

1993, том I, вып. I

УДК 591.113:595.768.12

(с) 1993г. В. И. ВОИНАРОВСКАЯ

ГЕМОЛИМФА КАК ИНДИКАТОР ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ
КОЛОРАДСКОГО ЖУКА

Основным методом борьбы с колорадским жуком является химический метод. Постоянно проводится поиск новых инсектицидов для борьбы с этим вредителем. Одним из наиболее доступных способов определения эффективности новых препаратов является гематологический метод.

По данным ряда исследователей (Сикюра, 1966; Лаппа, 1967; Калпага, 1972; Дегтярев, 1972), в гемолимфе насекомых можно выделить семь типов гемоцитов: пролейкоциты, макроукулециты, микроукулециты, эозинофилы, эноциты, фагоциты и мертвые клетки. Все типы гемоцитов находятся в определенном процентном соотношении. Многочисленными исследованиями (Ларченко и др., 1973; Войтенко, 1986 и др.) установлено, что любые, даже незначительные нарушения обмена веществ в тканях и клетках насекомых приводят к изменениям в их гемолимфе.

Нами сделана попытка использования гематологического анализа для определения эффективности биологических и химических препаратов при их применении для борьбы с колорадским жуком.

Гемолимфу получали путем укола насекомого в области груди. Количество гемоцитов в одном кубическом миллиметре определяли по методике А. А. Крылова и др. (1981) путем подсчета их в счетной камере Горяева. Анализ биохимических показателей гемо-

лимфы проводили по методике Е. А. Строева и Б. Г. Макарова (1986). Для определения содержания сахара использовали ортотолуидиновый метод. Общий белок в гемолимфе определяли биуретовым методом. Экстинцию измеряли на ФЭКе в кювете толщиной 5 мм; длина волны 540-560 нм (светофильтр зеленый). Содержание белка находили по калибровочной кривой, г/л. Для анализа морфологических особенностей клеток гемолимфы делали мазок, фиксировали его в краске Май-Грюнвальда и окрашивали в краске Гимзы-Романовского. Из биопрепаратов испытывали битоксибацилин, из химических - децис, 2,5% к.э. с нормами расхода 0,1, 0,2, 0,3 л/га. Опыт закладывали в четырехкратной повторности, по 20 личинок в каждой. Изменения в гемолимфе фиксировали в первый день через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 часов, а затем через 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20 суток. Статистическую обработку проводили методом дисперсионного анализа по стандартной программе.

В гемолимфе колорадского жука обнаружено шесть типов гемоцитов: пролейкоциты, макронуклециты, микронуклециты, эозинофилы, эритроиды, фагоциты, мертвые клетки. Для каждой стадии развития характерно определенное процентное соотношение типов гемоцитов (табл. 1).

Общее количество гемоцитов, их процентное соотношение, количество сахара и общего белка в гемолимфе различно на разных стадиях развития колорадского жука. Для перезимовавших насекомых характерно пониженное содержание гемоцитов (19750 в 1 кубическом миллиметре), сахара (2 ммоль/л) и общего белка (14,9 г/л). В гемолимфе жуков, питавшихся листьями картофеля, количество гемоцитов составляло 25700 в 1 кубическом миллиметре, сахара - 5,31 ммоль/л, общего белка - 65,37 г/л. Гемолимфа личинок по этим показателям незначительно отличается от гемолимфы имаго.

Соотношение (%) гемоцитов в гемолимфе колорадского жука на разных стадиях его развития при питании картофелем

Типы гемоцитов	Личинки		Куколки	Имаго
	I-III воз- растов	III-IV воз- растов		
Пролейкоциты	5,6	3,7	2,2	2,4
Макронуклеоциты	17,7	14,0	21,3	3,6
Микронуклеоциты	21,6	31,6	52,4	5,8
Эозинофилы	0,1	0,1	0,2	0,2
Эноцитойды	4,2	1,3	2,4	1,7
Фагоциты	43,4	45,0	15,2	81,4
Мертвые клетки	7,4	4,3	6,3	4,9

Битоксибациллин вызывает незначительные изменения в соотношении типов гемоцитов и их структуре. Так, на третий день после обработки, несколько уменьшается количество микронуклеоцитов и эноцитойдов, а число фагоцитов и мертвых клеток увеличивается. Количество других типов гемоцитов почти не изменяется. На пятый день - незначительно снижается количество пролейкоцитов и макронуклеоцитов. Под действием битоксибациллина нарушается структура гемоцитов: клетки деформируются, протоплазма образует выпячивания различной конфигурации.

Более глубокие изменения в гемолимфе колорадского жука вызывает децис (табл. 2,3).

Содержание гемоцитов, общего белка и сахара в гемодимфе личинок колорадского жука

Вариант опыта	Количество гемоцитов после обработки		Через 6 часов		На 2-й день	
			сахар, ммоль/л	белок, г/л	сахар, ммоль/л	белок, г/л
	через 6 часов	на 2-й день				
Контроль	29250	28180	8,10	53,19	7,42	54,73
Децис (0,1л/га)	36500	22590	8,10	48,12	3,10	35,98
Децис (0,2л/га)	44250	21740	7,63	44,09	1,45	10,61
Децис (0,3л/га)	74000	23450	7,40	33,43	1,34	10,13

НСР 05- 14,6

Как видно из приведенных данных, обработка децисом уже через 6 часов вызывает увеличение количества гемоцитов, однако, на второй день их количество резко снижается. Через 12 часов после обработки почти в четыре раза снижается количество пролейкоцитов, в два раза - макроноуклеоцитов. Число фагоцитов и мертвых клеток резко увеличивается. Кроме того, происходит изменение структуры гемоцитов, проявляющееся в деформации клеток, децентрализации ядер, патологической вакуолизации протоплазмы пролейкоцитов и макроноуклеоцитов.

Соотношение (%) гемоцитов в гемолимфе колорадского жука после питания листьями картофеля, обработанными децисом

Вариант опыта	Пролейкоциты	Макронуклеоциты	Микронуклеоциты	Эноциты	Фагоциты	Мертвые клетки
Через 12 часов						
Контроль	4,2±0,8	13,8±1,9	30,6±2,7	1,2±0,8	45,8±2,4	4,4±1,6
Децис-						
0,3л/га	1,0±0,4	5,4±0,9	20,8±2,0	1,0±0,9	44,0±7,0	27,8±4,0
Децис-						
0,2л/га	1,6±1,0	6,8±1,5	15,8±4,0	0	59,0±4,0	17,0±4,0
Децис-						
0,1л/га	3,4±0,1	6,6±2,0	20,2±3,0	0,2±0,1	55,8±5,0	16,6±2,0
Через 24 часа						
Контроль	3,2±1,0	13,2±2,3	28,8±2,8	1,6±0,5	46,8±7,0	6,0±1,0
Децис-						
0,3л/га	1,0±0,1	4,0±1,9	13,6±0,5	0,8±0,2	47,0±7,0	31,8±2,4
Децис-						
0,2л/га	1,4±1,0	4,6±3,0	16,2±1,0	0,4±0,2	53,4±6,0	26,2±3,0
Децис-						
0,1л/га	3,3±0,1	7,2±2,0	24,2±0,1	1,2±0,1	36,8±4,0	27,2±2,0

Количество сахара через шесть часов почти не изменяется, белка - уменьшается почти в два раза. На второй день после применения дециса во всех вариантах резко снижается количество сахара и общего белка.

Таким образом, как показывают полученные нами данные, гемолимфа колорадского жука чутко реагирует на воздействие биологических и химических препаратов и гематологический метод

может быть рекомендован для сравнительного определения токсичности различных препаратов.

Список литературы

Войтенко Н. Н. Действие инсектицидов на соотношение форменных элементов гемолимфы кольчатого шелкопряда (*Malacosoma neustria*) // Исследования в животноводстве. - Киев, 1986. - С. 15-21.

Дегтярев А. Г. Результаты предварительных исследований гемолимфы яблонной моли // Тр. ХСХИ. - 1972. - Т. 172. - С. 38-72.

Калюга М. В. Методические указания по изучению гемолимфы насекомых. - Л.; Пушкин, 1972. - 17 с.

Крылов А. А. и др. Руководство для лаборантов клинико-диагностических лабораторий. - Л.: Медицина, 1981. - С. 29-47.

Лыпа Н. В. Гемолимфа златогузки *Euproctis chrysorrhoea* и патологические изменения в ней под влиянием энтомопатогенных бактерий // Защита растений: респ. межвед. темат. научн. сб. - К. 1967. - Вып. 4. - С. 60-67.

Ларченко К. И. Особенности размножения и развития колорадского жука и их связь с условиями питания // Колорадский жук и меры борьбы с ним. - М., 1973. - С. 36-42.

Сикюра Л. В. Гематологическая характеристика зимующих жуков // Экология и физиология диапаузы колорадского жука. - М., 1966. - 65 с.

Строев Е. А., Макаров В. Г. Биохимические исследования крови. - Л.: Медицина, 1986.

Харьковский государственный
аграрный университет

V. I. VOYNAROVSKAYA

GEMOLYMPHA OF THE COLORADO BEETLE AS AN INDICATOR OF THE
DETERMINATION OF THE VITAL FORCE

S u m m a r y

Gemolymph of the Colorado beetle contains 6 types of geometers, such as: prolecyocytes, macronucleocytes, micronucleocytes, eosinophiles, entocitoides, phagocytes. There is it's corresponding correlation for every stage of metamorphose of pest.