

УДК 638.2:[591.1+577.1]

© 2000 г. И. П. СУХАНОВА, В. Г. ШАХБАЗОВ, И. А. КИРИЧЕНКО

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА РАЗНЫХ ПОРОД И ГИБРИДОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ВЫКОРМОК**Введение**

Общие механизмы противoinфекционной резистентности у насекомых подразделяют на клеточные и гуморальные. Приоритетную роль играют первые из них, так как гуморальные факторы являются, в сущности, производными клеточных и вырабатываются различными видами клеток организма (Штейнхауз, 1949, 1952; Полтев и др., 1969; Глупов, 1992).

В последние годы в Институте шелководства УААН начато изучение процессов клеточного иммунитета тутового шелкопряда, в частности, фагоцитоза. Работы В. А. Головки и др. (1996), В. Г. Шахбазова и др. (1996), О. А. Шаламовой (1997) свидетельствуют о целесообразности проведения оценки фагоцитарной активности гемоцитов гусениц тутового шелкопряда для характеристики уровня его резистентности с одной стороны и о влиянии генетических факторов на способность клеток гемолимфы к фагоцитозу – с другой.

Изложенное определяет необходимость комплексного подхода при изучении клеточного иммунитета тутового шелкопряда. Это имеет особое значение для характеристики иммунологических процессов у насекомых, а также при определении возможности использования иммунологических методов с целью прогнозирования неспецифической устойчивости тутового шелкопряда.

Цель настоящих исследований – изучение фагоцитарной активности гемоцитов гусениц тутового шелкопряда, выкормленных на оптимальном и пессимальном фонах, а также роли генотипа в детерминации клеточных реакций организма шелкопряда.

Материалы и методы

Объектом исследований служили гусеницы тутового шелкопряда пород Укр.-1, Укр.-2, Мер.-6, Мер.-7 и их реципрокных гибридов Укр.-1×Укр.-2, Укр.-2×Укр.-1, Мер.-6×Мер.-7, Мер.-7×Мер.-6, выкармливаемые в оптимальных и пессимальных условиях, а также гемолимфа гусениц.

При изучении влияния оптимального фона содержания гусениц шелкопряда разных генотипов на фагоцитарную активность их гемоцитов гигротерморегим в выкормочном помещении, количество по кормок и качество корма соответствовали нормам, разработанным для тутового шелкопряда (Гершензон и др., 1959; Кириченко и др., 1991). На пессимальном фоне содержания гусениц температура и влажность воздуха в выкормочном помещении поддерживались ниже оптимальных на 5–6°C и 5–10%, соответственно. Также было сокращено количество по кормок на 50–70% в I–V возрастах гусениц.

При определении фагоцитарной активности гемоцитов отбор гемолимфы для исследований проводили на вторые сутки V возраста гусениц. Гемолимфу центрифугировали 10 минут при 1500 об./мин. К полученному осадку добавляли 0,1 мл взвеси *Staphylococcus aureus* (штамм № 209), содержащей 1 млрд. микробных клеток/мл. Пробирки с указанными компонентами выдерживали в термостате 30 минут при 25°C. Затем готовили мазки, которые окрашивали по методу Романовского-Гимза. Учитывали соотношение профагоцитировавших и непрофагоцитировавших гемоцитов на 100 зрелых дифференцированных клеток. В каждом варианте исследований использовали по 10 гусениц.

Наряду с этим, в период проведения выкормок учитывали жизнеспособность тутового шелкопряда разных пород и гибридов, согласно общепринятому методу (Злотин, 1989).

Результаты и обсуждение

В результате исследований установлено, что среди профагоцитировавших гемоцитов наибольшее количество принадлежит макро- и микронуклеоцитам (рис. 1). Особого внимания заслуживает динамика фагоцитарной активности макро- и микронуклеоцитов в зависимости от влияния генетических и экологических факторов. В большинстве случаев установлено достоверное ее преимущество у гибридов шелкопряда, что наиболее четко прослеживалось при его содержании

на пессимальном фоне. Так, например, в оптимальных условиях этот показатель для пород Укр.-1 и Укр.-2 составлял 8,2 и 10,9%, соответственно; для гибридов Укр.-1×Укр.-2 и обратного – 18,6 и 19,3%. В пессимальных – 4,5 и 6,7% – для пород и 14,3% – для обоих гибридов.

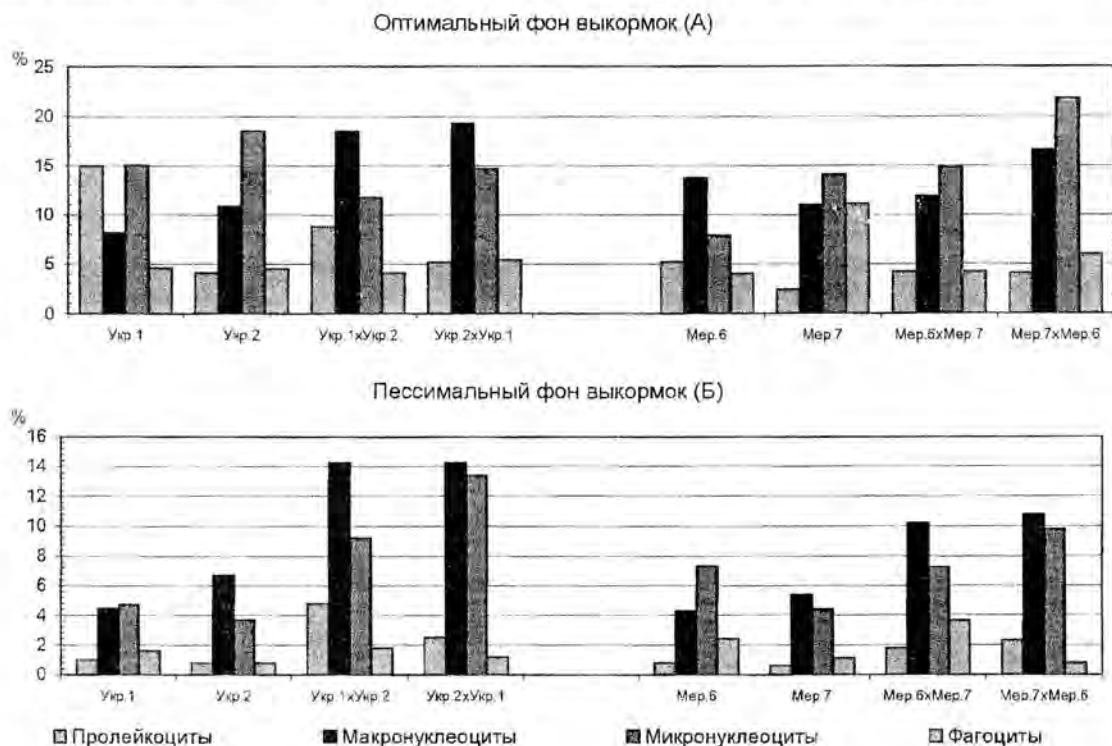


Рис. 1. Фагоцитарная активность отдельных типов гемоцитов гусениц тутового шелкопряда разных пород и гибридов на оптимальном (А) и пессимальном (Б) фоне выкармливания.

Наиболее ярким показателем, характеризующим влияние генотипа и среды на процессы клеточного иммунитета шелкопряда, оказалась суммарная фагоцитарная активность всех типов гемоцитов (суммарный фагоцитоз) (рис. 2). В ряде случаев установлены межпородные различия по этому показателю, и во всех вариантах исследования выявлено преимущество гибридов над исходными родительскими породами. Степень различий между породами и гибридами существенно возрастала на пессимальном фоне выкармливания шелкопряда, что обусловлено меньшими отклонениями гибридных показателей от оптимальных значений. Это следует объяснять повышенной способностью гетерозисных организмов к поддержанию гомеостаза (Шахбазов и др., 1990), в частности, иммунного. Так, например, показатели суммарного фагоцитоза на оптимальном фоне содержания гусениц для пород Укр.-1 и Укр.-2 равнялись 29,5 и 38,0%, для гибридов Укр.-1×Укр.-2 и Укр.-2×Укр.-1 – 46,0 и 44,6%; на пессимальном – 11,8 и 12,4% – для пород и 30,0 и 31,6% – для гибридов.

Установленные пород-гибридные различия по суммарной фагоцитарной активности гемоцитов гусениц свидетельствуют о наличии эффекта гетерозиса у гибридов по данному показателю (таблица), расчет которых проводили согласно следующей формулы:

$$EG = \frac{P_r}{P_{лп}} \times 100\%,$$

где: EG – эффект гетерозиса;

P_r – показатель гибрида;

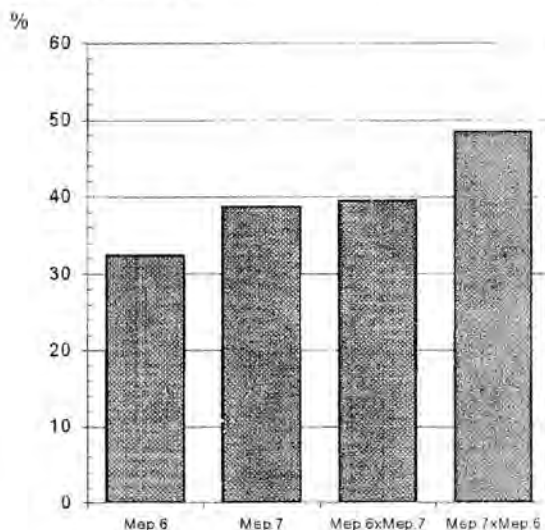
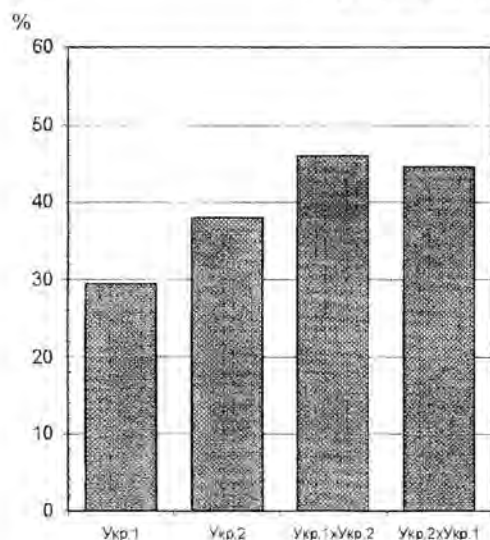
$P_{лп}$ – показатель лучшей родительской породы.

Значения эффектов гетерозиса в оптимальных условиях составляли 104,6–126,0%, в пессимальных – 145,7–254,8%.

Эффект гетерозиса у гибридов тутового шелкопряда по показателю суммарной фагоцитарной активности гемоцитов гусениц

Гибриды	Эффект гетерозиса, %	
	Оптимальный фон	Пессимальный фон
Укр.-1×Укр.-2	103,64	241,94
Укр.-2×Укр.-1	117,37	254,84
Мер.-6×Мер.-7	103,00	145,71
Мер.-7×Мер.-6	126,00	153,90

Оптимальный фон выкормок (А)



Пессимальный фон выкормок (Б)

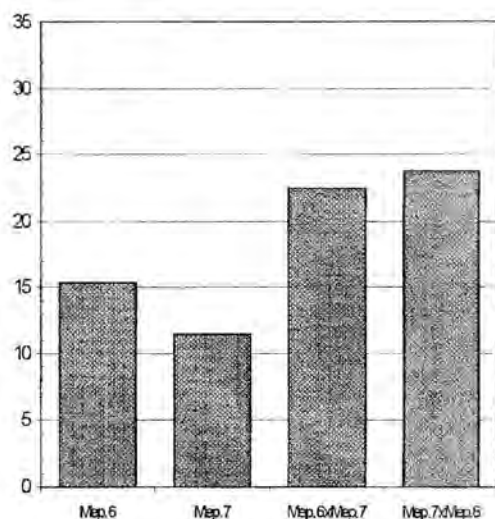
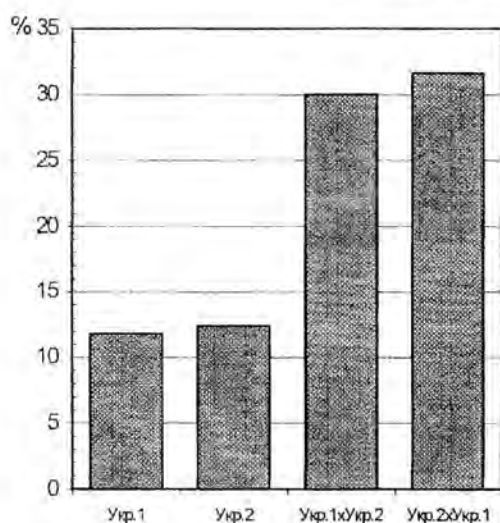


Рис. 2. Суммарная фагоцитарная активность гемоцитов гусениц тутового шелкопряда разных пород и гибридов на оптимальном (А) и пессимальном (Б) фоне выкормок.

При сравнении суммарного фагоцитоза и жизнеспособности тутового шелкопряда (рис. 3), как интегрального признака его неспецифической устойчивости, установлена их положительная взаимосвязь. Корреляционный анализ данных показателей выявил наличие положительной корреляции ($r=0,58$) между ними. Это свидетельствует о целесообразности применения метода учета фагоцитарной активности гемоцитов гусениц для прогнозирования неспецифической резистентности пород и гибридов тутового шелкопряда.

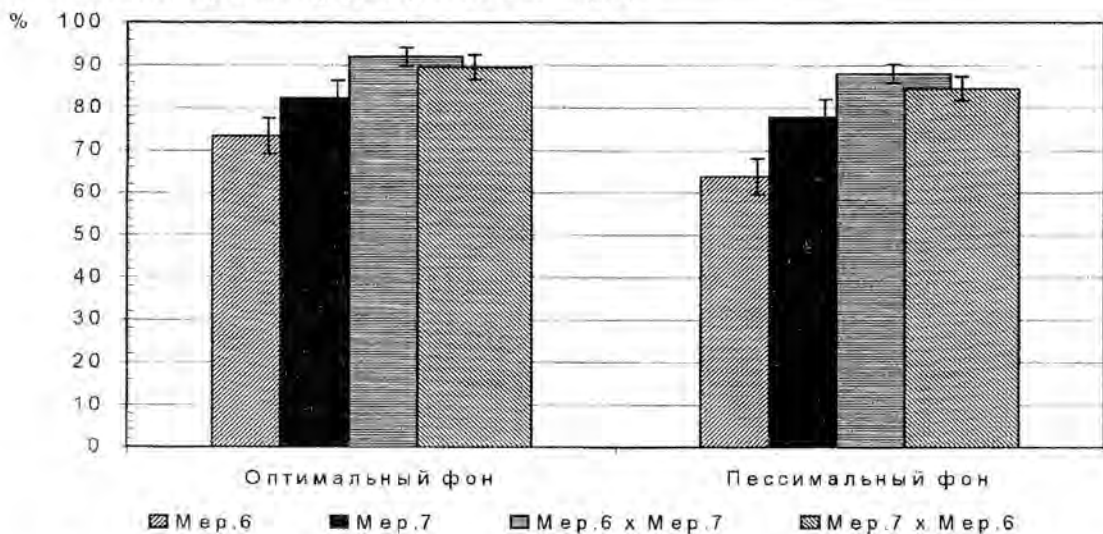


Рис. 3. Жизнеспособность тутового шелкопряда разных пород и гибридов в зависимости от условий выкармков гусениц.

Таким образом, способность клеток гемолимфы к фагоцитозу характеризует уровень неспецифической устойчивости шелкопряда разных генотипов в оптимальных и пессимальных условиях их содержания, а также служит мерой оценки эффекта гетерозиса у гибридов.

Выводы

1. Выявлено наличие эффекта гетерозиса у гибридов тутового шелкопряда по суммарной фагоцитарной активности гемоцитов гусениц.
2. При выкармке гусениц шелкопряда на пессимальном фоне возрастает степень различий между гибридами и породами по этому показателю.
3. Установлено наличие положительной корреляции между суммарной фагоцитарной активностью гемоцитов гусениц тутового шелкопряда разных генотипов и его жизнеспособностью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гершензон С. М., Михайлов Е. Н., Ковалев П. А. Экология и выкармка шелкопрядов. — М.: Сельхозгиз, 1959. — 315 с.
- Глугов В. В. Некоторые аспекты иммунитета насекомых // Успехи современной биологии. — 1992. — Т. 112, вып. 1. — С. 62–71.
- Злотин А. З. Техническая энтомология: Справочное пособие. — К.: Наукова думка, 1989. — 183 с.
- Микрофлора насекомых / В. И. Полтев, А. О. Гриценко, А. И. Егорова и др. — Новосибирск: Наука, 1969. — 515 с.
- Практичний посібник по шовківництву / І. О. Кириченко, Г. Д. Тарасов, Б. Ф. Пилипенко та ін. — К.: Урожай, 1991. — 140 с.
- Проблемы неспецифической устойчивости тутового шелкопряда / В. А. Головкин, Ю. Л. Волянский, В. Г. Шахбазов и др. — Х.: РИП «Оригинал», 1996. — 236 с.
- Шаламова О. О. Генетичні відміни порід і гібридів шовковичного шелкопряда в реакції на термічні впливи: Автореф. дис. ... канд. біол. наук / Харків. держ. ун-т. — Х., 1997. — 19 с.
- Шахбазов В. Г., Чешко В. Г., Шерешевская Ц. М. Механизмы гетерозиса: История и современное состояние проблемы. — Х.: Основа, 1990. — 120 с.

Шахбазов В. Г., Шаламова О. А., Суханов С. В. Неспецифическая устойчивость и фагоцитарная активность пород и гибридов тутового шелкопряда // Междунар. науч. конф. «Идеи И. И. Мечникова и развитие современного естествознания» (Секция: теоретические основы и реализация идей Луи Пастера и И. И. Мечникова в шелководстве), Харьков, 29 ноября 1995 г. – X., 1996. – С. 59–62.

Штейнхауз Э. Патология насекомых. – М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1949. – 766 с.

Штейнхауз Э. Патология насекомых. – М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1952. – 838 с.

Институт шелководства Украинской Академии Аграрных Наук

I. P. SUKHANOVA, V. G. SHAKHBAZOV, I. A. KIRICHENKO

GENETICAL DIFFERENCES IN CELLULAR IMMUNITY INDICES BETWEEN DIFFERENT RACES AND HYBRIDS OF THE SILKWORM (*BOMBYX MORI* L.) DEPENDING ON REARING CONDITIONS

Sericultural Institute, Ukrainian Academy of Agrarian Sciences

S U M M A R Y

Influence of optimum and pessimum rearing conditions for caterpillars of the silkworm of different genotypes on the phagocytic activity of their hemocytes has been studied. Predominance of hybrids over the basic parenteral races as regards both the indices of the cumulative phagocytic activity of all types of hemocytes and phagocytic activity of macronucleocytes has been revealed. The differences between the races and hybrids became significant under pessimum rearing conditions. Phagocytic activity of hemocytes has been found to characterize the level of non-specific resistance of different silkworm genotypes under optimum and pessimum rearing conditions, and also to serve as the heterosis effect indication.