

УДК 619-9:591-85]:595-787+591-526

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА И ПРОГНОЗ ЕГО ЧИСЛЕННОСТИ

Л. М. Зелинская

(Черноморский государственный заповедник АН УССР)

Прогноз размножения непарного шелкопряда не может быть правильно поставлен без учета его заболеваний, являющихся значительным регулятором численности вредителя.

Одним из методов ранней диагностики заболеваний насекомых является исследование гемолимфы. Каждому заболеванию соответствует специфическая картина гемолимфы, так как организм насекомых по-разному реагирует на ту или иную инфекцию.

Состав форменных элементов гемолимфы непарного шелкопряда у здоровых гусениц II—VI возрастов, у гусениц, зараженных энтомофагами, а также у гусениц, обработанных суспензией спор белой мюскардины выяснила в Башкирии З. Ш. Яфаева (1962).

Мы изучали патологические изменения гемолимфы непарного шелкопряда, произошедшие в результате заражения его вирусом полиэдриии или микроспоридиями (*Plistophora schubergi*). Гематологические исследования непарного шелкопряда произведены в лесонасаждениях Херсонской области в 1962—1965 гг. Это были годы максимального ослабления предыдущей вспышки массового размножения шелкопряда и начала нового нарастания его численности.

В соответствии с методикой, разработанной М. И. Сиротиной (1949, 1951), гемолимфу у гусениц брали уколом стерильной иглы в ложноножку. Выступившую каплю наносили на предметное стекло и размазывали тонким слоем при помощи покровного стекла. У куколок укол производили в крыловую часть, а у бабочек лимфу выдавливали из оторванного бедра ноги. Полученные мазки 10—20 минут фиксировали спиртом-ректификатом и окрашивали по Романовскому—Гимза в течение 25—30 минут. Гусениц после взятия у них гемолимфы помещали индивидуально в стаканы. Им ежедневно меняли корм, регистрировали их состояние, фиксировали дату гибели гусениц или выхода паразита, дату окукливания и вылета бабочки. Из тканей погибших насекомых изготавливали мазки для исследования. У куколок и бабочек, полученных из подопытных гусениц, также брали гемолимфу для мазков. После откладки бабочками яиц исследовали содержимое их брюшной полости с целью выявления спор микроспоридий.

Всего за три года было изготовлено и проанализировано 617 мазков гемолимфы, взятой у гусениц II—VI возрастов, 267 мазков, взятых у куколок, и 285 — у бабочек. Мазки просматривались под микроскопом (ок. 7, обл. 90).

При дальнейшем изложении материала мы будем называть клетки гемолимфы терминами, употребляемыми в работах М. И. Сиротиной (1949, 1965), З. Ш. Яфаевой (1962).

ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМОЛИМФЫ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА ПРИ ПОЛИЭДРИИ

При просмотре под микроскопом мазков гемолимфы, окрашенных по Романовскому—Гимза, обнаружены патологические изменения клеток, в основных чертах совпадающие с таковыми у дубового шелкопряда при желтухе (Сиротина, 1951). Самые ранние изменения гемолимфы у заболевших гусениц выражались в резком уменьшении количества микронуклеоцитов и в увеличении количества молодых клеток — пролейкоцитов и макронуклеоцитов (табл. 1, рис. 1). Протоплазма некоторых клеток становится густой, темно-синей, зерна в ядрах набухают и приобретают красноватый оттенок. Нередко в протоплазме молодых клеток имеются светлые вакуольки, резко выделяющиеся на ее темном фоне; патологическая вакуолизация наблюдается иногда и в ядре. Иногда протоплазма макро- и микронуклеоцитов почкуется или образует выступы. Размер многих макронуклеоцитов увеличивается в 1,5—2 раза по сравнению с нормальными клетками. Фагоциты принимают активную веретеновидную форму. Увеличивается количество мертвых клеток. У части микронуклеоцитов протоплазма густая, без вакуолей. Появление этих «голодных» клеток, по-видимому, вызвано истощением организма вирусом.

Мы не наблюдали заметного увеличения количества эноцитоидов при полиэдриии, как это обнаружила у дубового шелкопряда Сиротина (1949) и у непарного шелкопряда Тимофеева (1952). Максимальное количество эноцитоидов не превышало 10%, причем большая их часть была отмирающими клетками со светлой протоплазмой и разбухшими красными зернами в ядре, сливающимися в общую массу.

При полиэдриии куколок и бабочек изменения гемолимфы такие же, как и у гусениц. Уменьшается количество трофических клеток, зернистые шары мельчают, из их протоплазмы исчезают гранулы с питательными веществами. У отдельных микронуклеоцитов ядро сдвигается к периферии или же хроматин ядра рассеивается в протоплазме (рис. 2, 3). В значительном количестве появляются макронуклеоциты и активные веретеновидные фагоциты. У некоторых макронуклеоцитов наблюдается почкование протоплазмы, ее базофилизация, покраснение и набухание зерен в ядрах. Основная же масса макронуклеоцитов имеет светлую, сильно вакуолизированную протоплазму.

ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМОЛИМФЫ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА ПРИ МИКРОСПОРИДИОЗЕ

При слабом поражении микроспоридиями гусениц непарного шелкопряда мы наблюдали, что количественное соотношение форменных элементов их гемолимфы было близким к норме (табл. 2). О наличии

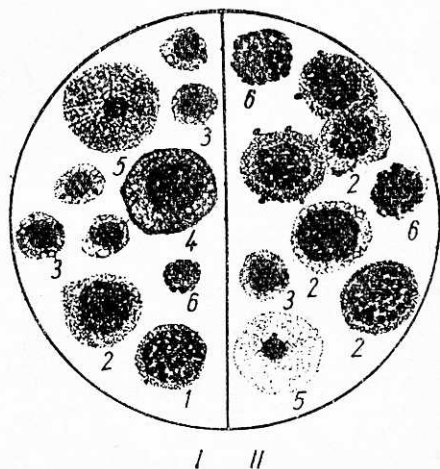


Рис. 1. Клетки гемолимфы здоровой (I) и больной полиэдрией (II) гусениц непарного шелкопряда:

1 — пролейкоцит; 2 — макронуклеоциты; 3 — микронуклеоциты; 4 — клетка неизвестного происхождения; 5 — эноцитоиды; 6 — мертвые клетки.

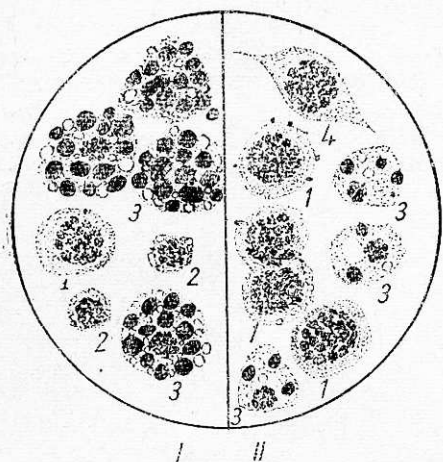


Рис. 2. Клетки гемолимфы здоровой (I) и больной полиэдрией (II) куколки непарного шелкопряда:

1 — макроуклециты; 2 — микроуклециты; 3 — зернистые шары; 4 — активный фагоцит.

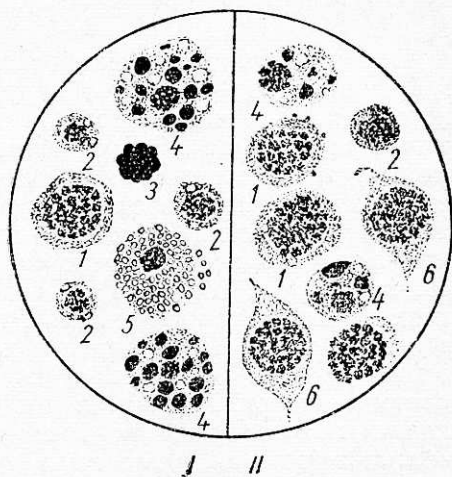


Рис. 3. Клетки гемолимфы здоровой (I) и больной полиэдрией (II) бабочек непарного шелкопряда:

1 — макроуклециты; 2 — микроуклециты; 3 — эозинофил; 4 — зернистые шары; 5 — жировая клетка; 6 — активные фагоциты.

Таблица 1

Процентное содержание форменных элементов гемолимфы непарного шелкопряда при полиэдри

Объект исследования	Протейкоциты	Макроуклециты	Микроуклециты	Жировые клетки	Зернистые шары	Эозинофилы	Фагоциты	Клетки неизвестного происхождения	Эндоциты	Мертвые клетки	
										без полиэдров	с полиэдрами
Гусеницы IV—VI возраста:											
здоровые	1,8	23,7	62	—	—	1,0	0,3	1,9	0,8	8,5	—
со скрытой формой полиэдри	8,7	46	27	—	—	—	—	—	0,4	17,9	—
с открытой формой полиэдри	9	45	21	—	—	0,5	0,5	2	0,5	12	10
Куколки:											
здоровые	0,6	18,4	7,7	9,0	60	0,1	1,3	1,1	0,1	1,7	—
со скрытой формой полиэдри	—	60	6	1	9	—	5,5	—	0,5	18	—
с открытой формой полиэдри	—	44	12	—	1	—	19	1	—	19	4
Бабочки:											
здоровые	—	26,5	52,0	—	17,5	0,1	0,1	0,1	0,1	3,5	—
со скрытой формой полиэдри	0,3	68	14	—	2	0,4	4,5	—	—	10,8	—

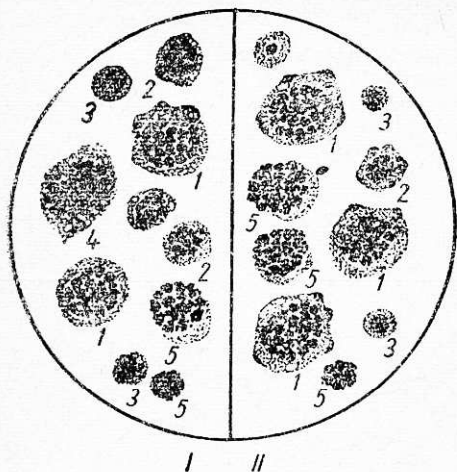


Рис. 4. Клетки гемолимфы гусениц, пораженных микроспоридиями, в начале заболевания (I) и незадолго до гибели гусеницы (II):

1 — макроуклеоциты; 2 — макроуклеоциты с меронтами в протоплазме; 3 — измельченные микроуклеоциты; 4 — активные фагоциты; 5 — мертвые клетки.

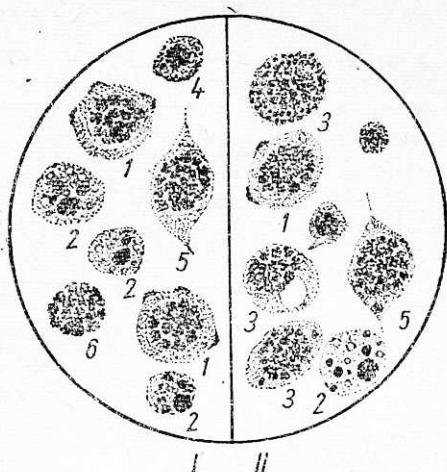


Рис. 5. Клетки гемолимфы куколок (I) и бабочек (II), пораженных микроспоридиями:

1 — почкующиеся макроуклеоциты; 2 — истощенные зернистые шары; 3 — патологические макроуклеоциты; 4 — микроуклеоцит с меронтами в протоплазме; 5 — активные фагоциты; 6 — мертвые клетки.

паразита можно было судить только по некоторым патологическим изменениям клеток, выражающимся в появлении вакуолей и округлых выступов с потемневшими сгустками протоплазмы по периферии. У части особей выявлено повышенное содержание макроуклеоцитов.

По мере размножения паразитов патологические изменения начинают проявляться все ярственней. Увеличивается количество клеток с почкующейся протоплазмой. Протоплазма многих макроуклеоцитов разрыхляется, наполняется многочисленными вакуолями. Патологическая вакуолизация наблюдается даже в пролейкоцитах. В результате усиленного деления макро- и микроуклеоцитов, обусловленного стремлением организма пополнить запас трофических клеток, разрушенных микроспоридиями, эти клетки мельчают. Иногда встречаются макроуклеоциты с двумя и даже четырьмя неразшедшими ядрами. В некоторых микроуклеоцитах можно ясно различить целые группы меронтов, встречаются мертвые микроуклеоциты, переполненные меронтами. Количество мертвых клеток, среди которых очень много ядер фагоцитов, ратет и незадолго до гибели гусениц (за 3—4 дня) достигает 40—60%. Протоплазма отдельных клеток распадается на части, а ядро лизируется (рис. 4).

В гемолимфе больных куколок и бабочек шелкопряда явно преобладали макроуклеоциты (см. табл. 2). Зернистые шары были мелкими (в три—четыре раза мельче, чем у здоровых особей) с малым количеством гранул с питательными веществами; многие гранулы были обесцвеченными. У некоторых макро- и микроуклеоцитов наблюдалось почкование и отделение частей протоплазмы, патологическая вакуолизация в протоплазме и даже в ядрах. Увеличилось количество активных фагоцитов. При сильном поражении микроспоридиозом куколок в протоплазме клеток гемолимфы можно видеть меронты, а в гемолимфе бабочек — споры в протоплазме фагоцитов. При слабом поражении микроспоридиями все патологические изменения выражены слабее и

Таблица 2

Процентное содержание форменных элементов гемолимфы непарного шелкопряда при микроспориidioзе

Объект исследования	Пролейкоциты	Макронуклеоциты	Микронуклеоциты	Эозинофилы	Зернистые шары	Фагоциты	Клетки неизвестного происхождения	Эритроциты	Мертвые клетки
Здоровые									
Гусеницы II—III возрастов	10	32,5	45,5	0,8	—	0,3	—	1,7	9,2
Слабо пораженные									
Гусеницы:									
младших возрастов	10,8	34,4	41,2	—	—	1,0	0,2	1,2	9,4
старших возрастов	1,4	22	60,9	0,2	—	1,2	1,6	0,8	11,9
Куколки	—	46	17	—	27	6,0	2,0	—	2,0
Бабочки	—	66	6,7	0,4	17	67	—	—	3,2
Сильно пораженные									
Гусеницы:									
младших возрастов	8	46	39,5	0,5	—	—	—	1	5
старших возрастов	12	19	17,6	0,4	—	15	—	—	36
Куколки	—	32	2	—	5	5	—	—	56
Бабочки	—	70,4	6	—	4	6,6	—	—	13

Примечание. К числу слабо пораженных микроспориidioзом отнесены гусеницы и куколки, из которых вышли бабочки со спорами микроспориидий в брюшке, в дальнейшем отложившие яйца. При слабом поражении бабочек в мазках содержимого их брюшной полости найдено очень мало спор. Гусеницы и куколки, сильно пораженные микроспориidioзом, погибли через 3—7 дней после взятия у них гемолимфы. В мазках содержимого брюшной полости сильно пораженных бабочек была обнаружена масса спор микроспориидий.

затрагивают немногие клетки (рис. 5). При этом количественного преобладания макронуклеоцитов может и не быть, но зато большинство зернистых шаров мелкие и истощенные.

По количественному соотношению клеток и некоторым патологическим их изменениям картина крови у куколок и бабочек при микроспориidioзе сходна с таковой при полиэдрии, особенно при слабом поражении. И в том и в другом случае в крови преобладают макронуклеоциты, зернистые шары мелкие и истощенные, макро- и микронуклеоциты с почкующейся протоплазмой. При слабом поражении не всегда можно заметить в клетках меронты. Поэтому в тех случаях, когда неизвестно, в каком очаге возбудителя находится популяция, кроме анализа гемолимфы куколок или бабочек необходимо микроскопическое исследование содержимого брюшка насекомых на наличие спор микроспориидий.

Для гематологических исследований непарного шелкопряда из различных его очагов, находящихся под постоянным наблюдением, мы выборочно брали по 20 гусениц младших и старших возрастов и по 50 куколок и бабочек.

Как показывает анализ данных табл. 3, в 1962—1965 гг. наблюдался довольно высокий процент особей с патологическими изменениями гемолимфы. Это можно объяснить тем, что указанные годы были годами депрессии размножения, снижения жизнеспособности вредителя

Данные анализа гемелимфы непарного шелкопряда и динамика его численности

Место исследований	Заболевание	Годы	Количество особей (в %) с патологическими изменениями гемелимфы				Количество зараженных гусениц (в %)		Среднее число яиц/кладок на одно дерево	Среднее число яиц в кладках
			Гусеницы I—III возраста		куколки	бабочки	наездника-ми	двукрылых		
			Гусеницы I—III возраста	Гусеницы IV—VI возраста						
Ивовые насаждения в плавнях Днепра Участки:	1-й	1962	40	80	—	—	50	10	0,07	410
		1963	30	50	—	—	30	10	0,50	765
		1964	30	—	—	80	70	5	0,20	447
	2-й	1965	—	—	—	—	—	—	0,20	525
		1962	60	50	—	—	25	33	0,03	521
		1963	44	60	—	—	64	30	0,09	765
	3-й	1964	50	—	100	100	—	—	0,06	540
		1965	—	—	—	—	—	—	0,01	610
		1962	25	50	—	—	50	40	1,00	350
	4-й	1963	40	50	50	60	40	10	2,10	522
		1964	—	—	80	80	40	10	0,30	520
		1965	—	—	90	90	—	—	0,20	350
1962		—	80	—	—	1	—	0,20	515	
Дубово-березовые колки в Черноморском заповеднике Участки:	Микроспоридиоз	1963	—	60	—	—	30	10	1,20	690
		1964	—	40	—	—	30	15	4,50	570
		1965	—	—	—	95	—	—	0,07	250
		1962	—	75	—	—	5	80	0,01	505
Соленозерный	Микроспоридиоз	1963	—	—	—	—	—	—	0,10	674
		1964	10	50	50	60	2	80	1,04	629
		1965	—	—	75	85	—	—	0,04	420

Продолжение таблицы 3

Место исследований	Заболевание	Годы	Количество особей (в %) с патологическими изменениями гемолимфы				Количество зараженных гусениц (в %)		Среднее число яиц/кладок на одно дерево	Среднее число яиц в кладках
			гусеницы I—III возраста	гусеницы IV—VI возраста	куколки	бабочки	наездники-ми	двукрылы-ми		
Участки: Иваново-Рыбальчанский	Микроспоридиоз	1963	20	31	—	35	5	20	0,40	702
		1964	40	40	20	10	3	20	0,50	756
		1965	—	—	—	70	—	—	—	0,40
Дубовые лесополосы	»	1963	20	40	25	25	1	5	1,60	378
		1964	50	60	50	50	25	20	0,80	290
		1965	—	—	—	—	—	—	—	0,02
Насаждения белой акации	Полиэдрия	1962	—	50	—	—	—	—	5,50	553
		1963	—	90	66	93	—	—	0,70	596
		1964	50	—	—	100	10	—	0,40	668
		1965	—	—	—	80	—	0,02	503	

и активации возбудителей заболеваний. Численность непарного шелкопряда оставалась на сравнительно низком уровне благодаря сдерживающему действию болезнетворных организмов и энтомофагов.

Микроспоридии, как и другие возбудители, усиленно размножаются в ослабленном организме. Организм с высокой жизнеспособностью может справиться с паразитом в начальной стадии заболевания.

В 1963 г. погодные условия (в апреле—июне осадков выпало на 29,8 мм меньше, чем в этот же период в среднем за много лет), судя по увеличению плодovitости и выживаемости непарного шелкопряда, благоприятствовали повышению его жизнеспособности. Этим, по-видимому, объясняется тот факт, что, несмотря на значительный процент особей с патологическими изменениями гемолимфы, характерными для микроспоридиоза, на 1—3-ем участках плавней Днепра, в дубовых лесополосах и на заповедном Ивано-Рыбальчанском участке смертность от микроспоридиоза была небольшой и численность вредителя на всех указанных участках возросла.

Напротив, в 1964 г. прохладные и дождливые апрель и май способствовали активизации микроспоридий в ослабленном организме гусениц. Процент особей с патологическими изменениями гемолимфы на тех же участках увеличился, а плотность вредителя снизилась.

В насаждениях, где вымирание непарного шелкопряда произошло от вируса полиэдриии (насаждения белой акации), в 1963 г. не наблюдалось повышения его жизнеспособности, так как, очевид-

но, вирус полиэдриии вызывает в организме насекомого настолько глубокие изменения, что для восстановления жизнеспособности популяции нужно длительное время.

При скрытой форме полиэдриии (когда у гусениц-вирусоносительниц на протяжении всей их жизни не проявляются внешние признаки заболевания) гусеницы окукливаются и дают бабочек. При исследовании мазков гемолимфы таких гусениц, окрашенных по Романовскому—Гимза, наблюдали немного патологических и мертвых клеток. И только у бабочек, выведенных из них, гемолимфа имела явно патологическую картину.

При слабом заражении микроспоридиями гусениц в мазках гемолимфы не всегда легко выявить этих паразитов, так как количественное соотношение форменных элементов может быть близким к норме, меронты в клетках немногочисленны и их можно не заметить, патологические отклонения встречаются очень редко, в результате чего от внимания малоопытного исследователя указанные незначительные изменения могут ускользнуть.

Однако в гемолимфе куколок и бабочек, выведенных из таких гусениц, возбудителя заболевания можно легко обнаружить. В мазках гемолимфы преобладают макронуклециты; трофические клетки (зернистые шары, жировые клетки, микронуклециты) мелкие и истонченные. Поэтому гематологическое исследование популяций непарного шелкопряда в целях прогноза его численности лучше проводить в фазе бабочки или куколки. Гематологический анализ куколок и бабочек дает возможность судить о состоянии и условиях развития популяции в истекшем и прогнозировать выживаемость потомства в будущем году. Результаты этих исследований обязательно должны дополняться сведениями о погодных условиях сезона, о количестве и видовом составе энтомофагов, о плодovitости бабочек и предстоящей зараженности насаждений яйцекладками, о поврежденности листвы деревьев в истекшем году и прогнозом ее объедания в будущем. В динамике численности непарного шелкопряда указанные факторы наряду с болезнями имеют не менее важное значение.

ЛИТЕРАТУРА

- Сиротина М. И. 1949. Генезис форменных элементов крови у здоровых и больных желтухой гусениц и бабочек дубового шелкопряда. Докл. ВАСХНИЛ, № 4, М.
- Ее же. 1951. Болезни дубового шелкопряда и меры борьбы с ними. К.
- Ее же. 1965. Анализ гемолимфы вредителей. В кн.: «Надзор, учет и прогноз массовых размножений хвое- и листогрызущих насекомых». М.
- Тимофеева Е. Р. 1952. Болезни непарного шелкопряда и зависимость их от физиологического состояния насекомых. Автореф. канд. дисс. Л.
- Яфаева З. Ш. 1962. Гемоциты гусениц непарного шелкопряда как показатель состояния организма. В сб.: «Исследования очагов вредителей леса Башкирии», II. Уфа.

Поступила 14.II 1967 г.

HEMATOLOGIC INVESTIGATION OF *PORTHETRIA DISPAR* L. AND PREDICTION OF ITS QUANTITY

L. M. Zelinskaya

(The Black Sea State Reservation, Academy of Sciences, Ukrainian SSR)

S u m m a r y

At the early stages of *Porthetria dispar* L. polyhedria a number of trophic cells in hemolymph decreases, young cells — proleucocytes, macronucleocytes and active phagocytes appear. In pupa and butterflies the granulocytes become smaller, a number of granules with nutritious substances considerably falls.

In microsporidiosis the pathologic changes in blood are expressed in gemmation and vacuolization of protoplasm and nuclei of macronucleocytes, in appearance of small macro- and micronucleocytes as a result of their intensive division, in the presence of a meronts in protoplasm of some micronucleocytes, in size decrease and exhaustion of granulocytes in pupa.

The changes evoked by the disease agent in hemolymph of pupa and butterflies are the most noticeable. That is why the hematologic investigation of populations for prediction of *Porthetria dispar* L. quantity is better to be conducted at these phases.