
Entomopatogēnie vīrusi un to izmantošanas perspektīvas meža kaitēkļu savairošanās ierobežošanai Latvijā

I. Zariņš^{1*}, L. Jankevica¹

Zariņš, I., Jankevica, L. (2010). Entomopathogenic viruses and their potential use in forest pest control in Latvia. *Mežzinātne* 22(55): 19-46.

Kopsavilkums. Bioloģijas institūtā tiek veikti ilglaicīgi pētījumi bioloģiskajā augu aizsardzībā un entomopatogēno vīrusu apzināšanā, bet 1996. un 2008. gadā – sadarbojoties ar LVMI “Silava” zinātniekiem. Pētījumu mērķis – meža kaitēkļiem patogēno vīrusu noteikšana, izdalīšana, analīze un to lomas meža kaitēkļu savairošanās regulēšanā izzināšana, kā arī entomopatogēno vīrusu un kaitēkļu mijiedarbības mehānismu izpēte. Šajā sakarā novērotas nozīmīgāko kaitēkļu populācijas Liepājas, Ventspils, Dobeles, Kuldīgas, Talsu, Tukuma, Madonas, Valmieras, Valkas un Daugavpils rajonā.

Kodolu poliedrozes vīruss (KPV) izdalīts no 15 meža kaitēkļu sugām, savukārt granulozes vīruss (GV) – no priežu sprīžotāja, bet citoplazmatiskās poliedrozes vīruss (CPV) – no mazā salnas sprīžmeša, tiklapsesnes un iedzeltenās priežu zāglapsesnes. Trīs entomopatogēnajiem vīrusiem izveidoti eksperimentālie vīrusa celmi ar paaugstinātu virulenci (*Neodiprion sertifer* KPV, *Malacosoma neustria* KPV un *Lymantria monacha* KPV). Izveidotas vīrusu preparatīvās formas, kas samazina vides apstākļu ietekmi uz vīrusa aktivitātes saglabāšanos un nodrošina pielipšanu pie auga. Pētītas entomopatogēno vīrusu izplatīšanās iespējas kaitēkļu populācijā, kā arī to aktivitātes saglabāšanās ilgums biocenozē. Izvērtēti vides faktori, kas ietekmē vīrusinfekcijas attīstību kaitēkļu populācijās. Salīdzināts dažādu stresa faktoru iedarbīgums latentās un persistentās vīrusu infekcijas aktivizēšanā un stimulēšanā. Noteikta KPV efektivitāte kaitēkļu savairošanās ierobežošanai populācijā.

Nozīmīgākie vārdi: meža kaitēkļi, entomopatogēnie vīrusi, kodolu poliedrozes vīrusi, granulozes vīrusi, stresa faktori, virulence.

•••

Zariņš, I., Jankevica, L., University of Latvia, Institute of Biology. **Entomopathogenic viruses and their potential use in forest pest control in Latvia.**

Abstract. Problems of pest control, including the development of microbiological methods for forest protection, have been studied at the Institute of Biology for many years, and recently (1996; 2008) also twice in cooperation with the Latvian State

¹ Latvijas Universitātes Bioloģijas institūts, Miera iela 3, Salaspils, LV-2169, Latvija;

*e-pasts: exp-biology@inbox.lv

Forest Research Institute "Silava" and the Latvian University of Agriculture. The aim was to gain new knowledge on insect viruses and clarify their role in regulating pest populations. The main tasks were to monitor significant forest pest populations, describe population outbreaks, and obtain new virus isolates resulting from different stress factors and describe their morphological, biological and physico-chemical properties; describe the persistence of viruses in pest populations and ecosystems; develop experimental strains with high virulence and multiply these strains; develop novel viral insecticide preparations and test their efficacy and assess perspectives for use in pest control.

Methods: Monitoring of outbreaks and natural epizootics of forest pests have been done since 1965 on a regular basis in different administrative regions of Latvia (Liepāja, Ventspils, Dobeles, Kuldīga, Talsi, Tukums, Rīga, Madona, Valmiera, Valka, Krāslava, and Daugavpils). Dead, symptomatic infected and asymptomatic living insects were collected in natural habitats by using standard methods. Living insects were laboratory-reared in isolators under optimal conditions (air temperature $+22 \pm 2^\circ\text{C}$, relative air humidity 70-85%, duration of photoperiod 16h), supplying them with fresh natural food (branches of food plants) or feeding on semi-synthetic media.

Viral infection was activated by subjecting asymptomatic larvae, collected in the field, to the following stress-factors: biological factors, such as NPV isolated from another insect species; physiological factors as untypical food or prolongation of egg hatching; physical factors as extreme temperatures (keeping in increased temperature $> +32^\circ\text{C}$ and low temperature $< +8^\circ\text{C}$); chemical factors as food treated with chemicals (ZnSO_4 , H_3BO_3 , CuSO_4 , KNO_3 , KMnO_4 , NH_2OH , MnO_2 in concentrations 0.1; 0.3; 0.5; 1.0%).

Viruses were purified using the methods described by Evans & Shapiro (1997). The presence of polyhedra in larval tissue was detected by direct examination of larval tissue smears, using phase contrast microscopy or Giemsa stained smears and light microscopy (Adams, Bonami, 1991; Lacey, Brooks, 1997). The viral polyhedra or granules were observed in electron microscope (TESLA – B5242 or JEM-100C, JEOL, Japan). Method of DNA hybridisation and DNA amplification by polyhedrine-specific primers (Jankevica, 2000ab) were used for identifying latent and persistent viral infection. Biotests were carried out for determining the virulence and efficacy of isolates (Huber, Hughes, 1984). Virulent experimental strains were obtained from wild isolates, using passages through host organisms under stress factors. Purified viral material was used for producing virus preparations in liquid and dry forms. Additives were added to increase sticking and wettability.

Pathogeny of isolates and the efficacy of preparative forms were determined as a percent of corrected mortality (Finney, 1971). Average lethal doses (LD_{50}) were calculated after Lipa and Śliżyński (1973).

Results: The majority of entomopathogenic viruses were isolated from dangerous forest pests. Nucleopolyhedroviruses (NPVs) were isolated from 15 forest pest species (Table 1). Granuloviruses were isolated from *Bupalus piniarius*, and Cypoviruses (CPVs) from *Operophtera brumata*, *Acantholyda posticalis* and *Gilpinia pallida*.

Experimentally high virulent strain of *Neodiprion sertifer* NPV (NeseNPV) was obtained from wild isolate, using passages through pests under stress conditions in laboratory. On the basis of experimental strain a new virus insecticide, „VIRIN - Diprion”, was registered. Dry and liquid preparation forms were tested with the efficacy of both preparation forms showing no significant differences (Table 2).

Dynamics of NeseNPV development markedly depends on air temperature of the environment. Studies show that the fastest development of infection occurs at +23...+27°C temperature, causing 90-100% mortality at the incubation period of 4-5 days, (Table 3). To determine LD₅₀ of Latvian experimental strain, European pine sawfly larvae (II-III instar) were infected with different viral concentrations. According to the conducted study, LD₅₀ of NeseNPV was 85-90 polyhedra.

Table 4 shows that NeseNPV is accumulated and persists in the litter and soil during epizooty. Virus infection was observed for young larvae, which were fed on needles sprayed with suspensions, rinsed out from soil samples collected in the region of epizooty.

Different stress factors were used for activating latent or persistent virus infection of pests *Gilpinia pallida*, *Acantholyda posticalis*, *Diprion pini*, *Bupalus piniarius*, *Operophtera brumata*, *Lymantria monacha* and *Panolis flammea* (Tables 5, 6, 7). The highest corrected mortality, 58.8-69.3% of *G. pallida*, was obtained by applying extreme temperatures (Table 5). Microbiological observations showed a high amount of virus polyhedra in larvae and cocoons: 57.8% in variants stressed by NeseNPV; 52.3% and 61.0% in variants stressed by extreme temperatures. Table 5 also demonstrates that the mortality of *D. pini* was not high (21.5-45.5%). Presence of polyhedra in dead larvae did not exceed 54.6%. Process of activating latent NPV was not conclusive. Extreme temperatures caused high mortality (86.9%) of *B. piniarius* larvae (Table 6). Determination of biological and morphological properties of BpNPV is continued. The data of Table 6 suggest that *O. brumata* populations also contained persistent or latent infection. The best results in activating ObNPV infection were achieved by using physiological stress factors like prolongation of egg hatching, which caused larval mortality of 71.8% with ObNPV present in 64.4% of dead specimens.

Mortality of II-III instars larvae of *L. monacha*, caused by physical factors like extreme temperatures and chemical factors (0.5% CuSO₄), was 82.5% and 78.8%,

respectively (Table 7). Table 7 demonstrates that extreme temperatures, too, appeared to be the optimum factor for activating *Panollis flammea* NPV. When applying stress factors for activating latent viral infection in pine moth (*Dendrolimus pini*), NPV was extracted and its virulence was evaluated.

Virulent experimental strain of *Malacosoma neustria* NPV and virus preparation "VIRIN-KS" were obtained, and the methods of producing virus preparation were elaborated (Эглите и др., 1988). Field experiments suggest that the preparation caused high pest mortality (89-96%) in 10 days. Applying the preparation to older larvae (III-IV instar) or under unfavourable climatic conditions (average air temperature <16°C) results in larval mortality of 60-75%. The infection continues developing in *Malacosoma neustria* pupae, causing their death, or making hatched butterflies physiologically corrupted, unable to breed and produce another healthy generation. It was also experimentally found, that MnNPV efficacy remains stable for 22 days after spraying on plant leaves.

This research has been financially supported by the grants from the Latvian Council of Sciences (91-132, 96-0113, 01-0339, 05-1438, 09-1360) and in 2008 by the Foundation of Forest Development 08/s124.

Key words: forest pests, entomopathogenic viruses, nucleopolyhedrovirus, granulovirus, stress factors, virulence.

...

Зариньш, И., Янкевица, Л., Институт биологии ЛУ. **Энтомопатогенные вирусы и перспективы их применения в ограничении размножения лесных вредителей в Латвии.**

Резюме. В Институте биологии ведутся многолетние исследования по биологической защите растений. Цель исследований – выделение изолятов патогенных вирусов лесных вредителей, познание и определение их роли в регуляции размножения популяций упомянутых вредителей, а также изучение механизма взаимодействия между вирусами и вредителями.

Проведены наблюдения в Лиепайском, Вентспилском, Добельском, Кулдигском, Талсинском, Тукумском, Мадонском, Валмиерском, Валкском и Даугавпилском районах. Выделены вирусы ядерного полиэдроза из 15 видов лесных вредителей. Вирус гранулеза выделен из *Bupalus piniarius*, вирус цитоплазматического полиэдроза – из *Operopthera brumata*, *Acantholyda posticalis* и *Gilpinia pallida*. Из трех видов насекомых выделены экспериментальные штаммы вируса ядерного полиэдроза с повышенной вирулентностью (*Neodiprion sertifer* NPV, *Malacosoma neustria* NPV, *Lymantria monacha* NPV) и установлена их эффективность в ограничении размножения вредителей в биоценозе. Разработаны вирусные препаративные формы, сохраняющие активность вируса и обеспечивающие прилипаемость препарата к поверхности растений. Проведены исследования по сравнению

действия различных стрессовых факторов на эффективность стимуляции латентной и персистентной вирусных инфекций. Изучена способность распространения вирусов в популяции вредителей, а также продолжительность сохранения их активности в биоценозе. Произведена оценка природных факторов, воздействующих на развитие вирусной инфекции в популяциях вредителей.

Исследования проведены при поддержке Латвийского Научного совета (91.0132, 96.0113, 01.0339, 05.1438, 09.1360) и Фонда лесного развития в рамках финансируемого проекта (08/s124).

Ключевые слова: лесные вредители, энтомопатогенные вирусы, вирус ядерного полиэдроза, вирус гранулеза, стрессовые факторы, вирулентность.

Ievads

Meža aizsardzības sistēmas līmenis ir nozīmīgs kritērijs, kas raksturo mežsaimniecības stāvokli gan atsevišķā reģionā, gan valstī kopumā. Paņēmienu klāsts, ko izmanto mežu aizsargāšanā no kaitēkļu postījumiem, liecina par attiecīgā resora tehniskajām un materiālajām iespējām, kadru profesionālo sagatavotību, jaunāko zinātnes atziņu un inovatīvu metožu pielietojumu praksē. Šobrīd nepieciešami pētījumi, lai izstrādātu ekoloģiski nekaitīgus augu aizsardzības līdzekļus, tajā skaitā mikrobioloģiskos un vīrusu preparātus, kas ierobežotu meža kaitēkļu savairošanos.

Ķīmisko metožu izmantošana mežsaimniecībai kaitīgo kukaiņu sugu apkarošanā parasti ir pietiekami efektīva, par ko liecina mūsu valstī vairākkārtīgas pesticīdu pielietošanas rezultāti: 1990. gadā Jūrmalas, Talsu un Ventspils rajonā priežu tiklapsesnes (*Acantholyda posticalis*) un priežu sprīžotāja (*Bupalus piniarius*) masveida savairošanās ierobežošanu sekmēja preparāts „Foray 48 V” un „Gomelins – 905 P”; tehniskā efektivitāte sastādīja 85-96%.

Rūsganās priežu zāglapsesnes (*Ne-*

odiprion sertifer) masveida savairošanās 2004. gadā vairākās valsts mežniecību teritorijās Valkas rajonā (Saules mežniecība), Ventspils rajonā (Tērandes mežniecība) u.c. izraisīja priežu jaunaudžu atskujošanos 50-80% apmērā: draudēja nokalst 10-15% priežu vai samazināties koksnes pieaugums uz 3-5 gadiem. Lai novērstu zāglapseņu kaitējumu priežu audzēm, bija nepieciešama avioapstrāde ar preparātu „Dimilin 80 WG”. Rezultātā pēc divām nedēļām kāpuru mirstība sasniedza 80% (Šmits, 2005). Ekstremālos apstākļos, kad kukaiņu kaitējuma dēļ iespējama meža jaunaudžu bojāeja lielās platībās, ķīmisko līdzekļu pielietošana ir nepieciešama un pieļaujama.

Tomēr plaša un sistemātiska ķīmisko insekticīdu lietošana ir rūpīgi izvērtējama un apsverama, jo šai mežu aizsardzības metodei ir arī vairāki trūkumi un negācijas:

- ķīmiskie pesticīdi vienlaicīgi var iznīcināt arī derīgos bioloģiskos aģentus (kukaiņus-entomofāgus, mārītes, plēsējērces, putnus u.c.), kas ierobežo kaitēkļu masveida savairošanos;
- ar laiku ķīmikālijas vairumā uzkrājas augsnē, nelabvēlīgi ietekmējot tās me-

tabolismu, kas ievērojami traucē augu normālu augšanu un attīstību;

- kaitēkļi var ātri pielāgoties un kļūt imūni pret insekticīdiem, kas izmantoti vairākkārt, līdz ar to nepieciešama lietojamo devu palielināšana, kā arī jaunu, vēl toksiskāku preparātu izstrādāšana.

Ņemot vērā iepriekš minēto, kā arī ekoloģiskā līdzsvara saglabāšanai dabā, nepieciešama videi draudzīgu augu aizsardzības līdzekļu radīšana un ieviešana. Daudzsološākā no alternatīvajām metodēm šodien ir entomopatogēnu, t.sk. kukaiņu vīrusu, izmantošana jaunu bioloģisko augu aizsardzības līdzekļu izstrādāšanā. Svarīgākās entomopatogēno jeb kukaiņu vīrusu pielietošanas priekšrocības ir:

- 1) samērā šaurs iedarbības spektrs, jo tie inficē vienu vai dažas radniecīgas kukaiņu sugas, bet ir neitrāli pret citām, t.sk. arī derīgajiem kukaiņiem-entomofāgiem, plēsēj kukaiņiem – mārītēm u.c. (Entwistle, 1997);
- 2) nekaitīgi apkārtējai videi – siltasiņu dzīvniekiem, zīvīm, putniem, augiem (Entwistle, 1997; Васильева, Лебединец, 2001);
- 3) neizraisa sanitāri-higiēniskas problēmas preparātu izgatavošanas procesā un praktiskajā pielietošanā (Васильева, Лебединец, 2001);
- 4) ilgstoši saglabājas atmirušo kaitēkļu ķermenī, kā arī uz lapu un skuju virsmas, zariem un stumbra, zemsedzē, augsnes virskārtā, tādējādi izveidojami papildu infekcijas avotu (Oloffson, 1987; Jankevica, 2000a; Cory, Myers, 2003);
- 5) izplatās agrocenozē dažādu mehānisko

faktoru un kukaiņu (kāpuru, imago) migrācijas rezultātā (Entwistle *et. al.*, 1978; Cory, Myers, 2003; Vega *et. al.*, 2007);

- 6) vīrusu infekcija izraisa ne tikai kaitēkļu mirstību un populācijas blīvuma samazināšanos (vismaz līdz tā kritiskajam sliekšnim), bet arī antifidanto efektu – barošanās intensitātes samazināšanos, kāpuru iekūpošanās traucējumus un kropļīgu, vairoties nespējīgu imago veidošanos (Cory, Hoover, 2006; Elkinton, Burand, 2007), rezultātā samazinot koku defoliāciju.

Bioloģijas institūtā, kopš 1957. gada, veikti pētījumi par patogēnu pielietošanu bioloģiskajā augu aizsardzībā, bet 1996. un 2008. gadā – sadarbojoties ar Latvijas Valsts mežzinātnes institūtu “Silava”. Vienlaicīgi – no 1961. gada līdz 1986. gadam – kukaiņu vīrusi pētīti arī Latvijas Lauksaimniecības akadēmijas Augu un kukaiņu vīrus slimību problēmu laboratorijā.

Mūsu galvenie darba uzdevumi:

- apzināt nozīmīgākās meža kaitēkļu sugas Latvijā, to masveida savairošanās periodus un reģionus;
- izdalīt no šīm sugām entomopatogēnos vīrusus, pielietojot dažādus latentās infekcijas aktivizējošus faktoros;
- noteikt izdalīto vīrusu piederības grupu, patogenitātes pakāpi un fizikāli-ķīmiskās īpašības;
- izveidot jaunus eksperimentālos, paaugstinātas virulences vīrusa celmus;
- izstrādāt jaunus, pietiekami efektīvus vīrusu insekticīdus, izveidot dažādas preparatīvās formas un veikt to aktivitātes pārbaudi;
- izpētīt kukaiņu vīrusu saglabāšanos un iz-

platīšanos ekosistēmā, noteikt to noārdīšanās periodu dabā ārējo faktoru darbības rezultātā;

- noteikt entomopatogēno vīrusu saglabāšanās ilgumu kukaiņu populācijās.

Materiāls un metodes

Lai novērtētu kaitēkļu un to patogēnu sastopamību, apsekotas meža platības dažādos Latvijas rajonos: Liepājas rajonā – Bārta, Liepāja, Grīņi; Ventspils rajonā – Pāvilosta, Ance, Tērande, Ugāle; Kuldīgas rajonā – Padure, Renda; Talsu rajonā – Dundaga, Mērsrags; Tukuma rajonā – Engure; Dobeles rajons; Rīgas rajonā – Ropaži, Inčukalns, Juglas un Baltezera apmežotās platības; Valmieras rajonā – Mazsalaca; Valka; Madonas rajons, Daugavpils rajonā – Kalupe, Naujiena, Svente; Krāslavas rajons.

Novērojumi veikti lauka apstākļos un laboratorijā. Kaitēkļu blīvuma noteikšanai izmantotas standarta metodikas: kūniņu uzskaitē augsnē, kaitēkļu uzskaitē modelkokos (Cunningham, 1998). Kukaiņu kaitējums novērtēts pēc koku defoliācijas pakāpes: zema defoliācija – 10-30%; vidēja – 31-60%; augsta – 61-80%; ļoti augsta – 81-100%.

Kukaiņu kāpuri laboratorijā kultivēti tiem optimālos ārējās vides apstākļos (gaisa vidējā temperatūra $+ 22 \pm 2^\circ\text{C}$, relatīvais gaisa mitrums 70-80%, gaismas intensitāte 600-800 luksa un fotoperiods 16 h) un baroti ar svaigu, tiem raksturīgu barību. Priežu sprīžotāja un egļu mūķenes kāpuru audzēšanai izmantotas arī pussintētiskās barotnes (Zariņš, 2001). Infekciozā materiāla iegūšanai trešā vecuma kāpuri inficēti ar vīrusu; apstrādei ar stresa

faktoriem izmantoti kāpuri, sākot no otrā vecuma. Eksperimentiem atlasīti vizuāli veselie kukaiņi (kāpuri un imago), ar izteiktu pozitīvo fototropismu jeb aktīvu reakciju uz gaismu. Lai kāpuri varētu iekūņoties, izmantota maksliģi izveidota zemsedze (smiltis + grants + kūdra) ar piemērotāko mitruma režīmu. Kūniņas un imago kultivēti optimālos apstākļos. Imago piebarošanai izmantots saharozes šķīdums ūdenī.

Latento vīrusu infekciju aktivizēšanai pielietoti dažādi stresa faktori:

- 1) bioloģiskie: kāpuru inficēšana ar no citas kukaiņu sugas izdalītu KPV;
- 2) fizioloģiskie: kāpuru ēdināšana ar tiem netipisku barību; audzēšana palielinātā blīvumā, olu šķīšanās aizkavēšana;
- 3) fizikālie: kāpuru turēšana tiem neraksturīgos vides apstākļos – svārstīgā temperatūrā (pārmaiņus paaugstinātā temperatūrā $> +32^\circ\text{C}$ un ledusskapī $< +8^\circ\text{C}$);
- 4) ķīmiskie: barības augu apstrāde ar ķīmiskajiem savienojumiem (ZnSO_4 , H_3BO_3 , CuSO_4 , KNO_3 , KMnO_4 , NH_2OH , MnO_2 ; biežāk lietotā koncentrācija – 0,1; 0,3; 0,5; 1,0%).

Vīrusu ielēguma ķermeņu identifikēšanai izmantots gaismas mikroskops un standarta metodika (Adams, Bonami, 1991; Lacey, Brooks, 1997), kā arī iespēju robežās – elektronmikroskops (TESLA-B5242 un JEM-100C, JEOL, JAPAN). Vīrusu (poliedru) titra noteikšanai izmantota „Gorjajeva” kamera. Entomopatogēno vīrusu virulento īpašību noteikšanai pielietota „biotesta” metode (Huber, Hughes, 1984). Vīrusa poliedri attīrīti atbilstoši standarta metodikai (Evans, Shapiro,

1997). Latentā vīrusa identificēšanai izmantota DNS hibridizācijas metode un DNS amplifikācija ar poliedrīn-specifiskiem praimeriem (Jankevica, 2000ab).

Vīrusu materiāla iegūšanai ievāktie atmirušie īpatņi apstrādāti trejādām metodēm: macerēti 4-6 nedēļas ūdenī ($+5 \pm 1^\circ\text{C}$); sasaldēti ($< -15^\circ\text{C}$) vai arī liofilizēti; pēc tam tie sasmalcināti homogenizatorā un uzglabāti ledusskapī; susināti silta gaisa plūsmā (pie $+25^\circ\text{C}$).

Vīrusu materiāls (izdalīts no kukaiņu vietējās populācijas kāpuriem) izmantots jaunu, aktīvu eksperimentālo vīrusu celmu izveidošanai, pielietojot atkārtotu vīrusa pasažēšanu caur kukaiņa organismu un pakļaujot to stresa faktoriem: aizkavētam olu šķīšanās periodam (turot ledusskapī līdz divām nedēļām olu attīstības sākuma stadijā), kāpuru badināšanai (otrais, trešais vecums līdz 24 h), kāpuru (trešais vecums) audzēšanai palielinātā blīvumā, olu izturēšanai pirmsšķīšanās stadijā 48 h pazeminātā temperatūrā ($+4$ līdz $+6^\circ\text{C}$) un pēc tam paaugstinātā ($+28$ līdz $+35^\circ\text{C}$), kāpuru barošanai (sākot ar otro, trešo attīstības stadiju) ar tiem netipisku vai nepilnvērtīgu (apvītušu) barību.

Entomopatogēno vīrusa materiāls izmantots preparātu pagatavošanai trīs formās: šķidrā, sausā (pulverveida) un pastas konsistencē. Šķidrās preparatīvās formas izgatavošanai attīrītie vīrusu poliedri suspendēti sterilā, destilētā ūdenī un sajaukti ar 40% glicerīnu (attiecībā 1:6). Preparāta izgatavošanai vīrusa materiālam pievienota matrica (līpviela, saistviela, emulgators). Šķidrajai formai pievienota saistviela – vājpiena pulveris (1 %) un emul-

gators OP-7. Suspensijas darba titrs 1×10^5 vai 1×10^6 poliedri /1 ml. Sausās (pulverveida) preparatīvās formas iegūšanai kā matrica izmantots poliglukīns, attaukots piena pulveris, bentonīts, kaolīns vai cita viela sausā formā, kas viegli veido ūdens suspensiju attiecībā 1:10. Materiāls susināts silta gaisa ($+27,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$) plūsmā vai liofilizēts (labākais variants). Materiāls homogenizēts un uzglabāts vēsā vietā.

Lauka izmēģinājumi preparatīvo formu pārbaudei veikti priežu jaunaudzē (vidējais koku vecums 4-5 gadi) Liepājas rajona Sakas mežniecībā. Katram variantam iekārtoti 4 atkārtojumi; viena atkārtojuma platība 25-100 m². Atstāta neapstrādāta 15-20 m plata josla izmēģinājuma variantu nodalīšanai. Miglošanai izmantots japāņu muguras miglotājs ar motora piedziņu (pilienu dispersitāte 200-250 mk). Priežu audzes 1 ha apmiglošanai patērēti $6 \times 10^9 - 6 \times 10^{11}$ poliedri. Atmirušo kāpuru mirstība noteikta uz izraudzītajiem modeļkokiem 5., 10., 15., un 20. dienā pēc apstrādes. Mirušo un nokritušo īpatņu uzskaitē izmantoti zem modeļkokiem novietoti polietilēna plēves paliktņi.

Vīrusa poliedru akumulācija augsnē pētīta nākošajā gadā pēc vīrusa epizootijas. Zem iepriekšējā gadā atskujotajām priedēm Engures parauglaukumā ievākti zemsedzes un augsnes paraugi 1,5-10,0 cm dziļumā. Visos variantos analizējamais materiāls vīrusa izskalošanai izmantots vienādā tilpumā (1000 ml). Ar iegūto suspensiju apstrādāti zāglapsenes kāpuri otrajā attīstības stadijā.

Laboratorijas rezultāti statistiski apstrādāti pēc Fineja (Finney, 1971). Pato-

gēnu izolātu efektivitāte izteikta koriģētās mirstības procentos (Abbota formula):

$$P = 100 \cdot \frac{P_0 - C}{100 - C}, \text{ kur} \quad (1)$$

C – mirstības procents kontrolē,

P_0 – novērotā mirstība (Finney, 1971).

Tehniskā efektivitāte aprēķināta pēc Framela formulas:

$$\text{Tehniskā efektivitāte (\%)} = 100 \cdot \frac{N \cdot K}{n \cdot k}, \text{ kur} \quad (2)$$

N – dzīvo īpatņu skaits uz modeļkokiem pēc apstrādes,

K – dzīvo īpatņu skaits uz modeļkokiem kontroles laukā pirms apstrādes,

n – dzīvo īpatņu skaits uz modeļkokiem pirms apstrādes,

k – dzīvo īpatņu skaits uz modeļkokiem kontroles laukā pēc apstrādes.

Vidējā letālā deva (LD_{50}) aprēķināta pēc Lipa un Šližyński (1973).

Rezultāti un diskusija

Pētniecisko projektu ietvaros ap-

sekotas mežniecību teritorijās esošās skujkoku un lapu koku audzes visā valsts teritorijā, apzinātas nozīmīgākās kaitēkļu sugas, to savairošanās cikls un, kā galvenais darba uzdevums, veikta entomopatogēno vīrusu izdalīšana no kaitēkļu populācijām, to virulento īpašību noteikšana un daļēja izpēte. Laikā no 1980. gada līdz 2009. gadam kodolu poliedrozes vīruss izdalīts no 15 meža kaitēkļu sugām. Granulozes vīruss izdalīts no priežu sprīžotāja, bet citoplazmatiskās poliedrozes vīruss – no mazā salnas sprīžmeša, tiklapsesnes un iedzeltenās priežu zāglapsesnes (1. tabula). Izvērtēta kaitējuma pakāpe, ņemot vērā kaitēkļu izraisīto defoliāciju.

Veikti arī pētījumi par entomopatogēno vīrusu praktiskās izmantošanas iespējām kaitēkļu savairošanās ierobežošanai. Izstrādāti pamatprincipi vīrusu preparātu izgatavošanai un pielietošanai.

1. tabula / Table 1

Latvijas teritorijā kopš 1980. gada no meža kaitēkļiem izdalītie entomopatogēnie vīrusi (Zariņš, Eglīte, 1993a; Zariņš, Eglīte, 1993b; Jankevica et al., 1998; Jankevica2000a; Zariņš, 2001; Jankevica et al., 2009 un oriģinālie dati)
List of entomopathogenic viruses isolated from forest pests in Latvia since 1980
 (Zariņš, Eglīte, 1993a; Zariņš, Eglīte, 1993b; Jankevica et al., 1998; Jankevica, 2000a; Zariņš, 2001; Jankevica et al., 2009 and original data)

Kaitēklis <i>Pest</i>	Saimniekaugs <i>Host plant</i>	Kaitēkļa kaitīguma pakāpe <i>Degree of pest harmfulness</i>	Vīrusa grupas starptautisks apzīmējums <i>Virus type</i>	Vīrusa izolātes un patogenitātes pakāpe <i>Virus isolate and degree of pathogeny</i>
Hymenoptera				
<i>Acantholyda posticalis</i> (Matsumura)	<i>Pinus sylvestris</i>	++	NPV CPV	ApNPV + CPV n
<i>Diprion pini</i> L.	<i>P. sylvestris</i>	+++	NPV	DipiNPV ++

1. tabula (turpinājums) / Table 1 (continued)

Kaitēklis <i>Pest</i>	Saimniekaugs <i>Host plant</i>	Kaitēkļa kaitīguma pakāpe <i>Degree of pest harmfulness</i>	Vīrusa grupas starptautisks apzīmējums <i>Virus type</i>	Vīrusa izolātes un patogenitātes pakāpe <i>Virus isolate and degree of pathogeny</i>
<i>Gilpinia pallida</i> Klug	<i>P. sylvestris</i> retāk / rarely <i>Picea abies</i>	+++	NPV CPV	GpNPV ++ CPV n
<i>Neodiprion sertifer</i> (Geoffroy)	<i>P. sylvestris</i>	++++	NPV	NeseNPV ++++
Lepidoptera				
<i>Bupalus piniarius</i> L.	<i>P. sylvestris</i> retāk / rarely <i>P. abies</i> , <i>Juniperus communis</i>	++++	NPV GV	BpNPV +++ BpGV n
<i>Dendrolimus pini</i> L.	<i>P. sylvestris</i>	+++	NPV	DpNPV +++
<i>Eriogaster lanestrus</i> L.	<i>Betula</i> , <i>Tilia</i>	+++	NPV	n
<i>Lymantria dispar</i> L.	Lapu koki / deciduous trees: <i>Quercus</i> , <i>Betula</i> , <i>Alnus</i>	++++	NPV	LdMNPV +++
<i>Lymantria monacha</i> L.	<i>Picea abies</i> retāk / rarely <i>P. sylvestris</i>	+++	NPV	LmMNPV +++
<i>Malacosoma neustria</i> L.	<i>Q. robur</i> , <i>Hippophae rhamnoides</i>	+	NPV	MnMNPV ++++
<i>Operophtera brumata</i> L.	Lapu koki / deciduous trees: <i>Quercus</i> , <i>Fagus</i> , <i>Betula</i> , <i>Padus</i> , <i>Alnus</i> , <i>Acer</i> , <i>Corylus</i> , <i>Tilia</i>	+++	NPV CPV	ObNPV ++ CPV n
<i>Orgyia antiqua</i> L.	Lapu koki / deciduous trees: <i>Betula</i> , <i>Fagus</i> , <i>Ulmus</i> ; retāk / rarely <i>P. abies</i>	+++	NPV	OaNPV +++
<i>Panolis flammea</i> Schiff.	<i>P. sylvestris</i>	+++	NPV	PfNPV ++++
<i>Yponomeuta evonymellus</i> L.	<i>Padus avium</i>	+++	NPV	YeNPV ++
<i>Y. cognatella</i> Hg.	<i>Euonymus europaea</i>	++	NPV	YcNPV++

Paskaidrojumi:

n – pētījumi nav pabeigti;

NPV – kodolu poliedrozes vīruss;

CPV – citoplazmatiskās poliedrozes vīruss;

kaitēkļa kaitīguma vai izolātu patogenitātes novērtējums: + zema (10-30%); ++ vidēja (31-60%);

+++ augsta (61-80%); ++++ ļoti augsta (81-100%).

Explanations:

n – research are not completed;

degree of pests harmfulness (level of tree defoliation) or virus pathogeneity: + low (10-30%);

++ average (31-60%); +++ high (61-80%); ++++ very high (81-100%).

Neodiprion sertifer – priežu rūsganā
zāglapsene

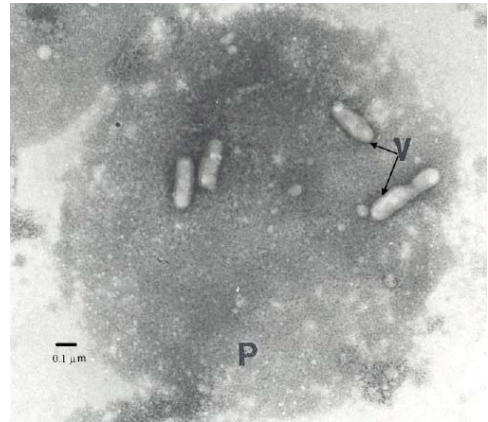
Priežu rūsganā zāglapsene ir viens no izplatītākajiem un nozīmīgākajiem priedes kultūras kaitēkļiem, kas lielākā vai mazākā skaitā konstatējams katru gadu. Masveida savairošanās gadījumā priežu jaunaudzēm draud 70-90% skuju nograuzums, kas izraisa ne tikai būtisku koksnes pieauguma samazināšanos, bet bieži arī to bojāeju. Kaitēkļa masveida savairošanās novērota 1995., 2000. un 2008. gadā Engures, Kuldīgas, Pāvilostas, Bārtas, Talsu, Dundagas, Ugāles, Tērandes, Valkas u.c. mežniecību teritorijā. Ja kaitēkļa blīvums ir neliels, vīrusa infekcija populācijā atklātā veidā neizpaužas, bet ir kukaiņa organismā apslēptā jeb latentā formā. Kaitēkļa masveida savairošanās gadījumos vīruss var aktivizēties un izraisīt vīrusa epizootiju populācijā. Veikta *Neodiprion sertifer* NPV izolātu morfoloģijas izpēte. Poliedru izmēri 850-400 nm. Poliedri saturēja nelielu daudzumu virionu: to izmēri 400 × 100-200 nm (1. attēls); savukārt virioni saturēja 1 nūjiņveida nukleokapsīdu 360 × 80 nm.

Latentā vīrusa aktivizēšanai iedarbīgākais stresa faktors bija trešā vecuma kāpuru turēšana paaugstinātā temperatūrā. No vietējās zāglapsenes populācijas izdalīts „Latvijas” vīrusa celms. Veicot vairākkārtīgas vīrusa pasāžas laboratorijā, iegūts jauns, paaugstinātas virulences „eksperimentālā” vīrusa celms. Uz šī kodolu poliedrozes vīrusa bāzes izgatavots vīrusa insekticīds – „VIRIN – Diprion” šķīdumā un sausā preparatīvā formā

(Zariņš, Eglite, 1993a). Eksperimenti parādīja, ka „VIRIN – Diprion” abu preparatīvo formu efektivitāte būtiski neatšķiras (2. tabula).

Vīrusu infekcijas dinamiku nosaka vides temperatūra. Izmēģinājumi liecina, ka visstraujāk infekcija attīstās +23...+27°C temperatūrā; inkubācijas periods ilgst 4-5 dienas, izraisot 90-100% kaitēkļu mirstību. Temperatūra, kas zemāka par +10°C, infekcijas attīstību ievērojami palēnina: inkubācijas periods ilgst 6-9 dienas, kāpuru atmiršanas periods – 18-25 dienas (3. tabula).

Pielietojot preparātu „VIRIN – Diprion” meža biocenozē, vīrusa materiāls nonāk uz zemesdzes un var iefiltrēties augsnes dziļākajos slāņos. Tas notiek gan izsmidzināšanas procesā, gan nokrišņu



1. attēls. *Neodiprion sertifer* KPV poliedru elektronmikroskopija. NeseNPV poliedrs (P) un virioni (V). Poliedrs 5 min. šķīdināts ar 1% NaOH (autore: Dr. hab. biol. V. Ose).

Figure 1. Electronmicrograph of *Neodiprion sertifer* NPV. NeseNPV polyhedra (P) and virions (V). Polyhedra dissolved 1% NaOH for 5 min. Bar represents 0.1 μm. (author: Dr. hab. biol. V. Ose).

2. tabula / Table 2

Virusa preparāta „VIRIN – Diprion” efektivitāte rūsganās priežu zāglapsenes (*Neodiprion sertifer*) savairošanās ierobežošanā (Liepājas rajons, Sakas mežniecība 1995. g.)
*Efficacy of virus preparation „VIRIN – Diprion” used for controlling European pine sawfly (*Neodiprion sertifer*) (Liepājas District, Saka Forestry, 1995)*

Preparatīvā forma <i>Form of preparation</i>	Kāpuru vecums apstrādes brīdī <i>Instar of treated larvae</i>	Darba suspensijas titrs, pol ml ⁻¹ <i>Titre of working solution, pol ml⁻¹</i>	Infekcijas inkubācijas periods, dienas <i>Incubation period, days</i>	Tehniskā efektivitāte, % <i>Technical efficacy, %</i>
Šķidrā forma <i>Liquid form</i>	II	1 × 10 ⁶	4-5	100,0
	III-IV	1 × 10 ⁶	5-6	87,5
	II-III	1 × 10 ⁵	4-6	92,0
Sausā forma <i>Dry form</i>	II	1 × 10 ⁶	3-5	100,0
	III-IV	1 × 10 ⁶	4-6	85,2
	II-III	1 × 10 ⁵	5-7	95,8

3. tabula / Table 3

Rūsganās priežu zāglapsenes (*Neodiprion sertifer*) vīrusu infekcijas attīstība atkarībā no vides temperatūras (1998. gada laboratorijas izmēģinājumi, titrs 1 × 10⁷ poliedri ml⁻¹)
*Development of virus infection of the European pine sawfly (*Neodiprion sertifer*) depending on the environmental temperature (1998 laboratory tests, titre used for infection – 1 × 10⁷ polyhedra ml⁻¹)*

Vides temperatūra, °C <i>Environmental temperature, °C</i>	Kāpuru vecums <i>Instar of larvae</i>	Infekcijas inkubācijas periods, dienas <i>Incubation period of infection, days</i>	Kāpuru atmiršanas periods, dienas <i>Period of larvae die-out, days</i>	Kāpuru mirstība, % <i>Larvae mortality, %</i>
8-12	II-III	6-9	18-25	55,0 ± 10,0
13-17	II-III	5-8	12-16	73,5 ± 11,5
18-22	II-III	4-6	7-10	85,0 ± 5,0
23-27	II-III	4-5	4-7	95,1 ± 5,0
28-32	II-III	4-6	5-7	92,5 ± 7,5

darbības rezultātā, kā arī atmirušajiem īpatņiem atdaloties no kokaugu zariem un stumbra pēc vīrusu epizootijas. Izskalojot vīrusa materiālu no meža zemsedzes un dažādiem augsnes slāņiem nākamajā gadā pēc vīrusa epizootijas, iegūtie dati liecināja par vīrusa kvantitatīvu un kvalitatīvu saglabāšanos biocenozē kaitēkļa savairošanās areālā. Kā redzams 4. tabulā, zemsedzē un augsnes virsējos slāņos entomopatogēnais vīruss var lokalizēties pietiekami lielā daudzumā, saglabājot aktivitāti un līdz ar to arī spēju inficēt kaitēkļa kāpurus jaunākajās attīstības stadijās.

Pēc rezultātiem prognozējams, ka zemsedzē un augsnes virskārtā adsorbētais vīruss var būtiski ietekmēt epizootijas attīstību turpmākajās kukaiņu paaudzēs. Zemsedzē lokalizētais vīruss inficē imago šķilšanās laikā no pārziemojušajām kūniņām, kas nodrošina vīrusa poliedru izplatīšanos un saglabāšanos kaitēkļa populācijā. Pēc vīrusa pielietošanas vairums (līdz 60%) kūniņu ir inficētas un formēšanās fāzē iet bojā vai arī dod kropli-

gus, vairoties nespējīgus imago.

Neodiprion sertifer kodola poliedrozes vīrusa (NeseNPV) infekciju jau pētījuši citu valstu zinātnieki (Bird, Whalen, 1953; Krieg, 1955; Oloffson, 1987; Cunningham, 1998). Publicēti atšķirīgi dati par efektīvo vīrusa devu, kas spēj izraisīt 50% kaitēkļu mirstību (LD_{50}). Pēc dažu autoru atzinuma tā ir 100-500 poliedru – Bird un Whalens (1953); 50-100 poliedru – Kriegs (1955); 150 poliedru – Gulijs (Гулий, 1967). LD_{50} Latvijas "eksperimentālajam" NeseNPV celmam, inficējot zāglapsenes kāpurus II-III attīstības stadijā, sastāda 85-90 poliedrus. Lielā atšķirība LD_{50} noteikšanā NeseNPV ir atkarīga no vīrusa celma, kas izdalīts no dažādām attālām kukaiņa populācijām.

Pielietojot vīrusu preparātu „VIRIN – Diprion” profilaktiski 5-10 dienas pirms *N. sertifer* kāpuru masveida šķilšanās no olām vai kāpuru I-II attīstības stadijā, tas izraisa 95-100% kaitēkļu bojāeju, ja vīrusa inkubācijas periods ir 4-5 dienas (gaisa vidējā temperatūra 18-24°C).

4. tabula / Table 4

Rūsganās priežu zāglapsenes (*Neodiprion sertifer*) kāpuru mirstība pēc to inficēšanas ar no augsnes slāņiem epizootijas norises reģionā izskaloto vīrusa materiālu (pētījumu periods 2008.-2010. g.g.)

*Mortality of the European pine sawfly (*Neodiprion sertifer*) larvae after infection with virus material which is rinsed out of soil in the region of epizooty (data of 2008-2010)*

Augsnes slāņa dziļums, cm <i>Depth of soil layer, cm</i>	Kāpuru atmiršanas periods, dienas <i>Period of larvae die-out, days</i>	Iekūņojušos īpatņu daudzums, % <i>Amount of pupated specimens, %</i>	Kāpuru mirstība, % <i>Larvae mortality, %</i>
zemsedze / litter	6-9	11,0 ± 1,0	81,0 ± 6,0
1,5-4,0	8-14	23,0 ± 3,0	72,9 ± 2,1
4,0-7,0	10-15	28,5 ± 2,5	68,1 ± 2,2
7,0-10,0	10-17	44,0 ± 4,0	46,5 ± 2,3
10,0-13,0	15-24	52,6 ± 6,6	32,4 ± 3,6

Gilpinia pallida – priežu iedzeltenā zāglapsene

Priežu iedzeltenās zāglapsenes masveida savairošanās novērojama periodiski. Kāpuri izraisa ievērojamus priežu audžu skuju nograuzumus un koksnes pieauguma samazināšanos vai dažkārt arī jauno koku bojāeju. Kaitēkļa masveida savairošanās novērota laikā no 1969. līdz 1971. gadam Rīgas rajonā, ar epicentru Doles salas priežu mežu platībās, kā arī Ķīšežera, Jaunciema, Mangaļu, Baltežera un citās mežaudzēs apmēram 7600 ha

platībā, bet 1995. gadā – Rīgas rajona Ropažu, Inčukalna, Juglas, Baltežera priežu mežos apmēram 800 ha platībā.

Vīrusa infekcijas aktivizēšanai tika pielietoti pieci stresa faktori (5. tabula), no kuriem efektīvākais bija – temperatūras svārstības. Daļai atmirušo īpatņu vīrusa ieslēguma ķermeņi-poliedri netika konstatēti: to bojāejas iemesli bija parazitāri un mehāniskas traumas.

Laboratorijā veiktas vairākas vīrusa pasāžas jauna „eksperimentālā” vīrusa celma iegūšanai. Vīrusa materiāls tiek uzglabāts sausā, neattīrītā veidā.

5. tabula / Table 5

Priežu iedzeltenās zāglapsenes (*Gilpinia pallida*), parastās zāglapsenes (*Diprion pini*) un priežu audžu tiklāpsenes (*Acantholyda posticalis*) latentās vīrusa infekcijas aktivizēšana ar dažādiem stresa faktoriem (1996.; 2008.)

Activation of latent infection of sawflies Gilpinia pallida, Diprion pini and Acantholyda posticalis, using different stress factors (data of 1996 and 2008)

Stresa faktori <i>Stress factors</i>	Kāpuru vecums <i>Instar of larvae</i>	Koriģētā kāpuru mirstība, % <i>Corrected mortality of larvae, %</i>	Iekūņojušos īpatņu daudzums, % <i>Amount of pupated specimens, %</i>	Vīrusu saturošo īpatņu (kāpuri + kūniņas) daudzums, % <i>Amount of virus-carrying specimens (larvae + cocoons), %</i>
Priežu iedzeltenā zāglapsene <i>Gilpinia pallida</i>				
<i>Neodiprion sertifer</i> NPV (1 × 10 ⁷ pol. ml ⁻¹)	II-III	53,3	36,7	57,8
Netipiska barība * <i>Untypical food *</i>	II-III	27,7	60,3	34,2
	III-IV	20,0	75,0	26,7
Ekstrēmas temperatūras <i>Extreme temperatures**</i>	II-III	69,3	20,7	61,0
	III	58,8	52,0	52,3
1,0% H ₃ BO ₃	II-III	37,5	52,5	42,3
	III	34,7	45,3	39,5
1,0% CuSO ₄	II-III	52,0	43,0	40,0
	III	25,7	70,3	35,7

5. tabula (turpinājums) / Table 5 (continued)

Stresa faktori <i>Stress factors</i>	Kāpuru vecums <i>Instar of larvae</i>	Koriģētā kāpuru mirstība, % <i>Corrected mortality of larvae, %</i>	Iekūpojušos īpatņu daudzums, % <i>Amount of pupated specimens, %</i>	Vīrusu saturošo īpatņu (kāpuri + kūniņas) daudzums, % <i>Amount of virus-carrying specimens (larvae + cocoons), %</i>
<i>Parastā zāglapsene Diprion pini</i>				
<i>Neodiprion sertifer</i> NPV (1×10^7 pol. ml ⁻¹)	II-III	56,7	36,1	51,3
Netipiska barība * <i>Untypical food *</i>	II-III	32,4	60,6	30,0
Vitinātas skujuas <i>Semi-dried needles</i>	II-III	25,0	73,2	35,7
Barības ierobežošana <i>Restricted amount of food</i>	II-III	40,3	58,0	46,8
Ekstrēmas temperatūras *** <i>Extreme temperatures ***</i>	III-IV	45,5	48,8	54,6
2,0% H ₃ BO ₃	II-III	34,0	64,0	32,2
2,0% ZnSO ₄	II-III	26,7	60,3	36,7
1,5% KMnO ₄	II-III	21,5	75,5	28,5
<i>Priežu audžu tiklapsene Acantholyda posticalis</i>				
Ekstrēmas temperatūras **** <i>Extreme temperatures ****</i>	III	42,8	54,2	46,0
1,5% KNO ₃	III	36,2	60,8	42,8
1,5% NH ₂ OH	III	30,4	65,5	51,0
1,0% MnO ₂	III	27,0	69,3	36,6

Paskaidrojumi / *Explanations:*

* izžuvušas egļu un paegļu skujuas / *dry needles of spruce and juniper;*

** (30-35°C) 24 h, (4-6°C) 24 h; *** 40-46°C 24 h, 4-6°C 36 h; **** 35-45°C 16 h, 4-6°C 20 h.

Diprion pini – parastā zāglapsene

Parastā zāglapsene ir nozīmīgs priežu audžu kaitēklis Eiropā, kas sastopams uz visu vecumu priedēm. Latvijas apstākļos dod divas paaudzes veģetācijas sezonā; kukaiņa masveida savairošanās pie mums nav tipiska, tomēr dažos reģionos ir novērota. Imago lido maijā. Olas dēj

uz iepriekšējā gada skujām – rindā pa 5-20; viena mātīte izdēj 100-150 olu. Pēc 2-3 nedēļām izšķīlas kāpuri. Intensīva kāpuru barošanās ilgst 4-5 nedēļas, kā rezultātā skuju nograuzums var sasniegt 100%, izraisot koka nokalšanu vai ievērojami samazinot koksnes pieaugumu. Otrās paaudzes aktīva barošanās vērojama augustā, bet var turpināties arī līdz oktob-

rim (atkarībā no laika apstākļiem). Vairums pieaugušo kāpuru nonāk zemsedzē, veido kokonu, kurā arī pārziemo, un tikai tad iekūņojas. Dažkārt kūniņas diapauzē.

Latentās vai persistentās vīrusa infekcijas aktivizēšanai 1997. un 2008. gadā kāpuru apstrādei pielietojām stresa faktorus (5. tabula). Jāatzīmē, ka apslēptās vīrusa infekcijas aktivizēšanas process nenoritēja intensīvi un pārliecinoši. Nelielā daudzumā iegūts KPV materiāls, tā virulentās īpašības ir neskaidras, jo inficēto kāpuru mirstība bija neadekvāta; izmēģinājumu atkārtojumi ne vienmēr deva viendabīgus un nepārprotamus rezultātus. Pētījumi ar izdalīto vīrusu materiālu ir jāturpina, kā arī veicama jauna un iedarbīgāka vīrusa celma izveidošana, pavairošana, tā aktivitātes noteikšana. Daļa zāglapšanases īpatņu (kūniņas, kāpuri, imago) gāja bojā parazītu darbības rezultātā, kas traucēja vīrusa klātbūtnes identificēšanu.

Acantholyda posticalis (syn. *A. nemoralis*) –
priežu audžu tiklapsesne

Priežu audžu tiklapsesne sastopama Vidus- un Ziemeļeiropas skujkoku, īpaši priežu audžu, platībās, galvenokārt uz jaunām un vidēja vecuma priedēm. Lielākos postījumus nodara kokaudzētavās un sēklu ieguves plantācijās. Latvijas klimata apstākļos masveida savairošanās nav novērojama bieži. Kaitēkļa masveida savairošanās 1975.-1977. gadā konstatēta Daugavpils rajonā – priežu audzēs uz 2-6-gadīgiem kokiem, mazāk – uz 8-10-gadīgiem. Tauriņi parādās samērā vēlu – jūlijā. Olas dēj pa vienai uz tekošā gada jaunajiem priežu dzinumiem, galvenokārt

galotnēm. Izšķīlušies kāpuri izdala tiklveida aplikumu, izveidojot īpatnēju ligzdu, kas apvij kārtējā gada priedīšu jaunizveidotos pumpurus. Kāpuri barojoties lēnām virzās pa stumbru un zariem uz leju, pārklājot stumbru ar tiklojuma izveidotu, 6-10 cm garu ligzdu, kur uzkrājas ekskrementi un skuju atliekas. Priedīšu augšana un attīstība tiek pilnībā apstādīnāta. Augustā kāpuru attīstība, kā arī intensīva barošanās noslēdzas, un tie nonāk zemsedzē, visbiežāk augsnes virskārtā, kur pārziemo. Pavasarī (parasti maijā) kāpuri iekūņojas, apkārt kūniņai izveidojot tiklveida ligzdu. Raksturīgi, ka kūniņas var izšķīlties tekošajā gadā, attīstot jaunu ģenerāciju, kā arī diapauzēt vienu vai vairākus veģetācijas periodus.

Varbūtējās latentā vīrusa infekcijas aktivizēšanai ievāktos kāpurus kopā ar barības augu, neatdalītā veidā, pakļāvam fizikāliem un ķīmiskiem stresa faktoriem (5. tabula). Neliels daudzums eksperimentā izmantoto kāpuru gāja bojā dažādu mehānisku bojājumu dēļ vai arī pazuda. Tiklapsesņu kāpuri ir salīdzinoši izturīgi pret stresa faktoriem – iespējams, tos daļēji pasargā tiklojums. No atmīrušajiem īpatņiem (kāpuriem un kūniņām) izdalīti vairāki patogēni: KPV, citoplazmatiskās poliedrozes vīruss (CPV) un baktērijas (*Bacillus thuringiensis*). Citu patogēnu klātbūtnes dēļ KPV izdalīšana, iegūšana tīrā veidā, virulences un titra noteikšana, kā arī citas manipulācijas bija apgrūtinātas. Tāpēc uzskatām, ka kaitēkļu mirstība ir jauktas infekcijas rezultāts. Izmēģinājumi liecina, ka priežu tiklapsesne satur KPV, tomēr tā virulence un spēja izraisīt tīru

vīrusa infekcijas epizootiju kaitēkļa populācijā nav pilnībā noskaidrota. Konstatēts, ka, caur barību inficējot priežu tiklapsesnes laboratorijas kultūru (II-III vecuma kāpurus) ar daļēji attīrītu KPV materiālu, panākama kāpuru atmiršana – un tiem ir vīrusa infekcijas pazīmes. Priežu tiklapsesnes infekciozā materiāla izpēte vēl nav pabeigta.

Bupalus piniarius – priežu sprīžotājs

Priežu sprīžotājs Latvijas apstākļos periodiski savairojas masveida apmēros: 1966.-1967. g.g. – apmēram 500 ha platībā; 1972.-1976. g.g. – apmēram 670 ha platībā; 1979.-1980. g.g. – apmēram 750 ha platībā; 1989.-1992. g.g. – apmēram 30 000 ha platībā; 1998.-1999. g.g. – apmēram 400 ha platībā. Kaitēkļa masveida savairošanās laikā (1990., 1991. un 1998. g.g.) tā ierobežošanai veikta priežu audžu ķīmiskā apstrāde.

Tauriņi lido jūnijā un līdz jūlija vidum; olas dēj uz vecajām skujām. Vienas mātītes auglība – 80-40 olu. Pēc 3-4 nedēļām izšķīlušies kāpuri, kuri barojas ļoti intensīvi, piemēram, vienas 60-gadīgas II bonitātes priedi pilnīgi atskujot spēj 4 tūkstoši kāpuru (Ozols, 1985). Septembra beigās un oktobrī kāpuri iekūņojas un pārziemo zemsedzē. Skujkokus visintensīvāk atskujot kāpuri pēdējās attīstības stadijās. Sprīžotāja masveida savairošanās gadījumos kūniņu skaits uz 1 m² ir 8-12 gab., kas jau pārsniedz kritisko robežu.

Introducētais entomopatogēnais vīruss kaitēkļa populācijā izraisa vīrusu epizootiju un ievērojamu (70-90%) kāpuru atmiršanu. Daļa kāpuru (līdz 40%), kas

inficējušies ar vīrusu neilgi pirms iekūņošanās, izveido vīrusu saturošas kūniņas, no kurām izšķīlušies tauriņi ir fizioloģiski kroplīgi un nespējīgi atrāžot kaitēkļa populāciju (Zariņš, 2001).

1991., 1992. un 2008. gadā, lai turpmākai apstrādei iegūtu vīrusa materiālu no vietējās kaitēkļa populācijas un izveidotu „eksperimentālo” vīrusa celmu ar augstu inficētspēju, veikta sprīžotāja latentā vīrusa aktivizēšana. Papildus paredzēts izveidot no vīrusiem brīvu laboratorijas mātes kultūru. Konstatēts, ka labākais faktors latentā vīrusa aktivizēšanai ir kāpuru inficēšana ar *Operophtera brumata* KPV un *Neodiprion sertifer* KPV vīrusa materiālu (6. tabula), kā arī temperatūras svārstības. Daļa kāpuru un kūniņu, neattīstoties vīrusu infekcijai, gāja bojā citu faktoru dēļ (mehāniskas traumas, parazīti).

Vīrusa materiāls nelielā daudzumā tiek uzglabāts glicerīnā. Ar elektronmikroskopu noteikti poliedru izmēri (0,7-1,3 μm). Poliedrus apstrādājot ar vāji sārmainu šķīdumu, izdalīti virioni (210 × 25 nm).

Shapiro un Robertsons (1987) norāda, ka letālā vīrusa deva, atkarībā no kāpuru vecuma, kukaiņiem ir atšķirīga: LD₅₀ jaunākiem kāpuriem ir daži poliedri, bet vecākiem (IV-V vecuma) – vairāki miljoni poliedru. Priežu sprīžotāja I-II vecuma kāpuriem LD₅₀, pēc mūsu rezultātiem, sastāda 8 poliedrus, bet IV-V vecuma kāpuriem – vidēji 160 poliedrus, ko svarīgi ievērot, gatavojot vīrusa preparāta darba suspensiju kaitēkļa ierobežošanai dažādās kāpuru attīstības stadijās.

6. tabula / Table 6

Priežu sprīzotāja (*Bupalus piniarius*) un mazā salnas sprīzmeša (*Operophtera brumata*) latentās vīrusa infekcijas aktivizēšana ar dažādiem stresa faktoriem (1992. un 2008. g.g. dati)

Activation of virus infection of *Bupalus piniarius* and *Operophtera brumata*, using different stress factors (data of 1992 and 2008)

Stresa faktori Stress factors	Apstrādāto kāpuru vecums Instar of larvae	Kāpuru mirstība, % Corrected mortality of larvae, %	Iekūņojušos īpatņu dau- dzums, % Amount of pupated specimens, %	Vīrusu saturo- šo īpatņu (kā- puri + kūniņas) daudzums, % Amount of virus-carrying specimens (lar- vae + pupae), %
Priežu sprīzotājs <i>Bupalus piniarius</i>				
<i>Operophtera brumata</i> NPV (1×10^7 pol. ml ⁻¹)	II-III	65,8	30,2	57,5
<i>Neodiprion sertifer</i> NPV (1×10^8 pol. ml ⁻¹)	III-IV	56,9 pd	28,0	76,9
Vītīnātās skujuas <i>Semi-dried pine needles</i>	III-IV	54,9 pd	26,7	65,7
Ekstrēmas temperatūras * <i>Extreme temperatures*</i>	II-III	52,0	40,0	42,8
	III-IV	44,7	45,3	40,2
Ekstrēmas temperatūras ** <i>Extreme temperatures**</i>	III-IV	96,9 pd	1,7	98,3
1,0% H ₃ BO ₃	II-III	48,0	50,0	54,3
1,0% H ₃ BO ₃	III-IV	31,0 pd	56,2	36,3
0,5% ZnSO ₄	II-III	37,3	35,7	39,0
0,5% CuSO ₄	III-IV	60,9 pd	34,0	46,6
Mazais salnas sprīzmetis <i>Operophtera brumata</i>				
Olu dējumu šķilšanās aizkavēšana līdz 2 nedēļām (pie 8-12°C) <i>Prolongation of egg hatching (2 weeks at 8-12°C)</i>	-	71,3	28,0	64,4
Kāpuru kultivēšana pie palielināta blīvuma <i>Increased amount of specimens</i>	II-IV	35,7	58,7	42,2
Ekstrēmas temperatūras * <i>Extreme temperatures*</i>	II-III	62,2	30,2	57,7
1% H ₃ BO ₃	II-IV	49,8	50,2	42,3

Paskaidrojumi / Explanations:

* paaugstināta / increased (35°C) 24 h; pazemināta / reduced (4-6°C) 24 h;

**pazemināta / reduced (4-6°C) 24 h; paaugstināta / increased 35°C 48 h;

pd dati publicēti (Jankevica et. al., 2009) / data published by Jankevica et. al. (2009).

Operophtera brumata –
mazais salnas sprīžmetis

Tauriņi parādās rudenī – pirms pirmajām salnām. Olas dēj oktobra vidū un novembrī apkārt pumpuriem, koku mizas plaisās vai arī uz zariem. Viena mātiņa izdēj 150-350 olu. Kāpuri šķiļas aprīļa beigās un maijā, barojas uz plaukstošiem pumpuriem, bet pēc tam uz jaunajām lapu koku lapām. Kaitēkļa savairošanās gadījumā lapas tiek nograuztas 80-100% apmērā, neskarot to dzislojumus. Iekūņojas zemsedzē. Sprīžmetis ir bīstams kaitēklis augļu dārzos, kā arī dažādu sugu lapu koku audzēs. Pētījumi veikti no 1970. līdz 1980. gadam.

Kā redzams 6. tabulā, sprīžmešu apslēpto vīrusu infekcija, aizkavējot olu dēšanu, sevišķi aktivizējas, tos izturot pazeminātā temperatūrā, kā arī svārstīgā ekstremālu temperatūru režīmā. Nedaudz mazāk aktīvs bija ķīmiskais stresa faktors. *Operophtera brumata* KPV materiāls attīrīts, koncentrēts, noteikta tā virulence; turpmākajiem pētījumiem un „eksperimentālā” vīrusa celma izveidošanai tas tiek uzglabāts glicerīnā.

Lymantria dispar – nevienādā mūķene
(sin. ozolu mūķene)

Nevienādā mūķene arvien plašāk izplatās Eiropā, ko, iespējams, izraisījusi klimata pasiltināšanās un mazāk bargas ziemas. Ņemot vērā tās postošo kaitējumu lapu koku audzēm, sevišķi ozoliem, mūķene uzskatāma par bīstamu kaitēkli tuvākā nākotnē. Nevienādās mūķenes tauriņi lido jūlija otrajā pusē un augustā.

Mātītes dēj olas kaudzītēs (200-500 gab.); olu dēšanas periods var ilgt līdz divām nedēļām. Tās lokalizējas uz lapu koku zaru apakšējās virsmas. No pārziemojošām olām kāpuri šķiļas maija sākumā, kad vidējā gaisa temperatūra sasniedz +10°C. Jaunie kāpuri dažas dienas pēc izšķilšanās sāk baroties: sākumā lapām tiek izgrauzti nelieli laukumi, bet pēc tam izmantota visa lapa. Pieaugušie kāpuri intensīvi barojas naktī. Kāpuru attīstības cikls ilgst apmēram 70-80 dienas. Iekūņošanās norit jūnija beigās un jūlijā. Kūniņas attīstības fāze ilgst 10-15 dienas. Nevienādās mūķenes savairošanās cikls Baltijas klimata apstākļos varētu būt 5-7 gadi. Kukaiņa masveida savairošanās laikā, kā novērots 2006. gadā Ērgļu apkārtņē, ozolu atlapošana sasniedza 80%; 2008. un 2009. gadā bērzu un alkšņu atlapošana Liepājas apkārtņē vērtējama 80-90% apmērā.

Daļai 2008. gadā ievākto kāpuru un kūniņu konstatētas vīrusa saslimšanas pazīmes – pirmo reizi Baltijas reģionā no nevienādās mūķenes kāpuriem izdalīts *Lymantria dispar* multiplā tipa kodolu poliedrozes vīruss (LdMNPV). Iegūts arī attīrīts vīrusa materiāls, kas tiek uzglabāts glicerīnā. Turpmāk nepieciešama vīrusa pavairošana, tā aktivitātes izpēte un jauna, virulenta eksperimentālā celma izveidošana.

Lymantria monacha – egļu mūķene

Egļu mūķene ir visā Eiropā plaši izplatīts egļu audžu kaitēklis, kas, izmaiņoties klimata apstākļiem (laikam kļūstot siltākam), arvien vairāk virzās uz zieme-

ļiem, ieviešoties arī Latvijas teritorijā. Ievērojama egļu mūķenes savairošanās, ar epicentru Rīgas rajonā, novērota no 1994. līdz 1996. gadam, kad arī veicām tās izpēti. Egļu mūķene ir polifāga suga, kas var nodarīt ievērojamu kaitējumu egļu un priežu audzēm. Atzīmējams, ka dažkārt tās kāpuri barojas arī uz lapu kokiem – bērza, ozola, dižskābarža, kļavas, liepas, apses.

Kāpuri mūsu klimata apstākļos šķīļas aprīļa beigās un maija pirmajā pusē. Sākumā tie barojas ar jaunajām skuļjām vai veco skuju pamatnēm, kur audi ir mikstāki. Apgrauztās skuļjas nobirst, tādējādi veicinot kokaugu pilnīgu defoliāciju un nokalšanu. Kāpuru attīstības periods – 50 dienas un ilgāk, atkarībā no

gaisa vidējās temperatūras. Ar vēju tie izplatās agrobiocenozē. Kāpuri iekūņojas koku mizas spraugās, lapu žāklēs un citur. Kūņiņas attīstība ilgst 8-14 dienas. Tauriņi parādās jūlijā – augustā. Tie nebarojas, lidošanas periods ilgst 12-15 dienas, aktīvi galvenokārt nakts stundās. Mātīte izdēj līdz 200 olu uz koku zariem. 7. tabulā redzams, ka fizikālie stresa faktori (temperatūru svārstības) un kāpuru inficēšana sākuma attīstības stadijā ar no citas kukaiņu sugas izdalītu vīrusu materiālu var aktivizēt latentā vīrusa infekciju. Izdalīti KPV, veikta to identificēšana, attīrīšana un koncentrēšana. Attīrītais vīrusa materiāls ir ieslēgts glicerīnā; pusattīrītā veidā – vīruss sajaukumā ar matricām – tiek uzglabāts sausā veidā.

7. tabula / Table 7

Egļu mūķenes (*Lymantria monacha*) un priežu pūcītes (*Panollis flammea*) latentās vīrusa infekcijas aktivizēšana ar dažādiem stresa faktoriem (2006.-2008. g.g. dati)
Activation of virus infection of moths (Lymantria monacha) and (Panollis flammea), using different stress factors (data of 2006-2008)

Stresa faktori <i>Stress factors</i>	Apstrādāto kāpuru vecums <i>Instar of larvae</i>	Kāpuru mirstība, % <i>Larvae mortality, %</i>	Iekūņojušos īpatņu dau- dzums, % <i>Amount of pupated specimens, %</i>	Vīrusu saturo- šo īpatņu (kā- puri + kūņiņas) daudzums, % <i>Amount of virus-carrying specimens (lar- vae + pupae), %</i>
<i>Egļu mūķene Lymantria monacha</i>				
<i>Orgyia antiqua</i> NPV (1×10^7 pol. ml ⁻¹)	II-III	61,0	35,5	59,0
<i>Neodiprion sertifer</i> NPV (1×10^7 pol. ml ⁻¹)	II-III	42,5	40,0	46,8
<i>Malacosoma neustria</i> NPV (1×10^7 pol. ml ⁻¹)	II-III	35,3	33,0	38,2
Netipiska barība (virši) <i>Untypical food (heath)</i>	I-III	38,2	58,0	25,3
	III-IV	21,7	74,5	18,5
Ekstrēmas temperatūras * <i>Extreme temperatures *</i>	II-III	82,5	15,5	70,8
	III	70,0	30,0	55,0

7. tabula (turpinājums) / Table 7 (continued)

Stresa faktori <i>Stress factors</i>	Apstrādāto kāpuru vecums <i>Instar of larvae</i>	Kāpuru mirstība, % <i>Larvae mortality, %</i>	Iekūņojušos īpatņu dau- dzums, % <i>Amount of pupated specimens, %</i>	Vīrusu saturo- šo īpatņu (kā- puri + kūniņas) daudzums, % <i>Amount of virus-carrying specimens (lar- vae + pupae), %</i>
1,0% H ₃ BO ₃	II-IV	61,5	27,2	55,7
0,5% CuSO ₄	II-III	78,8	18,6	61,2
<i>Mazais salnas sprīzmetis Operophtera brumata</i>				
Kāpuru kultivēšana palielinātā blīvumā <i>Increased amount of specimens</i>	II-III	44,7	50,3	46,3
	III-IV	36,8	59,2	38,8
Ekstrēmas temperatūras * <i>Extreme temperatures *</i>	II-III	67,0	31,2	72,5

Paskaidrojumi / *Explanations*: * 34-38°C, 24 h, 4-8°C, 24 h

Panolis flammea – priežu pūcīte

Priežu pūcīte ir visā Eiropā plaši izplatīts skujkoku kaitēklis. Latvijā pūcītes masveida savairošanās novērota 1947.-1948. g.g. Rīgas rajona priežu mežos (ar epicentru Garkalnē), apmēram 3800 ha platībā; 1951.-1954. g.g. – vairāk nekā 200 ha platībā; 1970.-1971. g.g. Jūrmalas kūrortzonas reģionos, kur priežu kultūras tika atskujotas 50-70% apmērā un kur ķīmiskā apstrāde nav pieļaujama. Tauriņi lido aprīlī un maijā. Mātītes olas dēj rindās skuju apakšpusē; jūnija beigās un jūlijā kāpuri nonāk zemsedzē un iekūņojas. Kūniņu attīstība ilgst 9,5 līdz 10,0 mēnešus. Stipri invadētās priežu tīrkultūrās kāpuru atskujoto koku normāla augšana ir ievērojami traucēta, un tie var arī nokalst.

Latentā formā esošu priežu pūcī-

tes vīrusu aktivizēšanai 1996. gadā laboratorijas eksperimentos pielietojām dažādus stresa faktoros. Kā redzams 7. tabulā, priežu pūcītes KPV latentu infekciju aktivēšanu jaunāko stadiju kāpuriem vislabāk veicina ekstremālo temperatūru svārstības: vīrusu infekcijas izraisītā mirstība novērota kā kāpura, tā arī kūniņas attīstības fāzē. Pie palielināta kāpuru blīvuma vīrusa aktivācija ir ievērojami zemāka; šādos apstākļos novērojams kanibālisms. Daļa īpatņu, neuzrādot vīrusa infekcijas pazīmes, gājuši bojā citu iemeslu dēļ. Vīrusa materiāls nelielā daudzumā, neattīrītā veidā, tiek uzglabāts atmirušajos īpatņos.

Malacosoma neustria – ābeļu vērpējs

Ābeļu vērpējs izplatīts visā Eiropas teritorijā. Tā barības augi ir platlapju koku sugas: ozols, bērzs, apse, kā arī

krūmāji, piemēram, smiltsērķšķis. Lielāko kaitējumu, dažkārt arī mūsu teritorijā, nodara augļu kokiem. Ķīmiskā apstrāde Latvijā līdz šim nav bijusi nepieciešama. Pēc mūsu novērojumiem, introducēta KPV infekcija kaitēkļa populācijā var ierobežot masveida savairošanos. Tauriņi mūsu klimata apstākļos lido jūnijā un jūlijā, visaktīvāk vakarpusē. Mātītes olas dēj gredzenveidā ap zariem; vienā dējumā ir 150-400 olu. Viena mātīte var izdēt vidēji līdz 300 olu, kas pārziemo diapauzē uz koku mizas. Kāpuri izšķīlas pavasarī – aprīlī, maijā. Tie ātri pārvietojas uz koka vainagu, izlaižot zīdveida pavedienus, un uzsāk intensīvu barošanos. Nelabvēlīgos laika apstākļos tie izveido ciešu koloniju un var iztikt bez barošanās pat 4-5 nedēļas. Kolonijas aptver biezs tiklojums, kas aizsargā no nelabvēlīgiem apstākļiem. Kāpuru attīstības periods ilgst 38-45 dienas. Pieaugušie kāpuri iekūņojas jūnijā, jūlijā, izveidojot kokonu – parasti mizas plaisās un zaru žāklēs.

Ābeļu vērpēja vīrusa latentās infekcijas aktivizēšanai pielietoti vairāki fizioloģiskas, fizikālas un ķīmiskas dabas stresa faktori dažādās kāpuru attīstības stadijās, kā rezultātā izdalīts KPV. Laboratorijā, veicot vairākkārtīgas vīrusa pasāžas īpašos ārējās vides apstākļos, iegūts „eksperimentāls”, augstas virulences vīrusa celms. Lai saražotu vīrusa materiālu kāpuru audzēšanai laboratorijā, izstrādāta mākslīga barotne, kas sastāv no 15 komponentiem. Uz „eksperimentālā” vīrusa celma bāzes (Зариньш и др., 1980) izveidots vīrusa preparāts „VIRIN-KŠ”, kā arī noformēta tā autoraplicība. Viens

grams standartpreparāta satur vienu miljardu vīrusa poliedru. „VIRIN-KŠ” izgatavojams šķidrā un sausā preparatīvā formā. Preparātā bez aktīvās vielas ietilpst arī dažādas matricas – uztvērējvielas, emulgatori, saistvielas, lipvielas. Par jaunu preparatīvo formu gatavošanas paņēmieni izstrādāšanu (Эглите и др., 1988) un matricu izveidošanu (Зариньш, Эглите, 1987) noformētas PSRS autoraplicības. Lauka eksperimenti apliecināja, ka izveidotās preparatīvās formas 10 dienas pēc pielietošanas izraisa augstu (89-96%) kaitēkļu mirstību (Jankevica, Zarins, 1997).

Pielietojot preparātu vērpēja savairošanās ierobežošanai, vīrusa inkubācijas periods ilgst 4-6 dienas (infekcijas attīstībai labvēlīgos apstākļos), izraisot kāpuru atmirumu 85-100% apmērā. Ja preparāts izmantots ar zināmu novēlošanos (3. un 4. kāpuru attīstības stadijā) vai ne īpaši labvēlīgos klimata apstākļos (gaisa vidējā temperatūra < +16°C), kaitēkļu mirstība kāpuru fāzē sastāda 60-75%, bet šajā gadījumā infekcija turpina attīstīties kūniņu fāzē, izraisot to atmiršanu, vai arī izšķīlušies tauriņi ir fizioloģiski nepilnvērtīgi (kroplīgi), nespējīgi vairoties un nodrošināt pilnvērtīgu nākamās paaudzes attīstību.

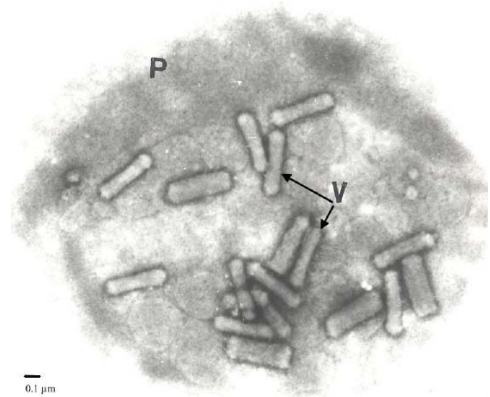
Eksperimentos, kas veikti, lai novērtētu vides faktoru ietekmi uz izmigloto vīrusu dzīvotspēju, konstatēts, ka *Malacosoma neustria* KPV (MnMNPV) saglabā aktivitāti uz augu lapām 22 dienas pēc izmiglošanas (Jankevica, Zarins, 1997). Izmantojot DNS-DNS hibridizācijas metodi, noskaidrots, ka vīrusu

poliedru daudzums uz ābeļu lapām variantos ar pildvielām nedēļas laikā samazinās par 20-65%, kontrolē (vīrusu suspensija bez pildvielām) – par 81%. Aprēķinātais poliedru daudzums, kas pēc miglošanas pielīp ābeļu lapām, ir 5000-7000 poliedri cm^{-2} . Visi eksperimenti liecina, ka poliedru zudumi kontrolē korelē ar nokrišņu daudzumu un saules spīdēšanas laiku – 28 dienu laikā no lapām noskalojas 99,8% poliedru (Jankevica, 2000b). Pielietojot pildvielas, uz lapu virsmas pēc 28 dienām saglabājas vairāk nekā 240 poliedri cm^{-2} . Aktīvi barojoties, 3. un 4. stadijas kāpuri uzņem pietiekamu vīrusa devu (LD_{50} – 985 poliedri (Jankevica *et. al.*, 1998), ja barībai izlietoti 5-10 cm^2 lapu, kas eksponētas vidē 28 dienas). Mūsu rezultāti sakrīt ar Cunninghama un Entwistla (Cunningham, Entwistle, 1981) atzinumiem, ka dažādas pildvielas samazina lietus un ultravioletā starojuma negatīvo ietekmi uz vīrusa aktivitāti.

No 1995. gada līdz 1999. gadam Latvijas austrumu daļā, projekta “Ziemeļeiropas tauriņu monitoringa programma” ietvaros, veikts *M. neustria* populāciju monitorings. *M. neustria* sastopamība 1995. gadā bijusi vislielākā, bet turpmākajos 4 gados būtiski samazinājusies. Ābeļu vērpeji ievākti to dabiskajās dzīvotnēs Liepājas un Dobeles rajonā. Pielietojot diagnostikas metodi, kas balstīta uz DNS amplifikāciju ar poliedrīn-specifiskiem praimeriem, *M. neustria* populācijās konstatēta KPV infekcija. 1998. gadā, kad *M. neustria* sastopamība bija ļoti zema, 63-100% no Liepājas rajonā ievāktajiem

un pārbaudītajiem ābeļu vērpejiem tika konstatēta MnMNPV klātbūtne (Jankevica *et. al.*, 2002).

Veikta *Malacosoma neustria* KPV izolātu morfoloģijas izpēte. Noteikti poliedru izmēri – 850-1400 nm. Poliedri saturēja lielu daudzumu virionu, kuru izmēri – $400 \times 100-200$ nm (2. attēls); savukārt virioni saturēja nūjiņveida nukleokapsīdas 360×80 nm. Elektronmikroskopiskajos pētījumos noskaidrots, ka *Malacosoma neustria* KPV virioni satur 1-11 nukleokapsīdas (3. attēls), un tādēļ Latvijas izolāti ir piederīgi multiplo kodolu poliedrozes vīrusa tipam (Jankevica *et. al.*, 1998).



2. attēls. *Malacosoma neustria* KPV poliedru elektronmikroskopija. MnMNPV poliedrs (P) un virioni (V). Poliedrs 5 min. šķīdināts ar 1% NaOH (autore: Dr. hab. biol. V. Ose).

Figure 2. Electronmicrograph of *Malacosoma neustria* NPV. MnMNPV polyhedra (P) and virions (V). Polyhedra dissolved in 1% NaOH for 5 min. Bar represents 0.1 μm (author: Dr. hab. biol. V. Ose).



3. attēls. *Malacosoma neustria* KPV viriona elektronmikroskopija. Ar 1% NaOH izšķīdināts multiplā tipa virions, kas satur trīs nukleokapsīdas (autore: Dr. hab. biol. V. Ose).

Figure 3. Electronmicrograph of *Malacosoma neustria* NPV virion. In NaOH (1%) dissolved multiple virion. Three nucleocapsids are enveloped in a virion. Bar represents 0.1 μm (author: Dr. hab. biol. V. Ose).

Dendrolimus pini – priežu vērpējs

Priežu vērpējs ir plaši izplatīts priežu kultūrās Eiropas Ziemeļu reģionos, kur nodara lielu kaitējumu daudzgadīgajiem (50-80 gadi) kokiem. Latvijas mežos sastopams regulāri, bet tā masveida savairošanās nav novērota, tomēr nākotnē var kļūt par mūsu mežsaimniecībai ļoti bīstamu kaitēkli.

Tauriņi parādās priežu audzēs jūnija beigās, jūlijā un augustā. Tie ir aktīvi vakara stundās. Mātīte olas dēj kaudzītēs uz priežu zariem, stumbra, kā arī skujām. Viena mātīte izdēj līdz 200 olu. Kāpuri izšķīļas pēc 2-3 nedēļām jūnijā un augustā. Barojas ar kārtējā gada skujām.

Septembra beigās tie ir 25-30 cm gari; pirms pirmajām salnām pārvietojas zemsedzē – augsnes virsējā slānī, kur arī pārziemo. Agri pavasarī, kad vidējā temperatūra sasniedz +4...+5°C (martā, aprīlī), migrē atpakaļ uz priežu vainagu, kur intensīvi barojas ar vecajām un jaunajām skujām. Vairumam kāpuru attīstība noslēdzas otrā gada jūnijā vai jūlijā. Kāpuri iekūņojas, veidojot kokonu, kas iestiprināts priežu mizas plaisās vai uz zariem. Kaitēkļa masveida savairošanās periodos stipri atskujotie koki nokalst vai arī to attīstība (arī koksnes pieaugums) tiek ievērojami traucēta.

Pielietojot priežu vērpēja latento vīrusu aktivizējošus stresa faktorus, t.sk. pazeminātā temperatūrā aizkavējot olu attīstību, barības augu apmiglojot ar ķīmiskām vielām, kā arī inficējot kāpurus ar no citas kukaiņu sugas izdalītu KPV materiālu, izdevās nošķirt aktīvu vīrusu un noteikt tā virulenci. KPV no priežu vērpēja vietējās populācijas izdalīts 2010. gadā. Morfoloģiskie pētījumi vēl turpinās.

Pētījumu gaitā izdalīti un identificēti kodolu poliedrozes vīrusi arī no mazāk nozīmīgiem mežsaimniecības kaitēkļiem: auglkoķu mūķenes (sin. otiņpūcīte) *Orgyia antiqua*, ievu tiklkodes *Yponomeuta evonymellus* un segliņu tiklkodes *Y. cognatella*. Vīrusu materiāls atīrīts, koncentrēts, noteikta tā virulence, un turpmākajiem pētījumiem tas tiek uzglabāts glicerīnā. Neliels daudzums KPV poliedru izdalīts arī no bērzu vērpēja *Eriogaster lanestris*, bet morfoloģiskie un aktivitātes pētījumi nav veikti.

Secinājumi

Ilggadīgie novērojumi apliecina, ka periodiski masveida savairošanās laikā būtiskus kaitējumus mežsaimniecībai nodara šādas kaitēkļu sugas: priežu rūsganā zāglapsene, priežu tiklapsene, priežu iedzeltenā zāglapsene, priežu sprīžotājs, egļu un nevienādā mūķene, kā arī priežu pūcite.

Eksperimentāli pierādīts, ka meža kaitēkļu populācijas satur entomopatogēnos vīrusus latentā vai persistentā formā. No 15 vietējām, mežam bīstamām kukaiņu sugām, pielietojot fizioloģiskus, fizikālus un ķīmiskus latentu vīrusu infekciju aktivizējošus faktoros, izdalīti kopskaitā 19 dažādi entomopatogēnie vīrusi.

Visvairāk izdalīto entomopatogēno vīrusu (15) ir piederīgi kodolu poliedrozes vīrusu grupai, savukārt trīs no konstatētajiem vīrusiem – citoplazmatiskās poliedrozes vīrusu grupai, bet viens no izdalītajiem ir granulozes vīruss. Trīspadsmit no pārbaudītajiem KPV izolātiem ir vidēja vai augsta patogenitātes pakāpe, un to izraisītā kaitēkļu mirstība pārsniedz 31%.

Trijiem no izdalītajiem KPV izveidoti „eksperimentālie”, paaugstinātas virulences vīrusa celmi, noteikta to aktivitāte attiecībā uz saimniekorganismu, kā arī citas īpašības.

Uz KPV „eksperimentālo” vīrusu celmu bāzes izstrādāti divi efektīvi vīrusinsekticīdi: „VIRIN-Diprion” un „VIRIN-KŠ” priežu rūsganās zāglapsenes un ābeļu vērpēja savairošanās ierobežošanai.

Laboratorijā izveidotās vīrusu preparatīvās formas samazina vides apstākļu degradējošo iedarbību uz vīrusu aktivitātes saglabāšanos un nodrošina to pielipšanu augam, kā arī pasargā no aizskalošanās lietainā laikā.

Uzsākti pētījumi par kukaiņu vīrusu infekcijas horizontālo un vertikālo izplatīšanos ekosistēmā; ābeļu vērpēja kodolu poliedrozes vīruss saglabā aktivitāti uz augu lapām 84 dienas, savukārt priežu rūsganās zāglapsenes KPV aktivitāti saglabā, ieskalojoties augsnē.

Piecu gadu pētījumos apstiprinājies, ka ābeļu vērpēja KPV saglabājas kaitēkļa populācijās. Pielietojot diagnostikas metodes, kas balstīta uz DNS amplifikāciju ar poliedrīn-specifiskiem praimeriem, konstatēts, ka *M. neustria* populācijai, ceturto gadu atrodoties depresijas fāzē, kaitēkļa sastopamība ir ļoti zema, taču 63-100% no Liepājas rajonā ievāktajiem un pārbaudītajiem ābeļu vērpējiem KPV tika konstatēti.

Pateicība: LU BI pētījumi kopš 1991. gada veikti ar Latvijas Zinātnes padomes atbalstu (91.0132, 96.0113, 01.0339, 05.1438, 09.1360) un 2008. gadā – ar Latvijas Meža attīstības fonda atbalstu. Autori izsaka pateicību Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centra vadošajai pētniecei, Dr. hab. biol. V. Osei par KPV elektronmikroskopiju un elektronmikrogrāfijām.

Literatūra

- Adams, J. R., Bonami, J. R.** (1991). Preparation of invertebrate viruses and tissues for examination. – Atlas of Invertebrate Viruses. Adams J.R., Bonami J.R (ed.), CRC Press, Boca Raton, 9-30.
- Bird, F. T., Whalen, M. M.** (1953). A virus disease of the European pine sawfly *Neodiprion sertifer* (Geoffr.). Can. Entomologist, 85, 433-437.
- Cory, J. S., Myers, J. H.** (2003). The ecology and evolution of insect baculoviruses. Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst. 34, 239-272.
- Cory, J. S., Hoover, K.** (2006). Plant-mediated effects in insect-pathogen interactions. Trends in Ecology & Evolution, 21, 278-286.
- Cunningham, J. C.** (1998). North America. – Insect viruses and pest management. Hunter-Fujita, F., Entwistle, P., Evans, H., Crook, N. (eds.), Wiley & Sons, Chichester, UK, 313-331.
- Cunningham, J. C., Entwistle, P. F.** (1981). Control of sawflies by baculovirus. – Microbial control of pests and plant diseases. Burgess, H.D. (ed.), New York: 470-478.
- Elkinton, S. J., Burand, J.** (2007). Assessing impact of naturally occurring pathogens of forest insects. – Field manual of techniques in invertebrate pathology (Lacey, A. & Kaya H. K. eds.), Springer, 283-296.
- Entwistle, F.** (1997). A world survey of virus control of insect pests. – Insect viruses and pest management. Hunter-Fujita, F., Entwistle, P., Evans, H., Crook, N. (eds.) London, 189-200.
- Entwistle, P. F., Adams, P. H. W., Evans, H. F.** (1978). Epizootiology of a nuclear polyhedrosis virus in European spruce sawfly *Gilpinia hercyniae*; birds as dispersal agents of the virus during winter. J. Invertebr. Pathol. 30, 15-19.
- Evans, H. F., Shapiro, M.** (1997). Viruses. – Manual of Techniques in Insect Pathology, Lacey, L. A. (ed.), Academic Press, London, 17-53.
- Finney, J.** (1971). Probit Analysis 3rd edition, Cambridge University Press, England, 333 pp.
- Huber, J., Hughes, P. R.** (1984). Quantitative bioassay in insect pathology. Bull. Entomol. Soc. Am. 30: 31-34.
- Jankevica, L.** (2000a). Ecological interactions between baculoviruses and pest populations and their role in biological control. PhD theses. University of Latvia, Riga, 1-50.
- Jankevica, L.** (2000b). Persistence and accumulation of *Malacosoma neustria* nuclear polyhedrosis virus in the ecosystem after virus application. IOBC Bulletin, 23 (2), 249-252.
- Jankevica, L., Čudare, Z., Ose, V.** (1998). New isolate of *Malacosoma neustria* nuclear

- polyhedrosis virus in Latvia. *J. Invertebr. Pathol.* 75 (3), 283-285.
- Jankevica, L., Kropa, M., Savenkovs, N. & Jankevics, E.** (2002.) Presence of nuclear-polyhedroviruses in natural populations of *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera, Lasiocampidae). *Latvijas Entomologs.* 39, 30-38.
- Jankevica, L., Zarins, I.** (1997). Biological control of *Malacosoma neustria* L. population with Latvian isolate of nuclear polyhedrosis virus. – Proceedings of International Symposium “Microbial Insecticides: Novelty or Necessity?”, UK, 284-288.
- Jankevica, L., Seskena, R., Halimona, J., Metla, Z., Zarins, I, Smits, A.** (2009). Presence of nuclear polyhedrosis viruses in populations of pine looper *Bupalus piniarius* L. (Lepidoptera: Geometridae). *IOBC/WPRS Bulletin*, 45: 149-152.
- Krieg, A.** (1955). Untersuchungen uber die polyedrose von *Neodiprion sertifer* (Geoffr.). *Arch. Ges. Virusforsch.* 6: 163-174 (in German).
- Lacey, L. A., Brooks, W. M.** (1997). Initial handling and diagnosis of diseased insects. – *Manual of techniques in insect pathology* (ed. Lacey). p. 1-15.
- Lipa, J., Śliżyński, K.** (1973). Wskazowki metodyczny i terminologia do wyznaczenia średniej dawki śmiertelnej (LD_{50}) w patologii orwadów i toksykologii (Methodical instructions and terminology for calculation of Median Lethal Dose in insect pathology and toxicology). *Prace Naukowe Instytutu Ochrony Roślin*, 15 (1), 59-83 (in Polish).
- Olofsson, E.** (1987). Environmental persistence of the nuclear polyhedrosis virus of the European pine sawfly in relation to epizootics in Swedish scots pine forests. *J. Invertebr. Pathol.* 52, 119-129.
- Ozols, G.** (1985). Priedes un egles dendrofāģie kukaiņi Latvijas mežos. Rīga, Zinātne, 206 lpp.
- Shapiro, M., Robertson, J.** (1987). Yield and Activity of Gypsy moth (Lepidoptera: Lymantridae) Nucleopolyhedrosis virus Recovered from Survivors of viral Challenge. *J. Econ. Entom.*, 80 (4), 901-905.
- Šmits, A.** (2005). Insekticīda dimilin 80 WG efektivitātes un ietekmes uz nemērķa sugām novērtējums. URL <http://www.lvm.lv/files/text/DIMILIN%2080WG.pdf> [izdrukāts 2007. gada 15. jūnijā].
- Vega, F. E., Dowd, P. F., Lacey, L. A., Pell, J. K., Jackson, D. M., Klein, M. G.** (2007). Dissemination of beneficial microbial agents by insects. – *Field manual of techniques in invertebrate pathology* (Lacey, A. & Kaya, H. K. eds.) Springer, 127-146.
- Zariņš, I. & Eglite, G.** (1993a). The European pine sawfly nuclear polyhedrosis virus and its application to insect pest control. *Proc. Latv. Acad. Sc. Part B*, 552, 73-78.
- Zariņš, I., Eglite, G.** (1993b). Investigation of entomopathogenous viruses in Latvia and their potential as pest control agents. *Proc. Latv. Acad. Sc. Part B*, 557: 49-53.

- Zariņš, I.** (2001). Possibilities of the use of entomopathogenous viruses to control the multiplying of the nun moth (*Lymantria monacha* L.) and the pine looper (*Bupalus piniarius* L.). *Latvijas Entomologs*, 38: 41-52.
- Васильева, В. А., Лебединец, Н. Н.** (2001). Итоги изучения безопасности вирусных инсектицидов для человека и животных в условиях производства и применения. Материалы научно – практической конференции «Защита растений на рубеже XXI века». Минск, 347-349 с.
- Гулий, В. В.** (1967). Вирусные инфекции пилильщиков – массовых вредителей лесов в среднем Приобье. Новосибирск, 161 с.
- Зариньш, И., Эглите, Г.** (1987). Матрица вирусных препаратов для защиты растений. Авторское свидетельство СССР № 1389024.
- Зариньш, И., Король, И., Казанская, В.** (1980). Штамм вируса ядерного полиэдрома *Malacosoma neustria* L.– средство борьбы с кольчатым шелкопрядом. Авторское свидетельство СССР № 1022350 А.
- Эглите, Г., Зариньш, И., Ритума, И., Калниня, А.** (1988). Способ получения энтомопатогенного вирусного препарата. Авторское свидетельство СССР № 1453647 А1.