

Устройство ольфактометрической ловушки для насекомых-стволовых дендрофагов: результаты испытания на *Polygraphus proximus* Blandf.

The design of an olfactometric trap for dendrophagous insects, as tested by *Polygraphus proximus* Blandf.

И.А. Керчев
I.A. Kerchev

Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН, пр. Академический 10/3, Томск 634055 Россия.
E-mail: ivankerchev@gmail.com.

Institute of Monitoring of Climatic and Ecological Systems, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Akademicheskoy Prospekt 10/3, Tomsk 634055 Russia.

Ключевые слова: ловушка, ольфактометрия, *Polygraphus proximus*, коммуникация, феромоны, короеды.

Key words: trap, olfactometry, *Polygraphus proximus*, communication, pheromones, bark beetles.

Резюме. Предложена конструкция ловушки для короедов, позволяющая без наличия агрегационного феромона проводить ольфактометрические исследования. Особенностью ловушки является модификация барьерной и привлекающей частей по сравнению с имеющимися аналогами. Барьерная часть состоит из ПВХ цилиндра диаметром 110 мм и прикрепляемых к нему барьерных пластиковых лопастей, к которым снизу крепится воронка со съёмным приёмником для насекомых. В качестве источника одоранта внутрь пластикового цилиндра помещаются отрезок ствола дерева и готовые для его заселения насекомые. В ловушке имеются боковые отверстия для транспирации синтезируемых летучих веществ, закрытые металлической сеткой с целью предотвращения побега жуков. В лабораторных условиях проведено испытание ловушек с четырьмя предполагаемыми вариантами аттрактантов. Три ловушки содержали отрезки пихты сибирской, которые заселялись: 1) только 10 самцами, 2) 10 самками и 3) 10 парами уссурийского полиграфа *Polygraphus proximus*. В четвертой ловушке находился отрезок пихты без насекомых, пятая ловушка — контроль без растений и насекомых. В этом же помещении для оценки привлекательности ловушек было выпущено 300 перезимовавших жуков полиграфа. Ловушки по степени уловистости расположились в порядке убывания: с отрезками, заселёнными парами, самками, самцами, с незаселённым отрезком пихты и контрольная ловушка. Предложенная конструкция ловушки, благодаря простоте сборки и доступности материалов, позволяет использовать её для постановки полевых экспериментов с целью исследования феромонной коммуникации и определения привлекательности для короедов различных метаболитов, выделяемых их ассоциантами при внесении их в ткани дерева. Результаты лабораторных испытаний подтверждаются наблюдениями за особенностями заселения деревьев в естественных условиях в период массового лёта короеда.

Abstract. The construction of a trap for bark beetles is proposed, which allows one to conduct olfactometric studies without the presence of dispensers with an aggregation pher-

omone. The peculiarity of the trap is the modification of the barrier and parts containing attractants in comparison with the available commercial analogs. The trap consists of plastic barriers attached to a 110 mm diameter PVC cylinder, to which a funnel with a detachable receptacle for insects is attached at the base. As a source of odorant, a piece of tree trunk and overwintered insects are placed inside the plastic cylinder. The trap has side openings for transpiration of synthesized volatiles, covered with a metal mesh to prevent the escape of beetles. Under laboratory conditions, a test was conducted on five traps, three of them containing Siberian fir logs which were colonized respectively the first with 10 males, the second with 10 females and the third with 10 pairs of *Polygraphus proximus*; in the fourth trap was a piece of fir log without insects, the fifth trap represented a control (a trap without logs and any insects). In the same room, 300 bark beetles were released to assess the attractiveness of the traps. Traps are arranged by their degree of catchability in descending order: with segments, three inhabited by pairs, females, males, fourth with fir log and fifth as control trap. The proposed trap design, due to the ease of assembly and availability of materials, is ideal for use in the field to study the pheromonic communication and the attractiveness of various metabolites produced by associate insects after penetrating plant tissues. The results of laboratory tests are confirmed by observations of the peculiarities of tree colonization in natural conditions during the spring swarming flight of the bark beetles.

Введение

Большинство видов короедов (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) по своей экологической специализации являются естественными деструкторами погибающих или сильно ослабленных растений [Raffa et al., 2015]. Агрессивные виды короедов [Ohmart, 1989; Lindeman, 1993; Petrov, Dostovalov, 2015; Raffa et al., 2015] приводят обратимо ослабленные деревья к гибели, подавляя защитные механизмы растений за счёт повреждения смоляных каналов

и переноса фитопатогенов [Biedermann, Rohlf, 2017]. Принципиальное значение для их стремительного нападения на растение имеет возможность кооперации отдельных особей, которая реализуется с помощью агрегационных феромонов [Lindgren, Raffa, 2013]. Исследование феромонной коммуникации представляет интерес с точки зрения возможного использования искусственных аналогов химических аттрактантов для мониторинга численности насекомого-вредителя, выявления момента её нарастания, сдерживания и определения границ распространения [Brockerhoff et al., 2006].

Наибольшая эффективность от использования феромонов достижима при решении следующих проблем на исследовательском этапе: определение пола, ответственного за выработку феромона, выяснение характера действия (половой или агрегационный), установление периода и условий максимальной выработки адресантом и восприятия адресатом, качественное и количественное определение компонентного состава и выявление биохимических путей его синтеза.

Для определения этих условий может служить ольфактометр — устройство, позволяющее по реакции насекомого, находящегося на арене, определить наиболее привлекательный для него запах по факту выбора им одного из нескольких вариантов, подающихся на него равномерными потоками с разных сторон одновременно [Kerchey, Pousheva, 2016]. Использование данного устройства ограничивается лабораторными условиями из-за громоздкости и сложности конструкции. Альтернативным вариантом для полевых экспериментов могут послужить ловушки. Источником одоранта — летучего вещества, побуждающего насекомое двигаться в направлении ловушки, может являться запах живых насекомых, а именно: запах половых феромонов, например, ловушка с самками [Holbrook et al., 1960]; синтетических феромонов, или запаха погибающих растений [Mahagi, 1973; Byers, 2007]. Существующие на данный момент устройства ловушек (например, ловушка Линдгрена [Lindgren, 1983], состоящая из воронок), и прочие вариации пластиковых ловушек [Martikainen, 2001; Pet'ko et al., 2009] либо селективно действуют на целевой вид, но при этом требуется наличие эффективного аналога феромона для данного конкретного вида, либо массово привлекают помимо целевого объекта прочих консортов кормового растения, части или экстракты которого используются для привлечения.

Уссурийский полиграф *Polygraphus proximus* Blandf. — дальневосточный короед, ставший в результате инвазии новым агрессивным фитофагом пихты сибирской *Abies sibirica* Ledeb. [Krivets et al., 2015]. Определение и синтез эффективного аналога агрегационного феромона данного вида продиктовано острой необходимостью мониторинга его популяций, обусловленной высокой скоростью распространения, экономической и экологической

значимостью данного вредителя в его вторичном ареале. Первые испытания смесей аналогов аттрактивных веществ, ранее зарегистрированных для прочих представителей рода *Polygraphus* Er., не показали высокой привлекательности и селективности действия в отношении *P. proximus*, хотя позволили авторам, предположить, что основным компонентом агрегационного феромона является 2-метил-3-бутен-2-ол [Pet'ko et al., 2012]. Таким образом, остается ряд нерешённых вопросов относительно условий и путей выделения феромонов данным видом, а проведение феромонного мониторинга по-прежнему недоступно с имеющимися на данный момент конструкциями ловушек без наличия эффективного аттрактанта.

Целью исследования являлось создание альтернативной конструкции ловушки, позволяющей определить условия возникновения и восприятия насекомыми летучих химических соединений — продуктов биосинтеза, возникающих при питании фитофагом тканями растения-хозяина.

Материалы и методы

Устройство ловушки. Предложенная конструкция ловушки отличается от широко используемой пластиковой ловушки для отлова короедов [Pet'ko et al., 2012] устройством барьерной и привлекающей части. Барьерная часть вместо крестообразно соединённых пластиковых пластин состоит из ПВХ трубы (рис. 1, А), длиной 400 мм и диаметром 110 мм, закрытой с двух концов заглушками, по бокам которой прикреплены 4 барьерные лопасти 400 x 150 мм из прозрачного пластика (рис. 1, Б). В качестве источника одоранта в трубу помещены отрезки ствола пихты длиной 350 мм и диаметром 70 ± 10 мм, взятые с одного дерева. Все отрезки с торцевых сторон обработаны стеарином для предотвращения преждевременного высыхания. Одновременно с отрезком для его заселения в ловушку помещаются жуки *P. proximus*. Для распространения запаха феромонов, синтезирующихся при заселении отрезков короедами, в ПВХ-теле ловушки проделаны 8 отверстий диаметром 40 мм (рис. 1, В). Для предотвращения побега насекомых отверстия закрыты металлической сеткой с ячейкой 0,4 мм. Под телом ловушки крепится воронка из прозрачного пластика диаметром 300 мм (рис. 1, Г). Снизу к воронке прикреплён съёмный приёмник для насекомых — пластиковый стакан объёмом 500 мл (рис. 1, Д, Е). Исходящий из ловушки запах феромона привлекает жуков; в поле над ловушкой они ударяются о трубу или барьерные пластины и падают вниз через воронку в приёмный стакан.

Дизайн эксперимента. Для заселения отрезков в эксперименте использовались жуки, которые предварительно были разделены на группы самцов и самок и распределены по ловушкам в следующем соотношении: ловушка № 1 — 10 самцов и 10 самок,

№ 2 — 10 самцов, № 3 — 10 самок, № 4 — отрезок пихты сибирской без насекомых и № 5 — контрольная (без отрезка дерева и насекомых).

Эксперимент проводился в течение 27 дней, с 26 мая по 22 июня 2016 г. в лабораторном помещении ИМКЭС СО РАН. Длина помещения составляет 19,5 м, ширина — 8 м, высота 4 м. На длинной стороне находятся пять окон, создающих естественное освещение. Градиент освещённости в ясный день в 13:00 составляет 140, 590 и 3900 люкс. В слабо освещённой части комнаты в пяти картонных коробках была размещена кора пихты с перезимовавшими жуками уссурийского полиграфа (по 60 шт. в каждой коробке). В центральной части помещения параллельно окнам подвешивались ловушки на высоте 1,5 м и на расстоянии 2 м относительно друг друга, на пути пролёта жуков. Покидая коробки с корой, насекомые устремлялись в более освещённую часть комнаты. Отловленные жуки в испытаниях повторно не использовались. Ловушки экспонировались в одной повторности. Для исключения влияния на их уловистость посторонних факторов, ежедневно в 14 часов после проверки уловов производилась их ротация и проветривание помещения в течение 15 мин. Достоверность отличий в привлекательности предложенных вариантов запахов анализировалась с помощью Н-критерия, с последующим попарным сравнением, проведённым в Statistica 8. Сравнению подвергались результаты отлова, за исключением дней, в которых все варианты ловушек показали нулевые значения. Коррекция уровней значимости для множественных сравнений проводилась с применением FDR-контроля [Benjamini, Hochberg, 1995].

Результаты и обсуждение

Вылет жуков из коры и случаи их попадания в ловушки были зарегистрированы с первого дня эксперимента. В течение периода лёта жуков происходило снижение уловистости по всем ловушкам, что можно объяснить постепенным выловом и гибелью части жуков, вылетавших из коры. Однако плавного снижения частоты попадания насекомых в ловушки не наблюдалось, что, вероятно, связано с неоднородностью особей по готовности к вылету или неравномерным по времени продуцированием аттрактантов жуками, находящимися в ловушках. За время проведения эксперимента были установлены статистически достоверные отличия по уловистости между вариантами $H = 43,49$ ($N = 65$; $p = 0,000$). В ходе эксперимента установлена средняя суточная уловистость ловушек (рис. 2).

Наибольшую привлекательность показал вариант ловушки, в которую были помещены пары состоящие из самцов и самок, в неё попало более половины всех отловленных жуков (рис. 2). Данное наблюдение подтверждает наличие у *P. proximus*

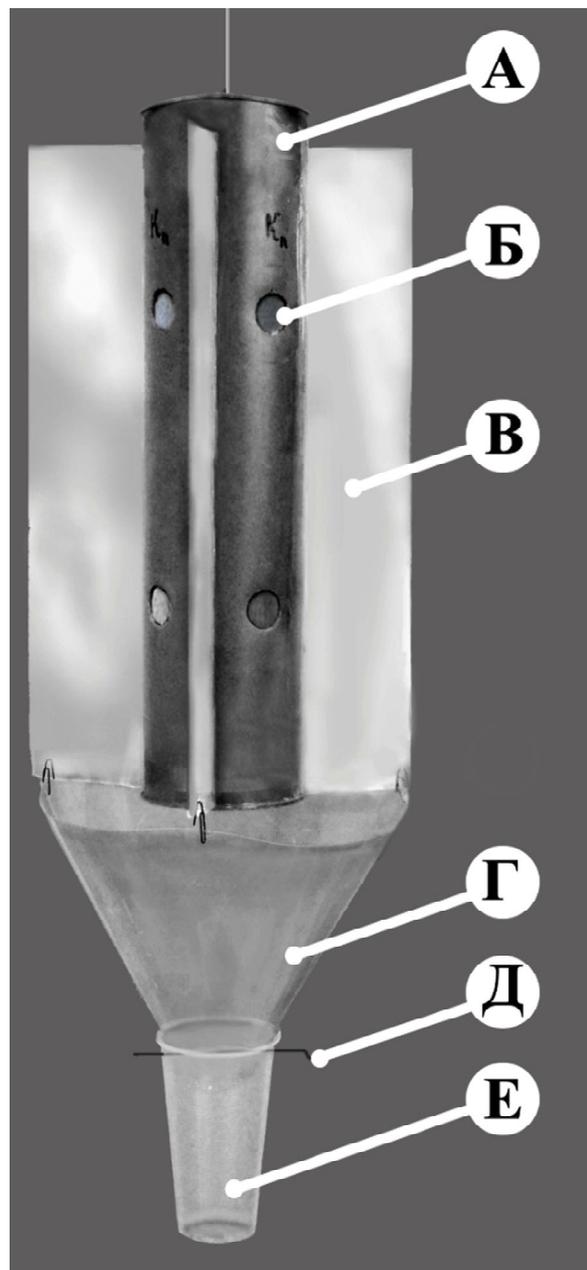


Рис. 1. Общий вид ольфактометрической ловушки для насекомых-стволовых дендрофагов: А — ПВХ-тело ловушки с отрезком ствола пихты внутри; Б — боковое отверстие, закрытое металлической сеткой для транспирации одорантов; В — боковая барьерная лопасть из прозрачного пластика; Г — пластиковая воронка; Д — проволочное крепление стакана-приёмника для насекомых; Е — пластиковый стакан-приёмник для насекомых.

Fig. 1. General view of the olfactometric trap for catching dendrophagous insects: А — PVC trap body with a fir log inside; Б — lateral opening closed by a metal mesh for transpiration of odors; В — transparent plastic barrier; Г — plastic funnel; Д — wire mount of cup-collector for insects; Е — plastic cup-collector for insects.

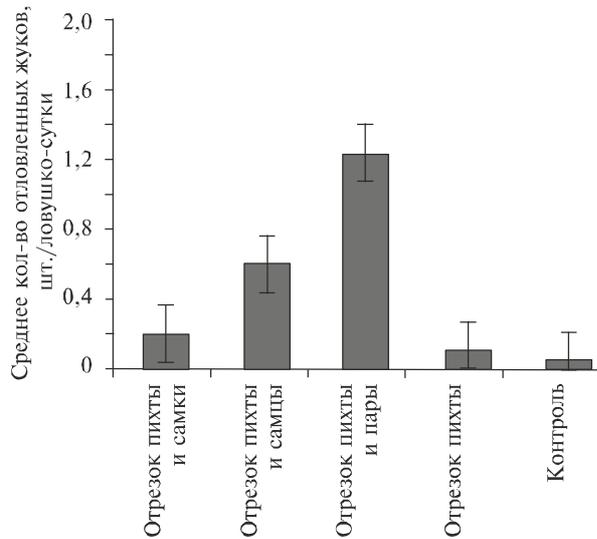


Рис. 2. Средние суточные уловы *Polygraphus proximus* в барьерные ловушки (mean ± SD).

Fig. 2. Average daily *Polygraphus proximus* catches in barrier traps (mean ± SD).

агрегационного феромона, позволяющего преодолеть активные защитные механизмы кормового объекта путём массового скопления жуков. Как показывают результаты ряда авторов [Sandstrom et al., 2006; Raffa et al., 2015], ферментативная переработка короёдами и их симбионтами (бактериями, грибами) компонентов тканей растения существенно снижает их токсичность, а некоторые возникающие в результате катаболических реакций спирты и кетоны могут использоваться насекомыми для коммуникации. Многие летучие химические соединения, возникающие в результате широко распространённых процессов биосинтеза, обнаруживаются зачастую у короёдов, принадлежащих к различным трибам, при этом вероятность перекрёстного привлечения видов снижается благодаря специфичности хеморецепторов к различным энантиомерам, их соотношениям и смесям [Raffa et al., 2015]. Наблюдения в природных условиях показали, что деревья пихты во вторичном ареале уссурийского поли-

графа заселяются почти исключительно этим видом короёдов, что значительно снижает вероятность попадания прочих консортов пихты при использовании ловушки в полевых экспериментах.

В ряде исследований ранее было показано, что образование пар у короёдов приводит к снижению синтеза аттрактантов, а в некоторых случаях даже провоцирует выработку репеллентов [Ryker, 1988; Yucui et al., 2016]. Однако в проведённой экспериментальной работе подобного явления не наблюдалось, и попадание насекомых в ловушку с самками было в два раза меньше, чем у пар, хотя при проведении подобного эксперимента на четырёхканальном ольфактометре запах отрезка, заселённого самками, был привлекательнее отрезка, заселённого парами [Kerchev, Pousheva, 2016]. Вероятно, подобные различия в результатах детерминированы дополнительными условиями, например, плотностью поселений жуков или качеством пищевого субстрата, и они требуют дополнительного изучения. Количество жуков, попавших в ловушку с отрезком пихты, заселённым исключительно самцами, было неотличимо от контрольного варианта (табл. 1), в котором находился отрезок пихты без насекомых.

При множественном сравнении уловов ловушек варианты запаха тканей растения заселённого только самками значимо не отличались по привлекательности от варианта с самцами (табл. 1). Тем не менее, выработка агрегационных феромонов самками уссурийского полиграфа подтверждается и полевыми наблюдениями текущего года в первичном ареале вредителя. В период начала вылета перезимовавших имаго *P. proximus* 8.06.2018 г. в Тамаринском районе Сахалинской области в лесном насаждении Красногорского заказника (48°29'22" с.ш., 142°1'5" в.д.) были собраны жуки, начавшие заселение буреломного дерева *Abies sahalinensis*. Среди собранных насекомых 55 успели погрузиться в кору дерева на 3/4 длины тела, и их окружала буровая мука. Менее чем в половине случаев ($n = 27$) рядом находился образовавшийся с ними пар и ещё не питавшийся тканями растения второй жук. Лабораторное микроскопирование собранных насекомых согласно их очередности расположения у входного

Таблица 1. Результаты множественного сравнения привлекательности между ловушками с разными вариантами одорантов

Table 1. Multiple comparisons of attractiveness between presented variants of odors

	Самцы	Самки	Пары	Отрезок	Контроль
Самцы		0,044106	0,000418	1,000000	1,000000
Самки	2,847198		1,000000	0,015866	0,003596
Пары	4,097061*	1,249863		0,000104	0,000015
Отрезок	0,311169	3,158367*	4,408230**		1,000000
Контроль	0,720875	3,568073*	4,817936**	0,409706	

Ниже диагонали: z-значения для сравниваемых пар вариантов, выше диагонали — значения p (** — $p > 0,005$, * — $p > 0,05$ с учетом FDR коррекции для множественных сравнений).

In the lower left corner z-values for comparing pairs; in the upper right corner p -values (** — $p > 0,005$, * — $p > 0,05$ with FDR correction for multiple comparisons).

отверстия показало, что пионерным полом, втачивающимся раньше, являются самки.

В экспериментальных условиях попадание нескольких жуков в вариант с отрезком пихты и в контрольную ловушку может быть объяснено наличием визуального сходства пластикового тела ловушки со стволом пихты. Ранее в экспериментальных условиях было установлено наличие положительного таксиса короедов на предметы, напоминающие по форме ствол дерева [Byers, 2007]. Можно предположить, что и для *P. proximus* при выборе кормового объекта зрительные стимулы также имеют определённое значение, вероятнее всего при посадке, хотя и меньшее, чем летучие вещества дерева.

Заключение

Предложенная конструкция ловушки благодаря простоте сборки и доступности материалов может использоваться для постановки масштабных полевых экспериментальных работ.

Универсальность данной конструкции ловушки позволяет рекомендовать её как для исследования различных условий феромонной коммуникации, так и для определения привлекательности для короедов различных метаболитов, выделяемых их ассоциантами при внесении в ткани растения.

В результате проведённого лабораторного эксперимента было подтверждено наличие агрегационного поведения уссурийского полиграфа, реализуемого посредством феромонной коммуникации.

Благодарности

Автор выражает благодарность М.С. Поушевой за помощь в проведении лабораторных испытаний ловушек. Исследование проведено при финансовой поддержке РФФИ гранты: № 17-04-01765; № 16-44-700782 p_a.

Литература

- Benjamini Y., Hochberg Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // *Journal of the Royal Statistical Society, Ser.B.* Vol.57. No.1. P.289–300.
- Biedermann P.H.W., Rohlf M. 2017. Evolutionary feedbacks between insect sociality and microbial management // *Current Opinion in Insect Science.* Vol.22. P.92–100.
- Brocknerhoff E.G., Jones D.C., Kimberley M.O., Suckling D.M., Donaldson T. 2006. Nationwide survey for invasive wood-boring and bark beetles (Coleoptera) using traps baited with pheromones and kairomones // *Forest Ecology and Management.* Vol.228. P.234–240.
- Byers J.A. 2007. Chapter 8. Chemical ecology of bark beetles in complex olfactory landscape // Lieutier F., Day K.R., Battisti A., Grégoirel.-C., Evans H.F. (Eds): *Bark and Wood*

- Boring Insects on Living Trees in Europe, a Synthesis.* Dordrecht: Springer. P.89–134.
- Holbrook R.F., Beroza M., Burgess E.D. 1960. Gypsy moth (*Porthetria dispar*) detection with the natural female sex lure // *Journal of Economic Entomology.* Vol.53. P.751.
- Kerchev I.A., Pousheva M.S. 2016. Olfactometric evidence for aggregation pheromone production by females of the four-eyed fir bark beetle *Polygraphus proximus* Blandf. (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) // *Entomological Review.* Vol.96. No.7. P.821–825.
- Krivets S.A., Kerchev I.A., Bisirova E.M., Demidko D.A., Pet'ko V.M., Baranchikov Yu.N. 2015. Distribution of four-eyed fir bark beetle *Polygraphus proximus* Blandf. (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) in Siberia // *Izvestia Sankt-Peterburgskoi Lesotekhnicheskoi Akademii.* Vol.211. P.33–45. [In Russian].
- Lindeman G.V. 1993. Relationship of insects — xylophages in leaved trees in dry conditions. Moskva: Nauka. 206 p. [In Russian].
- Lindgren B.S. 1983. A multiple funnel trap for scolytid beetles (Coleoptera) // *The Canadian Entomologist.* Vol.115. P.299–302.
- Lindgren B.S., Raffa K.F. 2013. The evolution of tree-killing by bark beetles: trade-offs between the maddening crowds and a sticky situation // *The Canadian Entomologist.* Vol.145. P.471–495.
- Mahari S. 1973. A new design of trap for collecting the palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* (L.) // *Ceylon coconut Plact. Rev.* Vol.7. No.1. P.5–7.
- Martikainen P. 2001. Non-target beetles (Coleoptera) in *Tripodendron* pheromone traps in Finland // *Journal of Pest Science.* Vol.74. P.150–154.
- Ohmart C.P. 1989. Why are there so few tree-killing bark beetles associated with angiosperms? // *Oikos.* Vol.54. No.2. P.242–245.
- Pet'ko V.M., Baranchikov Yu.N., Vendilo N.V., Pletnev V.A., Lebedeva K.V. 2012. Flight of four-eyed fir bark beetle on the artificial attractants in the fir forests of Krasnoyarsky kray // *Ecologicheskie i ekonomicheskie posledstviya invazii dendrofil'nykh nasekomykh. Materialy Vserossiskoi konferentsii, 2012, Krasnoyarsk.* Krasnoyarsk: Institut lesa SO RAN. P.82–84. [In Russian].
- Pet'ko V.M., Vendilo N.V., Lebedeva K.V., Kerchev I.A. 2009. Non-target insects species in bark beetles *Ips subelongatus* and *Ips sexdentatus* pheromone traps // *Izvestia Sankt-Peterburgskoi Lesotekhnicheskoi Akademii.* Vol.187. P.231–239. [In Russian].
- Petrov A.V., Dostavalov E.A. 2015. Change in aggressiveness of the bark beetles (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) associated with pathogenic microorganisms // *Izvestia Sankt-Peterburgskoi Lesotekhnicheskoi Akademii.* Vol.211. P.76–91. [In Russian].
- Raffa K.F., Gregoire G.-C., Lindgren B.S. 2015. Natural history and ecology of bark beetles // Vega F.E., Hofstetter R.W. (Eds.): *Bark beetles. Biology and ecology of native and invasive species.* Academic Press of Elsevier. Oxford. P.1–28.
- Ryker L.C. 1988. Acoustic studies of *Dendroctonus* bark beetles // *Florida Entomologist.* Vol.71. No.4. P.447–461.
- Sandstrom P., Welch W.H., Blomquist G.J., Tittiger C. 2006. Functional expression of a bark beetle cytochrome P450 that hydroxylates myrcene to ipsdienol // *Insect Biochemistry and Molecular Biology.* Vol.36. P.835–845.
- Yucui Z.L., Xu X.B., Raffa K.F., Sun J. 2016. Sound-triggered production of antiaggregation pheromone limits overcrowding of *Dendroctonus valens* attacking pine trees // *Chemical Senses.* Vol.42. No.1. P.59–67.