

© 1999 г. Т. Ю. МАРКИНА

**ОПТИМИЗАЦИЯ КУЛЬТУРЫ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА (*OSNERIA DISPAR* L.)
ПО ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО
ВИТАМИННОГО МИКРО- МАКРОЭЛЕМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА**

Эффективность и преимущества энтомовирусных препаратов перед синтетическими инсектицидами, их высокая специфичность, глубокое поражение популяций насекомых, безвредность для компонентов биоценозов убедительно доказана в результате многолетних и всесторонних исследований в различных странах (Орловская, 1981; Мешкова, 1986; Morris, 1980; Payne, 1982).

При производстве вирусных препаратов с использованием насекомых для репродукции вирусов более 70% затрат связано с культивированием насекомых (для воспроизводства видов, для размножения вирусов и для оценки активности препаратов) (Орловская, 1988).

Промышленное производство вирусных препаратов предполагает использование стабильных культур насекомых, что связано с определенными трудностями культивирования.

В настоящее время разработаны способы группового выращивания гусениц непарного шелкопряда с целью культивирования в них вирусов (Колыганов и др., 1984; Монастырский, 1984). Однако при массовом выращивании насекомых на искусственных средах в ограниченном пространстве необходимо учитывать реакции насекомых на несвойственные им условия техноценоза, которые выражаются в ослаблении физиологического состояния особей и проявлении скрытых заболеваний (Злотин, 1981, 1986; Орловская, 1984). В этой связи возникает необходимость оптимизации культур насекомых с целью повышения их жизнеспособности и устойчивости к заболеваниям.

При практическом разведении насекомых с целью получения вирусной биомассы следует уделять внимание неспецифической или горизонтальной устойчивости насекомых к повреждающим воздействиям, проявляющейся в общем повышении резистентности в нестабильных экологических условиях.

Устойчивость насекомых к тому или иному воздействию биотической и абиотической природы оказывается сопряженной не только с действием других экологических факторов, но и с функционированием различных цито-физиологических систем самого организма (Проблемы ..., 1996).

Доказательства в пользу существования у насекомых единого механизма защитной реакции на стресс получены при исследовании онтогенеза. Об этом свидетельствуют появление задержки индивидуального развития, проявляющейся в увеличении числа линек в личиночном возрасте, что позволяет пережить неблагоприятные экологические условия, являясь очевидным адаптивным преимуществом (Раушенбах, 1990). Это вполне очевидная ответная реакция на экологический стресс, подтверждающая гипотезу В. П. Эфроимсона о существовании у насекомых единой эндокринно-регуляторной системы, детерминирующей, в частности, реакцию организма на стресс. Что не согласуется с утверждением о том, что приложение концепции стресса к животным не обладающим морфо-физиологической системой «гипоталамус-гипофиз-кора надпочечников» неоправданно.

Необходимо добавить, что действительная реакция на конкретные экстремальные воздействия каждый раз может иметь свои особенности и зависеть, как от характера воздействия, так и от стадии онтогенеза на которой имело место действие этого фактора (Проблемы ..., 1996).

Влияние каждого фактора на устойчивость организма может осуществляться двояким путем, либо непосредственно на формирование и функционирование различных систем организма, определяющих уровень резистентности, либо косвенно – через взаимодействие с экологическими факторами иной природы (качество и количество корма, активность патогенной микрофлоры и т. д.) (Злотин, 1989; Проблемы ..., 1996).

Так как наряду с собственно устойчивостью высокий уровень жизнеспособности может обеспечиваться за счет интенсивных процессов адаптации к действию экстремальных факторов

и патогенов, нам представляется возможным применение специально разработанного премикса – витаминного микро- макроэнергетического комплекса для повышения устойчивости культур насекомых, разводимых с целью получения вирусных препаратов.

Одним из основных биогенных экологических факторов непосредственно влияющим на культуры насекомых является количество и качество питания. Зависимость биологических показателей непарного шелкопряда от диеты неоднократно подтверждалась как в опытах с естественным пищевым субстратом (Злотин, 1965, 1966; Денисова, 1988; Celal Tuncer, 1995), так и при выращивании на искусственных диетах (Злотин, 1966; Ильиных, 1997; Дубко, 1995).

Из опытов проведенных с тутовым шелкопрядом, известно, что устойчивость гусениц выращиваемых на искусственной диете, к вирусу ядерного полиэдроза значительно ниже по сравнению с выкармливаемыми естественным кормом. Причем, величина этих различий положительно коррелирует с возрастом гусениц (Watanabe *et al.*, 1989).

Снижение устойчивости и сопротивляемости к вирусной и бактериальной инфекции культур насекомых различных видов при искусственном изменении пищевого субстрата можно считать общебиологической закономерностью (Bush, 1975).

Состав искусственных диет может оказывать существенное влияние на метаболизм насекомых. В этой связи предлагаются разнообразные способы оздоровления культур пораженных вирусом либо содержащих его в латентной стадии (Монастырский, 1983; Алиев, Мусаева, 1991).

Исходя из вышесказанного, по нашему мнению, добавление в искусственные диеты непарного шелкопряда премикса – сбалансированного витаминного микро- макроэлементного комплекса (экспериментальный образец) приведет к повышению устойчивости насекомых к заболеваниям за счет обеспечения оптимального проявления максимальной интенсивности метаболических и анаболических процессов стимулированных дополнительным количеством структурных, пластических, энергетических и биологически активных комплексов.

Инфекционные заболевания наносят ощутимый вред производству насекомых. Для их профилактики и лечения используются антибиотики, препараты растительного и животного происхождения. Однако все они со временем становятся менее эффективными вследствие возникновения и распространения устойчивости к ним форм возбудителей. Поэтому решение вопросов повышения устойчивости насекомых к болезням путем естественного стимулирования функций иммунной системы посредством введения в искусственную питательную среду (ИПС) сбалансированного комплекса витаминов, микро- и макроэлементов является актуальным.

Существование у насекомых системы иммунитета нередко подвергалось сомнению. Однако работы С. Н. Метальникова (цит. по: Проблемы ..., 1996) убедительно доказали, что:

1. У насекомых существует мощная система противомикробной защиты.
2. В тканях и органах насекомых присутствуют гуморальные агенты, обладающие антимикробным действием.
3. В гемолимфе насекомых имеются вещества, способные *in vitro* вызывать эффекты, осуществляемые у позвоночных с участием антител.
4. Насекомые обладают системой клеточных факторов противoinфекционной защиты, морфологической основой которой являются, прежде всего, различные типы циркулирующих в гемолимфе фагоцитов.
5. Противoinфекционная резистентность может быть искусственно повышена путем иммунизации насекомых микробными антигенами. Указанный эффект, однако, неспецифичен, может быть индуцирован неантигенными воздействиями, имеет, по-видимому, иной механизм, чем формирование приобретенного иммунитета у позвоночных.
6. Иммунитет у насекомых регулируется посредством нейроэндокринных механизмов, что сближает эти явления у позвоночных и беспозвоночных животных.

В этой связи наши предположения о положительном влиянии предложенного комплексного препарата на повышение устойчивости непарного шелкопряда к вирусу ядерного полиэдроза вполне оправданно.

В литературе имеются обширные данные, позволяющие судить о действии отдельных витаминов, микро- и макроэлементов на биологические показатели культур насекомых, в частности тутового и непарного шелкопрядов. Роль микроэлементов как стимуляторов ключевых биохимических процессов в настоящее время не вызывает сомнений, недостаточное поступление их в организм вызывает особую категорию патологических состояний – микроэлементозы, а добавление в виде подкормок со специальными препаратами служит профилактике различных заболеваний, оптимизирует метаболизм, стимулирует рост и развитие, повышает продуктивность и устойчивость организма (Мамедова, 1970; Алиев, Абдулгалимов, 1979; Ахметов, 1986; Ito, 1963).

Так, С. М. Гершензон (1959) использовал соединения цинка для повышения устойчивости гусениц тутового шелкопряда против ядерного полидроза. А. З. Злотин в качестве терапевтического агента применял при выращивании непарного шелкопряда марганцевокислый калий (Злотин, 1966).

Опыты Т. Я. Кучугуровой и Р. С. Гребещенко (1990) по использованию кобальта и меди в качестве биостимуляторов показали, что эти вещества повышают выживаемость гусениц и массу коконов шелкопряда.

Ф. Н. Мамедовой (1970) было установлено, что медь, бор и их смеси, положительно влияют на продуктивность, жизнеспособность, технологические свойства коконов, а также на накопление белков в теле гусениц, что особенно важно при реализации иммунного ответа.

Развитие насекомых невозможно без наличия в пище витаминных комплексов. Участие витаминов в метаболических процессах насекомых – неопровержимый факт. Их присутствие в корме не только повышает устойчивость насекомых к заболеваниям, но и улучшает усвояемость корма, что ведет к повышению продуктивности (Алимжанов и др., 1975; Мухина и др., 1997). В шелководческой практике применялся белково-витаминный комплекс (Билай и др., 1989), снизивший заболеваемость гусениц на 30,2%.

Таким образом, необходимость поиска новых биостимуляторов жизнеспособности культур насекомых особенно имеющих комплексный состав и характер действия очевидна.

В этой связи нами были проведены опыты по изучению действия экспериментального варианта премикса на биологические показатели лабораторной культуры непарного шелкопряда (*Ocneria dispar* L.).

Гусениц непарника выращивали в чашках Петри по 10 шт. при температуре $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 16-часовом световом дне.

В связи с тем, что у непарного шелкопряда существуют различия в пищевых потребностях у личинок старших и младших возрастов, состав искусственной питательной среды (ИПС), используемой нами при выращивании гусениц был следующим:

– для гусениц 1–3 возраста ИПС содержала – агар, кукурузную муку, зародыши пшеницы, кормовые дрожжи, аскорбиновую кислоту, метабен (метиловый эфир параоксисбензойной кислоты), этиловый спирт, тетравит, воду;

– для гусениц 4–5 возраста в ИПС дополнительно вводили фильтровальную бумагу, льняное семя.

Опыт включал два варианта:

1. Контрольный – выращивание гусениц на ИПС без добавки премикса (ИПС-1).

2. Выращивание гусениц непарного шелкопряда на ИПС с добавлением премикса (ИПС-2).

Премикс добавляли в ИПС из расчета 250 мг на 3 кг ИПС, начиная со вторых суток 3-его возраста гусениц. Оба варианта включали 20 повторностей по 10 гусениц в каждой. Учитывали: жизнеспособность (количество окуклившихся к исходному), %; среднюю массу куколки, мг (отдельно у самцов и самок); соотношение самцов и самок по куколкам, %; среднюю индивидуальную плодовитость самок, шт. Результаты занесены в таблицу 1.

Учет массы куколок проводили на четвертые сутки после окукливания, предварительно поделив по полу.

Инкубация куколок происходила при $23 \pm 1^\circ\text{C}$, относительной влажности воздуха 70–80% в эксикаторах в течение 10–16 суток до вылета имаго.

Таблица 1

Биологические показатели непарного шелкопряда в зависимости от состава ИПС

Вариант опыта	Жизнеспособность, %	Индивидуальная плодовитость, шт.	Масса куколок, г		Соотношение полов, %	
			самцы	самки	самцы	самки
ИПС-1 (контроль)	$75 \pm 2,38$	384 ± 25	$368 \pm 1,14$	$975 \pm 3,32$	51,37	48,63
ИПС-2 (с добавлением премикса)	$90 \pm 2,2$	378 ± 31	$365 \pm 1,35$	$971 \pm 3,48$	48,92	52,08

Полученные результаты показали, что наше предположение о возможности оптимизации культуры непарного шелкопряда по жизнеспособности путем введения в ИПС премикса достоверно ($P < 0,001$) подтвердилось. Необходимо отметить, что видимых различий в сроках развития по возрастам в вариантах не наблюдалось.

Для сравнительного изучения устойчивости гусениц непарного шелкопряда к вирусу ядерного полиэдроза в зависимости от состава ИПС было проведено 2 варианта опытов с целью выделения вирусной биомассы.

В первом варианте выделение вируса осуществлялось из гусениц, выращенных на ИПС без добавки премикса (ИПС-1, контроль).

Во втором варианте вирус был получен из гусениц, выращенных на ИПС с добавлением премикса (ИПС-2).

Премикс вводили в ИПС со вторых суток 3-его возраста гусениц (концентрация премикса указана в предыдущем опыте).

Заражение гусениц непарного шелкопряда производили на третьи сутки 4-го возраста стандартной дозой вируса, необходимой для гибели 100% гусениц, путем добавления в ИПС (контрольную и с добавлением премикса). Зараженная ИПС предлагалась гусеницам в течении 10 суток, по истечении которых кормление продолжалось неинфицированной средой двух вышеуказанных видов.

Полиэдры из пораженных гусениц выделяли при помощи дифференциального центрифугирования. Титр вирусной суспензии определяли в камере счисления Горяева, по стандартной методике. Рассчитывали накопление вирусных включений (полиэдров) в одной гусенице. Результаты эксперимента представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Накопление полиэдров в гусеницах непарного шелкопряда
в зависимости от состава ИПС**

Вариант опыта	Исходное количество гусениц, шт.	Накопление вируса в 1 гусенице, млн.
ИПС-1	200	298 полиэдров
ИПС-2	200	199 полиэдров

Опыт наглядно показал, что введение в состав ИПС энергетического витаминного микро-макроэлементного комплекса отрицательно сказывается на накоплении вирусной биомассы.

Таким образом, испытанный нами экспериментальный вариант премикса является мощным иммуностимулятором, повышающим жизнеспособность гусениц и их устойчивость к вирусным инфекциям.

По нашему мнению, его применение для оптимизации лабораторных культур непарного шелкопряда вполне целесообразно.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алиев А. Г., Абдулгалимов Н. А. Добавка биологически активных веществ в корм шелкопряду // Шелк. – Ташкент, 1979. – № 4. – С. 14.
- Алиев А. Г., Мусаева М. Р. Новые способы повышения устойчивости гибридов тутового шелкопряда к ядерному полиэдрозу // Докл. ВАСХНИЛ. – М., 1991. – № 12. – С. 35–37.
- Алимжанов Р. А., Таиров З. Т., Халматов И. Х. Продуктивность тутового шелкопряда и пути её повышения // Шелк. – Ташкент, 1975. – № 3. – С. 15.
- Аретинская Т. Б., Булавина О. И. Использование лечебных и профилактических средств с целью повышения выживаемости и продуктивности тутового шелкопряда // Шелководство. – К.: Урожай, 1986. – № 16. – С. 40–44.
- Ахметов Н.А. Изучение влияния биостимуляторов на биологические показатели тутового шелкопряда // Науч. тр. Ташкентского с.-х. ин-та. – 1986. – № 112. – С. 41–45.
- Билай Т. И., Шабунина Т. И., Аретинская Т. Б. Применение белково-витаминного препарата в шелководстве // Всес. конф. «Микроорганизмы – стимуляторы и ингибиторы роста растений и животных» (Ташкент, 3–5 окт. 1989): Тез. докл. – Ташкент, 1989. – Ч. 1. – С. 26.
- Вшивкова Т. А. Характеристика развития гусениц непарного шелкопряда // Непарный шелкопряд: итоги и перспективы исследований: Материалы по проекту 2 Сов. нац. программы «Человек и биосфера» (МАН). – Красноярск, 1988. – С. 8–9.
- Гершензон С. М., Ковалев П. А. Экология и выкормка шелкопряда. – М.: Сельхозгиз, 1959. – 315 с.
- Денисова С. И. Роменко Т. М. Реакция непарного шелкопряда на физиологическое состояние кормового растения в условиях Белоруссии // Непарный шелкопряд: итоги и перспективы исследований. Материалы по проекту 2-ой Сов. нац. программы «Человек и биосфера» (МАН). – Красноярск, 1988. – С. 10–11.

- Злотин А. З. Влияние плотности популяции и химической обработки корма на развитие *Ocneria dispar* L. при лабораторном разведении // Зоол. журн. – 1965. – Вып. 44., № 12. – С. 1809–1812.
- Злотин А. З. Экспериментальное обоснование методики круглогодичного развития непарного шелкопряда (*Ocneria dispar* L.) и рекомендации при использовании в прикладной энтомологии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Харьков, 1966. – 22 с.
- Злотин А. З. Теоретическое обоснование массового развития насекомых // Энтотомол. обзор. – 1981. – Т. 60, № 3. – С. 494–510.
- Злотин А. З. Теоретические основы создания культур насекомых // Тез. докл. I Всесоюзн. совещ. по проблемам зоокультуры. – М., 1986. – Ч. 1. – С. 39–42.
- Колыганов Ю. Д., Самойленко Л. Д., Думанова О. Д. Освоение технологии производства препаратов ВИРИН-ЭНШ, ВИРИН-ЭКС и ВИРИН-АББ // Итоги и перспективы использования и применения вирусных препаратов в сельском и лесном хоз-ве: темат. сб. – М., 1984. – С. 15–18.
- Кучугурова Т. Я., Гребещенко Р. С. Влияние биостимуляторов на продуктивность тутового шелкопряда // Шелк. – Ташкент, 1990. – № 1. – С. 16–17.
- Мамедова Ф. Н. Влияние меди, бора и их смеси на накопление белков в теле гусеницы и технологические свойства коконов тутового шелкопряда // Шелк. – 1970. – № 2. – С. 27.
- Мешкова В. Л. Использование патогенов как агентов биологической борьбы с вредными насекомыми: Обзорн. информ. 1-М. – ЦБНТИ Гослесхоза СССР, 1986. – 36 с.
- Монастырская А. Л. Способы массового разведения капустной совки (*Mamesta brassicae*) для получения вирусного препарата ВИРИН-ЭКС // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 1983. – 14 с.
- Монастырский А. Л., Орловская Е. В., Масюк Ю. А. Методы получения и поддержания культур насекомых для получения и поддержания культур насекомых для производства вирусных препаратов // Итоги и перспективы использования и применения вирусных препаратов в сельском и лесном хоз-ве: темат. сб. – М., 1984. – С. 32–38.
- Мухина О. Ю., Злотин А. З., Головкин В. А. Биологические основы применения биостимуляторов при культивировании насекомых. – Харьков: РИП «Оригинал», 1997. – 84 с.
- Орловская Е. В. Перспективы производства вирусного препарата ВИРИН-ЭНШ для борьбы с непарным шелкопрядом // Матер. по проекту 2-ой Сов. нац. программы «Человек и биосфера» (МАБ). Непарный шелкопряд: итоги и перспективы исследований. – Красноярск, 1988. – С. 40–41.
- Орловская Е. В., Шумова Т. А. Вирусные препараты для борьбы с насекомыми-вредителями сельского и лесного хозяйства (обзор). – М., 1980. – 64 с.
- Проблемы неспецифической устойчивости тутового шелкопряда / В. А. Головкин, Ю. Л. Волянский, В. Г. Шахбазов и др. – Х., РИП «Оригинал», 1996. – 236 с.
- Раушенбах И. Ю. Нейроэндокринная регуляция развития насекомых в условиях стресса: Генетико-селекционные аспекты. – Новосибирск: Наука (Сиб. отд.), 1990. – 159 с.
- Bush G. H. Genetic variation in natural insect populations and its bearing on mass rearing programmes // Controlling fruit flies. Sterile Insect technique. Vienna: Int. Atom. Energy Agency. – 1975. – P. 9–17.
- Hamano K., Okano T. Effect of dietary levels of protein and pyridoxine on growth of younger larvae of the silkworm, *Bombyx mori* // J. Seric. Sci. Japan. – 1989. – V. 53, № 3. – P. 203–208.
- Ho T. Nutritional requirements of the silkworm, *Bombyx mori* // Japan. Acad. – 1963. – V. 43, № 1. – P. 11–13.
- Morris O. N. Entomopathogenic viruses: strategies for use in forest insect pest management. – Canad. Entomol. – 1980. – V. 112, № 6. – P. 573–584.
- Payne C. C. Insect viruses as control agents // Parasitology. – 1982. – V. 84, № 4. – P. 35–77.
- Tuncer Celal, Erzen Ramazan. Влияние некоторых кормовых растений на развитие *Lymantria dispar* // Turk. entomol. derg. – 1995. – V. 19, № 1. – P. 17–25.
- Watanabe H., Wang Y. X., Nagata M. Сравнительная чувствительность к вирусу ядерного полиэдроза у линий *Bombyx mori*, разводимых на листьях шелковицы и искусственных диетах // J. Seric. Sci. Jpn. – 1989. – V. 58, № 5. – P. 407–411.

Харьковский государственный педагогический университет

T. Yu. MARKINA

**VITALITY OPTIMIZATION OF THE GYPSY MOTH (OCNERIA DISPAR L.) CULTURE
BY USING THE COMPLEX THAT INCLUDES ENERGETIC COMPONENTS,
MICRO-, MACROELEMENTS AND VITAMINS**

Kharkov State Pedagogical University

S U M M A R Y

The investigation shows possibilities of optimizing the laboratory culture of the Gypsy moth to increase its resistance to virus infection by means of using a preparation that includes a vitamin, micro- and macro elements complex.