь, эпизоотия в течение 4-х лет удерживала популяцию вредителя на низком уровне. В настоящее время полиэдроз успешно регули-

рует численность пилильщика в Канаде, вызывая в ряде случаев гибель 97—100% личинок [151].

В 1950 г. вирус ядерного полиэдроза *G. hercyniae* был внесен в популяцию вредителя, свободную от вируса [217] в северо-восточной части Сев. Америки. В течение трех поколений наблюдалась высокая смертность личинок в радиусе 500 футов (1 фут=30 см), а больных личинок обнаруживали в 200 футах от места обработки. Оставшиеся в природе вирусы оказались устойчивыми, проявляли патогенность в последующие годы, являясь мощным фактором регулирования численности популяции соснового пилильщика.

Наиболее успешная борьба проводится с рыжим сосновым пилильщиком. Вирус этого вредителя впервые применен в Канаде (шт. Онтарио). Выезженные в 1949 г. из Швеции погибшие от вироза личинки были изучены в лабораторных условиях. Выделенный из личинок вирус оказался высоко вирулентным к местной популяции пилильщика. ЛД₅₀ составляла 100—500 полиэдров на личинку [215]. После массового производства вируса в лаборатории его применяли в сосновых насаждениях с высокой численностью вредителя; лесной массив обрабатывали из пневматического опрыскивателя водной суспензией полиэдров. Концентрация 10⁶ полиэдров в 1 мл вызвала быструю и высокую смертность молодых личинок. Уже на 7—10-е сутки смертность достигла 91,6%. При концентрации 10⁴ смертность была также высокой, но менее быстрой. Эффективности борьбы признана бесспорной, так как популяция рыжего пилильщика была подавлена на большой площади. С тех пор этот патоген применяется в спелых сосновых насаждениях Канады для краткосрочного контроля вредителя [213].

С 1950 г. в сосновых насаждениях США проводили борьбу с рыжим пилильщиком с применением вируса кишечного полиэдроза. П. Дауден и Х. Гирс [232] провели первые испытания вируса с использованием водной суспензии с титром около 250 млн. полиэдров на галлон (13,5 л). В проведенных опытах получены хорошие результаты. Однако вирус, внесенный в молодые плантации сосны с невысокой плотностью хозяина, оказался недостаточно эффективным. Это связано с тем, что невысокие молодые насаждения не имеют достаточного количества хвои для поддержания высокой численности популяции пилильщика [342]. В результате этого в таких насаждениях вирус не сохраняется. Популяция должна иметь определенный порог плотности для создания возможности передачи вируса от одного поколения к следующему. Следовательно, для полного предохранения от вредителя молодые насаждения требуют повторной обработки. Вирус полиэдроза рыжего соснового пилильщика считается в США одним из самых эффективных агентов биологической борьбы. Даже частные организации и владельцы используют его для защиты своих сосновых плантаций.

Об успешной вирусной борьбе с этим вредителем в Шотландии сообщает К. Риверс [312]. Вирус использовали в концентрации 6·10⁴ полиэдров в 1 мл с нормой расхода водной суспензии 2 л/га. Максимальная гибель личинок пилильщика отмечалась к концу 5-й недели после обработки. Пораженных вирусом насекомых находили и на следующий после обработки год.

Использование вируса в Югославии вызвало 90%-ную гибель личинок рыжего пилильщика первых трех возрастов через 5—18 суток. Зараженные личинки старших возрастов в большинстве заканчивали развитие и передавали вирус трансвариально потомству. Для опрыскивания одного дерева сосны расходовали 0,5—1 л суспензии с титром 2·10⁶ полиэдров в 1 мл, что соответствовало 5000 зараженным личинкам IV возраста на 1 га.

Сообщение об успешной вирусной борьбе с рыжим пилильщиком в ГДР находим в публикации И. Шонхера [321]. Сосновые насаждения обрабатывали вирусной суспензией в концентрации 10⁶ полиэдров в 1 мл на площади 2,6 га. Инфекция распространилась на 40—150 м от обработанного очага.

В 1970 г. в Сев. Кальмаре (Швеция) был применен вирус против рыжего пилильщика, вспышка которого развивалась на площади 10 тыс. га [233]. Обработку вели с самолета методом «зебры» (полосами) водной вирусной суспензией в концентрации 0,5—2 млрд. полиэдров в 1 л. Полосный метод предполагал вторичное инфицирование и распространение инфекции на необработанные полосы. В течение месяца после обработки личинки пилильщика погибли на всей площади.

В Советском Союзе успешная авиационная вирусологическая борьба осуществлена в 1969 г. в Большинском лесничестве Ростовской обл. [42]. В этом лесничестве к весне 1969 г. более 700 га сосновых насаждений было под угрозой сплошного объедания. В конце апреля в период массового отрождения личинок авиаопрыскивание провели самолетом АН-2М на трех пробных участках вирусной суспензией различной концентрации полиэдров на 1 га (на первом участке — 4 и на втором — 2 млрд., на третьем — 500 тыс.); смертность личинок, начавшаяся на 11—12-е сутки после обработки, составила соответственно 100; 97 и 92%. На контрольном участке, расположенном в 8 км от обработанных насаждений, смертность личинок не наблюдалась. В 1970 г. обработанная вирусным препаратом площадь находилась под наблюдением. На первом участке гнезда вредителя встречались единично, и болезнь среди ложногусениц не проявлялась, на втором и третьем личинки гибли от полиэдроза в первых трех возрастах. Это позволило предположить, что вирус, находящийся в кроне деревьев в течение года, в условиях Ростовской обл. полностью инактивируется. На втором и третьем участках болезнь проявлялась вследствие того, что часть популяции в период искусственно вызванной эпизоотии выжила и дала инфицированное вирусом потомство. Причем, чем большая часть популяции сохранялась после эпизоотии, тем интенсивнее проявлялся полиэдроз в следующем поколении вредителя.

В. Н. Жимерикин [56] повторил вирусологическую борьбу с рыжим пилильщиком в Городищенском и Донецком лесхозах Ростовской обл. Насаждения обрабатывали наземным и авиационным способами. Наземным способом было обработано 7 га насаждений сплошным и локальным методами в период развития личинок II возраста. При сплошной обработке использовали концентрацию суспензии 9 и 5,5 млрд. полиэдров на 1 га, при локальной — 5,5 млрд. В обоих случаях гибель личинок началась на 10—14-е сутки после обработки. Смертность в конце эпизоотии составила при сплошной обработке 98 и при локальной 86%. Авиационное опрыскивание проводили на площади 1555 га сплошным и полосным методами. Концентрация рабочих суспензий составляла 0,5—8 млрд. полиэдров на 1 га. Гибель личинок началась на 6—10-е сутки, а острый период болезни отмечен на 13—21 сутки после обработки. Смертность личинок на всей обработанной площади составила 68—100%.

Положительные результаты, полученные в Ростовской обл., указывают на перспективность авиационной вирусологической борьбы с рыжим сосновым пилильщиком на больших площадях. По исследованиям в хвойных насаждениях Сибири [40], вирусная эпизоотия в популяциях рыжего пилильщика возникает при опрыскивании суспензией в концентрации 4—200 млрд. полиэдров на 1 га. При этом достигается 95—100%-ная смертность личинок младших возрастов. Разная степень применяемой концентрации зависит от характера насаждений и плотности популяции вредителя. Так, при обработке минимальной концентрацией вирусов личинок II—III возрастов при максимальной чис-

ленности вредителя в 10-летних культурах наблюдается их 98—100%-ная гибель. В таких условиях в спелых насаждениях с хорошо развитой кроной требуется 120 млрд полиэдров на 1 га.

Внесенная в популяцию рыжего соснового пилильщика инфекция обладает определенной экспансией. Так, за 20 суток инфекция распространяется от места обработки на 40 м и более. В центре искусственного эпизоотического очага смертность вредителя достигает 98—100%, на расстоянии 14 м — 40 и 21 м — всего 12%. Следовательно, при высокой численности вредителя насаждения, примыкающие к обработанным, остаются под угрозой повреждений. Внесение инфекции локально или полосами возможно при невысокой численности вредителя.

Опыт вирусологической борьбы с пилильщиком сосны Банкса *Neodiprion swainei* Middl. был проведен в Канаде с использованием двух форм вирусных препаратов [335]. Препараты представляют собой водную суспензию с титром $2 \cdot 10^6$ полиэдров на 1 мл, но в один добавляли латекс, а в другой — бентонит, магму и дизельное топливо; препараты использовали в полевых условиях при мелкокапельном опрыскивании больших лесных массивов.

Смертность личинок пилильщика в обоих случаях была высокой. Однако первый препарат оказался более эффективным при высокой численности вредителя, а другой — при низкой. Обследование насаждений после обработки показало полное уничтожение пилильщика. В период коконирования личинок на обработанной территории коконы не были обнаружены. Кроме того, в следующем поколении пилильщика встречались больные вирусом личинки в насаждениях, удаленных от места обработки; следовательно, вирус сохранился в природе и распространился в популяции хозяина.

Успешные опыты по применению вируса ядерного полиэдроза против пилильщика *Neodiprion pratti pratti* Rohw. были проведены в США (шт. Сев. Каролина и Виргиния) [290]. Этот пилильщик является серьезным вредителем нескольких видов сосны: виргинской *Pinus virginiana*, ежовой *P. echinata* и жесткой *P. rigida*. Последняя вспышка его массового размножения охватила насаждения площадью 14 млн. акров и причинила серьезный ущерб. На отдельных участках леса против личинок пилильщика была использована вирусная суспензия с титрами $220 \cdot 10^9$, $10 \cdot 10^9$ и $5 \cdot 10^9$ полиэдров на акр. Суспензия была получена из погибших и больных кишечным полиэдрозом личинок. Участки обрабатывали с вертолета. На 6—10-е сутки началось заболевание личинок, а через 16 суток смертность их достигла 100%. Эти опыты показали, что пилильщик *N. pratti* в период массового размножения может эффективно контролироваться вирусом ядерного полиэдра.

Наряду с успешным применением вирусов против ряда пилильщиков некоторые опыты дали худшие результаты. Так, в США борьба с пилильщиком *Neodiprion pratti banksiana* Rohw. в полевых условиях привела к смертности только 70% личинок [211]; при борьбе с пилильщиком *Neodiprion lecontei* Fitch. в одних случаях возникали острые эпизоотии в год борьбы и смертность вредителя наблюдалась в следующем поколении, а в других положительные результаты не были получены [219]. Поэтому с экономической точки зрения применение вирусов против этих вредителей пока не признается перспективным.

В ряде стран проводятся полевые опыты по борьбе с лесными чешуекрылыми и другими насекомыми с использованием вирусов. Лучшие результаты получены в борьбе с волнянками и коконопрядами.

В настоящее время значительные успехи достигнуты в опытных и опытно-производственных испытаниях вируса ядерного полиэдроза против непарного шелкопряда. В Советском Союзе проводятся испытания различных штаммов ядерного полиэдроза и экспериментального вирусного препарата Вирин-энш. В 1959 г. осуществлены оригинальные опыты по заражению кладок яиц непарного шелкопряда в Савальском лесхозе Воронежской обл. [113]. Специальным инжектором вирусную суспензию вносили внутрь кладок яиц вредителя (4—8 млн. полиэдров на одну кладку). Отродившиеся гусеницы заражались вирусом и, поднимаясь в крону для питания, разносили инфекцию в пределах кроны дерева. Кроме того, обладая большой аэрофорной способностью, гусеницы разносились ветром по насаждению, распространяя инфекцию. Больные гусеницы встречались на расстоянии 0,5—2,5 км от созданных очагов инфекции. Учет численности непарного шелкопряда следующего поколения показал, что на инфицированном участке леса вредитель практически отсутствовал.

Положительные результаты получены и в последующие годы в Воронежской, Владимирской и Волгоградской областях. В 1960 г. в Сергиевском лесхозе Куйбышевской обл. [115] кладки непарного шелкопряда обрабатывали вирусной суспензией с помощью опрыскивателя на площади 1,2 тыс. га лесного массива. В насаждениях, где на дерево приходится семь-восемь кладок, рекомендуется использовать суспензию концентрацией 3 млн. полиэдров, при двух-четырех кладках — 30 млн. полиэдров, при одной кладке — 300 млн. полиэдров.

В 1971 г. в лесах Волгоградской обл. применили Вирин-энш наземным и авиационным методами [116]. Наземную обработку проводили способом опрыскивания кладок яиц непарного шелкопряда. При авиационном методе расхода суспензии составляет 50 л/га. Чтобы препарат лучше прилипал к листьям, перед обработкой в суспензию добавляли 0,4% эмульгатора ОП-7. Эффективность борьбы составила при наземной обработке 77—96% и при авиационной 74—77%. Сравнение этих методов показывает, что наземная обработка более эффективна, но трудоемка, при авианопрыскивании обеспечивается быстрая защита насаждений, но смертность гусениц значительно ниже.

Проведенная в 1972—1973 гг. борьба с непарным шелкопрядом в Чернореченской лесной даче водоохранной зоны Грозного и в Самурском лесхозе Дагестанской АССР еще раз показала эффективность метода Е. В. Орловской. В Самурском лесхозе на площади 833 га весной было создано 7 очагов инфекции общей площадью 19 га с помощью препарата Вирин-энш. Уже в конце июня-июля возникла эпизоотия на всей площади, подавившая вспышку массового размножения вредителя. Под Грозным очаг непарного шелкопряда был подавлен на площади 1400 га.

В США также интенсивно проводят исследования по использованию вируса ядерного полиэдроза для борьбы с непарным шелкопрядом на высоких уровнях его численности [220]. Первые опыты в смешанных дубовых насаждениях нескольких штатов были поставлены еще в 1963 г. [314]. Борьбу проводили против гусениц 2-го возраста опрыскиванием насаждений вирусной суспензией в концентрации $2,7 \cdot 10^8$ полиэдров в 1 мл при норме расхода 4 американских галлона на акр. Первые больные гусеницы были обнаружены через 15 суток после опрыскивания, острый период болезни пришелся на 19-е сутки; смертность личинок составила 80%, но вымирание гусениц продолжалось 34 суток.

В Сардинии в 1965—1966 гг. были подавлены очаги непарного шелкопряда в насаждениях пробкового дуба *Quercus suber* L. с помощью вируса ядерного полиэдроза. При этом использовали суспензию в концентрации 10^8 — 10^9 полиэдров в 1 мл при норме расхода 4 галлона на акр. Смертность гусениц составила 90—100% [287].

Интересные опыты по применению вируса против гусениц монашенки *Lymantia monacha* L. проводят в Скандинавских странах. Очаги монашенки в Швеции зарегистрированы с 1969 г. [233]. В провинции Сконе (юг Швеции) были собраны яйца монашенки (100 тыс.) и привезены в Зоологический институт Фрайбургского университета (ФРГ). Вышедших из яиц гусениц заразили ядерным полиэдрозом, штаммом вируса, полученного из Швейцарии. Больных гусениц использовали для приготовления концентрированной суспензии, которой затем с помощью авиации опрыскивали лесной массив в Сконе. Лиственные насаждения обрабатывали в июне водной суспензией полиэдров (концентрацией 10 млрд. в 1 л) смешанной с метилцеллюлозой. Через 9 суток после обработки появились первые больные гусеницы, а спустя еще 2-е суток началась повальная гибель монашенки. В течение 7 суток с начала болезни популяция вредителя практически вымерла. После эпизоотии в кронах деревьев обнаруживали лишь единичные гусеницы.

Против главного вредителя пихты в Японии — шелкопряда *Lymantia fumida* в 1966 г. были испытаны вирусы ядерного и цитоплазматического полиэдрозов в полевых условиях на площади 135 акров [276]. Применяли смешанную суспензию в концентрации $5 \cdot 10^5$ полиэдров в 1 мл с нейтральной клеевой добавкой; норма расхода около 60 л/га. Смертность гусениц началась через неделю после обработки и достигла максимума через 2—3 недели; общая смертность от смешанной инфекции составила 83%. На фазе куколки смертность вредителя продолжалась от ядерного полиэдроза. Вирусы полиэдрозов можно рассматривать как важный контролирующий популяцию фактор.

В борьбе с некоторыми коконопрядами-вредителями леса используют вирусы в нашей стране и за рубежом. Против самого опасного вредителя хвойных таежных лесов Сибири и Дальнего Востока — сибирского шелкопряда *Dendrolimus sibiricus* Tschw. в разные годы испытывали вирус гранулеза. Первые полевые испытания провел в Сибири В. П. Лукьянчиков [93]. Вирусную суспензию применяли против гусениц старших возрастов. Заболевшие гусеницы появились только на 30-е сутки после обработки. Через 41 суток после инфицирования обнаружилась гибель куколок от вируса. Общая смертность вредителя на обработанном участке леса составила 99%.

Против кольчатого шелкопряда *Malacosoma neustria* L. был впервые применен вирус ядерного полиэдроза в 1957 г. в Закарпатье [14]. Для приготовления вирусной суспензии предварительно были собраны погибшие от вируса гусеницы, растерты в воде и отфильтрованы. Фильтрат содержал большое количество полиэдров. Разбавив фильтрат в большом количестве воды получили рабочую суспензию и с самолета обрабатывали большой лесной массив. Через 5—6 суток среди гусениц возникла острая эпизоотия.

В Латвии против кольчатого шелкопряда проводили вирусологическую борьбу в 1970 г. [61]. Рабочую суспензию с титром $1 \cdot 10^6$ полиэдров в 1 мл приготавливали из вирусного материала, сохранившегося в засушенных и мацерированных гусеницах, погибших от ядерного полиэдроза. Для обработки насаждений использовали очищенный фильтрованием и центрифугированием вирусный материал. Через 7 суток после опрыскивания началась гибель гусениц, продолжавшаяся 12 суток. Общая смертность вредителей на обработанном участке составила 99,75%.

Полевые опыты М. Дикусара [48] по использованию вирусной суспензии с титром $1,2 \div 12 \cdot 10^6$, проведенные в Молдавии против гусениц американской белой бабочки I—II возрастов, также дали хорошие результаты. Смертность гусениц в обработанных насаждениях составила 98%.

Вирусологическую борьбу с американскими кольчатыми шелкопрядами *Malacosoma disstria* и *M. fragile* проводили в США и Канаде. Высокая смертность гусениц (92%) отмечена при обработке насаждений вирус-

ными суспензиями 10^7 полиэдров в 1 мл при норме расхода 5—10 американских галлонов на акр.

Борьбу с сосновым шелкопрядом *Dendrolimus spectabilis*, дающим в Японии опустошительные вспышки массового размножения в сосновых лесах, проводили в 1965 г. с помощью вируса цитоплазматического полиэдроза. Вирус в виде водной суспензии полиэдров с нейтральным клеем был применен с помощью обычного оборудования с вертолета. Лучший результат был получен при использовании концентрации суспензии $5 \cdot 10^{10}$ полиэдров на акр. Борьбу вели с гусеницами VII—VIII возрастов [276].

Вирус цитоплазматического полиэдроза был применен во Франции в борьбе против соснового походного шелкопряда *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Для этого в очагах вредителя были собраны гусеницы, зараженные вирусом в лаборатории. Из погибших гусениц приготовили вирусную суспензию и обработали в 1958—1959 г. с вертолета 1250 акров соснового леса в Монт-Вентоксе суспензией $4,8 \cdot 10^8$ полиэдров на акр. Эпизоотия среди гусениц началась через месяц после обработки. К моменту окукливания гусениц погибло 97% популяции вредителя, в то время как на необработанных участках смертность составила всего 10% [207].

В Канаде против листовертки *Choristoneura fumiferana* применяют три вида возбудителей виروزов: вирусы гранулеза, цитоплазматического и ядерного полиэдроза. В 1960 г. были проведены небольшие полевые испытания ядерного полиэдроза и гранулеза в насаждениях бальзамической пихты против гусениц III—IV возрастов. Вирусная суспензия в концентрации 10^9 была применена с помощью ручных опрыскивателей и небольших портативных аэрозольных генераторов. Гибель гусениц началась на 14—20-е сутки. Результаты борьбы с листоверткой дали обнадеживающие результаты.

Динамика смертности личинок при использовании вирусного препарата зависит от фазы вспышки насекомого. Обычно в начальный период формирования очага, когда численность фитофага интенсивно нарастает и личинки характеризуются высоким уровнем обменных процессов, выраженным повышенным содержанием энергетических веществ, эффект могут дать лишь более концентрированные дозировки патогенного агента. В эруптивной фазе вспышки размножившийся в массе вредитель начинает испытывать недостаток в пище, переходит на питание дополнительных кормовыми растениями, что приводит к ослаблению насекомого; даже незначительное количество инфекционного материала может вызвать опустошительные эпизоотии. В таких случаях, как правило, наблюдается длительная депрессия вида.

Для успешного ведения вирусологической борьбы с фитофагами необходимо учитывать, что личинки насекомых в период активной фазы развития довольно резко меняют восприимчивость к вирусам. Большинство исследователей на основании проведенных качественных опытов по определению степени вирулентности считают наиболее чувствительными личинки первых возрастов.

Г. Стайрз [341], изучая чувствительность к вирусу ядерного полиэдроза гусениц различных возрастов шелкопряда *Malacosoma disstria* Hübr, установил, что при пероральном заражении ЛД₅₀ для личинок I возраста составляет

около 50 полиэдров, а отдельные особи IV возраста переносят дозу более 50 млрд. полиэдров. В этом опыте насекомые, только что вышедшие из яйца, в среднем в 68 тыс. раз более восприимчивы к полиэдренному вирусу, чем личинки IV возраста.

В Японии успешно проводят борьбу с хвойным коконопрядом *Dendrolimus spectabilis* Bult. с использованием вируса цитоплазматического полиэдроза. Положительный эффект получен как в плотных, так и в разреженных популяциях вредителя. Наиболее эффективной является доза $1 \div 3 \cdot 10^{11}$ полиэдров на 1 га. Японские исследователи считают, что лучше всего применять вирус против личинок старших возрастов, так как в этот период они потребляют наибольшее количество пищи, с которой вирус попадает в организм. Большинство же исследователей рекомендуют проводить вирусологическую борьбу с личинками I возраста, характеризующимися наибольшей чувствительностью к инклюзионным вирусам. Следовательно, наиболее удобное время для распыления препарата не обязательно должно совпадать с самой восприимчивой стадией личиночной фазы.

При определении сроков и способов вирусологической борьбы с тем или иным насекомым следует учитывать особенности биологии вредителя, роль его в экосистеме, физиологическое состояние и численность. Если заселенность насаждений настолько велика, что им угрожает полное объедание, необходимо проводить борьбу с личинками первых возрастов. При этом целесообразно обрабатывать насаждения за 1—2 суток до выхода личинок из яиц.

Метод интродукции вирусов в плотные популяции насекомых на ограниченном пространстве применяют значительно реже, но в некоторых случаях он имеет решающее значение в регуляции численности вредителя. Классическим примером может служить вирусологическая борьба с еловым общественным пилильщиком в Канаде [210].

Локальное внесение возбудителя ядерного полиэдроза в популяцию непарного шелкопряда проведено в Савальском лесничестве Воронежской обл. [113]. На отдельном участке насаждений в каждую кладку яиц было введено 4—8 млн. полиэдров вируса, предварительно пассированного через гусениц ивовой волнянки. Учет смертности от полиэдроза выявил эпизоотию в квартале, где был внесен вирус. В пробе с 10 деревьев на опытном участке количество гусениц, погибших от полиэдроза, было в среднем в 30 раз больше, чем в пробах на расстоянии 100—500 м от него.

Положительные результаты получены с интродукцией вируса гранулеза сибирского шелкопряда в популяции соснового шелкопряда, свободные от вируса. Интродукция была осуществлена в 1964 г. в период нарастания численности вредителя в Воронежской обл. Вирус способствовал быстрому прекращению вспышки массового размножения шелкопряда в Савальском лесничестве [113].

Известны специальные методы распространения вирусов в популяциях вредных насекомых, например обработка имаго материалом с включениями и выпуск в природу. Так, опрыскивание бабочек металловидки *Trichoplusia ni* вирусной взвесью большой концентрации или опыление сухими включениями вызывает их смертность до 51%. Скармливание взрослым насекомым вируса приводит к гибели 38% гусениц, полученных от таких бабочек [234].

Расселение больных сфероидозом личинок хруща *Melolontha melolontha* L. на участках, где заболевание в природе не встречалось, вызвало снижение численности вредителя. Через 4 года после расселения личинок отмечено 15—18% особей, пораженных оспенным вирусом.

В Канаде выявлена возможность расселения инфицированных вирусом куколок пилильщика *Diprion hercyniae* в целях создания эпизоотий [329].

В Ростовской обл. проведен эксперимент по созданию искусственной эпизоотии среди здоровой популяции рыжего соснового пилильщика посредством расселения в насаждениях коконов с эонимфами, предварительно инфицированными полиэдренным вирусом [38]. Было расселено около 100 эонимф в 20 точках на площади 0,12 га. Такое же количество инфицированных насекомых содержали в лаборатории для установления процента выхода имаго и их жизнеспособности. Характеристика этой группы насекомых в сравнении с контрольной приведена в табл. 31. На следующий год максимальное количество погибших личинок I возраста обнаружено в лесонасаждениях, где проводилось расселение эонимф. В рядах сосен, непосредственно примыкающих к этим насаждениям, смертность насекомых резко снизилась, и на расстоянии 40—50 м насчитывали единичные гнезда, инфицированные вирусом ядерного полиэдроза.

Таблица 31

Сравнение некоторых характеристик имаго рыжего соснового пилильщика из разнокачественных популяций

Характеристика имаго	Насекомые из популяции			
	здоровой		пережившей эпизоотию	
	самки	самцы	самки	самцы
Масса, мг	36,1	9,5	35	9,1
Соотношение полов	1,7	1,0	1	5,3
Плодовитость:				
потенциальная	80,0	—	66	—
фактическая	41,0	—	18	—
Встречаемость псевдоопухолей, %	26,0	1,0	37	30,0
Продолжительность жизни, сутки	6,5	6,5	4	4,0

Ограниченное распространение болезни в популяции рыжего соснового пилильщика, видимо, связано с тем, что имаго, инфицированные вирусом, обладают небольшой продолжительностью жизни и малой активностью. Ложногусеницы, выходящие из яиц, отложенных больными самками, быстро гибнут, не успевая мигрировать на соседние ветви, и таким образом источники инфекции остаются локализованными в ограниченных участках крон деревьев. Целесообразно осуществлять механический контакт вируса с физиологически активными насекомыми. Это может способствовать эффективному распространению инфекционного агента. Однако в настоящее время опыта подобного

применения энтомопатогенных вирусов очень мало, поэтому для разработки конкретных рекомендаций необходимы широкие экспериментальные исследования.

ВИРУСНЫЕ ПРЕПАРАТЫ В ИНТЕГРИРОВАННОЙ СИСТЕМЕ ЗАЩИТЫ ЛЕСА

Система лесозащиты включает целый комплекс методов. В схеме стратегического плана защиты растений (рис. 51), предложенного Б. В. Добровольским [49, 50], выделено семь групп методов: селекционные, агротехнические (лесохозяйственные), химические, физические, механические, биологические и карантинные. Интегрированная борьба с вредителями леса предполагает их динамичное сочетание.

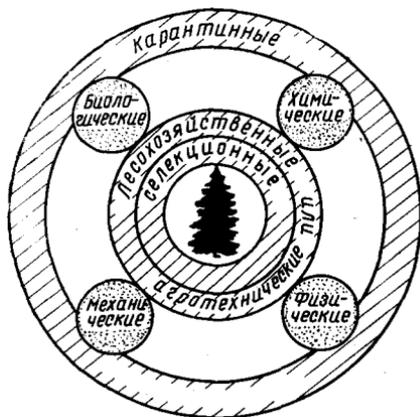


Рис. 51. Схема стратегического плана защиты растений [50]

Поскольку решающим фактором регулирования численности особей является деятельность естественных врагов, то им принадлежит ключевое положение в системе интегрированной борьбы [239].

В приведенном на рис. 51 схематическом плане защиты растений решающая роль отведена профилактическим или предупредительным методам. Химический, биологический, физический и механический методы являются истребительными и применяются в том случае, когда вредители представляют опасность для насаждений. Поэтому в схеме истребительные методы обозначены в виде кружков.

Создание устойчивых к вредителям лесонасаждений и рациональная система лесохозяйственных мероприятий служат основными профилактическими мерами и способствуют сохранению относительной стабильности биоценоза. В тех случаях, когда численность вредителей превышает экономический порог вредоносности, используются истребительные мероприятия. Среди истребительных мероприятий интегрированной системы ведущее место могут занять вирусные препараты.

По существу, любое использование вирусов для борьбы с насекомыми является интегрированной борьбой, так как при этом

полностью сохраняются все агенты естественного контроля. Интегрированная борьба предполагает нестандартное сочетание энтомопатогенов различных групп, энтомофагов и пестицидов. Сочетать пестициды с энтомофагами трудно, так как они практически исключают друг друга. Микробиологические агенты сочетаются со многими пестицидами, и при интегрированном методе допускается одновременное их использование.

Вирусные препараты как компоненты системы интегрированной борьбы обладают рядом положительных особенностей. Вирусы значительно дешевле любого агента, применяемого в биологической борьбе; хорошо хранятся в производственных условиях и длительное время сохраняются в биоценозе; для их распространения допускается использование любой техники; они способны накапливаться в популяции; в высокой степени обладают избирательностью, поэтому, по крайней мере, в условиях леса их применение не представляется опасным для человека и теплокровных животных. Если эти свойства вирусов учитываются, использование их перспективно в любой системе интегрированной борьбы [259].

Академик С. С. Шварц [176] указывает, что борьбу с вредителем надо вести, если численность его невысока, животные встречаются лишь в немногих местах, где переживают неблагоприятный период, поэтому их истребление может способствовать полной ликвидации численности вида, т. е. следует не бороться с массовым размножением, а не допускать его. К таким же выводам пришли К. Уатт и Е. Книплинг [271], обнаружившие путем математического моделирования преимущество превентивной борьбы, а также Х. Гейлер [241], обосновавший перспективность перманентной борьбы с вредителями. В таких программах борьбы перспективно использование вирусных препаратов низкой концентрации с помощью аппаратуры, обеспечивающей высокую степень дисперсности.

А. Т. Науменко [107] считает целесообразным проводить борьбу на предвспышечном уровне. Известно, что среди стрессоров, стимулирующих латентную вирусную инфекцию, одно из первых мест занимает эффект скученности и внешняя вирусная инфекция. Перспективным представляется превентивное опрыскивание низкими дозами вирусов популяций насекомых плотностью, близкой к уровню, на котором наблюдаются существенные экономические последствия. При этом можно ожидать эффект, несоизмеримый с расходом вируса, так как активизация естественной латентной инфекции и развитие острых процессов у здоровых, но особенно восприимчивых особей обеспечивает размножение вирусов на обработанных участках, а популяция с широким распространением латентной инфекции не способна выдержать давление стресса, если состояние среды позволяет ей увеличить свою численность.

Другой метод основан на активизации естественной латентной инфекции с помощью ничтожных доз малотоксичных химических соединений. Этим способом удалось вызвать 100%-ную гибель монашенки при использовании вирусов полиэдроза и 0,06%-ного раствора сульфата меди.

Советскими исследователями [66, 138, 148, 161, 162] разработан способ комбинированного применения биопрепаратов

с малыми дозами инсектицидов. Этот способ можно считать одним из наиболее простых приемов интегрированной борьбы. Синергизм в данном случае объясняется как повышение восприимчивости ослабленного сублетальной дозой инсектицида хозяина. При этом расход инсектицида и биопрепарата можно снизить в 4—10 раз без ущерба для эффективности борьбы. Подавляющее большинство опытов проведено с бактериями и грибами; вирусы изучены хуже, но нет оснований полагать, что они плохо совместимы с инсектицидами. Литературные данные о комбинированном использовании вирусов с сублетальными дозами пестицидов указывают на перспективность этого метода.

Положительные и отрицательные стороны этого способа с 1968 г. проверялись Г. Бензом [197], который установил синергизм между вирусом гранулеза листовертки *Zeigraherga diniana* и сублетальными дозами инсектицидов ДДТ, ДДД, линдан, нирозан, карбарил и пиретрум. В публикациях Л. Ковачевича [273, 275] сообщается об активации гранулеза американской белой бабочки сублетальными дозами ДДТ и линдана. С. Келлер [270] сообщил о хороших результатах, достигнутых на яблонной плодовой гортанке *Laspeyresia pomonella* L. при использовании вируса гранулеза вместе с фунгицидами. У. Шнидер [320] в лабораторных испытаниях установил синергизм между вирусом ядерного полиэдроза *Ptychopoda seriata* Schrk. и инсектицидами карбарин, ДДТ, ДДД, нирозан, имидазол. К. Иньоффо и Е. Мантойя [265] указывают на синергизм ядерного полиэдроза вируса *Heliothis zea* и карбарила. При полевых испытаниях в очагах непарного шелкопряда сублетальные дозы ДДТ вызывали активацию латентного вируса ядерного полиэдроза у гусениц [273, 274]. В 1972 г. проведены широкие полевые испытания комбинированных препаратов из вирусов и малых доз инсектицидов в Канаде (шт. Онтарио), где авиационным и аэрозольным методом обрабатывали очаги елового почкоеда *Choristoneura fumiferana* (Clem.). В опытах были использованы чистые суспензии вируса ядерного полиэдроза, оспоподобного вируса, смесь этих вирусов и смесь каждого вируса с малыми дозами активного ингредиента. Удовлетворительные результаты были получены при обработке суспензией вируса ядерного полиэдроза. При добавлении к этой суспензии инсектицида смертность гусениц значительно увеличивалась.

При использовании оспоподобного вируса отмечена низкая смертность гусениц так как болезнь развивается очень медленно, более 25 суток. Добавление к вирусу малых доз инсектицида не повышает смертность гусениц, но влияет на половой индекс в имагинальной фазе: соотношение полов становится 1 : 2 в пользу самцов при 1 : 1 в необработанных участках. Кроме того, во всех обработанных популяциях почкоеда значительно увеличивается паразитизм яиц. Два последних случая рассматриваются как положительные явления интегрированной борьбы [294].

Испытания различных доз цитоплазматического полиэдроса непарного шелкопряда с малыми дозами ДДТ и линдана проводились в Югославии. В большинстве опытов отмечен синергизм с ДДТ. Использование вирусных препаратов совместно с ДДТ в системе интегрированной борьбы против комплекса зерновых совок также дало хорошие результаты [249]; Ф. Грие сообщил о синергизме действия вайрона с инсектицидами при нейтральной реакции рН [246].

Известны случаи применения комплексных вирусных препаратов. Препарат, содержащий смесь ядерных и цитоплазматических полиэдров, находит

применение в борьбе с сосновым вредителем японской ели и лиственницы (Японские о-ва), волнянкой *Lymantria fumidae*. Так, в 1966 г. смешанная суспензия была распылена на 64 га против гусениц младшего возраста. Насаждения обрабатывали с вертолета; расход вирусной суспензии, содержащей $5 \cdot 10^5$ полиэдров обоих типов, составил 60 л/га. Инфекция ядерного полиэдроза при этом распространилась более быстро, чем цитоплазматического. Причем цитоплазматическое заболевание преобладало в том районе, где процент погибающих от ядерного полиэдроза личинок был низким. Средняя смертность от ядерного полиэдроза в фазе личинки составила 59 и от цитоплазматического 25%; некоторая часть насекомых погибла от паразитических насекомых и других причин; окуклилось лишь 0,02%. В фазе куколки смертность наблюдалась только от вируса ядерного полиэдроза, однако 31% самок и 14% самцов, переживших искусственную эпизоотию, были заражены вирусом цитоплазматического полиэдроза. Таким образом, каждый вид вируса дополнял друг друга [294].

Работами советских исследователей показана возможность одновременного развития двух вирусов, относящихся к различным типам в организме одного хозяина [133, 157]. Указанное явление можно рассматривать как теоретическую предпосылку возможного синергитического действия различных энтомопатогенных вирусов. Однако опыта практического применения вирусных препаратов на основе различных возбудителей совершенно недостаточно.

В настоящее время установлено, что гранулы вируса гранулеза различных видов способны усиливать вирулентность вирусов ядерного полиэдроза. Причем это повышение вызывается не вирионами вируса гранулеза, а компонентами, содержащимися в белковом матриксе [135, 357].

Известны примеры испытания вирусных препаратов совместно с возбудителями микозов, бактериозов и протозоозов. Отмечено усиление действия вируса гранулеза американской белой бабочки при использовании различных возбудителей в лабораторных условиях. Результаты этих опытов приведены в табл. 32 [139]. Синергитическое действие вируса ядерного полиэдроза и грибного препарата боверина отмечено для гусениц непарного шелкопряда [143].

В полевых испытаниях вирусных препаратов против американской белой бабочки в Краснодарском крае эффективность борьбы повышалась при добавлении к вирусному препарату энтобактерина. При этом не только повышалась смертность гусениц, но и сокращался срок инкубации вируса [82].

Изучая в 1971—1972 гг. действие патогенов на дубовую зеленую листовертку *Tortrix viridana* L., мы установили, что более высокая смертность гусениц достигается при заражении их нативным вирусом ядерного полиэдроза совместно с микроспоридиями *Nosema tortricis* W. Оба патогена выделены в природных

Таблица 32

Действие вируса гранулеза на гусениц американской белой бабочки при использовании смешанной инфекции [139]

Вариант опыта	Гибель гусениц (%) на день учета		
	5-й	10-й	15-й
ВГ	3,3	13,3	73,3
ВГ + (0,001%)	3,3	53,3	86,6
ВГ + Э (0,01%)	3,3	73,3	100
Э (0,001%)	0,0	3,3	13,3
Э (0,01%)	3,3	3,3	10,0
ВГ + Б (0,001%)	6,6	56,6	93,3
Б (0,001%)	10,0	26,6	43,3
Контроль	3,3	13,3	23,3

Примечание. ВГ — вирус гранулеза; Э — энтобактерин; Б — боверин.

популяциях листовертки в Московской обл. и испытаны в лабораторных условиях (табл. 33).

В результате исследований установлено, что природный штамм вируса ядерного полиэдроза дубовой зеленой листовертки не обладает высокой вирулентностью. При пероральном заражении гусениц даже очень высокими концентрациями вирусной суспензии $3,4 \cdot 10^{11}$ и $1,2 \cdot 10^{12}$ смертность их не превышает 30%. При заражении смешанной инфекцией смертность гусениц

Таблица 33

Смертность гусениц дубовой зеленой листовертки — *Tortrix viridana* L. при дифференцированном заражении патогенами

Вариант опыта	Инкубационный период, сутки	Суммарная смертность в конце опыта, %
Вирус ядерного полиэдроза (дикий штамм)	16	30
Смешанная инфекция:		
вирус + <i>Nosema tortricis</i> W. (одновременное заражение)	16	42
<i>Nosema tortricis</i> W + вирус (последовательное заражение)	12	67
Контроль	—	6

значительно возрастает (см. табл. 33). Лучшие результаты получены при последовательном заражении гусениц III возраста сначала ноземой, а через 7 суток вирусом. При этом значительно сокращается период инкубации вирусной инфекции, и болезнь носит более острый характер.

Явление антагонизма отмечено между вирусом ядерного полиэдроза американской белой бабочки и микроспоридиями *Pleistophora schubergi hyphantriae* и *Nosema* sp. Гибель личинок, вызываемая вирусом, ноземой и комплексом вирус—нозема составила соответственно 97, 21 и 70% [299]. Наиболее удачные сочетания различных биологических препаратов, подобранные в лабораторных экспериментах, необходимо проверить в полевых условиях.

С учетом имеющихся в литературе сведений по успешному применению вируса ядерного полиэдроза и бактериального препарата против кольчатого шелкопряда [351] нами были проведены полевые испытания энтобактерина и вируса ядерного полиэдроза в борьбе с рыжим сосновым пилильщиком III возраста. Применяемые концентрации препаратов и результаты учета смертности вредителя приведены в табл. 34.

Таблица 34

Состояние гнезд рыжего соснового пилильщика
в конце личиночной фазы

Вариант	Препарат	Дата обработки	Состояние гнезд пилильщика		
			здоровые	инфицированные	погибшие
1	Э 1%-ный (52 млрд. спор в 1 мл)	11/V	95,7	4,3	0
2	Э 10%-ный (520 млрд. спор в 1 мл)	11/V	88,0	0	12,0
3	Э 1%-ный + 10 тыс. полиэдров в 1 мл	11/V	0,1	38,8	61,1
4	Э 1%-ный + 100 тыс. полиэдров в 1 мл	11/V	4,0	64,0	32,0
5	Э 10%-ный + 10 тыс. полиэдров в 1 мл	11/V	30,7	57,4	11,9
6	10 тыс. полиэдров в 1 мл	1/V			
	Э 1%-ный	11/V	0	6,0	94,0
7	10 тыс. полиэдров в 1 мл	11/V	1,8	12,5	85,7

В 1-м и 2-м вариантах опыта вскоре после опрыскивания насаждений энтобактерином отмечалось временное прекращение питания личинок. Насекомые заметно отставали в росте, однако смертность личинок в первые дни после обработки не превышала нескольких процентов. Окончательный результат учета состояния вредителя обнаружил 12% погибших гнезд. В мазках из трупов выявлены вирусные включения.

Совместное применение вируса и энтобактерина резко снизило смертность личинок. Это можно объяснить тем, что насекомые под действием

бактериальной интоксикации временно прекращали питание и не инфицировались полиэдренным вирусом. С повышением концентрации энтобактерина смертность личинок заметно снизилась.

В 6-м варианте опыта обработку энтобактерином проводили через 10 суток после применения вирусной суспензии; эффект был значительно выше, чем в случае применения одного вирусного препарата.

Проведенные опыты подтверждают данные о низкой степени чувствительности личинок пилильщиков к энтобактерину [90]. Одновременное применение бактериального и вирусного препаратов приводит к замедленному отмиранию насекомых и является, видимо, бесперспективным, однако бактериальный препарат может значительно усиливать смертность от полиэдроза при соблюдении определенного временного интервала. Следовательно, возможно изыскание эффективных путей сочетания биологических препаратов различной природы в борьбе с различными лесными вредителями.

Явление синергизма между вирусами и некоторыми пестицидами, вирусами и другими микроорганизмами представляет большой практический интерес и может рассматриваться как один из путей повышения эффективности возбудителей вирусных болезней. Однако необходимо указать, что использование вирусов в борьбе с лесными вредителями не может решить все проблемы лесозащиты. Эффективная лесозащита будущего должна использовать широкий арсенал средств, среди которых вирусные препараты могут занять ведущее, но не доминирующее положение.

ГЛАВА VI. ПРАКТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАСЕКОМЫХ

Возможность использования в практике лесозащиты возбудителей вирусных болезней тесно связана с надежностью методов их диагностики. Специфическая смертность насекомых при использовании вирусных препаратов и физиологическое состояние популяции фитофага могут быть объективно оценены лишь в случае использования точных методов обнаружения возбудителей. С развитием инфекционной патологии насекомых и совершенствованием методов практической диагностики различных групп патогенов стали более понятными некоторые стороны эпизоотологии болезней, вызываемых энтомопатогенными микроорганизмами из различных групп. Долгое время высокоспециализированные паразиты ускользали от внимания патологов, использовавших преимущественно методы высева микроорганизмов на питательные среды. В результате применения методов

прямого микроскопирования материала взгляды на причины многих эпизоотий среди насекомых вредителей леса были пересмотрены. Описанные первоначально как бактериальные или грибные, они при более тщательных анализах оказались иной природы. В частности, массовая гибель рыжего соснового пильщика в европейских лесах объяснялась заражением полиморфной грамтрицательной бациллой [182], однако в настоящее время становится ясно, что ведущая роль в эпизоотии у этого вида принадлежит возбудителю ядерного полиэдроа (подобных примеров можно привести много).

Эпизоотии в популяциях лесных насекомых нередко и многократно описаны, однако попытки искусственного их воспроизведения с помощью возбудителей бактериальной или грибной природы заканчивались и заканчиваются неудачно [79]. Довольно подробно изучена микрофлора сибирского шелкопряда, однако все публикации касаются сапрофитных и полусапрофитных микроорганизмов. Роль высокоспециализированных возбудителей в динамике численности этого наиболее важного вредителя таежных лесов остается невыясненной. В то же время первые опыты вирусологической борьбы с сибирским шелкопрядом дали обнадеживающие результаты [93].

Сапрофитные и полусапрофитные микроорганизмы, на основе которых создано большинство биологических препаратов, не могут быть использованы в качестве агентов, индуцирующих массовые эпизоотии; поэтому следует ориентироваться на высокоспециализированные виды возбудителей, относящихся по типу питания к пара- и гипотрофам. В связи с трудностью выделения их из природы и культивирования особое значение приобретают методы прямого микроскопирования патологического материала.

СВЕТОВАЯ МИКРОСКОПИЯ

Для энтомопатогенных вирусов микроскопический анализ материала является одним из основных методов диагностики. Способ приготовления нативных препаратов для идентификации инклюзионных вирусов зависит от типа заболевания. При анализах личинок насекомых на выявление ядерных полиэдров чешуекрылых рода *Organelinavirus*, гранул рода *Bergoldiavirus* и ромбических включений вирусов рода *Vagoiavirus* исследуют жировое тело, поражаемое в первую очередь. Для этого личинку препарируют и из разных участков тела вырезают небольшие кусочки жировой ткани (рис. 52), которые помещают в каплю глицерина с физиологическим раствором и покрывают покровным стеклом. Приготовленный препарат можно хранить на

холоде несколько месяцев, если края покровного стекла залить воском или парафином.

При ядерных полиэдрах в жировом теле выявляются методом фазового контраста сильно гипертрофированные клеточные ядра, содержащие массу овальных преломляющих свет включений (см. рис. 19). При гранулезях в нативных препаратах жирового тела можно обнаружить гепертрофию и дезинтеграцию ядра (см. рис. 20). Отдельные гранулы просматриваются лишь в фазовом контрасте при максимальном увеличении микроскопа. Ромбические включения рода *Vagoiavirus* (*Roxvirus*) выявляются в ци-



Рис. 52. Препарированная гусеница медведицы кая:

1 — кишка; 2 — лопасти жирового тела;
3 — трахеи

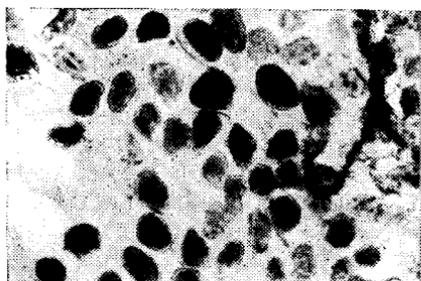


Рис. 53. Эпителий среднего кишечника личинки пилильщика при ядерном полиэдрозе (нативный пленчатый препарат, фазовый контраст, 10×10)

топлазме жировых клеток при просмотре препаратов в фазовом контрасте.

В случае ядерных полиэдрозов перепончатокрылых рода *Bigdiavirus* и цитоплазматических полиэдрозов чешуекрылых рода *Smithiavirus* препараты готовят из среднего кишечника. Препарированную кишечную трубку разрезают продольно по всей длине, распластывают на предметном стекле в капле глицерина с физиологическим раствором и закрывают покровным стеклом. Приготовленные временные нативные препараты исследуют под микроскопом. В фазовом контрасте в эпителии средней кишки

ложногусениц, больных ядерным полиэдрозом, при малом увеличении (объектив 10^x) обнаруживается характерная крапчатость, обусловленная гипертрофированными ядрами (рис. 53); при больших увеличениях (ФК объектив водной иммерсии 70^x) — полиэдренные тельца (рис. 54).

Идентификация вирусов рода *Smithiavirus* облегчается их локализацией в цитоплазме цилиндрических и бокаловидных

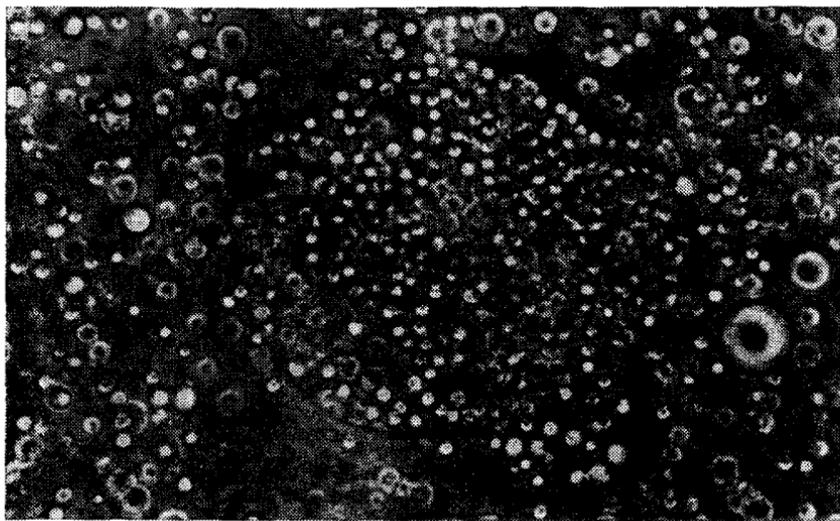


Рис. 54. Ядро клетки с полиэдрами (фазовый контраст, 70×10)

клеток эпителия среднего кишечника. Ядро сохраняет морфологическую целостность до самых последних этапов инфекционного процесса. Анализы личинок насекомых в острой фазе заболевания, проведенные вышеизложенным способом, позволяют с уверенностью идентифицировать вирусы из родов *Boggeivirus*, *Birdiavirus* и *Smithiavirus* в силу специфики их тканевого тропизма. При использовании сухого патологического материала кусочки из средней части трупa растирают с небольшим количеством воды и готовят взвеси, которые исследуют в раздавленной капле или готовят мазки для последующего окрашивания.

Наиболее трудоемки анализы яиц насекомых. Препараты для микроскопических исследований готовят различными способами. Наиболее простой — раздавливание яиц непосредственно на предметном стекле и приготовление раздавленной капли или мазков. Однако поскольку вирусных включений в яйцах

небольшое количество и они значительно меньше полиэдров, развивающихся в личинках насекомых, их концентрируют. Для этого из определенной навески яиц готовят гомогенат в 10-кратном объеме воды, фильтруют через 2—3 слоя марли и центрифугируют до полного просветления жидкости. Осадок ресуспендируют и вновь центрифугируют. Операцию повторяют 3—4 раза. Из центрифугата готовят мазки для последующего окрашивания.

Препараты, приготовленные способом раздавленной капли, и неокрашенные мазки просматривают в фазовом контрасте или методом темного поля. Эффект позитивного и негативного контраста дает в равной мере четкие результаты. В темном поле ядерные и цитоплазматические полиэдры просматриваются как ярко освещенные капли воды на несмачивающейся поверхности. В препаратах, содержащих большое количество посторонних примесей, они выявляются по форме и более интенсивному преломлению света. Гранулы в темном поле выглядят светящимися точками. Ф. Верд [212] отмечает, что гранулы размером $0,5 \times 0,15$ мк даже на окрашенных препаратах не могут быть обнаружены под обычным микроскопом, но видны в темном поле.

При анализах сухого патологического материала и тканевых детритов методом раздавленной капли вирусные включения схожи с некоторыми продуктами клеточного и тканевого метаболизма. У перепончато- и чешуекрылых насекомых в фазах предкуколки и куколки обнаруживается масса протеиновых телец, морфологически трудно отличимых от полиэдренных включений вирусного происхождения. Подобные образования имеются и в просвете кишечника взрослых насекомых. Для анализа такого материала необходимо применение специальных методов окраски. В значительно меньшем количестве в мазках могут присутствовать сферические кристаллы мочевой кислоты и различных уратов (рис. 55). Из других образований, осложняющих диагностику вирусных болезней насекомых, необходимо указать на ромбические кристаллы меланина, которые иногда формируются в большом количестве в цитоплазме некоторых клеток.

Вирусные включения, характерные для родов *Bogvelinavirus*, *Birdiavirus* и *Vagovirus*, не прокрашиваются обычными гистологическими красителями. Для их удовлетворительного выявления препараты обычно предварительно обрабатывают слабыми растворами щелочей и кислот. После воздействия 1%-ной щелочи или кислоты ядерные полиэдры интенсивно воспринимают многие гистологические красители: гематоксилин, эозин, фуксин, генцианвиолет, метиленовую синь и др. На этом свойстве телец-

включений основана большая часть методов их выявления. Одним из наиболее простых и эффективных является метод О. А. Швецово́й [178].

Высушенный на воздухе препарат фиксируют в течение 10—20 мин смесью спирта с формалином (90 мл 70%-ного спирта и 10 мл 40%-ного формалина). Затем мазок просушивают фильтровальной бумагой и обрабатывают в течение 1 мин 1%-ным раствором едкого натра. После промывания, пре-

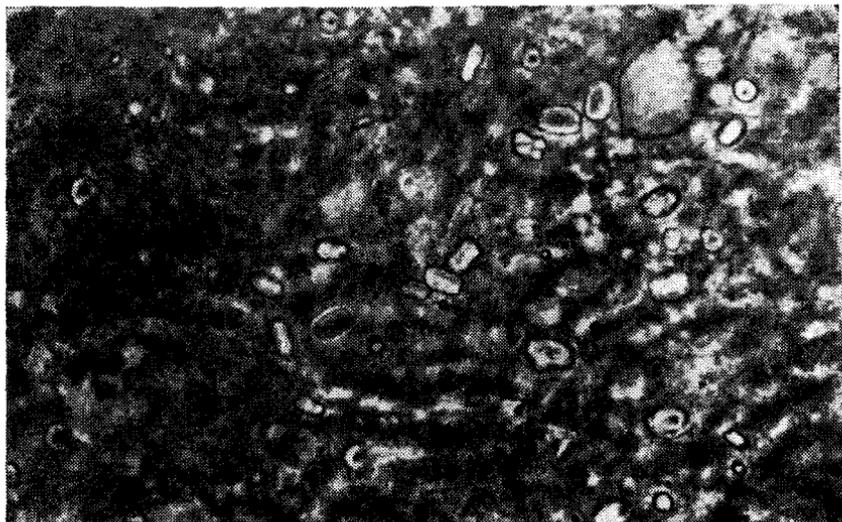


Рис. 55. Кристаллы уратов в просвете мальпигиевых сосудов гусеницы *Mamestra pisi* (нативный пленчатый препарат, фазовый контраст, 20×10)

парат 3—5 мин окрашивают 5%-ным водным раствором эозина. При этом способе полиэдры окрашиваются в розовый цвет, а общий фон препарата остается светлым.

Дифференцированная окраска ядерных полиэдров достигается методом Похила [51]. Препарат фиксируют на пламени и красят 10—15 сек 1%-ной бриллиантовой или малахитовой зеленью. Краска смывается водопроводной водой. Дополнительно окрашивают 1%-ным раствором пикриновой кислоты. После промывания препарат просматривают под микроскопом. Полиэдры окрашиваются пикриновой кислотой в желтый цвет, общий фон препарата зеленый.

Удовлетворительно полиэдренные тельца выявляются триацидом Эрлиха. В состав красителя входят насыщенные водные растворы оранже (14—15 мл), кислого фуксина (6—7 мл) и метиленовой зелени (12,5 мл); к смеси добавляют дистиллированную воду (15 мл), 95%-ный спирт (25 мл) и глицерин (10 мл). Применяют триацид в разбавленном виде: 2 мл триацида Эрлиха и 50 мл воды, подкисленной соляной кислотой. Краситель смешивают с исследуемым материалом на предметном стекле и нагревают до появления пузырьков. Тельца включения окрашиваются в ярко-красный цвет.

В. П. Лукьянчиков [94] для диагностики ядерного полиэдроза предложил следующий метод. Высушенный на воздухе мазок фиксируют в течение 10 мин в метиловом спирте, затем вновь просушивают на воздухе и окрашивают по Гимза-Романовскому 3 мин азур-эозином, разбавленным 0,25 объемом дистиллированной воды. После окрашивания мазок промывают водой, сушат и исследуют при среднем и максимальном увеличении обычного светового микроскопа. Если в препарате содержится микрофлора, то в поле зрения микроскопа обнаруживаются окрашенные клетки микробов, а полиэдренные тельца остаются неокрашенными, четко выделяясь на фоне мазка.

При идентификации вирусов рода *Birdiavirus*, вызывающих кишечные полиэдрозы у пилильщиков, используют некоторые анатомические особенности насекомых-хозяев. У коконированных фаз и имаго пилильщиков в полости тела могут присутствовать темные плотные образования — цисты, или псевдоопухоли. Наиболее часто подобные образования встречаются у насекомых, переживших вирусное заболевание. Выявляют их путем непосредственного анатомирования насекомых или просвечиванием имаго, предварительно просветленных кипячением в едком калии. Псевдоопухоли обычно состоят из компактных масс эпителиальных тканей кишечника, которые не подверглись гистолизу. В них при специальных методах приготовления препаратов можно обнаружить бактерии и вирусы. Для получения препаратов применяют метод В. А. Смирнова [332].

Псевдоопухоли раздавливают на предметном стекле, нагревают до 400—600° С и наливают несколько капель раствора насыщенной пикриновой кислоты и воды (1 : 4). После закипания раствора кислоты добавляют раствор черно-голубого нафта и препарат нагревают до полного испарения. Остывший препарат промывают проточной водой, окрашивают 30%-ным карболовым фуксином Циля в течение 20 с, после чего вновь промывают. Полиэдренные тельца окрашиваются в темно-голубой цвет, бактерии — в розовато-красный.

Цитоплазматические полиэдры рода *Smithiavirus* окрашиваются насыщенным водным раствором метиленовой сини по Гимза-Романовскому без предварительной обработки щелочами и кислотами. Мазки фиксируют на пламени, спирт-формалином и окрашивают в течение 1 ч. Свойство цитополиэдров окрашиваться без воздействия щелочей и кислот используют для дифференцированной диагностики их от ядерных полиэдров. Однако следует иметь в виду, что свойства вирусных включений с возрастом меняются, и они теряют способность к окрашиванию.

Ромбоидальные кристаллы, характерные для вирусов рода *Vagoiavirus*, в начальный период формирования, когда их длина не превышает 0,7—1 мк, окрашивают анилиновыми красителями. Созревшие вирусные включения становятся устойчивыми к окрашиванию, но предварительно необходимо их обработать соляной кислотой или щелочью. Ход окраски созревших включений следующий. Препарат держат в течение нескольких секунд при 100° С, затем обрабатывают 3—10 мин 1%-ной соляной кислотой или 2%-ной щелочью и окрашивают по Гимза-Романовскому.

При окраске гранул вирусов рода *Bergoldiavirus* лучшие результаты дает метод О. И. Шведовой [52]. Мазок фиксируют смесью спирта с формалином в течение 10 мин. После удаления фиксатора препарат обрабатывают 1 мин 1%-ной щелочью, промывают, высушивают и красят карболовым фуксином

в течение 1 мин. После окраски препарат тщательно промывают. При данном способе мелкие формы бактерий окрашиваются аналогично гранулам. Для дифференцирования вируса параллельно окрашивают 2-й препарат, но исключают обработку щелочью. При этом гранулы не воспринимают краситель и не просматриваются при микроскопии.

Для установления тканевой и клеточной локализации вирусных включений готовят срезы насекомых обычных гистологическими методами [53, 131]. Некоторые особенности имеет техника приготовления срезов из яиц насекомых, предложенная Е. Т. Дикасовой [46]. Яйца, несколько уплотнившиеся естественным подсыханием, фиксируют путем суточного выдерживания в фиксаторе Петрункевича при комнатной температуре. Затем материал переносят в дважды сменяемый спирт (70%). В первом спирте рекомендуется примесь иода для удаления сулемы. После выдерживания в спирте содержимое яиц сменяется и отделяется от скорлупы; его переносят на 30 мин в дважды сменяемый абсолютный спирт. В дальнейшем объект выдерживают 1—1,5 ч в дважды сменяемом бензоле, после чего яйца заливают в парафин, минуя этапы пропитывания. При указанном способе заливки не требуется извлечения парафина. Полученные срезы наклеивают на предметное стекло.

В литературе известно большое количество методов окрашивания полиэдренных телец в срезах тканей. Большинство авторов пользуется при исследованиях железным гематоксилином по Гейденгайну [209, 215]. Усовершенствовал указанный метод Р. Лангенбух [283, 284]. Окрашивать железным гематоксилином можно после любой фиксации. Срезы, если это необходимо, доводят до воды, после чего погружают на 1 мин в 96%-ную ледяную уксусную кислоту. Промытые дистиллированной водой срезы протравливают в 2,5%-ном растворе железоаммиачных квасцов в течение 1 ч. После ополаскивания в дистиллированной воде срезы в течение 1 ч окрашивают раствором гематоксилина (одна часть основного раствора с тремя частями воды), вновь тщательно промывают и дифференцируют в железных квасцах до желаемой степени окрашивания. Полиэдры окрашиваются от темно-голубых до темных тонов.

Способ дифференцированной окраски ядерных полиэдров предложен С. М. Гершензоном [18]. Доведенные до воды срезы помещают на 1,5 мин в 1%-ный водный раствор едкого натра, ополаскивают водой и красят 2—4 мин пикрофуксином (по Ван Гизону). После ополаскивания в воде и проведения через спирты их дифференцируют в карбол-ксилоле до прекращения отхождения зеленых потеков краски и порозовения срезов. В обработанных таким образом срезах полиэдры окрашиваются в изумрудно-зеленый цвет; ткани насекомого приобретают оранжевые и темно-розовые тона. Кроме полиэдров, в зеленый цвет окрашивается только хитин, но цвет его более темный. Если после окрашивания полиэдры становятся слишком светлыми, увеличивают продолжительность окрашивания синькой Леффлера или уменьшают содержимое карболовой кислоты в карбол-ксилоле; в случае желтоватой окраски тканей насекомого увеличивают содержание кислого фуксина в пикрофуксине.

Цитоплазматические полиэдры рода *Smithiavirus* и включения рода *Vagoiavirus* окрашивают по Гейденрайху [252] водным раствором метиленовой сини или по Гимза-Романовскому. Тельца-включения вирусов рода *Vagoiavirus*, формирующиеся в плазме клеток жирового тела, с возрастом меняют способность воспринимать красители. В незрелой стадии, когда форма их игло- или веретенообразна, они поглощают обычные гистологические красители. С образованием овальных форм включений поглощение краски уменьшается, и они окрашиваются только после обработки жаром, слабой кислотой или щелочью.

При выявлении гранул рода *Bergoldiavirus* срезы после любой фиксации окрашивают железным гематоксилином (методика аналогична применяемой

в случае окраски ядерных полиэдров), затем срезы подкрашивают в течение 2 мин 0,5%-ным эритрозинном. После обезвоживания препарат заключают в цедакс. А. Хьюз [257] предложил перед окраской железным гематоксилином по Гейденрайху проводить предварительный гидролиз гистологических срезов в течение 10—30 мин при 60° С. После гидролиза необходимо тщательно отмыть кислоту дистиллированной водой. Окрашенные препараты просматриваются в проходящих лучах обычного светового микроскопа. Для повышения контрастности пользуются цветными светофильтрами.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ВЫЯВЛЕНИЕ ВИРУСНЫХ ВКЛЮЧЕНИЙ

Обычные методы окраски мелких полиэдров, характерных для представителей родов *Birdiavirus* и *Bergoldiavirus*, не дают желаемого результата, так как размеры вирусных включений незначительны, а общая масса их намного меньше, чем у насекомых при полиэдрозах общего типа, когда поражается большинство тканевых элементов. В этом случае эффективным оказывается метод наведенной люминесценции. Подготовка препарата для люминесцентно-микроскопического анализа включений *Birdiavirus* заключается в следующем. Мазки фиксируют на пламени, затем препарат кратковременно обрабатывают эфиром для удаления жировых веществ. Обработка эфиром не сказывается на результатах анализа и позволяет освободиться от некоторого количества посторонних примесей. Необходимым моментом в подготовке мазка к флуорохромированию является протравливание его в течение 10 мин 5%-ным раствором карболовой кислоты. Остающуюся после протравливания мазка на препарате кислоту смывают дистиллированной водой, а остатки удаляют фильтровальной бумагой.

Флуорохромирование осуществляют в течение 15 мин акридиновым оранжевым в концентрации 1 : 40 000. Раствор флуорохрома готовят из основного 1%-ного водного раствора с разбавлением до нужной концентрации фосфатным буфером с рН = 5,29. Препарат промывают водой и после высушивания просматривают в падающем сине-фиолетовом свете (фильтры 2ФС-1 и 2СЭС-7) с объективом масляной иммерсии. При этом вирусные включения-полиэдры люминесцируют желто-зеленым (И-1), бактерии — хромово-оранжевым (О-3), а тканевые остатки — коричневым (В-7) различной интенсивности. Цветовые обозначения приведены по шкале А. С. Бондарцева [7]. При анализе свежего патологического материала полиэдры могут люминесцировать хромово-оранжевым, так как более интенсивно воспринимают краситель, чем тельца-включения, хранившиеся некоторое время. В этом случае следует уменьшить время флуорохромиро-

вания и дифференцировать окрашенный препарат 2%-ной соляной кислотой с последующим промыванием водопроводной водой.

Указанный метод позволяет выявлять полиэдры при смешанных заболеваниях насекомых и при анализах загнившего или сухого материала, когда в препаратах содержится огромное количество сапрофитных микроорганизмов.

ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ

Сущность иммунофлуоресцентной микроскопии заключается в появлении специфического свечения комплекса антиген-антитело в случаях сине- и ультрафиолетового света при условии использования антител, соединенных с флуоресцирующим красителем. На предметное стекло с мазком из исследуемого материала или гистологическим срезом наносят специфическую сыворотку, меченную флуоресцирующим красителем. Если в препарате содержатся микроорганизмы, специфически родственные меченому антителу, то происходит их связывание. Возникающая комбинация достаточно прочна и сохраняется в процессе тщательного промывания препарата от избытка меченой сыворотки. Присутствие специфически локализованного свечения, выявляемого под люминесцентным микроскопом, указывает на наличие антигена; при его отсутствии свечения в поле зрения микроскопа не наблюдается.

Наиболее часто применяют два метода иммунофлуоресцентного окрашивания: прямой и непрямой. При прямом методе на препарат наносят флуоресцирующий конъюгат, разведенный до требуемого титра, при непрямом — препарат обрабатывают иммунной нефлуоресцирующей сывороткой. Антитела, преципитированные на антигене, выявляют обработкой флуоресцирующей сывороткой, иммунной к γ -глобулинам того вида животного, от которого получена нефлуоресцирующая сыворотка.

Метод иммунофлуоресценции высокочувствителен и позволяет обнаруживать минимальные количества микроорганизмов в исследуемом материале. Указанный метод незаменим при диагностике смешанных бактериально-вирусных заболеваний насекомых, когда число образующихся в пораженных клетках включений незначительно, а также при анализах яиц, личинок младших возрастов и мелких насекомых.

При вирусных заболеваниях методы обычной микроскопии не всегда позволяют уверенно дифференцировать вирусные тельца-включения от белковых клеточных включений и некоторых продуктов метаболизма. Так, в кишечнике пилильщиков в фазе

имаго обнаруживается масса образований белковой природы, которые окрашиваются по методам Швецово́й и Похи́ла аналогично полиэдрам.

В микробиологии насекомых метод иммунофлуоресценции впервые применен для обнаружения риккетсий Провачека в кишечнике платяной вши [225]. В дальнейшем с помощью иммунофлуоресценции неоднократно обнаруживались энтомопатогенные микроорганизмы в различных насекомых [34, 37, 68, 169, 269, 280]. Применение метода флуоресцирующих антител позволило обнаружить полиэдренный антиген в яйцах тутового шелкопряда и определить его локализацию [54].

Приготовление иммунных сывороток. Для получения качественных антител против инклюзионных вирусов используют высокоочищенные от посторонних примесей полиэдры и гранулы из больных или погибших насекомых. Если насекомые крупные (гусеницы последних возрастов коконопрядов, шелкопрядов, некоторых совок и др.), то целесообразно использовать гемолимфу. Гемолимфу больных насекомых смешивают с равным объемом воды, тщательно взбалтывают и многократно центрифугируют. Значительно чаще изолируют тельца-включения из мертвых инфицированных личинок насекомых. Для этого трупы гомогенизируют, смешивают с тройным количеством водопроводной воды и оставляют на 2—3 недели при температуре 30°C для более полной дезинтеграции тканей личинок и освобождения вирусных включений. Гомогенат фильтруют через несколько слоев марли, и фильтрат центрифугируют в течение 15—20 мин при 4 тыс. об/мин до просветления надосадочной жидкости. Осадок многократно промывают и в дальнейшем очистку ведут в градиенте плотности сахарозы.

Для получения иммунных сывороток обычно используют кроликов, так как в Институте микробиологии и эпидемиологии им. Гамалеи АМН СССР налажено массовое производство меченой изотиоцианатом флуоресцеина ослиной сыворотки против γ -глобулинов кролика, которую применяют при непрямом методе окрашивания препаратов (табл. 35). Обескровливают кроликов на 10-е сутки после последней инъекции. Для стимуляции продукции антител животным вводят в мышцу бедра одновременно с последней инъекцией адьювант Фрейнда [97].

Получение флуоресцирующих антител. Для получения желаемого эффекта при использовании метода флуоресцирующих антител необходимо выделение из сывороток глобулиновых фракций. Их выделяют высаливанием насыщенными растворами химически чистого сернокисло́го аммония. Весь процесс состоит из следующих этапов: сыворотку смешивают в рав-

Схемы иммунизации кроликов

Иммунизация							
полиэдрами из рыжего соснового пилильщика*			ядерными полиэдрами из тутового шелкопряда 1**		гранулами из хохлатки-отшельницы		
№ инъекции	количество вводимого материала, мл	интервал, сутки	№ инъекции	количество вводимого белка, мг	№ инъекции	количество вводимого белка, мг	интервал, сутки
1	1	—	1	2	1	10	—
2	2	3	2	2	2	10	3
3	3	3	3	2	3	20	3
4	5	3	4	3	4	30	3
5	5	7	5	3	5	30	7
6	5	7	6	3	6	30	7
			7	4			
			8	4			
			9	4			
			10	5			
			11	5			
			12	5			

* Титр взвеси — 250 млн. в 1 мл.

** После каждых трех инъекций — интервал 4 суток

ных объемах с раствором сернокислого аммония, который добавляют по каплям при постоянном перемешивании смеси; выпавший осадок отделяют центрифугированием или фильтрацией, растворяют в физиологическом растворе, равным по объему исходной сыворотке, и диализируют против физиологического раствора (для этого раствор глобулиновых фракций в герметично перевязанном целлофановом пакете помещают в сосуд с физиологическим раствором, который меняют несколько раз в сутки); диализ проводят до полного удаления из раствора сернокислого аммония. Для контроля применяют химическую пробу на сульфатные анионы с использованием хлористого бария или реактива Несслера. Все операции с сывороткой и глобулиновыми фракциями выполняют на холоде.

Метку полученных глобулиновых фракций осуществляют изотиоционатом флуоресцена. Предварительно необходимо определить содержание белка в растворе глобулина (используют биуретовый метод как наиболее простой). В зависимости от результатов биуретовой реакции готовят 1%-ный раствор белка

концентрированием или разбавлением раствора, добавляют 10% 0,5-молярного раствора карбонатного буфера с $\text{pH}=9,0$ и медленно на холоде вносят порошок изотиоционата флуоресцена из расчета 0,05 мг порошка на 1 мг белкового раствора. Колбу со смесью помещают на магнитную мешалку и держат в течение 10—12 ч при температуре 4°C . Избыток связавшегося с белком красителя удаляют диализом против физиологического раствора в течение 1—2 суток. Полученный конъюгат центрифугируют и консервируют мертиолятом в отношении 1 : 10 000.

При иммунофлуоресцентных исследованиях материала нередко возникает неспецифическое свечение. Особенно часто спонтанная флуоресценция наблюдается при исследовании фиксированных препаратов. Для исключения неспецифического свечения сыворотку обрабатывают обезвоженным порошком, приготовленным из тканей здоровых насекомых. Для этого личинок, у которых предварительно удаляют кишечник, гомогенизируют с равным объемом 0,15 молярного раствора хлористого натрия, добавляют 4 объема ацетона и взбалтывают. Затем центрифугируют 5 мин при 2000 об/мин. Надосадочную жидкость отсасывают, а осадок повторным центрифугированием промывают 2—3 раза солевым раствором, затем 2 раза ацетоном и фильтруют. Фильтровальную бумагу с осадком высушивают 10—12 ч при температуре 37°C . Высушенный порошок хранят в холодильнике в закрытых флаконах при -4°C . Для адсорбции сыворотки смешивают 1 мл раствора флуоресцирующих антител с 0,1 г приготовленного порошка, сильно встряхивают в течение 30—60 мин и центрифугируют 30 мин при 3000 об/мин.

Приготовление и окраска препаратов. Методом иммунофлуоресценции можно исследовать нативный и фиксированный материалы. Вирусные антигены выявляются также в парафинированных срезах.

Приготовление препаратов предъявляет особые требования к стеклам. Предметные стекла толщиной не более 1,2 мм тщательно обезжиривают и отбирают без царапин. Покровные стекла применяют наименьшего размера (15×15 мм) и толщиной не более 0,18 мм.

Исследованный тканевый материал должен сохранить структуру и свойства антигенных субстанций. Обычно для иммунофлуоресцентной микроскопии исследуют мазки из больных и погибших насекомых, кляч-препараты и гистологические срезы.

Для исследования мумифицированных насекомых готовят водную суспензию и удаляют грубые остатки тканей фильтрованием через несколько слоев марли. Мазки готовят из фильтра. При минимальном содержании антигена в материале

микроорганизмы концентрируют центрифугированием в течение 20—30 мин со скоростью 3000 об/мин.

Прямую окраску препаратов флуоресцирующей сывороткой осуществляют следующим образом. На помещенный во влажную камеру препарат наносят флуоресцирующую сыворотку в рабочем разведении, которое подбирают эмпирически — 1:8; 1:16. Окраску продолжают 10—15 мин при температуре 37°С; затем сыворотку удаляют и препарат промывают дистиллированной водой в течение 3—5 мин. В случае непрямого окраски исследуемого материала на препараты наносят иммунную сыво-

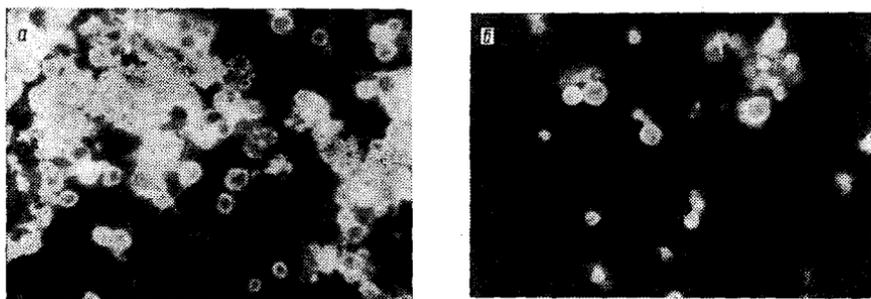


Рис. 56. Полиэдры:

а — ядерные непарного шелкопряда; б — цитоплазматические хвойного коконопряда (иммунофлуоресценция, 90×10)

ротку в соотношении 1:10; 1:20; 1:40 и оставляют при комнатной температуре на 15 мин во влажной камере. Затем препарат тщательно промывают для удаления несвязавшейся иммунной сыворотки и подсушивают на воздухе. Сухую стандартную люминесцирующую антивидовую сыворотку растворяют в указанном на этикетке ампулы объеме дистиллированной воды. После растворения сыворотку центрифугируют 30 мин при 3000—6000 об/мин.

Непосредственно перед меткой препарата люминесцирующую сыворотку разводят 0,15-молярного раствора хлористого натрия (рН=7,2÷7,4) в соответствии с рабочим разведением. Метят антиген 15 мин, затем мазки тщательно промывают дважды в 0,15-молярном растворе хлористого натрия по 10 мин, ополаскивают в дистиллированной воде и подсушивают на воздухе. Интенсивность свечения оценивается следующим образом: + + + + — очень яркая флуоресценция зелено-желтого цвета по периферии микроорганизма, четко контрастируемая с темным телом клетки; + + + — яркая флуоресценция периферии клетки;

++ или +- слабое свечение периферии клетки, не контрастируемое с телом микроорганизма. Положительным результатом считается люминесценция, оцениваемая четырьмя и тремя крестами.

Как и при методе прямой окраски, параллельно окрашивают и просматривают контрольные препараты, т. е. препараты, заведомо не содержащие выявляемого антигена. Полиэдренные тельца-включения ядерного и цитоплазматического происхожде-

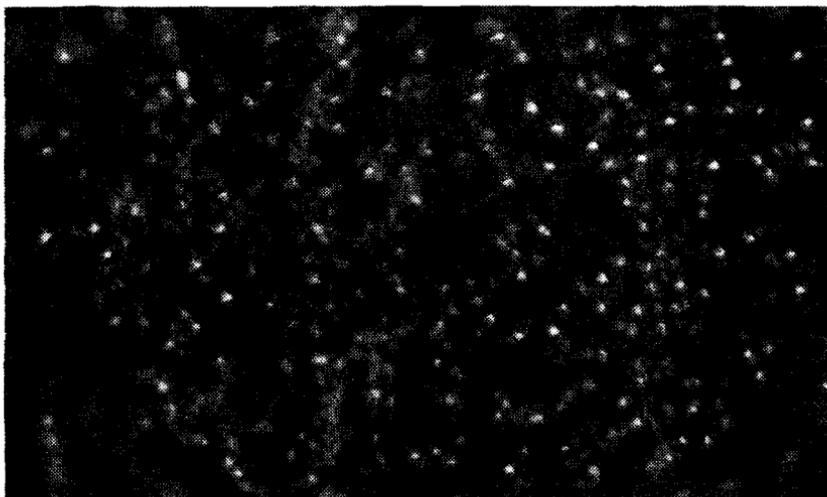


Рис. 57. Люминесценция гранульных включений (90×10)

ния, встречающиеся в патологическом материале, обнаруживают интенсивную люминесценцию по периферии (рис. 56); гранулы, меченные флуоресцирующими антителами, светятся отдельными точками (рис. 57).

Присутствие в исследуемых препаратах зелено-желтой люминесценции указывает на фиксацию флуоресцирующих антител на антигене, которым являются в рассматриваемых случаях инклюзионные вирусы. При анализах необходимо различать специфическую флуоресценцию антител с зеленоватой первичной флуоресценцией клеток и остатков тканей.

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ

По технике электронной микроскопии имеется огромное количество монографических работ [29, 119]. В данном разделе рассматриваются лишь наиболее простые технические приемы,

которые могут быть полезны при диагностике вирусных болезней насекомых.

Пленки-подложки для электронномикроскопических препаратов могут быть коллодиевые или углеродные. Для получения коллодиевых пленок каплю 1%-ного раствора коллодия в амилацетате наносят на поверхность дистиллированной воды, налитой в плоскодонный сосуд. Можно использовать чашку Петри или кристаллизатор диаметром около 20 см. Коллодий образует

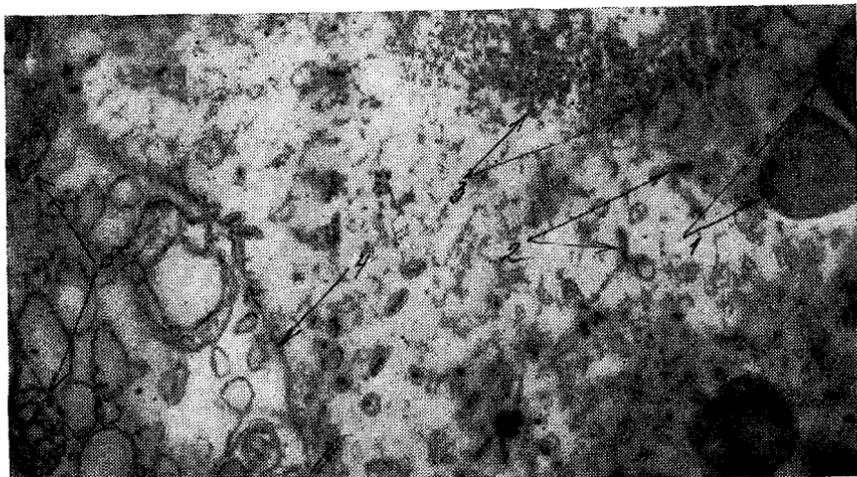


Рис. 58. Ультратонкий срез эпителиальной клетки среднего отдела кишечника тополевого волосатого пилильщика при ядерном полиэдрозе ($\times 20000$):
1 — полиэдры; 2 — свободно лежащие вирионы; 3 — зона ядрышка; 4 — ядерная мембрана; 5 — митохондрии

на поверхности воды тонкую пленку. Если на дне сосуда предварительно поместить предметное стекло с сеточками и затем понизить уровень воды, то пленка опустится на их поверхность. Углеродные пленки-подложки получают испарением углерода в вакууме. В качестве субстрата используют стекло или свежий скол слюды. Пленки отслаиваются при погружении стекла или слюды в воду. Затем их помещают на электронномикроскопические сеточки таким же способом, как и коллодиевые пленки [74].

Исследуемый материал в виде взвеси вирусных включений в дистиллированной воде помещают на пленку-подложку, через 5—10 мин избыток жидкости удаляют, препарат подсушивают и просматривают под электронным микроскопом.

С целью установления формы и размеров элементарных вирусных частиц включения целесообразно разрушать непосредственно на пленке-подложке. В этом случае препарат погружают в 0,2%-ный раствор едкого натра. Время на частичное разрушение белка включений может составлять от 5 до 30 мин и более в зависимости от вида и срока хранения материала. Оптимальное время щелочной экспозиции подбирают эмпирически для каждого отдельного случая. Контролируют состояние

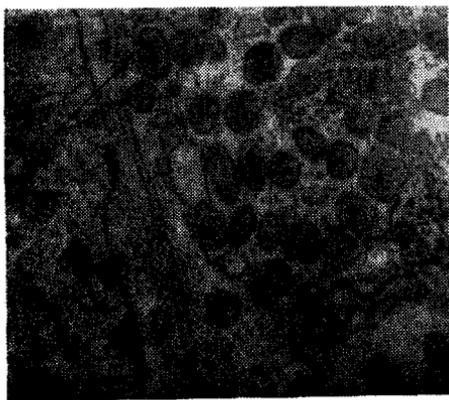


Рис. 59. Ультратонкий срез клетки жирового тела, пораженного гранулезом ($\times 20000$):

1 — гранулы; 2 — скопления свободно-лежащих вирионов; 3 — спирализованные мембраны

полиэдров в обычном световом микроскопе при освещении через объектив. Разбухание включений свидетельствует о начале просветления белкового матрикса, а появление изъязвления на одной из сторон — о глубоком разрушении кристаллического белка и полном освобождении вирионов. После щелочного воздействия препараты ополаскивают дистиллированной водой и 10—30 сек контрастируют 2%-ным раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты. Избыток кислоты удаляют фильтровальной бумагой.

Представление об объемной форме вирусных включений можно составить при

просмотре самооттененных угольных реплик. Готовят их следующим образом. Взвесь вирусных включений в дистиллированной воде равномерно распределяют на покровных стеклах, высушивают и помещают в условия вакуумной камеры, где испаряют углерод. Полученную угольную пленку отделяют, выдерживая стекла в течение 10—14 ч на поверхности концентрированной серной или плавиковой кислоты, затем промывают дистиллированной водой и помещают на предметные сетки (см. рис. 35).

При приготовлении гистологических препаратов для электронномикроскопического изучения образцы ткани фиксируют четырехокисью осмия. Используют обычно 2%-ный раствор фиксатора с $\text{pH} = 5,7 \div 8$. Продолжительность фиксации материала 2 ч. Ткань обезвоживают в спиртах с концентрацией 50; 75 и

95%, затем переносят в дважды сменяемый абсолютный спирт и заливают в метакрилат. Срезы контрастируют фосфорно-вольфрамовой кислотой по Рейнольдсу [311]. Характерные ультраструктуры для нормальных клеток хвое- и листогрызущих насекомых показаны на рис. 58, 59.

КОСВЕННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

При работе с возбудителями, образующими включения, лежащие на грани разрешающей способности обычного светового микроскопа, или с возбудителями, не образующими включений, помимо электронной микроскопии можно применить специальные методы окраски обычных парафиновых срезов, которые дают возможность косвенно судить о наличии вируса в клетке. При диагностике гранулеза в начальный период заболевания окраска по Фельгену [118] позволяет выявлять в ядрах инфицированных клеток характерные сетчатые структуры. Реакция Фельгена удовлетворительно проходит на материале, фиксированном по методу Карнуа и Лилли в формалине и некоторых других смесях. Рабочими растворами являются однонормальный раствор соляной кислоты, реактив Шиффа и сернистая вода. Для реактива Шиффа необходим чистый основной фуксин для фуксинсернистой кислоты. Техника приготовления реактива следующая. К 200 мл кипящей бидистиллированной воды добавляют 1 г основного фуксина; раствор кипятят в течение 5 мин, фильтруют и охлаждают. После добавления 2 г метабисульфита калия или натрия при непрерывном встряхивании в смесь приливают 20 мл однонормальной соляной кислоты. Для обесцвечивания раствор сутки выдерживают в темноте. Готовый реактив Шиффа бесцветный или желтоватый. Качество его в большой степени зависит от основного фуксина.

Перед окраской срезы, доведенные до воды, помещают для гидролиза в однонормальную соляную кислоту при температуре 60° С. При фиксации в жидкости Карнуа гидролиз длится 6—12 мин, затем срезы ополаскивают дистиллированной водой, быстро обрабатывают соляной кислотой и в течение 1—1,5 ч окрашивают реактивом Шиффа, после чего помещают последовательно в 3 порции сернистой воды (на 2 мин в каждую) и тщательно промывают.

Группа иридисцентных вирусов рода *Pseudomorphovirus*, поражающих некоторые виды лесных насекомых при экспериментальном заражении, включений не образует. Размеры вириона (диаметр 150—200 мкм) не позволяют наблюдать его в световом микроскопе. Большинство исследований иридисцентно-ви-

русных заболеваний насекомых проведено с использованием электронной микроскопии, однако для предварительного отбора материала такая техника не практична. Более целесообразна методика, предложенная американскими исследователями [289]. Процедура приготовления препаратов следующая. Личинок, фиксированных в смеси Карнуа, заключают в парафин и готовят срезы толщиной 4—6 мк. При этом здоровую и больную личинки заключают в один парафиновый блок так, что ткани каждого типа чередуются на узкой полоске предметного стекла.

Ход окраски следующий. После удаления парафина ксилолом срезы через нисходящую батарею спиртов доводят до воды и красят в течение 5 мин раствором гематоксилина. Затем препарат помещают на 10 с в дистиллированную воду, 30 с обезцвечивают в 1%-ной соляной кислоте, смывают кислоту водой и выдерживают в 0,35%-ной гидроокиси аммония 2 мин. После предварительной промывки в дистиллированной воде срезы дополнительно окрашивают в течение 3 мин эозином и заключают в нейтральную среду. Просматривают препараты в проходящем и в темном поле. Пораженные вирусом клетки окрашиваются в пурпурно-коричневый цвет, кутикула — в зеленый, клетки эпидермиса — в светлый красновато-коричневый, мышечная ткань — в желтый, ганглии и нервные тяжи — в желто-зеленый, мальпигиевы сосуды — в желтовато-зеленый со светло-коричневым ядром, жировое тело — в зеленый с коричневым ядром, кожный эпителий — в желтый, изредка с красноватым оттенком.

Как показывает опыт отечественных и зарубежных патологов, ведущее место в инфекционной патологии насекомых — вредителей лесного хозяйства занимают вирусы, образующие включения; степень воздействия вирусов из других групп не изучена. В случаях эпизоотий неясной природы, когда не удается идентифицировать возбудителя прямым микроскопированием тканей, необходимы биопробы на насекомых [154].

* * *

Использование энтомопатогенных вирусов является одним из наиболее перспективных направлений биологического метода защиты леса. Для разработки эпизоотологического направления в микробиологической борьбе с вредителями лесного хозяйства наиболее целесообразны вирусы, вызывающие полиэдрозы, гранулезы, сфероидозы и некоторые другие формы заболеваний у насекомых. Это подтверждается ролью, которую играет рассмотренная группа инфекционных агентов в подавлении вспышек массового размножения насекомых-фитофагов и опыт ис-

кусственного применения вирусных препаратов в полевых и производственных условиях.

Вирусы поражают большое число видов дендрофильных насекомых. С каждым годом к списку фитофагов-хозяев вирусных патогенов прибавляются новые виды. В настоящее время трудно назвать хвое- или листогрызущее насекомое, имеющее экономическое значение, которое неизвестно как хозяин вируса-возбудителя полиэдроза или гранулеза. К 1974 г. в нашей стране вирусные болезни зарегистрированы примерно у 50 видов насекомых — вредителей лесных насаждений. Учитывая возможность перекрестного заражения, указанное число фитофагов может существенно расширяться. Не исключена и важная роль вирусных болезней в регулировании численности стволовых и других групп вредителей леса. Следовательно, в распоряжении специалистов разрабатывающих микробиологические средства защиты растений, имеется достаточно большое количество высокоэффективных вирусов, пригодных для создания на их основе препаратов.

Опыт практического применения энтомопатогенных вирусов в нашей стране и за рубежом выявил их высокую эффективность и важные преимущества перед другими агентами биологической природы. Вирусы не проявляют особой требовательности к метеорологическим условиям при размножении, в течение длительного времени сохраняют инфекционные свойства, снижают численность вредителей до уровня, не имеющего хозяйственного значения, при разовом применении действуют в течение ряда лет и обладают способностью к широкому распространению за пределы обрабатываемых территорий. Высокая специфичность энтомопатогенных вирусов не приводит к резким сдвигам в биоценозах, сохраняя весь комплекс паразитических и хищных насекомых. Кроме того, энтомопатогенные вирусы, вызывающие полиэдрозы всех типов и гранулезы, не оказывают заметного влияния на теплокровных животных и человека.

С выпуском вирусных препаратов лесное хозяйство получает высокоэффективное средство для построения интегрированных систем защиты насаждений от насекомых-вредителей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров Ю. Н. Серологические взаимоотношения между компонентами вирусов ядерного полиэдроза и тканями вирусов ядерного полиэдроза и тканями насекомых-хозяев. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук. Киев, 1968, 26 с.
2. Александров Ю. Н., Малюта С. С. Индукция летальных мутаций у *Drosophila* вирусами насекомых. XIII Международный энтомологич. конгресс (Труды), т. I, Л., «Наука», 1970, с. 324.
3. Алиханян С. И. Вопросы селекции продуцентов антибиотиков. «Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы», 1958, № 3, с. 15—17.
4. Батурин В. В. Гемолимфа сибирского шелкопряда, ее структура и защитные функции. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук. Иркутск, 1970, 23 с.
5. Богоявленский К. О форменных элементах крови насекомых. «Арх. анат., гистол. и эмбриол.», 1932, т. 11, вып. 2, с. 361—377.
6. Букринская А. Г., Жданов В. М. Субклеточные системы в вирусологии. М., «Медицина», 1973, 239 с.
7. Бондарцев А. С. Шкала цветов. М.—Л., изд. АН СССР, 1954, 27 с.
8. Валецкая Н. И. Влияние внешних факторов на численность вредителей желудей. 1971, т. 3, с. 12—14 (Тезисы докладов к конференции по лесозащите в МЛТИ).
9. Вейзер Я. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми. М., «Колос», 1972, 639 с.
10. Виденова Е., Сенгалевич Г. Вирусно заболевание по гьесениците на миризливия дървеснояд *Cossus cossus* L. (Lep. Cossidae) — «Градив. и лозарска наука», 1966, т. 3, № 1, с. 31—40.
11. Викторов Г. А. Проблемы динамики численности насекомых на примере вредной черепашки. М., «Наука», 1967, 270 с.
12. Воронцов А. И. Биологические основы защиты леса. М. «Высшая школа», 1963, с. 168—190.
13. Воронцов А. И., Каюкина Н. А. Вспышка массового размножения рыжевого соснового пилильщика в Хоперском заповеднике. — «Труды Хоперск. гос. заповедника», 1961, вып. 4, с. 93—104.
14. Гайченя Н. А. Применение вируса желтухи в борьбе с кольчатым шелкопрядом. — «Лесное хозяйство», 1959, № 7, с. 45—46.
15. Гершензон С. М. О видовой специфичности вирусов полиэдренной болезни насекомых. «Микробиология», 1955, № 24, с. 90—98.
16. Гершензон С. М. Механизм заражения клеток полиэдренными вирусами в свете наблюдения над размером и формой полиэдров, М., 1956, № 109, с. 1199—1201 (Доклады АН СССР).
17. Гершензон С. М. Новые данные о патогенезе полиэдроза насекомых. — «Вопросы вирусологии», 1958, № 3, с. 97—101.
18. Гершензон С. М. Контрастное окрашивание внутриядерных включений при полиэдрозе насекомых. — «Ceskoslovensko Parasitologie», 1958, N 5, с. 113—114.
19. Гершензон С. М. Мутации полиэдренных вирусов. М., 1959, № 128, с. 622—625 (Доклады АН СССР).
20. Гершензон С. М. О геометрической форме внутриядерных включений при полиэдрозе насекомых. — «Вопросы вирусологии», 1960, № 1, с. 101—104.
21. Гершензон С. М. Явление латентности у полиэдренных вирусов насекомых. — «Журн. общей биологии», 1961, т. 22, № 1, с. 32—41.
22. Гершензон С. М. Основные черты эпизоотии вирусных болезней насекомых. Новосибирск, 1964, с. 36. (Доклады на симпозиуме «Исследования по биолог. методу борьбы с вредител. сельского и лесного хозяйства»).

23. Гершензон С. М. Мутагенное действие вирусов.— «Вестник АН СССР» № 3, 1969, с. 58—61.

24. Гершензон С. М. Видовая специфичность радужного вируса долгоножки. XIII Международный энтомологич. конгресс (Труды), т. II. Л., «Наука», 1971, с. 65—66.

25. Голосова М. А. Анализ вспышки массового размножения пядениц-шелкопрядов на юго-востоке РСФСР.— В сб.: Научная конференция по вопросам массовых размножений вредителей леса. Уфа, 1962, с. 23—29.

26. Голосова М. А. Вирусная эпизоотия пядениц-шелкопрядов.— В сб.: Вопросы лесозащиты. М., 1966, с. 15—18 (Сборник трудов ЦНИИТЭИлеспром).

27. Голосова М. А., Гулий В. В. Экспериментальный полиэдроз европейской златогузки.— В сб.: Вопросы защиты леса. 1973, вып. 41, М., с. 68—74.

28. Голосова М. А. Болезни дубовой зеленой листовертки.— В сб.: Вопросы защиты леса. 1974, вып. 50, М., с. 32—40.

29. Гольдин М. И. Вирусные включения в растительной клетке и прихода вирусов. М., изд-во АН СССР, 1963. 203 с.

30. Гороховников А. В., Орловская Е. В., Фодор Ш. Эпизоотия ядерного полиэдроза в очаге лунчатого шелкопряда (*Cosmotriche lunigera* Esp.). Научные труды Ленинград. лесотехн. академ, 1968, № 115, с. 74—79.

31. Гукасян А. Б., Коломиец Н. Г. Опыт использования шелкопрядной бациллы в борьбе с сибирским шелкопрядом.— «Лесное хозяйство», 1957, № 1, с. 38.

32. Гулий В. В. Вирусное заболевание ложногусениц соснового рыжего пилильщика в кедровых лесах Среднего Приобья.— «Изв. СО АН СССР», 1966, № 8, вып. 2, с. 139—140.

33. Гулий В. В. Ядерный полиэдроз тополевого волосатого пилильщика.— «Изв. СО АН СССР», 1967, № 3, с. 134—135.

34. Гулий В. В. Люминесцентномикроскопическая диагностика полиэдрозов сосновых пилильщиков.— В сб.: Биологические методы борьбы с вредителями сельского хозяйства, 1967, Ташкент, с. 157—159.

35. Гулий В. В. Роль некоторых групп животных в распространении энтомопатогенных вирусов в лесных биоценозах.— «Лесоведение», 1969, № 3, с. 14—20.

36. Гулий В. В. Итоги вирусологического изучения сибирских популяций вредных насекомых.— «Изв. СО АН СССР», 1971, № 5, вып. 1, с. 72—78.

37. Гулий В. В. Патогенез и патоморфология полиэдроза тополевого волосатого пилильщика.— «Биологические науки», 1971, № 10, с. 12—18.

38. Гулий В. В. Микробиологическая борьба с рыжим сосновым пилильщиком.— В сб.: Защита леса от вредителей и болезней, 1972, с. 96—102 (Сборник трудов ВАСХНИЛ).

39. Гулий В. В. Гранулез яблонной плодожорки в Западной Сибири.— «Защита растений», 1972, № 1, с. 24—25.

40. Гулий В. В. Полиэдрозы и гранулезы насекомых-фитофагов сибирской фауны. Автореф. дис. на соиск. учен. степени доктора биол. наук. Новосибирск, 1973, 48 с.

41. Гулий В. В., Жимерикин В. Н. Вирус гранулеза шишковой огневки.— «Лесное хозяйство», 1969, № 9, с. 56.

42. Гулий В. В., Жимерикин В. Н. Опыт авиационной вирусологической борьбы с рыжим сосновым пилильщиком.— «Лесоведение», 1971, № 3, с. 87—89.

43. Гулий В. В., Коршунова А. С. Новые виды насекомых хозяев инклюзионных вирусов. М., 1971, с. 41—44 (Тезисы докладов к конференции по лесозащите в МЛТИ).

44. Гулий В. В., Хаджиева Т. М. Псевдоопухли перепончатокрылых насекомых.— «Изв. СО АН СССР», 1970, № 10, вып. 2, с. 114—119.

45. Давыдова А. В. Паразиты и болезни красновоста. Материалы научной конф. по вопр. лесного х-ва. Секция защиты леса от вредителей и болезней. ВНИИЛМ, М., 1970, с. 27—29.

46. Дикасова Е. Т. Значение гидротермического фактора для выявления скрытого заражения полиэдрей на примере тутового шелкопряда. Материалы I Международной конф. по патологии насекомых. Прага, 1968, с. 231—245.

47. Дикасова Е. Т. Гранулез озимой совки и применение его для борьбы с этим вредителем. Ташкент, «ДАН», 1969, 145 с.

48. Дикусар М. К. Применение вируса ядерного полиэдроза в борьбе с американской белой бабочкой. «Изд. АН Молд. ССР. Сер.-биолог. и хим.», 1971, № 3, с. 79—82.

49. Добровольский Б. В. Защита растений в СССР на современном этапе развития науки и производства. «С.-х. биология», 1966, № 3, с. 8—10.

50. Добровольский Б. В. Стратегия защиты растений в СССР. XIII Международный энтомологич. конгресс (Труды). Т. II, Л., «Наука», 1971, с. 323—324.

51. Евлахова А. А., Швецова О. И. Наставление по изучению болезней насекомых и применению микробиологического метода защиты растений. АН СССР, М.—Л., 1953, 148 с.

52. Евлахова А. А., Швецова О. И. Болезни вредных насекомых. Методы учета, сбора, хранения и пересылки насекомых, пораженных болезнями. М., «Колос», 1965, 51 с.

53. Елисеев В. Г. (под ред.) Гистологическая техника. М., Медгиз, 1967, 204 с.

54. Ермакова Г. И., Тарасевич Л. М. Применение метода флуоресцирующих антител для обнаружения полиэдренного антигена в грене тутового шелкопряда.— В кн.: Биологические методы борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйства. Ташкент, 1966, с. 106—107.

55. Жимерикин В. Н. Ядерный полиэдроз хвойной волнянки в сосновых насаждениях Бурятии.— В сб.: Защита леса от вредных насекомых и болезней. М., 1971, с. 62—64.

56. Жимерикин В. Н. Использование вирусов *Birdia diprionis* (штамм «Томский») в борьбе с рыжим сосновым пилильщиком. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук, М., 1972, 24 с.

57. Жимерикин В. Н., Гулий В. В. Гранулез шишковой огневки.— «Изв. СО АН СССР», 1972, вып. I, с. 68—72.

58. Заварзин А. А. О воспалительном новообразовании соединительной ткани у *Apodanta*.— «Изв. Биолог. НИИ при Пермском ун-те», 1926, т. 4, вып. I, с. 15—24.

59. Заварзин А. А. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. М.—Л., АН СССР, 1953, 716 с.

60. Заринь И., Калныня Л. Влияние температуры на развитие ядерного полиэдроза кольчатого шелкопряда.— «Труды ЛСХА», Елгава, 1971, вып. 40, с. 20—24.

61. Заринь И., Калныня Л. Испытание вируса ядерного полиэдроза против кольчатого шелкопряда (*Malacosoma neustria* L.) в условиях Латвии.— «Труды ЛСХА», Елгава, 1972, вып. 69, с. 75—78.

62. Заринь И., Ритума И., Берзиня И. Некоторые данные о сохранности вирулентности вируса ядерного полиэдроза кольчатого шелкопряда (*Malacosoma neustria* L.) при длительном хранении разнovidных препаратов.— «Труды ЛСХА», Елгава, 1972, вып. 69, с. 79—83.

63. Зеленин А. В. Люминесцентная цитохимия нуклеиновых кислот. М., «Наука», 1967, 135 с.

64. Зеленин А. В. Взаимодействие аминопроизводных акридина с клеткой. М., «Наука», 1971, 231 с.
65. Зеленин А. В., Ляпунова Е. А., Петрикевич С. Б. О прижизненности некоторых видов люминесцентно-микроскопического исследования. 1964, с. 140 (Тезисы докладов XIII совещания по люминесценции).
66. Знаменский В. С. Интегрирование химических и биологических средств защиты леса. М., 1970, 29 с.
67. Зильбер Л. А. Основы иммунизации. М., Медгиз, 1948, 494 с.
68. Зурабова Э. Р., Козлов Л. П. Метод флуоресцирующих антител для диагностики энтомопатогенных бактерий. — В сб.: Использование микроорганизмов в животноводстве и для защиты растений. Л., 1968, с. 135—138.
69. Иванов Г. М. Полиэдроз античной волнянки. — «Защита растений», 1967, № 6, с. 54.
70. Иванов П. П. Общая и сравнительная эмбриология. М., Биомедгиз, 1937, 809 с.
71. Иванова-Казас О. М. Очерки по сравнительной эмбриологии перепончатокрылых. Л., изд-во ЛГУ, 1961, 266 с.
72. Ивановский Д. И. О двух болезнях табака. — «Сельское хозяйство и лесоводство», 1892, № 3, с. 31—40.
73. Исследование инфекционной РНК, образующейся в насекомых, зараженных вирусом ядерного полиэдроза. — «Вопросы вирусологии», 1963, № 6, с. 337—343. Авт.: С. М. Гершензон, И. П. Кок, К. И. Витас, Г. Н. Добровольская, Р. Т. Рипецкий.
74. Киселев Н. А., Маняков В. Ф. Методы электронномикроскопических исследований биологических макромолекул. — В сб.: Физические методы исследования белков и нуклеиновых кислот. М., «Наука», 1967, с. 70—79.
75. Ковалевский А. О. Beitrage zur nachembryonalen Entwicklung der Musciden gs. wiss. „Zool.“, 1887. 65 с.
76. Козлов Э. А., Алексеев И. П. Электронномикроскопическое исследование структуры вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда. — «Микробиол. журн.» 1967, т. 29, № 6, с. 531—538.
77. Коломиец Н. Г. Комплексные очаги массового размножения пилильщиков (Нуп. Diprionidae) в кедровниках. — «Изв. СО АН СССР. Сер. биол.-мед. наук.», 1966, вып. 1, с. 150—151.
78. Коломиец Н. Г. Звездчатый пилильщик-ткач. Новосибирск, «Наука», 1967, с. 134.
79. Коломиец Н. Г. Состояние и перспективы изучения энтомофагов вредных насекомых в лесах Сибири и Дальнего Востока — В сб.: Биологические ресурсы суши севера Дальнего Востока. Владивосток, 1971, с. 233—240.
80. Коломиец Н. Г., Гукасян А. Б. Состав и основные свойства гемолимфы гусениц сибирского шелкопряда. — «Изв. СО АН СССР», 1961, № 3, с. 82—89.
81. Коломиец Н. Г., Воронцов А. И., Стадницкий Г. В. Рыжий сосновый пилильщик. Новосибирск, «Наука», 1972, с. 148.
82. Космачевский А. С., Осенняя Т. А., Ярошенко В. А. Применение вируса полиэдроза и гранулеза против американской белой бабочки. — В кн.: Патогенные микроорганизмы вредителей растений. Рига, 1972, с. 83—84. (Материалы симпозиума).
83. Лазаренко Ф. М. Опыт культивирования ткани и органов в организме. — «Анатомия, гистология и эмбриология», 1939, т. 21, вып. 1, с. 45—52.
84. Лаппа Н. В. Микробиологичний метод прогнозу размноження золотуга. — «Вісник с.-г. науки», 1962, № 3, Київ, с. 102—105.
85. Лаппа Н. В. Патология гемолимфы при заболеваниях златогузки и некоторых других чешуекрылых и использование ее для обоснования про-

гноза размножения и микробиологического метода борьбы. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук. Киев, 1964, с. 23.

86. Лаппа Н. В. Гемолимфа златогузки и патологические изменения в ней под влиянием энтомопатогенных бактерий.— В кн.: Защита растений. Киев, 1967, вып. 4, с. 60—76.

87. Ларченко К. И. Цикл развития жирового тела лугового мотылька и озимой совки и его связь с созреванием и плодovitостью.— «Энтомологическое обозрение», 1937, т. 27, вып. 1—2, с. 29—65.

88. Ларченко К. И. Эколого-гистологическое исследование плодovitости лугового мотылька.— «Зоологический журнал», 1940, т. 19, вып. 6, с. 842—858.

89. Лескова А. Я. Вирусное заболевание яблонной моли.— «Защита растений от вредителей и болезней», 1965, № 5, с. 47.

90. Лескова А. Я., Веремчук Г. В. Биопрепарат энтобактерин в борьбе с вредителями леса.— В кн.: Вопросы лесозащиты. 1963, т. I, М., стр. 86—87.

91. Лукьянчиков В. П. Вирус гранулеза в борьбе с сибирским шелкопрядом.— «Защита растений от вредителей и болезней», 1962, № 2, с. 24—25.

92. Лукьянчиков В. П. Некоторые вопросы гистологии при вирусном гранулезе у сибирского шелкопряда.— «Вопросы вирусологии», 1963, № 3, с. 7—9.

93. Лукьянчиков В. П. Гранулез сибирского шелкопряда. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук. Свердловск, 1964, 12 с.

94. Лукьянчиков В. П. Изучение полиэдроза боярышницы.— В сб.: Исследования по биологическому методу борьбы с вредителями сельского и лесного хоз-ва. 1965, вып. 2, Новосибирск, с. 55—60.

95. Лукьянчиков В. П. Вирусы в борьбе с некоторыми хвое- и листогрызущими насекомыми Сибири. Ташкент, 1966, с. 126—130. (Материалы Всесоюз. межвуз. конферен. по биометоду).

96. Любарский Л. В., Наконечный В. И. Об энтомофагах приамурской популяции непарного шелкопряда — *Oscneria (Lumantria) dispar praeterita* Kard. (Lepidoptera, Orgiidae).— «Сборник трудов ДальНИИЛХ». М., «Лесная промышленность», 1970, 221—229 с.

97. Медунин Н. В. Влияние адьюванта на процесс образования антител.— «ЖМЭИ», 1965, № 7, с. 113—118.

98. Медведева Н. Б. Размножение полиэдреного вируса в культурах тканей насекомых.— «Вопросы вирусологии», 1959, № 4, с. 449—456.

99. Мейнелл Д., Мейнелл Э. Экспериментальная микробиология. М., «Мир», 1967, 345 с.

100. Мейсель М. Н. Люминесцентномикроскопический анализ функционального состояния живого вещества.— «Изв. АН СССР. Сер.— физич.», 1951, с. 778.

101. Мейсель М. Н. Флуоресцентная микроскопия и цитохимия в общей микробиологии.— В сб.: Успехи микробиологии. 1971, вып. 7, «Наука», с. 3—32.

102. Мейсель М. Н., Кондратьева Т. М., Помощникова Н. А. Функциональное состояние и реактивность структур клеточного протопласта.— «Журн. общей биологии», 1951, т. 12, № 5, с. 312.

103. Морозова М. Ф. Использование суспензии ядерного полиэдроза в борьбе с боярышниковой листоверткой.— В сб.: Биологические методы борьбы с вредителями сельского и лесного хоз-ва и сорняками. Ташкент, 1966, с. 134—135.

104. Милосердова В. Д. Культивирование клеток насекомых вне организма.— «Цитология и генетика», 1967, т. 1, № 1, с. 78—90.

105. Милосердова В. Д. Изменчивость форм полиэдров в культуре ткани насекомых, зараженных вирусом ядерного полиэдроза.— «Микробиол. журн.», 1970, т. 32, № 1, с. 82—86.

106. Милосердова В. Д., Сухорада Е. М. Культивирование на переживающих клетках семенниковых цист непарного шелкопряда чужеродного вируса ядерного полиэдроса. Т. 2. (Тезисы докладов Всесоюзн. межвуз. научн. конф. по вет. вирусологии). М., 1973, 152—153 с.
107. Науменко А. Т. Пути направленного регулирования численности насекомых в лесах Молдавии.— «Сборник работ по лесному хозяйству Молдавии», вып. VI, Кишинев, 1972, 105—107 с.
108. Николау Ш. Патогенез и иммунология вирусных инфекций. М., «Медицина», 1965, 362 с.
109. Ованесян Т. Т. К вопросу об иммунитете желтухи у тутового шелкопряда.— В сб.: Желтуха тутового и дубового шелкопряда. М., 1947, с. 76—90.
110. Окунев П. П. Причины и условия массового размножения сибирского шелкопряда.— «Сборник работ по лесному хозяйству ЛенНИИЛХ», М.—Л., Гослесбумиздат, 1962, с. 36—45.
111. Орловская Е. В. Эпизоотии некоторых чешуекрылых в Западных областях УССР.— В кн.: Материалы совещания по микробиологической борьбе с вредителями сельского и лесного хоз-ва, микробиологии и патологии насекомых. Новосибирск, 1960, с. 27—28.
112. Орловская Е. В. Развитие вирусных эпизоотий у кольчатого шелкопряда и боярышницы в связи с биологическими особенностями этих видов.— «Вопросы лесозащиты», т. 1, М., 1963, с. 121—123 (Труды МЛТИ).
113. Орловская Е. В. Пути использования вирусов в борьбе с вредными лесными чешуекрылыми. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук, Л., 1968, 15 с.
114. Орловская Е. В. Географическое распространение и проявление вирусов у вредных дендрофильных насекомых на территории Советского Союза.— «Энтомологическое обозрение», т. 67, 1969, с. 741—756.
115. Орловская Е. В. Вирусы насекомых и их применение в защите растений. М., МСХ СССР ВНИИТЭИСХ, 1970, 41 с.
116. Орловская Е. В., Сефианов Ш. С. Экономическая оценка применения препарата «Вириэн-энш».— «Лесное хозяйство», 1974, № 6, с. 90—94.
117. Петровская В. Г. Проблема вирулентности бактерий. Л., «Медицина», 1967, 263 с.
118. Пирс Э. (Pearse E.). Гистохимия. М., «Иностранная литература», 1962, 944 с.
119. Пиз Д. Гистологическая техника в электронной микроскопии. М., «Иностранная литература», 1963, 150 с.
120. Плешанов А. С. Факторы, влияющие на численность серой листовичной листовертки.— В кн.: Защита леса от вредных насекомых и болезней. 1971, с. 146—150 (труды МЛТИ).
121. Планк Я. Болезни растений. М., «Колос», 1966, 187 с.
122. Покозий И. Г. Роль эпизоотий в динамике численности златогузки на востоке Украины.— В кн.: Динамика численности насекомых, повреждающих с.-х. культуры. Т. 5, 1966, с. 148—161 (Сборник трудов Харьковского СХИ).
123. Поликар А. (Policard A.), Бесси М. (Bessi M.). Элементы патологии клетки. М., «Мир», 1970, 348 с.
124. Полтев В. И. Третичные основы микробиологического метода борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйства. Новосибирск, 1960, с. 36—40 (Материалы совещания по микробиологической борьбе).
125. Полтев В. И., Лукьянчиков В. П. Вирус гранулеза, поражающий гусениц сибирского шелкопряда.— «Защита растений от вредителей и болезней», 1961, № 10, с. 38—39.
126. Попов Г. М., Шафрановский И. И. Кристаллография. М., «Высшая школа», 1955, 351 с.

127. **Поярков Э. Ф.** Recherches histologiques sur la métamorphose d'un Coleopters. Arch. d'anat. micr., 1910, 12, s. 334—474.
128. **Поярков Э. Ф.** Тутовый шелкопряд — *Bombix mori* L. Биология и разведение. Ташкент. Изд-во Среднеазиатск. ин-та шелководства, 1929, 512 с.
129. **Примак Т. А.** Патологические изменения в гемолимфе насекомых при различных заболеваниях и заражении паразитами.— «Научн. труды УНИИЗР», 1959, т. 8, с. 241—247.
130. **Рипецкий Р. Т.** Влияние температуры на изменчивость форм ядерных полиэдров при желтухе тутового шелкопряда.— «Вопросы вирусологии», 1965, № 4, с. 397—402.
131. **Роскин Г. И., Левинсон Л. В.** Микроскопическая техника. М., «Сов. наука», 1957, 467 с.
132. **Рыжков В. Л., Городская О. С.** О белковом веществе внутриядерных включений при желтухе тутового шелкопряда.— «Бюлл. эксперим. биол. и медицины», 1949, № 27, с. 138—140.
133. **Рындовская Ю. Л.** О двойной вирусной инфекции у американской белой бабочки — *Nuphantria cunea Drury*. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук, М., 1972, 24 с.
134. **Северина Н. И.** Изменение активности возбудителя полиэдроза капустной совки в процессе хранения.— «Защита растений», вып. 6, 1973, с. 6 (Бюлл. СибНИИХИМ).
135. **Северина Н. И.** Вирусная патология чешуекрылых насекомых — вредителей овощных культур в Западной Сибири. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук, Иркутск, 1974, 24 с.
136. **Семенова З. А.** Цитологические изменения при желтухе тутового шелкопряда. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук, М., 1952, 18 с.
137. **Семевский Ф. Н.** Об автогенетической регуляции плотности популяции насекомых.— В кн.: Вопросы защиты леса, 1967, М., вып. 15, с. 71—74 (Труды МЛТИ).
138. **Сикура А. И.** Инсектицидно-микробные смеси.— «Защита растений», 1967, № 8, с. 12.
139. **Сикура А. И., Красницкая Р. С.** Усиление действия вируса гранулеза американской белой бабочки — *Nuphantria cunea Drury*. путем использования смешанной инфекции.— В сб.: Патогенные микроорганизмы вредителей растений. Рига, «Зинатне», 1972, с. 90—92.
140. **Симонова А. С.** Вирусные заболевания пядениц-шелкопрядов.— В сб.: Исследования по биологич. методу борьбы с вредителями сельского и лесного хоз-ва. Новосибирск, 1964, с. 83—85.
141. **Симонова А. С.** Видовая специфичность ядерно-полиэдренных вирусов пядениц *Phigalia pedaria* F., *Biston hispidaria*-Schiff. *Biston hirtaria* Cl.— В сб.: Исследования по биол. методу борьбы с вредителями сельского х-ва. Новосибирск, 1965, с. 50—52.
142. **Симонова А. С.** Видовая специфичность энтомопатогенных вирусов. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук. Л., 1966, 12 с.
143. **Синицкий М. М., Похитон С. В.** Вплив боверину в суміші з ДДТ і вірусом ядерного поліедрозу на виживаність гусениць непарного шовкопряду (*Porthetria dispar* L.).— «Труды Укр. с.-г. акад.», 1970, вып. 28, с. 3—7.
144. **Сирко Л. А.** Инфекционная патология капустной совки в связи с изучением микробиологического метода борьбы с этим вредителем. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук. Новосибирск, 1968, 20 с.
145. **Сиротина М. И.** Красочная реакция крови как диагностический признак раннего заболевания дубового шелкопряда желтухой.— «Научные труды ин-та энтом. и фитопат. АН УССР», 1950, № 12, с. 338—349.

146. Сиротина М. И. Гематологический контроль при разработке микробиологической борьбы с колорадским жуком. 1961, № 3, с. 720—723 (Доклады АН СССР).
147. Сиротина М. И. Анализ гемолимфы вредителей.— В кн.: Надзор, учет и прогноз массовых размножений хвое- и листогрызущих насекомых. М., «Лесная промышленность», 1965, с. 137—170.
148. Сметник А. И. Эффективность совместного применения биопрепарата энтобактерина — 3 и ДДТ в борьбе с американской белой бабочкой (*Huphantria cunea Drury*).— В кн.: Защита растений. Киев, 1967, вып. 4, с. 39—46.
149. Степе И., Сэвулеку А., Плоае П. Изменения ядра при полиэдрозе гусениц ивового шелкопряда *Stilpnotia salicis* L. (Lepidoptera).— В кн.: Природа вирусов. М., «Наука», 1966, с. 110—124.
150. Строганова В. К., Гулий В. В. Морфология гемоцитов некоторых хвоегрызущих пилильщиков (Hymenoptera, Tenthredionoidea).— «Энтомологическое обозрение», 1973, т. 52, № 2, с. 256—259.
151. Суитмен Х. (Sweetman H.). Биологический метод борьбы с вредными насекомыми и сорными растениями. М., «Колос», 1964, 575 с.
152. Талалаев Е. В. Септицемия гусениц сибирского шелкопряда.— «Микробиология», 1957, т. 25, вып. 1, с. 99—102.
153. Талалаев Е. В. Об унифицировании терминологии в разработке микробиологического метода защиты растений от вредных насекомых.— В кн.: Использование микроорганизмов для борьбы с вредными насекомыми в лесном хозяйстве. Иркутск, 1970, с. 15—25 (Сборник трудов Иркутск. ун-та).
154. Талпалацкий П. Л. Биохимические свойства вируса *Moratorvirus ragalysis* и вызываемые им цитоморфологические изменения в кишечнике медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) в условиях Приморского края. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук, Новосибирск, 1971, 22 с.
155. Тарасевич Л. М. О нуклеиновых кислотах в полиэдрах тутового шелкопряда.— «Микробиология», 1946, № 15, с. 337—340.
156. Тарасевич Л. М. Физиологические условия размножения вируса полиэдрической болезни тутового шелкопряда. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биол. наук, М., 1959, 32 с.
157. Тарасевич Л. М. Энтмопатогенные вирусы и их применение.— «Успехи микробиологии», 1971, № 7, с. 240—253.
158. Тарасевич Л. М. Вирусы насекомых в единой классификации вирусов.— «Изв. АН СССР. Сер.— биол.», 1973, № 5, с. 696—705.
159. Тарасевич Л. М., Уланова Е. Ф. Действие некоторых витаминов и антивитаминов на гемолимфу здоровых и зараженных грибов гусениц тутового шелкопряда.— «Изв. СО АН СССР. Сер.— биол.», 1958, № 3, с. 352—360.
160. Тарасевич Л. М., Уланова Е. Ф., Шведчикова Н. Г. О роли РНК полиэдров, содержащих ДНВ-вирус.— В сб.: О природе вирусов. М., «Наука», 1966, с. 175—180.
161. Теленга Н. А. Повышение мускардиноза у свекловичного долгоносика при помощи гексахлорана. 1956, № 3, с. 665—666. (Доклады АН СССР).
162. Теленга Н. А. Использование мускардиновых грибов совместно с инсектицидами в борьбе с вредными насекомыми. Прага, 1958, с. 155—168. (Материалы I Международной конф. по патологии насекомых и биол. борьбе с вредителями).
163. Теравский Н. К. О форменных элементах гемолимфы клещей сем. Argasidae. «Зоологический журнал», 1957, т. 36, вып. 10, с. 36—42.
164. Тихоненко Т. И. Биохимия вирусов и их компонентов.— В кн.: Молекулярная биология вирусов. М. «Наука», 1971, с. 11—98.
165. Тюльпанова В. А., Тюльпанов В. Г. Картина крови шишкового огневки при микозе, вызываемом *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.— В кн.: Ис-

пользование микроорганизмов для борьбы с вредными насекомыми в лесном хозяйстве. Иркутск, 1970, с. 183—191 (Сборник трудов Иркутск. ун-та).

166. Уланова Е. Ф. К патогенезу полиэдроза гусениц тутового шелкопряда I возраста (люминесцентномикроскопическое и гистохимическое изучение). XIII Международный энтомологич. конгресс. (Труды. Т. I, Л., «Наука», 1970, с. 282.

167. Уланова Е. Ф. Материалы к патогенезу тутового шелкопряда I возраста. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук. М., 1969, 18 с.

168. Ушатинская Р. С. Физиологические особенности вредной черепашки (*Eurygaster integriceps* Put.) в период покоя, при зимовке в горах и на равнине. — В сб.: Вредная черепашка. 1955, т. 3, М., изд-во АН СССР, с. 135—170.

169. Хаджиева Т. М., Гулий В. В. Сохранение активности препаратов, приготовленных на основе вируса *Birdiavirus diprionis*. (Аннотации докладов к VI съезду ВЭО). Воронеж, изд-во «ИЧО», 1970, с. 186.

170. Хлистовский Е. Д. Массовое воспроизводство растительноядных насекомых на искусственных питательных средах (обзор). М., 1973, 59 с.

171. Хейбл К., Зальцман Н. Р. Методы вирусологии и молекулярной биологии. М., «Мир», 1972, 444 с.

172. Чельшева Л. П. К изучению видовой специфичности вируса японской ореховой павлиноглазки. — В кн.: Защита леса от вредных насекомых и болезней, 1971, т. 1, М., с. 177—179. (Труды МЛТИ).

173. Чугунин Я. В. Сопряженность массового появления различных гусениц листогрызущего комплекса. — «Зоологический журн.», 1951, т. 30, вып. 1, с. 63—65.

174. Чхубианишвили Ц. А. Результаты изучения ядерного полиэдроза как фактора регуляции численности пядениц в Грузии. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук, Тбилиси, 1965, 24 с.

175. Чхубианишвили Ц. А. О заражении соснового коконопряда вирусом денсонкулеоза. — В кн.: Защита леса от вредных насекомых и болезней. 1971, т. 1, М., с. 180—181. (Труды МЛТИ).

176. Шварц С. С. Экология и эволюция. М., «Знание», 1974, 64 с.

177. Шведчикова Н. Г. Некоторые данные о природе вируса гранулеза сибирского шелкопряда *Dendolimus sibiricus* Tchtw. Автореф. дис. на соиск. учен. степени канд. биолог. наук. М., 1968, 24 с.

178. Швецова О. И. Окраска полиэдренных тел при диагностике желтухи у тутового и дубового шелкопрядов. — «Шелк», 1939, № 7, с. 46.

179. Швецова О. И. Активность вируса желтухи в связи с распадом полиэдров. — «Труды ВИЗР», 1949, № 12, с. 118—124.

180. Швецова О. И. Роль пищевого фактора в развитии вирусных эпизотий насекомых. — В кн.: Инфекционные и протозойные болезни насекомых М., СХГ, 1954, 40 с.

181. Шефталъ Н. Н. Аксессуары роста кристаллов. — «Труды ин-та кристаллографии АН СССР», 1947, вып. 3, с. 18—20.

182. Шиперович В. Я. Распространение пиллищиков, вредящих сосне в Парголовском опытном лесничестве, и факторы, понижающие энергию их размножения. — «Изв. Ленингр. лесного ин-та», 1927, т. 34, с. 103—118.

183. Шишкин Б. А. Форменные элементы гемолимфы медоносной пчелы. — «Труды Бурят-Монгольского с.-х. ин-та», 1957, вып. 14, с. 29—30.

184. Шишкин Б. А. Форменные элементы гемолимфы медоносной пчелы. — «Труды Бурят-Монгольского с.-х. ин-та», 1958, вып. 15, с. 41—42.

185. Шовен Р. (Chauvin R.). Физиология насекомых. М., «Иностр. лит-ра», 1953, 494 с.

186. Штейнхауз Э. (Steinhaus E.). Патология насекомых. М., «Иностр. лит-ра», 1949, 837 с.

187. **Эндрюс К.** (Andrewes C.). Естественная история вирусов. М., «Мир», 1967, 312 с.
188. **Acqua C.** Ricerche sulla malattia del gialume del bacoda seta. Rend. Insect Bact. Scuola Super. Agr. Portici, 1918, 3, pp. 243—256.
189. **Aizawa K.** The nature of infection caused by nuclear-polyhedrosis virus. In „Insect Pathology an advanced Treatise“. Academic Press, New-York and London, 1963, 1, pp. 381—412.
190. **Armstrong J. A., Niven J.** Fluorescence microscopy in the study of nucleic acids. Histochemical observation on cellular and virus nucleic acids. Nature, 1957, 180, p. 1335.
191. **Aruga H.** The induction of and resistance to the nuclear and cytoplasmic polyhedroses in the silkworm. Rev. du Ver. à Soie, 1961, 13, pp. 37—41.
192. **Aruga H., Israngkul A.** Studies on the size of cytoplasmic polyhedra of the silkworm, *Bombyx mori* L. Nippon Sanshigaku Lasshi, 1961, 30, pp. 119—125.
193. **Auer C.** Erste Ergebnisse einfacher Stochastischer Modelluntersuchungen des grauen clarchem wicklers *Zeiraphera diniana* Gn. (*Z. greseana* Hb) in Oberengadin, 1949/66. Zeit ang. Ent., 1968, b2, s. 203—235.
194. **Ballett A. J. D.** The multiplication of sericesthis iridescent virus in cell cultures from *Anthera eucalypti* Scott. III Quantitative experiment. „Virology“, 1965, N 26, pp. 132—141.
195. **Benz G.** Histopathological changes and histochemical studies on the nucleic acid metabolist in the polyhedrosis infected gut of *Diprion hercyniae* Hart. J. Insect Pathol., 1960, N 3, 2, pp. 259—273.
196. **Benz G.** A nuclear polyhedrosis of *Malacosoma alpicola* (Staudinger). „Insect Pathol.“, 1963, N 5, pp. 215—241.
197. **Benz G.** Sinerghism of micro-organism and chemical insecticides. In „Microbial Control of Insect and Mites“. „Academic Press“, New York, 1971, pp. 327—355.
198. **Bergold G. H.** Über Polyederkrankheiten bei Insecten. Biol. Zentr. 1943, 63, S. 1—55.
199. **Bergold G. H.** Die Isolierung des Polyedervirus und die Natur der Polyeder. Z. Naturforsch., 1947, 2 b, S. 122—143.
200. **Bergold G. H.** Über die Kapselviruskrankheit. Z. Naturforsch., 1948, 3 b, S. 338—342.
201. **Bergold G. H.** The multiplication of insect viruses. Symposium Soc. Gen. Microbiol., 1953, pp. 276—283.
202. **Bergold G. H.** Viruses of insects. Handbuch der Virusforschung, vol. LV, Wien, 1958, pp. 60—142.
203. **Bergold G. H.** Structure and chemistry of insect viruses. Proc. 4th Intern. Congr. Biochem., 1959, 7, pp. 95—98.
204. **Bergold G. H.** The molecular structure of some insect virus inclusion bodies. J. „Ultrastruct. Res.“, 1963, N 8, pp. 360—378.
205. **Bergold G. H., Wellington E. F.** Isolation and chemical composition of the membranes of an insect virus and their relation to the virus and polyhedral bodies. J. Bacteriol., 1954, 67, pp. 210—216.
206. **Bettini S., Sarkaria D. S., Patton R. L.** Observation on the fate of vertebrate erythrocytes and hemoglobin infected in to the blood of the American cockroach (*Periplaneta americana* L.). Science, 1951, 4, 113, pp. 9—10.
207. **Billotti E.** Observations épizootiologiques sur la Processionnaire du Pin. Rev. Ent. agric. et Path. vég., 1959, XXXVIII, pp. 149—155.
208. **Bird F. T.** A virus (polyhedral) disease of the European spruce sawfly, *Gilpinia fumiferana* (Htg.). Thesis, Mc Gill University, Montreal, Canada, 1949.

209. **Bird F. T.** On the multiplication of an insect virus. *Biochem. Biophys. Acta*, 1952, 8, pp. 360—368.
210. **Bird F. T.** The use of virus diseases against sawflies. Rept. 6th Commonw. ent. Conf., London, 1954, pp. 122—125.
211. **Bird F. T.** Virus diseases of sawflies. *Canad. Entomol.*, 1955, 87, N 3, pp. 124—141.
212. **Bird F. T.** Histopathology of granulosis viruses in insects. *Can. J. Microbiol.*, 1958, 4, pp. 267—272.
213. **Bird F. T.** Transmission of some insect viruses with particular reference to ovarian transmission and its importance in the development of epizootics. *J. Insect Pathol.*, 1961, 3, N 4, pp. 352—380.
214. **Bird F. T.** On the development of insect polyhedrosis and granulosis virus particles. *Can. J. Microbiol.*, 1964, 10, pp. 49—52.
215. **Bird F. T., Whalen M. M.** A nuclear and cytoplasmic polyhedral virus diseases of the spruce budworm. *Can. J. Zool.*, 1954, 32, pp. 82—86.
216. **Bird F. T., Elgee D. E.** A virus diseases and introduced parasites as factors controlling the European spruce sawfly, *Diprion hercyniae* Htg. in central New Brunswick. *Can. Entomol.*, 1957, 89, pp. 371—378.
217. **Bird F. T., Burk J. M.** Artificially disseminated virus as a factor controlling the European spruce sawfly, *Diprion hercynia* (Htg.) in the absence of introduced parasitoid. *Canad. Entomol.*, 1961, 93, N 3, pp. 228—238.
218. **Breed R. S., Murray E. G., Hitchens A. P.** *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 6th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 1948, pp. 1529.
219. **Cameron M. B.** The use of viruses in the control of some forest insects in Canada. *Verh. XI Int. Kong. Ent. (Wien, 1960)*, 1962, 2, S. 769—776.
220. **Campbell R. W.** The role of Disease and desiccation in the population dynamics of the gypsy moth *Porthetria dispar* L. (*Lepidoptera: Lymantridae*). *Can. Ent.*, 1963.
221. **Campbell R. W., Podgwaite J. D.** The disease complex of the gypsy moth. I. Major components. *J. Invert. Pathol.*, 1971, 18, 1, pp. 101—107.
222. **Clark E. C.** Observation on the ecology of a polyhedrosis of the Great Basin tent caterpillar *Malacosoma fragile*. *Ecology*, 1955, 36, pp. 373—376.
223. **Clark E. C.** Ecology of the polyhedroses of tent caterpillars. *Ecology*, 1958, 39, pp. 728—732.
224. **Cohen D.** A theoretical model for the optimal timing of diapause. *Am nat.*, 1970, 104, pp. 389—400.
225. **Coons A., Kaplan M.** Localization of antigen in tissue cells. II. Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *J. Exp. Med.*, 1950, 91, I, pp. 1—13.
226. **Cuenot L.** Etudes physiologiques sur les Orthoptères. *Arch. de biol.*, 1896, 14, pp. 293—314.
227. **Cunningham J. C.** An ultrastructural study of the development of the eastern hemlock looper, *Lambdina fiscellaria fiscellaria*. *Can. J. Microb.*, 1971, 17, N 1, pp. 62—72.
228. **Day M. F., Farrant J. L., Patter C.** Stades in the development of a polyhedral virus disease Proc. Electron Microscope Soc. Meeting. *J. Appl. Phys.*, 1956, 26, p. 1396.
229. **Doane C. C.** Pathogens of the gypsy moth. In *Proc. Intern. Colleg. „Insect Pathology and Microbiol. control.“* (ed. Laan P. Avander), 1967.
230. **Doane C. C.** Bioassay of nuclear-polyhedrosis virus against larval instars of the gypsy moth. *J. Invert. Pathol.*, 1967, 9, pp. 376—386.
231. **Doane C. C.** Primary Pathogens and their role in the Development of an Epizootic in the Gypsy Moth. *J. Invert. Pathol.*, 1970, 15, pp. 21—33.

232. **Dowden P., Girth H.** Use of a virus disease to control european pine sawfly. *J. Econ., Entom.*, 1953, 3, 46, pp. 525—526.
233. **Eidmann H. H.** Virus mot insecter. „Skogs ägaren“, 1970, N 12, pp. 7—9.
234. **Elmore J. C., Howland A. F.** Nature versus artificial dissemination of nuclear-polyhedrosis virus by contaminated adult cabbage loopers. *J. Insect Path.*, 1964, 6, N 4, pp. 430—438.
235. **Escherich K.** Neues über Polyederkrankheiten. *Naturwiss. Z. Forst- und Landw.*, 1913, 11, pp. 86—97.
236. **Formation of nuclear polyhedral bodies and nuclear polyhedrosis virus of silkworms in mammalian cells infected with viral D. N. A.** „*Virology*“, 1967, 33, p. 507—512. Auth. M. Himeno, T. Sakoi, K. Onodera, H. Nakai, T. Fukada, J. Kawade.
237. **Fowler M., Robertson J. S.** Iridescent virus infection in field populations of *Wyseana cervinata* (Lepidoptera: Hepialidae) and *Witlesia* Sp. (Lepidoptera: Pyralidae) in New Zealand. *J. Invert. Pathol.*, 1972, vol. 19, N 1, pp. 154—155.
238. **Franz J. M.** Biologische Schadlingsbekämpfung. In „*Handbuch der Pflanzenkrankheiten*“ (K. Richter ed.), Berlin, 1961, S. 1—302.
239. **Franz J. M.** Praktische Aspekte der mikrobiologischen Bekämpfung von Schadinsekten. Mededelingen Rijksfacult. Landbouw-wetensch. Gent., 1966, 31, N 3, S. 512—525.
240. **Franz J. M., Krieg A., Langenbuch R.** Untersuchungen über den Einfluß der Passage durch den Darm von raubinsekten und Vogelen auf die Infektiosität insektenpathogener Viren. *Ztschr. Pfl. Kranh.* 1955, 62, S. 721—726.
241. **Geller H.** Über das Problem der ökologischen Regulung in Wald bioglozonen und Möglichkeiten der intergrierten Schadlingsbekämpfung. *Arch. Pflanzenschutz*, 1972, 8, S. 53—64.
242. **Glaser R. W.** Studies on the polyhedral disease of insects due to filterable viruses. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 1927, 20, pp. 319—342.
243. **Grace T. D.** Establishment of four strains of cells from insect tissues grown in vitro. *Nature*, 1962, 195, pp. 788—789.
244. **Graham K.** Insect pathology. Canada Dept. Agr. Forest Insect Invest. Bi-monthly Prog. Rpt., 1948, 4 (3), 2 pp.
245. **Gratia A., Brachet J., Jeenor R.** Étude histochemique et microchimique du acides nucleiques au cours de la grasserie du ver a soil. *Bull. Acad. Roy. Med. Belg.*, 1945, 10, pp. 72—81.
246. **Greer F.** The first viral pesticide a case hystory. *Chem. Technal.* June, 1971, pp. 342—347.
247. **Griffiths K.** Observations on the European pine sawfly, *Neodiprion sertifer* (Geoffr), and its parasites in Southern Ontario. *Canad. Entomol.*, 1959, 95, pp. 509—512.
248. **Grigorowa R.** On nuclear polyhedrosis of the Satin moth (*Stilpnotia Salicis* L.). *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, 1962, 15, N 1, pp. 85—88.
249. **Hamn J. J., Loug J. R.** Value of virus Presilk Treatment for Corn Earworm and Fall Armyworm Control in Sweet Corn. *J. Econ. Ent.*, 1971, 64, pp. 144—146.
250. **Harker J.** Tumors. In „*Insect Pathology*“. Steinhaus E. A., ed. New-York, 1963, vol. 1.
251. **Harper J. D.** Laboratory Production of *Peridroma soucia* and its Nuclear Polyhedrosis virus. *J. Econ. Ent.*, 1970, 63, pp. 1633—1634.
252. **Heidenreich E.** Untersuchungen an Viruskrankheiten einiger Forstinsekten. *Vorb. d. 7 Int. Kong. f. Entom.*, 1938, 3, s. 1963—1973.

253. **Heimpel A. M., Buchanan L. K.** Human feeding test using a nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis Zea*. *J. Invert. Pathol.*, 1967, 9, pp. 55—57.
254. **Hollande A. C.** Etude histologique comparée du sang des insectes à hémorrhée et des insectes sans hémorrhée. *Arch. zool., exp. et gen.*, 1911, 5 sér., t. 6, fasc. 9, pp. 283—323.
255. **Holmes F. O., Borrelinaccae.** In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 6th Edition, 1948, pp. 1225—1228.
256. **Hosaka Y., Alzawa K.** The fine Structure of the cytoplasmic polyhedrosis virus of the silkworm *Bombyx mori* Linn. *J. Insect Pathol.*, 1964, 6, pp. 53—77.
257. **Huger A.** Methode for staining capcular virus inclusion bodies typical of granules of insects. *J. Insect Pathol.*, 1961, 3, pp. 338—341.
258. **Huger A., Krieg A.** Electron microscope investigation on the virogenesis of the granules of *Choristoneura murinana* (Hubu). *J. Insect Pathol.*, 1961, 3, pp. 183—196.
259. **Hurpin B.** Principes de la lutte microbiologiques en agriculture. *Ann. parasitol. hum. et comp.*, 1971, 46, 3, pp. 243—276.
260. **Hurpin B., Robert P.** Recherches sur l'utilisation de *Vagoiavirus melononthae* pour la lutte microbiologique contre les vers blancs. *Entomophaga*, 1969, 14, N 4, S. 349—357.
261. **Ignoffo C. M.** Bioassay technique and pathogenicity of a nuclear polyhedrosis virus of the cabbage looper, *Trichoplusia m.* *J. Insect Pathol.*, 1964, 6, pp. 237—245.
262. **Ignoffo C.** The nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis zea* (Boddie) and *Heliothis virescens* (Fabr.) in Bioassay of virus activity. *J. Invert. Pathol.*, 1965, 1, pp. 315—319.
263. **Ignoffo C.** Possibilities of mass producing insect pathogens. *Proc. Intern. Colog. Insect Pathol., Wageningen, The Netherlands*, 1967, pp. 91—117.
264. **Ignoffo C.** Specificity of Insect viruses. *Bull. Entomol. Soc. of America*, 1968, 14, N 4, pp. 265—276.
265. **Ignoffo C., Montoya E.** The Effects of chemical Insecticides and Insecticidal Adjuvants of a *Heliothis Nuclear—Polyhedrosis Virus*. *J. Invert. Pathol.*, 1966, 8, N 3, pp. 402—412.
266. **Ignjac M., Duthoit J. L., Amorgier A.** Etude histo- et cytopathologique d'une polyédrose nucléaire de l'écaïlle fileuse (*Hyphantria cunea* Drury) Lepidoptera, Arctiidae. *Ann. zool. écol. anim.*, 1973, 5, N 1, pp. 99—109.
267. **Ishimori J.** Contribution à l'étude de la grasserie du ver à soie (*Bombyx mori*) *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 1934, 116, 9 pp.
268. **Jaques R. P.** Leaching of the Nuclear—Polyhedrosis Virus *Trihoplusia* from soil. *J. Inv. Pathol.*, 1970, 13, pp. 256—263.
269. **Kawase S., Mijajima S.** Immunofluorescence Studies on the Multiplication of Cytoplasmic-Polyhedrosis Virus of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Invert. Pathol.*, 1969, 13, pp. 330—336.
270. **Keller S.** Mikrobiologische Bekämpfung des Apfelwicklers mit spezifischem Granulosisvirus. *Z. angew. Entomol.*, 1973, 73, N 2, S. 137—181.
271. **Knippling E. E., J. U. McGuire.** Population models to appraise the limitations and potentialities of *Trichogramma* in managing host insect populations; *Tech. bull. U. S. Dept. agricult.*, 1968, p. 1383.
272. **Kovacevic Z.** Znacaj poliedrije za masovnu pojavu nekih insekata. *Zastita bilja*, 1954, S. 3—20.
273. **Kovacevic L.** Einfluss sublethaler Konzentrationen der Insektizide auf das Erscheinen von Krankheiten bei einigen Insekten. *Frans. Intern., Conf., Insekt. Pathol. and Biol. control ist conf., Praha*, 1958, pp. 115—119.
274. **Kovacevic Z.** Chemische Stoff (sublethale Insektizide) als Erreger

- von Viruskrankheiten bei Enigen Insecten. Verhandl. XL Intern. Kongress of Entomology Wien, 1960, vol. 2, pp. 796—801.
275. **Rovacevic Z.** Jugoslav. Plant. Prot. Sympos. Zagreb, 1961. Agron. Glasn., 1962, t. 11, pp. 520—528.
276. **Koyama R., Katagiri K.** Prds. U. S. Janan. Semin. Microbiol. Control Insect Pest U. S.—Japan Commitee Sci Cooperation panel 8, 1968, Fukuoka, pp. 63—69.
277. **Krieg A.** Uber den Aufbau und die Vermehrungsmöglichkeiten von Stabchenförmigen Insecten — Viren. Z. Naturforsch., 1961, 16 b, S. 115—117.
278. **Krieg A.** Grundlagen der Insectenpathologie Viren, Rickettsien — und Bakterien — Infectionen, Darmstadt, 1961, 304, S.
279. **Krieg A.** Virus and rickettsion Erkrankungen bei lamellicorniern. Ztschr. Parasitenkunde, 1962, 21, pp. 309—320.
280. **Krywienczyk J., Bergold G. H.** Antigenicity of insect virus membranes. Virology, 1960, 10, pp. 549—550.
281. **Krywienczyk J., Bergold G. H.** Serological studies of inclusion body proteins by agar diffusion technique. J. Insect Pathol., 1961, 3, pp. 15—28.
282. **Kudler J.** Infekce hrebenule rysavé (Neodiprion sertifer Geoffr) rozptylem viru v udobi regrese jejího premnozeni. Les Casop. Ustav vedeck inform. mZLVH, 1965, 11, N 4, pp. 359—366.
283. **Langenbuch R.** Eine verbesserte und zeitsparende Methode zur Färbung von Viruseinschlusskörpern (Polyedern) in Schnittpräparaten mit Eisenhämatoxylin. Z. Mikroskopie, 1955, 10, pp. 344—348.
284. **Langenbuch R.** Beitrag zur Differentialdiagnose von Viruseinschlusskörpern (Polyedern) in Schnittpräparaten. Z. Pflanzenkrankh., 1957, 64, N 7, 10, pp. 443—444.
285. **Laux W.** Abwehrreaktionen von Malacosoma neustria gegen Tachinenlarven gleichzeitigen Auftreten einer Kernpolyedrose. Entomoph., 9, 1964, pp. 293—298.
286. **Lewis W. J., Winson S. B.** Immunological relationships between the parasite Cordiochiles nigriceps Viereck and certain Heliothis species. J. Insect. Physiol., 14: 1968, pp. 613—626.
287. **Magnoler A.** L'applicazione de un virus poliedrico nucleare nella lotta contro larve de Lymantria dispar L. Entomophage, 1967, 12, N 2, pp. 199—207.
288. **Martignoni M. L., Langston L. R.** Suplement to an annotated list and bibliographie of insects reported to have virus diseases. Hilgardia, 1960, 30, p. 1—40.
289. **Matta J. F., Lowe R. E.** A Differential staining Technique for a Mosquito Iridescent Virus. J. Insect. Pathol., 1969, 13, pp. 457—458.
290. **McIntyre T., Dutky S. R.** Aerial application of virus for control of a prne sawfly, Neodiprion pratti pratti J. Econ. Entomol., 1961, 54, N 4, pp. 809—810.
291. **Meynadier G., Vago C., Plantevin G., Atger.** Virose d'un type inhabituel chez le lépidoptère Galleria mellonella L. Revue Zool. Agr. et Appl., 1964, 63, pp. 207—208.
292. **Morgan C., Bergold G. H., Moore D. H., Rose H. M.** The macromolecular paracrystalline lattice of insect viral polyhedral bodies demonstrated in ultrathin sections examined in the electron microscope. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1955, 1, pp. 187—190.
293. **Morgan C., Bergold G. H., Rose H. M.** Use of serial sections to delineate the structure of Porthetria dispar virus in the electron microscope. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1956, 2, pp. 23—28.

294. **Morris O. N., Armstrong J. A., Hildebrand M. J.** Aerial application of virus — insecticide combinations against spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Fortricidae Lepidoptera). *At. Rankin, Ontario, 1972*, 190 pp.
295. **Mykytowycz R.** An attenuated strain of the myxomatosis virus recovered from the field. *Nature, 1953*, 172, pp. 448—449.
296. **Neilson M. M.** A cytoplasmatic polyhedrosis virus pathogenic for a number of lepidopterous hosts. *J. Insect Pathol., 1964*, 6, pp. 41—52.
297. **Neilson M. M.** Effect of a Cytoplasmic Polyhedrosis on Adult Lepidoptera. *J. Inv. Pathol., 1965*, 7, pp. 306—314.
298. **Neilson M. M., Elgee D. E.** The effect of storage on the virulence of a polyhedral virus. *J. Insect Pathol., 1960*, 2, pp. 165—171.
299. **Nordin G. L., Maddox J. V.** Effects of simultaneous virus and microsporidian infections on larvae of *Hyphantria cunea*. *J. Invert. Pathol., 1972*, V. 20, N 1, pp. 66—69.
300. **Nuorteva M.** Eine Möglichkeit, die Kernpolyedrose bei latent verseuchten Amaginen von Neodiprion sertifer Geoffr. (Hym., Diprionidae) nachzuweisen. *Ann. Ent. Fenn., 1964*, 30, S. 172—177.
301. **Nuorteva M.** Über die Ausbreitungsmöglichkeiten der Kernpolyedrose von Neodiprion sertifer Geoffr. (Hym., Diprionidae). *J. Anzeiger für Schädlingkunde, 1966*, 39, 3, S. 49—52.
302. **Odiere F., Boemare N.** Recherches sur la conservation du virus de la denonucleose. *Entomophaga, 1972*, 17, N 2, pp. 197—202.
303. **Ossowski L. J.** Erfahrung mit Polyedroviren gegen den Akazien-sackwurm, *Kotochalia junodi* (Heyl.) *Int. Conf. Insect Pathol., Praha, 1958*, pp. 247—253.
304. **Ossowski L. J.** Variation in Virulence of a wattle budworm virus. *J. Insect Pathol., 1960*, 2, pp. 35—43.
305. **Paillot A.** Sur une nouvelle maladie des chenilles de *Pieris brassicae* et sur les maladies du nyau chez les insectes. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, 1924*, 179, pp. 1353—1356.
306. **Paillot A.** Contribution à l'étude des maladies à virus filtrant chez les insectes. Un nouveau groupe de parasites ultra-microbiens les *Borrelina*. *Ann. Inst. Pasteur, 1926*, 40, pp. 314—352.
307. **Paillot A.** Nouveau type de pseudo-grasserie observe chez les chenilles d'*Euxoa segetum*. *Compt. Rend. Acad. Sci., Paris, 1937*, 205, pp. 1264—1266.
308. **Perez C.** Sur les inclusions des cellules grasses des insectes pendant la métamorphose. *Arch. Zool., 1920*, 59, pp. 4—10.
309. **Quiot J. M. E., Vago C., Paradis S.** Production en masse des virus de polyédroses nucléaires sur tissus de Lépidoptères maintenus in vitro. *Entomophaga, 1970*, 15, pp. 437—444.
310. Replication of a nuclear polyhedrosis virus in an established insect cell line. *J. Inver. Pathol., 1970*, 16, N 2, pp. 284—288. *Auth. R. H. Goodwin, J. L. Vaughn, J. R. Adams, S. J. Loulondes.*
311. **Reynolds E. S.** The use of lead citrate at high pH as on electronopaque stain in electronmicroscopy. *J. Cell. Biol., 1963*, 17, pp. 208—212.
312. **Rivers C. F.** The use of a polyhedral virus disease in the control of the pine Sawfly *neodiprion sertifer* Geoffr in northwest Scotland. *Entomophaga Mem. hors. sér., 1964*, N 2, pp. 477—480.
313. **Rock G. C.** Aseptic rearing of the codling moth on synthetic diets: ascorbic acid and fatty acid requirements. *J. Econ. Entom., 1967*, 60, 4, pp. 1002—1005.
314. **Roilinson W. D., Lewis F. B., Waters W. E.** The Successful Use of a Nuclear Polyhedrosis Virus against the Gypsy Moth *J. Invert. Pathol., 1965*, 7, N 4, pp. 515—517.

315. Rollinson W. D., Hubbard H. B., Lewis F. B. Mass rearing of the European pine sawfly for production of the nuclear polyhedrosis virus. *J. Econ. Entomol.*, 1970, 63, N 1, p. 343—344.

316. Ruzicka J. Vransy a vrskujici housenky mnisky. *Les. prace*, 1929, N 8, s. 312.

317. Salt G. The cellular defence reaction of insects. Cambridge. Univ. Press, 1970.

318. Scharrer B., Lochhead M. Tumors in the invertebrates. *Cancer Research.*, 1950, 10, pp. 403—418.

319. Schmidt L., Phillips G. Granulosis—a new virus disease of the fall webworm. *Fac. Agr. Forestry, Inst. Entomol., Zagreb*, 1958, 1, 27 pp.

320. Schnyder U. „Untersuchungen einer Kernpolyedrose von *Sterrhia seriata* Schr. (-*Ptychopoda seriata* Schr., -*Acidalia virgularia* Hb.) (Geometridae Lepidoptera) und deren Beeinflussbarkeit durch Hunger DDT, DNOC and Farnesylmethylather“ Thesis E. T. H. Zurich, 1967, pp. 60.

321. Schönherr J. Einsatz und Ausbreitung einer Viruskrankheit zur biologischen Bekämpfung der Roten Kiefern—Buschhornblattwespe *Neodiprion sertifer* (Geoffr.), *Z. Pflanzenkrankh. und Pflanzenschutz.*, 1965, 72, N 8, pp. 466—477.

322. Schönherr J. Freilandversuch zur biologischen Bekämpfung des Tannentriebwicklers *Choristoneura murinana* (Hübner) mit Granuloseviren *Entomophaga*, 1969, 14, N 3, S. 251—260.

323. Schönherr J. Biologische Bekämpfung von Forstschadlingen mit Hilfe Insekten—pathogener Viren. *Schweiz. Z. Forstwesen*, 1970, 121, p. 2.

324. Sidor C. Granulozno virozno oboljenje gusenica *Pygaera anastomosis* L. *Mammisa epncka*. 1968, 34, 105—118.

325. Sidor C. Poliedarno virozno oboljenje topolinog krasnika (*Melanophila picta* Pall. Coleoptera, Buprestidae). *Topola Bulletin de la Commission Nationale du Yougoslave du Peuplier*, 1970. God. XIV, januar—juni, Beograd, 77—78.

326. Sidor C., Zivojinovic D., Stajkovic B. Primena virusa u suzbiljanju robe borove Zolje ho Debilatsky Persari—Zastita bilja. 1968, 19, 98, 46—47.

327. Sohi S. S., Cunningham J. C. Replication of nuclear polyhedrosis virus in serially transferred insect hemocyte cultures. *J. Invertebr. Pathol.*, 1972, 19, N 1, pp. 51—61.

328. Smirnov W. A. A virus disease of *Neodiprion swainei* Midd. *J. Insect Pathol.*, 1961, 3, 1, pp. 29—49.

329. Smirnov W. A. Trans ovum transmission of virus of *n. swainei* Midd. (Hym., Tenthredinidae). *J. Insect Pathol.*, 1962, 4, 2, pp. 192—200.

330. Smirnov W. A. Preparation and application of viral material in biological control of the jack pine sawfly. *Forest entomology and pathol. branch contrib.*, 1964, N 1017, pp. 186—194.

331. Smirnov W. A. A nucleopolyhedrosis of *Pandemis Camprosa* (Grote). *Canad. J. Microbiol.*, 1966, 12, N 5, pp. 1076—1077.

332. Smirnov W. A. A method for detecting viral infection in populations of *Neodiprion swainei* by examination of pupae and adults. *Canad. Entomol.*, 99, 1967, pp. 2214—2216.

333. Smirnov W. A. The nature of cysts found in pupae and adults of *Neodiprion swainei*. *The Canad. Entom.*, 1968, 100, 3, pp. 313—318.

334. Smirnov W. A., Beique R. On a polyhedral disease of *Trichiocampus viminalis* (Fall.) larvae (Hym. Tenthredinidae). *Can. Entomol.*, 1959, 91, pp. 379—382.

335. Smirnov W. A., Fettes J. J., Haliburton W. A. A virus disease of *swainei* jack pine sawfly, *Neodiprion swainei* Midd. sprayed from an aircraft. *Canad. Entomol.*, 1962, 94, 5, pp. 477—486.

336. **Smirnof W. A., MacLeod C. F.** Apparent lack of effects of orally introduced polyhedrosis virus on mice and of pathogenicity of rodent — passed virus for insect. *J. Insect Pathol.*, 1964, 6, pp. 537—538.
337. **Smith K.** *Insect virology.* Academic press, N-York — London, 1967, 256 pp.
338. **Smith K., Xeros N.** Transmission of polyhedral viruses between different insect species. *Nature*, 1952, 170, p. 492.
339. **Smith K., Hills G. J.** Multiplication and ultrastructure of insect viruses. *Proc. 11th Int. Congr. Entom.*, Vienna, 1960, vol. 2, pp. 823—827.
340. **Smith K., Trontl Z. M., Frist R. H.** A note on a granulosis disease of a noctuide larvae. *Virology*, 1964, 24, pp. 508—513.
341. **Stairs G. R.** Quantitative differences in susceptibility to nuclear — polyhedrosis virus among larvae instars of the forest tent caterpillar *Malacosoma disstria* (hubner). *J. Invert. Pathol.*, 1965; 7, pp. 427—429.
342. **Stairs G. R.** Use of Viruses for Microbial Control of Insects. „Microbial Control of Insects and mites“. A. P. London — New-York, 1971, pp. 97—122.
343. **Stairs G. R.** Pathogenic Microorganisms in the Regulation of Forest Insect Population. *Airn. Rev. Ent.*, 1972, 17: pp. 355—372.
344. **Stanley M. S. Milliam.** Cultivation of arthropod cells. *Growth, Nutr. and Metabolism Cells Cult.* Vol. 2. New York — London, 1972, pp. 327—370.
345. **Steinhaus E. A.** Insect pathology and biological control. *J. Econ. Entomol.*, 1945, 38, pp. 591—596.
346. **Steinhaus E. A.** A new disease of the variegated curworm. *Peridroma margaritosa* Haw). *Science*, 1947, 106, 323. pp.
347. **Steinhaus E. A.** Principles of insect pathology. Mc Graw-Hill Book Company, New-York, 1949, 757. pp.
348. **Steinhaus E. A.** The duration of viability and infectivity of certain insect pathogens. *J. Insect Pathol.*, 1960, 2, pp. 225—229.
349. **Steinhaus E. A., Leutenegger R.** Icosahedral virus from a scarab (*Sericesthis*). *J. Insect Pathol.*, 1963, 5, pp. 266—270.
350. **Steinhaus E. A.** (ed.) *Insect Pathol.*, Academic Press, New-York, 1963.
351. **Stelzner M.** Control of a tent caterpillar, *malacosoma fragile incurva*, with an aerial application of a nuclear-polyhedrosis' virus and *B. thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.*, 1967, 60, N 1, pp. 38—41.
352. **Summers M. D.** Electron microscopic observations on granulosis virus entry, uncoating and replication processes during infection of the midgut cells of *Trichoplusia ni*. *J. Ultrastruc. Res.*, 1971, 35, pp. 606—625.
353. **Summers M. D., Paschke J. D.** Alkali-literated granulosis virus of *Trichoplusia ni*. I. Density gradient purification of virus components and some of their in vitro chemical and physical properties. *J. Invert. Pathol.*, 1970, 16, 2, pp. 227—240.
354. **Tanada Y.** A nuclear polyhedrosis virus of the lawn armyworm, *Spodoptera mauritia* (Bois) (Lepidoptera, Noctuidae). *Proc. Hawaii Entom., Soc.*, 1960, 17, pp. 304—308.
355. **Tanada Y.** Epizootiology of infections diseases. In. *Insect Pathology, an advanced Treatise* (E. A. Steinhaus, ed.), Academic Press, New-York, 1963, Vol. 2, pp. 423—474.
356. **Tanada Y.** Epizootiology of insect diseases. In „*Biological Control of Insect Pests and Weeds* (P. De bach, ed.), 1964, pp. 548—578.
357. **Weiser J.** Zur taxonomie der Insectenviren. *Cs. parasitol.*, 1958, 5, S. 203—242.

Введение	3
Глава I. Вирусные болезни и их распространение в популяциях насекомых — вредителей леса	5
Общая характеристика энтомопатогенных вирусов	5
Основные типы вирусных болезней насекомых	11
Глава II. Патоморфология вирусных болезней насекомых	23
Клеточные элементы кровеносной системы и жирового тела	24
Клетки гиподермы и трахеального матрикса	37
Ткани среднего отдела кишечника и мальпигиевы сосуды	37
Нервная ткань, мышцы и ткани регенеративных органов	40
Гистопатология тканей при метаморфозе насекомых	43
Характеристика включений	49
Глава III. Патогенез вирусных болезней насекомых и биологические свойства вирусов	55
Проникновение и распространение вирусов в организме	55
Вирулентность возбудителей и условия развития инфекционного процесса	65
Устойчивость вирусных включений к различным экстремальным факторам	74
Видовая специфичность энтомопатогенных вирусов	78
Глава IV. Роль вирусных болезней в динамике численности лесных насекомых-фитофагов	86
Эпизоотии в популяциях насекомых	86
Свойства системы вирус—хозяин	94
Пути развития эпизоотий	95
Глава V. Практическое использование вирусных препаратов в защите леса 103	103
Пути накопления инфекционного материала	103
Получение вирусных препаратов и оценка их активности	110
Токсикологическая оценка энтомопатогенных вирусов	112
Практическое применение возбудителей вирусных болезней против вредителей леса	115
Вирусные препараты в интегрированной системе защиты леса	124
Глава VI. Практическая диагностика вирусных болезней насекомых . 130	130
Световая микроскопия	131
Люминесцентно-микроскопическое выявление вирусных включений	138
Иммунофлуоресцентная микроскопия	139
Электронная микроскопия	144
Косвенные методы диагностики вирусных болезней	147
Список литературы	150