

Оценка влияния ксенобиотиков на трансформацию энергии пищи у дубового шелкопряда (*Antheraea Pernyi* G.-M.)

В УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова» на кафедре зоологии в течение 30 лет разводится культура китайского дубового шелкопряда [1–2]. Куколка шелкопряда может служить исходным сырьем для получения различных лечебных, косметических средств и применяться в качестве кормовых добавок для домашних животных, птицы, рыбы [3]. Культура данного насекомого также может служить объектом для изучения влияния различных биологически активных соединений на физиологические и биохимические процессы в организме чешуекрылых, что послужит основой для мониторинга загрязнения окружающей среды ксенобиотиками.

В настоящее время ведутся исследования по использованию агонистов экдистероидов в качестве потенциальных инсектицидов, которые по механизму действия относятся к регуляторам роста насекомых [4]. В конце 80-х годов прошлого столетия обнаружили, что гормональной активностью насекомых обладают вещества, не похожие на экдистероиды по строению и относящиеся к ацилпроизводным гидразина. Биологические испытания соединений данной группы стали проводиться сразу же после установления их гормональной активности [5]. Отмечено их влияние на смертность, длительность личиночного развития, вес гусениц, вес шелкоотделительной железы и состав белков гемолимфы [6–7].

Но в доступной нам литературе данных по влиянию агонистов экдистероидов на процессы потребления и усвоения пищи, а также на энергетические балансы насекомых не обнаружено.

Цель работы – оценка влияния агонистов экдистероидов на процессы питания и энергетические балансы китайского дубового шелкопряда для определения степени их воздействия как регуляторов роста и развития насекомых.

Материал и методы. Эксперимент проводили на базе стационара «Щитовка» биологического факультета УО «ВГУ им. П.М. Машерова» в летний период 2008 г. В качестве объекта исследований использовали китайского дубового шелкопряда (*Antheraea pernyi* G.-M.). Кормовыми растениями служили дуб черешчатый (*Quercus robur* L.) и береза бородавчатая (*Betula pendula* Roth.). В качестве модельного ксенобиотика использовали агонист экдистероидов 1,2-бис-(2-Метоксибензоил)-1-трет-бутилгидразина (R-211), синтезированный в лаборатории экдистероидов Института биоорганической химии НАН Беларуси под руководством доктора химических наук, профессора Н.В. Ковганко. Для опыта брали гусениц одного дня выхода из яиц. Опыт проводили в трех повторностях каждый (по 30 гусениц повторности): корм одинаковой массы для гусениц первого возраста обрабатывали однократно водным раствором R-211 0,1%-ной концентрации объемом 2 мл один раз, и скармливали в начале развития. Наблюдали за гусеницами в течение всего периода их развития. Обработку корма проводили методом опрыскивания листьев. Для приготовления рабочих растворов навеску 10 мг (0,1%) соединения помещали в мерную пробирку, добавляли 0,5 мл этанола, доводили

общий объем до 10 мл дистиллированной водой, в которую предварительно добавляли ПАВ ОП-10 (1 капля на 1 л воды). Контроль – дистиллированная вода с добавлением этанола (0,5 мл/10 мл воды) и ПАВ ОП-10 (1 капля/1 л воды). Опытные и контрольные гусеницы содержались в одинаковых емкостях объемом 3000 см³ при температуре 20–22°C, относительной влажности воздуха 70–80% и одинаковых условиях освещенности. Гусеницы первого возраста в опыте питались обработанным кормом в течение трех суток. Через трое суток обработанные листья дуба и березы заменяли на свежие необработанные и дальше кормили только свежим необработанным кормом.

Показатели питания определяли «гравиметрическим» балансовым методом [10]. Взвешивание проводили на торзионных и аналитических весах. Все величины выражали в абсолютно сухой массе. Сухую массу тела гусениц определяли на контрольной группе особей, воспитывавшихся в режиме опыта. Полученные данные использовали для расчета коэффициента утилизации корма: $KУ = A \cdot C^{-1} \cdot 100\%$ [8]. Так как гусеничная фаза определяет ход развития всех других фаз дубового шелкопряда, нами проанализирован баланс энергии гусениц после воздействия агониста экдистероидов на разных кормовых растениях. В основу расчетов скорости потока энергии положено равенство [9], согласно которому количество энергии, поступившее в организм с пищей (С), равно сумме энергии, израсходованной на прирост биомассы тела (Р), использованной на покрытие его метаболических расходов (R) и выделенной организмом с неусвоенной частью пищи (F): $C = P + R + F$. Величины калорийности определяли методом мокрого сжигания [10].

Результаты и их обсуждение. Изучение воздействия агониста экдистероидов R-211 на процессы потребления и усвоения листа дуба и березы гусеницами дубового шелкопряда (табл. 1) показало, что в опыте на дубе после трехсуточного контакта с агонистом в течение I–III возрастов гусеницы съедали корма в среднем на 20% меньше, чем в контроле, усваивали его (КУ) на 7% хуже. У гусениц IV–V возрастов кормовой рацион увеличился примерно на 10%, но при этом наблюдалось снижение КУ на 4%. За весь период развития в опыте гусеницы съели листа дуба в среднем на 9% больше, чем в контроле, но утилизировали его с меньшей эффективностью по сравнению с контролем примерно на 4%. На березе эффект влияния R-211 проявился сильнее, чем на дубе. Так, гусеницы I–III возрастов съедали корма на 30% меньше, чем в контроле, эффективность его утилизации (КУ) на 8% ниже. У гусениц IV–V возрастов кормовой рацион увеличился примерно на 2%, но КУ снизился на 5%. За весь период развития гусеницы съели корма на 5% больше, усвоили его хуже на 7%. Сравнение показателей питания шелкопряда после контактно-кишечного воздействия на гусениц показало, что в опыте на березе за весь период развития съели корма на 20% больше, но усвоили его на 5% хуже, чем в опыте на дубе.

Таким образом, питание листом дуба несколько ослабляет отрицательное воздействие R-211, питание листом березы его усиливает.

Адаптации насекомых и других животных к изменению пищевых условий сопровождаются изменениями энергозатрат на поддержание жизнедеятельности [11]. Оценку энергозатрат гусениц при изменении кормового режима или энергетическую ценность физиологической адаптации насекомого можно определить путем расчета энергетического баланса насекомого. Для расчета энергобалансов необходимо знать калорийность пищи, экскрементов и тела гусениц. Эти данные представлены нами в табл. 2. Исходя из ее данных следует, что калорийность листа березы выше, чем калорийность листа дуба. Калорийность гусениц, питавшихся листом дуба, обработанным R-211 0,1% концентрации, несколько меньше, чем калорийность гусениц, питавшихся

листом березы, обработанным раствором той же концентрации данного агониста.

Таблица 1

Изменение индексов питания китайского дубового шелкопряда под влиянием агониста экдистероидов R-211

Вариант опыта	Возраст	Кормовой рацион, г/экз.		Усвоено корма, г сухой массы/экз.	Коэффициент утилизации, % (КУ)
		сырая масса	сухая масса		
Дуб черешчатый	Л ₁	0,07 ± 0,04	0,028 ± 0,002	0,022 ± 0,006	78,57 ± 0,43
	Л ₂	0,38 ± 0,11	0,152 ± 0,006	0,11 ± 0,008	72,37 ± 0,37
	Л ₃	3,42 ± 0,10	1,34 ± 0,04	0,49 ± 0,07	44,03 ± 0,25
	Л ₄	11,54 ± 0,17	4,62 ± 0,06	1,54 ± 0,10	41,99 ± 0,22
	Л ₅	40,21 ± 0,19	16,08 ± 0,08	4,37 ± 0,13	27,18 ± 0,13
	Итого	55,62	22,22	6,53	31,64
Контроль	Л ₁	0,09 ± 0,02	0,036 ± 0,010	0,031 ± 0,005	86,11 ± 0,35
	Л ₂	0,46 ± 0,13	0,184 ± 0,061	0,147 ± 0,008	79,89 ± 0,41
	Л ₃	3,19 ± 0,09	1,08 ± 0,05	0,53 ± 0,08	49,62 ± 0,28
	Л ₄	9,89 ± 0,15	3,96 ± 0,07	1,72 ± 0,09	44,26 ± 0,25
	Л ₅	37,15 ± 0,28	14,86 ± 0,14	4,78 ± 0,15	32,16 ± 0,18
	Итого	50,78	20,12	7,21	35,83
Береза бородавчатая	Л ₁	0,073 ± 0,004	0,029 ± 0,023	0,02 ± 0,006	68,97 ± 0,49
	Л ₂	0,51 ± 0,02	0,204 ± 0,062	0,134 ± 0,009	65,69 ± 0,47
	Л ₃	4,12 ± 0,04	1,65 ± 0,09	0,52 ± 0,07	37,58 ± 0,36
	Л ₄	13,84 ± 0,06	5,54 ± 0,10	1,75 ± 0,11	35,19 ± 0,24
	Л ₅	52,19 ± 0,07	20,87 ± 0,14	5,28 ± 0,18	25,29 ± 0,25
	Итого	70,73	28,29	7,70	26,72
Контроль	Л ₁	0,12 ± 0,04	0,041 ± 0,026	0,033 ± 0,004	82,51 ± 0,54
	Л ₂	0,65 ± 0,16	0,233 ± 0,084	0,152 ± 0,008	66,15 ± 0,42
	Л ₃	3,82 ± 0,12	1,35 ± 0,07	0,61 ± 0,08	46,53 ± 0,31
	Л ₄	13,11 ± 0,15	5,24 ± 0,09	2,13 ± 0,12	40,65 ± 0,29
	Л ₅	49,71 ± 0,25	19,88 ± 0,11	6,11 ± 0,21	31,14 ± 0,21
	Итого	67,41	26,74	9,04	33,81

Сделанный нами расчет энергетических балансов гусениц дубового шелкопряда на дубе и березе при обработке листа кормовых растений агонистом экдистероидов R-211 0,1% концентрации дал интересные результаты (табл. 3). В опыте на дубе поток энергии, поступающий в организм гусениц I–III возрастов вместе с кормом, снижается в среднем на 8% по сравнению с контролем, траты усвоенной энергии пищи на обменные процессы возрастают примерно на 5%, а на создание зоомассы – снижаются на 3%. Гусеницы IV–V возрастов получали в среднем на 6% меньше энергии вместе с пищей, на обменные процессы тратили энергии примерно на 7% больше, на прирост массы – на 9% меньше, чем в контроле. За весь период развития в опыте на дубе после попадания в организм дубового шелкопряда R-211 гусеницы усваивали энергию пищи в среднем на 7% хуже, чем в контроле, энергетические траты на обменные процессы были на 8% больше, а на создание прироста массы на 9% меньше по сравнению с контролем.

В опыте на березе в организм гусениц I–III возрастов поступало энергии вместе с пищей на 10% меньше, чем в контроле, на обмен веществ подопытные особи тратили энергии в среднем на 25% больше, а на создание зоомассы – на 30% меньше по сравнению с контролем. В организм гусениц IV–V возрастов поток энергии, поступающий вместе с кормом, снижается примерно на 8% по сравнению с контролем, траты энергии на обмен веществ увеличиваются на 40%, а на прирост массы – на 35% меньше, чем в контроле. За весь период развития гусеницы усваивали энергию, поступившую в их организм вместе

с обработанным листом березы, на 10% хуже, чем в контроле, тратили на 35% больше энергии на обменные процессы и на 30% меньше на создание массы.

Таблица 2

Калорийность пищи, экскрементов и гусениц дубового шелкопряда в зависимости от воздействия агониста экдистероидов R-211 (ккал/г)

Кормовое растение	Вид образца	Возраст	R-211 0,1%	Контроль
Дуб	корм	Л ₁	4,17	4,17
		Л ₂	4,42	4,42
		Л ₃	4,13	4,13
		Л ₄	3,94	3,94
		Л ₅	3,81	3,81
	экскременты	Л ₁	3,74	3,58
		Л ₂	3,52	3,43
		Л ₃	3,11	2,96
		Л ₄	2,74	2,66
		Л ₅	3,11	2,93
	гусеницы	Л ₁	2,76	2,81
		Л ₂	3,18	3,20
		Л ₃	3,26	3,30
		Л ₄	3,15	3,20
		Л ₅	3,43	3,51
Береза	корм	Л ₁	5,41	5,41
		Л ₂	6,42	6,42
		Л ₃	6,40	6,40
		Л ₄	5,77	5,77
		Л ₅	5,28	5,28
	экскременты	Л ₁	4,13	3,99
		Л ₂	3,91	3,75
		Л ₃	3,87	3,70
		Л ₄	2,79	2,58
		Л ₅	2,52	2,15
	гусеницы	Л ₁	3,27	3,70
		Л ₂	3,59	3,95
		Л ₃	4,13	4,50
		Л ₄	4,31	4,63
		Л ₅	4,45	4,75

В нормальных условиях дубовый шелкопряд как при питании листом дуба, так и листом березы большую часть усвоенной энергии тратит на создание зоомассы, меньшую – на обменные процессы. После попадания в организм дубового шелкопряда R-211 произошло перераспределение энергии усвоенной пищи в сторону увеличения энергетических затрат на обмен веществ и снижения на создание зоомассы по сравнению с контролем. Сравнение энергетических балансов дубового шелкопряда после контактно-кишечного способа воздействия агониста показало, что за весь период развития в опыте на дубе гусеницы тратили на обмен веществ в среднем на 25% меньше усвоенной энергии пищи, а на создание зоомассы – на 20% больше по сравнению с опытом на березе.

Таким образом, влияние R-211 0,1% концентрации на баланс энергии в организме дубового шелкопряда проявляется в значительном уменьшении потока энергии, поступающей вместе с пищей, за счет ухудшения ее перевариваемости, что согласуется с данными о процессах потребления и усвоения корма, и это в большей степени проявляется при питании листом березы, чем листом дуба.

Таблица 3

Динамика энергетического баланса гусениц дубового шелкопряда под воздействием агониста экдистероидов R-211 0,1%, кДж/экз⁻¹.

Кормовое растение	Возраст гусениц	Потребленная пища, С	Экскременты, F	Усвоенная пища, А		Траты на обмен веществ, R		Траты на прирост массы, P	
				кДж	%	кДж	%	кДж	%
Дуб черешчатый	Л ₁	0,490	0,092	0,398	81,22	0,226	56,78	0,172	43,21
	Л ₂	2,816	0,620	2,196	77,98	0,864	39,34	1,332	60,65
	Л ₃	23,17	11,06	12,11	52,27	7,58	42,59	4,53	37,41
	Л ₄	76,26	35,36	40,90	53,63	23,34	57,06	17,56	42,93
	Л ₅	266,68	152,59	114,09	42,78	64,06	56,15	50,03	43,85
	Итого	369,42	199,72	169,69	—	96,07	—	—	—
Контроль	Л ₁	0,629	0,075	0,554	88,07	0,273	49,27	0,281	50,72
	Л ₂	3,394	0,532	2,862	84,33	1,387	48,46	1,475	51,54
	Л ₃	18,69	6,83	11,86	63,46	6,45	54,38	5,41	45,61
	Л ₄	65,36	24,97	40,39	61,79	21,74	53,82	18,65	46,17
	Л ₅	237,24	123,73	113,51	47,85	52,92	46,62	60,59	53,38
	Итого	325,31	156,14	169,17	—	82,73	—	86,41	—
Береза бородавчатая	Л ₁	0,653	0,155	0,498	76,26	0,318	63,85	0,180	36,14
	Л ₂	5,48	1,148	4,332	79,05	3,008	69,44	1,324	30,56
	Л ₃	44,25	18,31	25,94	58,62	18,90	72,86	7,08	27,29
	Л ₄	133,95	44,29	89,66	66,94	71,06	79,25	18,60	20,75
	Л ₅	461,69	164,63	297,06	64,34	228,80	77,02	68,26	22,98
	Итого	646,02	228,53	417,49	—	322,09	—	—	—
Контроль	Л ₁	0,926	0,134	0,729	85,53	0,356	48,83	0,436	59,81
	Л ₂	6,264	1,274	4,99	79,66	1,823	36,53	3,167	63,47
	Л ₃	36,20	11,48	24,72	68,28	9,05	36,61	15,67	63,39
	Л ₄	126,66	33,60	93,06	73,47	33,94	36,47	59,12	63,53
	Л ₅	439,78	124,07	315,71	71,78	108,86	34,48	206,85	65,52
	Итого	609,83	170,56	439,21	—	154,03	—	285,24	—

Заклучение. В результате наших исследований установлено, что контактно-кишечное воздействие R-211 0,1% концентрации на гусениц привело к нарушениям процессов потребления и усвоения корма и энергетических балансов в организме дубового шелкопряда. Так, после попадания биологически активного вещества в организм гусениц в течение развития отмечено уменьшение КУ на дубе в среднем на 4%, в опыте на березе – на 7% по сравнению с контролем. Кормовое растение оказывает коррелирующее влияние на процессы питания насекомого – питание листом дуба несколько ослабляет отрицательное воздействие агониста, питание листом березы его усиливает. Влияние модельного ксенобиотика на баланс энергии в организме гусениц дубового шелкопряда проявляется в перераспределении энергии в сторону увеличения энергозатрат на энергетический обмен на дубе на 8%, на березе – на 35% и снижения затрат на пластический обмен на дубе на 9%, на березе – на 30% по сравнению с контролем.

Следовательно, культуру китайского дубового шелкопряда можно использовать для оценки действия ксенобиотиков на эукариотический организм, а также в качестве объекта биологического мониторинга химического загрязнения окружающей среды.

Исследования выполнялись в рамках научно-исследовательской работы по фонду фундаментальных исследований Республики Беларусь № Б07К–15 «Влияние биологически активных соединений на дендрофильных чешуекрылых».

ЛИТЕРАТУРА

1. **Радкевич, В.А.** Экология листогрызущих насекомых / В.А. Радкевич. – Минск: Наука и техника, 1980. – 240 с.
2. **Денисова, С.И.** Теоретические основы разведения китайского дубового шелкопряда в Беларуси / С.И. Денисова. – Минск: Технопринт, 2002. – 234 с.
3. **Аретинська, Т.Б.** Виробництво та використання коконів дубового шовкопряда польський тасар / Т.Б. Аретинська, В.О. Трокоз, Т.М. Єфіменко, Н.В. Трокоз. – Київ, 2005. – С. 20–22.
4. **Гормональная регуляция развития насекомых** / ред. М.С. Гиляров, В.И. Тобиас, В.Н. Буров. – Л., 1983.
5. **Ахрем, А.А.** Экдистероиды: химия и биологическая активность / А.А. Ахрем, Н.В. Ковганко. – Минск, 1989.
6. **Carton, B.** Toxicity of two ecdysone agonists, halofenozide and methoxyfenozide, against the multicoloured Asian lady beetle *Harmonia axyridis* (Col., Coccinellidae) / B. Carton, G. Smagghe, L. Tirry // J. Appl. Entomol. – 2003. – Vol. 127, № 4. – P. 240–242.
7. **Smagghe, G.** Comparative toxicity and ecdysone receptor affinity of nonsteroidal ecdysone agonists and 20-hydroxyecdysone in *Chironomus tentans* / G. Smagghe, T.S. Dhadialla, M. Lezzi // Insect Biochem. And Mol. Biol. – 2002. – Vol. 32, № 2. – P. 187–192.
8. **Waldbauer, G.P.** The consumption and utilization of food by insects / G.P. Waldbauer // Adv. Insect Physiol. – 1968. – Vol. 5. – P. 254–288.
9. **Баранчиков, Ю.Н.** Трофическая специализация чешуекрылых / Ю.Н. Баранчиков. – Красноярск, 1987. – 170 с.
10. **Остапеня, А.П.** Методы определения продукции водных животных / А.П. Остапеня – Минск: Высшая школа, 1968. – 245 с.
11. **Дольник, В.Р.** Масса тела, энергетический метаболизм и время жизни птиц / В.Р. Дольник // Зоол. журнал. – 2006. – Т. 85, № 10. – С. 1155–1163.

S U M M A R Y

*In *Antheraea pernyi* G.-M. organism infringements of energy balance have been investigated after the influence of model xenobiotics – ecdysone agonists R-211 in concentration 0,1% on caterpillars in experiments on oak and birch. It is confirmed that the influence of model xenobiotics on energy balance is proved in energy redistribution towards the increase of energy consumption on energy exchange in oak (8%) and birch (35%) and towards the reduce of it on plastic exchange in oak (9%) and birch (30%). Oak leaf nutrition reduces negative influence of bioactive substance on energy balance in insect organism and birch leaf nutrition increases it.*

Поступила в редакцию 26.11.2008