



УДК 595.78

## Влияние экстрактов коры дуба и почек березы на физиолого-биохимические показатели развития дубового шелкопряда

С.И. Денисова, М.А. Миронович, П.А. Дикович

Учреждение образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»

В данной работе рассматриваются вопросы повышения жизнеспособности и продуктивности зоокультур насекомых путем применения биологически активных соединений растительного происхождения.

Цель статьи – определение эффективности нового способа обработки гренеи дубового шелкопряда по физиолого-биохимическим показателям развития этого насекомого.

**Материал и методы.** Для изучения воздействия экстрактов коры дуба и почек березы на развитие дубового шелкопряда выкормку гусениц проводили на стеллажах инсектария под полиэтиленовой пленкой с использованием срезанных ветвей березы повислой (бородавчатой) (*Betula pendula* Roth.) и ивы корзиночной (*Salix viminalis* L.) по методике, разработанной на кафедре зоологии Витебского педагогического института. Работа выполнялась на биологическом стационаре «Щитовка» в Сенненском районе Витебской области на протяжении летнего периода 2015–2016 гг., а также в лабораториях кафедр зоологии и химии ВГУ имени П.М. Машерова.

**Результаты и их обсуждение.** Воздействие экстракта коры дуба при 20-минутной выдержке гренеи приводит на иве к возрастанию выживаемости гренеи на 13,0%, гусениц – на 18,0%, массы коконов – на 30%; на березе соответственно гренеи – на 15,0%, гусениц – на 45,0%, коконов – на 35% по сравнению с контролем. Воздействие биологически активных веществ водного экстракта коры дуба проявляется в количественном увеличении содержания белка, триглицеридов и глюкозы в гемолимфе гусениц и куколок как на березе, так и на иве по сравнению с контролем. Анализ результатов применения обработки гренеи водным экстрактом почек березы при выращивании гусениц на срезанных ветвях березы, как наиболее перспективного кормового растения дубового шелкопряда в Беларусь, показал, что предложенный способ повысил шелкотканность коконов самок на 2,28%, самцов – на 3,84% по сравнению с контролем (вариант опыта – 20 мин). Полученные нами данные свидетельствуют также о том, что обработка гренеи шелкопряда водным экстрактом почек березы с экспозицией 20 мин обеспечила высокий уровень оживления гренеи, который вырос по сравнению с контролем на 26,5%.

**Заключение.** Таким образом, оба способа обработки гренеи дубового шелкопряда, опробованные в Беларусь, эффективны, так как приводят к увеличению выживаемости шелкопряда и возрастанию его продуктивности на нетрадиционных кормовых растениях – березе и иве.

**Ключевые слова:** жизнеспособность, продуктивность, зоокультура, экстракти, кормовое растение, выживаемость, гренея, дубовый шелкопряд.

## Impact of Oak Bark and Birch Bud Extracts on Physiological and Biochemical Parameters of Oak Silkworm Development

S.I. Denisova, M.A. Mironovich, P.A. Dikovich

Educational Establishment «Vitebsk State P.M. Masherov University»

Issues of increasing viability and productivity of insect zoo cultures by application of biologically active compounds of plant origin are considered in the article.

The purpose of the article is to identify the efficiency of the new way of treatment of oak silkworm gren according to physiological and biological parameters of the development of this insect.

**Material and methods.** To study the impact of oak bark and birch bud extracts on the development of oak silkworm, caterpillars were fed on insectariums racks under plastic film using cut birch branches (*Betula pendula* Roth.) and basket willow (*Salix viminalis* L.).

on the basis of methods worked out at the Zoology Department of Vitebsk Pedagogical Institute. The work was done at the biological station of Shchitovka in Senno District of Vitebsk Region during the summers of 2015–2016 as well as at the laboratories of the Zoology and Chemistry Department of Vitebsk State P.M. Masherov University.

**Findings and their discussion.** Impact of oak bark extract with 20 minute exposition of gren results in 13,0% increase of gren viability on willow, 18,0% of caterpillars, 30% of cocoon mass; gren viability on birch 15,0%, caterpillars – 45,0%, cocoons – 35% compared to the control. Impact of biologically active substances of water extract of oak bark is manifested in quantitative increase of protein, triglycerides and glucose content in caterpillar and pupae haemolymph both on birch and willow compared to the control. Analysis of findings of the application of treatment of gren with water extract of birch buds when growing caterpillars on cut birch branches as most promising fodder plant for oak silkworm in Belarus, showed that the suggested way increases silk bearing of female cocoons by 2,28%, of male by 3,84% compared to the control (experiment variant – 20 min.). The obtained data show that treatment of silkworm gren with water extract of birch buds with 20 minute exposition provided high level of gren recovery which grew 26,5% compared to the control.

**Conclusion.** Thus, both the ways of oak silkworm gren treatment, which were tried in Belarus, are efficient because they result in silkworm recovery increase and its productivity growth on non traditional fodder plants like birch and willow.

**Key words:** viability, productivity, zoo culture, extracts, fodder plant, survival, gren, oak silkworm.

Для разведения китайского дубового шелкопряда в условиях Беларуси необходимо расширение его кормовой базы, так как дубовые насаждения в республике ограничены, поэтому дубовый шелкопряд разводится на березе повислой и иве корзиночной вместо дуба черешчатого, который является ценной древесной породой и на северо-востоке Беларуси произрастает в ограниченных количествах.

Но жизнеспособность дубового шелкопряда на новых кормовых растениях понижается по сравнению с оптимальным кормовым растением – дубом черешчатым на 15,0–20,0% [1]. Поэтому необходимы поиски приемов и способов подъема жизнеспособности дубового шелкопряда при кормлении его гусениц листом березы и ивы. Кроме этого, применение метода обеззараживания грены 4%-ным раствором формалина с добавлением 0,1% раствора NaOH в течение 5 минут уничтожает возбудителей болезней, которые могут иметься на ее скорлупе, но понижает процент оживления грены [2]. Поэтому мы решили использовать другой метод, разработанный украинскими коллегами, – обработку грены экстрактом коры дуба в течение 20–30 минут, который эффективно обеззараживает грену и повышает жизнеспособность зародышей при выкормке гусениц на дубе черешчатом [3].

Кроме этого, решили опробовать свой еще не применяющийся способ – обработку грены экстрактом почек березы повислой.

Для ответа на вопрос, как проявит себя этот способ на березе и иве в Беларуси, обработали грену дубового шелкопряда согласно предложенной методике и проследили значения основных показателей развития и биологической продуктивности. Применение различных биологически активных соединений для подъема жизнеспособности зоокультур – общебиологическая практика [4]. Использование экстрактов расте-

ний при разведении культур насекомых в настоящее время получает все большее значение.

Цель статьи – определение эффективности нового способа обработки грены дубового шелкопряда по физиолого-биохимическим показателям развития этого насекомого.

**Материал и методы.** Для изучения воздействия экстрактов коры дуба и почек березы на развитие дубового шелкопряда выкормку гусениц проводили на стеллажах инсектария под полиэтиленовой пленкой с использованием срезанных ветвей березы повислой (бородавчатой) (*Betula pendula* Roth.) и ивы корзиночной (*Salix viminalis* L.) по методике, разработанной на кафедре зоологии Витебского пединститута [5]. Работа выполнялась на биологическом стационаре «Щитовка» в Сенненском районе Витебской области на протяжении летнего периода 2015–2016 гг., а также в лабораториях кафедр зоологии и химии ВГУ имени П.М. Машерова. Экстракти готовились следующим образом: 100 г высущенной и измельченной коры дуба обыкновенного заливали 1 л кипящей воды, настаивали в течение 30–40 мин, фильтровали через марлю и охлаждали [3]. Аналогично готовили экстракт из почек березы. Яйца (грена) обрабатывали экстрактом на 7-й день развития. Для выявления оптимального времени воздействия экстрактов в новых кормовых условиях изучение влияния экстрактов на жизнеспособность и продуктивность дубового шелкопряда было проведено в 3 повторностях по 500 яиц в каждой по следующим вариантам: время выдержки грены в экстракте – 5, 10, 20, 30 мин, контроль – необработанная грана (согласно используемой методике [3]). Оживление грены определяли в каждом варианте на 100 экз., не менее чем в 4 повторностях. Выживаемость находили путем подсчета гусениц в начале и конце опыта, а затем выражали в процентах к начальному количеству гусениц.

Таблиця 1

**Вплив обробки гренами водним екстрактом кори дуба черешчатого на життєспособність і продуктивність лубового шелкопряда**

| Кормове<br>растеніє | Показатель                                       | Варіанти экспозиції, мін |             |             |             |                                    |            |
|---------------------|--|--------------------------|-------------|-------------|-------------|------------------------------------|------------|
|                     |  | 5                        | 10          | 20          | 30          | Контроль<br>(необробанна<br>грена) |            |
| Іва                 | Оживлення гренами, %                             | 87,46±1,19               | 90,79±1,21* | 96,95±1,34* | 94,80±1,65* | 82,10±1,98                         | 82,10±1,98 |
|                     | Выживаемость гусениц абсолютная, % к контролю    | 73,95±1,12               | 79,25±1,16* | 84,21±1,45* | 83,78±2,03* | 70,65±1,74                         | 70,65±1,74 |
|                     | Выживаемость гусениц относительная, % к контролю | 104,7                    | 112,2       | 119,2       | 118,6       | 100,0                              | 100,0      |
|                     | Масса кокона, г (самки)                          | 6,95±0,11                | 7,12±0,13   | 7,53±0,13*  | 7,51±0,18*  | 6,59±0,09                          | 6,59±0,09  |
|                     | Масса кокона, г (самці)                          | 4,93±0,05                | 5,25±0,06   | 5,56±0,07*  | 5,47±0,09*  | 4,61±0,11                          | 4,61±0,11  |
|                     | Масса шелкової оболочки, г (самки)               | 0,69±0,01*               | 0,76±0,02*  | 0,95±0,01*  | 0,93±0,04*  | 0,54±0,01                          | 0,54±0,01  |
|                     | Масса шелкової оболочки, г (самці)               | 0,57±0,02*               | 0,68±0,01*  | 0,82±0,03*  | 0,81±0,03*  | 0,49±0,01                          | 0,49±0,01  |
|                     | Шелконосність коконов, % (самки)                 | 9,93±0,22                | 10,67±0,17* | 12,62±0,25* | 12,38±0,29* | 8,19±0,14                          | 8,19±0,14  |
|                     | Шелконосність коконов, % (самці)                 | 11,56±0,15               | 12,95±0,35* | 14,74±0,38* | 14,81±0,31* | 10,63±0,41                         | 10,63±0,41 |
|                     | Оживлення гренами, %                             | 90,53±1,52               | 92,41±1,36* | 97,12±1,62* | 95,69±1,25* | 80,45±1,44                         | 80,45±1,44 |
| Береза              | Выживаемость гусениц абсолютная, % к контролю    | 72,90±2,51*              | 84,45±1,95* | 93,18±1,33* | 91,83±1,51* | 63,15±1,41                         | 63,15±1,41 |
|                     | Выживаемость гусениц относительная, % к контролю | 115,4                    | 133,7       | 147,6       | 145,4       | 100,0                              | 100,0      |
|                     | Масса кокона, г (самки)                          | 7,46±0,10                | 7,52±0,12   | 8,25±0,31*  | 8,21±0,11*  | 7,13±0,21                          | 7,13±0,21  |
|                     | Масса кокона, г (самці)                          | 5,34±0,16                | 5,67±0,11   | 6,05±0,22*  | 6,10±0,37*  | 4,89±0,25                          | 4,89±0,25  |
|                     | Масса шелкової оболочки, г (самки)               | 0,78±0,04                | 0,91±0,02*  | 1,15±0,07*  | 1,15±0,10*  | 0,72±0,02                          | 0,72±0,02  |
|                     | Масса шелкової оболочки, г (самці)               | 0,66±0,03*               | 0,78±0,02*  | 0,91±0,03*  | 0,87±0,04*  | 0,55±0,03                          | 0,55±0,03  |
|                     | Шелконосність коконов, % (самки)                 | 10,45±0,23               | 12,11±0,12* | 13,94±0,28* | 14,01±0,25* | 10,11±0,26                         | 10,11±0,26 |
|                     | Шелконосність коконов, % (самці)                 | 12,35±0,14               | 13,75±0,25* | 15,04±0,25* | 14,26±0,26* | 11,24±0,14                         | 11,24±0,14 |

**Примічання:** \* – достовірність розмірій  $P < 0,05$ .

Массу коконов, куколок и шелковой оболочки определяли после впадания куколок в диапаузу, так как к этому времени масса кокона стабилизируется. Для взвешивания использовали полуаналитические весы SPU-402. Шелконосность коконов выражали отношением массы оболочки к массе сырого кокона в процентах. Содержание белка в гемолимфе гусениц и куколок определяли рефрактометрическим путем [6]. Измерения содержания триглицеридов, глюкозы и активности  $\gamma$ -глутамилтрансферазы, аспартатамино-трансферазы, аланинаминотрансферазы, панкреатинамилазы проводили тест-системами фирмы Rochse на аппарате «Рефлотрон-4» в гемолимфе гусениц конца V возраста и диапаузирующих куколок. Активность каталазы определялась у гусениц конца V возраста [6].

**Результаты и их обсуждение.** Метод обработки гренены экстрактом коры дуба дал хорошие результаты по показателям оживления гренены, выживаемости гусениц, массы коконов и шелковой оболочки в вариантах экспозиции 20–30 мин по сравнению с контролем, но на березе эти показатели выше, чем на иве. Воздействие экстракта приводит на иве к возрастанию выживаемости гренены на 13,0%, гусениц – на 18,0%, массы коконов – на 30,0%, на березе соответственно гренены – на 15,0%, гусениц – на 45,0%, коконов – на 35,0% по сравнению с контролем (табл. 1).

У экспериментальных гусениц и куколок содержание белка в гемолимфе превосходит данный показатель контроля на березе у гусениц на 41,8%, у куколок – на 36,5%, на иве соответственно у гусениц – на 29,2%, у куколок – на 20,0% (табл. 2). Лист березы содержит больше жиров, растворимых углеводов и свободных аминокислот, чем лист ивы [7]. Очевидно, различие биохимического состава кормовых растений приводит к указанному различию в содержании белка у гусениц и куколок дубового шелкопряда на березе и иве.

Итак, полученные данные позволяют предположить, что воздействие экстракта приводит к возрастанию уровня содержания белковых соединений в гемолимфе гусениц и куколок как на березе, так и на иве по сравнению с контролем. Но на березе гусеницы и куколки накапливают белка на 3,0–4,0% больше, чем на иве. Это свидетельствует о том, что своеобразие процессов азотистого обмена насекомого зависит от питательности корма, его биохимического состава. Воздействие же биологически активных веществ экстракта частично компенсирует недостаточную питательность листа ивы, так как приводит

к повышению содержания белка в гемолимфе гусениц и куколок по сравнению с контролем. Это согласуется с данными об увеличении выживаемости яиц, гусениц и массы коконов дубового шелкопряда на иве (табл. 1). Анализ данных по содержанию триглицеридов в гемолимфе гусениц и куколок на березе и иве под воздействием экстракта коры дуба (табл. 2) показал, что на липидный обмен шелкопряда экстракт подействовал в меньшей степени, чем на белковый.

Так, в опыте содержание триглицеридов на березе превосходит этот показатель контроля у гусениц на 10,7%, у куколок – на 11,0%, на иве соответственно у гусениц – на 10,7%, у куколок – на 10,8%. Далее следует отметить, что если количество белка в гемолимфе у куколок уменьшается при превращении гусеницы в куколку, то количество триглицеридов при переходе от гусеницы к куколке сохраняется приблизительно на одном уровне. Иначе снижения содержания триглицеридов в гемолимфе за период оккулирования у дубового шелкопряда не произошло.

Согласно данным С.Я. Демяновского и В.А. Зубовой [8], во время завивки кокона и линьки у дубового шелкопряда на куколку жира расходуется немного (не более 10,0%). Основным энергетическим материалом в этот период являются углеводы, в этом отношении дубовый шелкопряд сходен с тутовым. Но эти данные касаются содержания жира в целом организме, а нами обнаружено, что в гемолимфе дубового шелкопряда при метаморфозе в куколку уровень триглицеридов колеблется в незначительных пределах. Следовательно, содержание триглицеридов в гемолимфе гусениц и получившихся из них куколок – величина постоянная, т.е. практически не меняется в процессе метаморфоза. Утверждение С.Я. Демяновского и В.А. Зубовой [8] о том, что основным энергетическим материалом при метаморфозе дубового шелкопряда являются углеводы, согласуется с нашими данными об изменении количества глюкозы в гемолимфе гусениц и куколок (табл. 2). Содержание глюкозы в гемолимфе опытных куколок на березе уменьшается на 27,8%, а на иве – на 40,4% по сравнению с гусеницами. У контрольных гусениц и куколок наблюдается та же тенденция, что и у опытных. Следовательно, глюкоза – основной энергетический материал при метаморфозе гусениц в куколки у дубового шелкопряда. Питание разными кормовыми растениями (березой, ивой) не оказывает влияния на уровень содержания глюкозы в гемолимфе как опытных, так и контрольных гусениц и куколок.

Таблица 2

**Влияние обработки грены водным экстрактом коры дуба на биохимические показатели гемолимфы дубового шелкопряда при разных кормовых режимах (n = 30)**

| Кормовая линия | Фаза развития       | Белок, % сухой массы |          | Триглицериды (разб. 1:1), моль/л |           | Глюкоза (разб. 1:1), моль/л |           |
|----------------|---------------------|----------------------|----------|----------------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|
|                |                     | 20* мин              | контроль | 20* мин                          | контроль  | 20* мин                     | контроль  |
| Березовая      | Гусеница V возраста | **<br>15,6±0,4       | 11,0±0,2 | **<br>5,67±0,21                  | 5,12±0,29 | **<br>3,82±0,16             | 2,80±0,17 |
|                | Куколка             | **<br>12,7±0,2       | 9,3±0,1  | **<br>5,89±0,22                  | 5,36±0,15 | **<br>2,76±0,19             | 1,96±0,16 |
| Ивовая         | Гусеница V возраста | **<br>12,8±0,2       | 9,9±0,1  | **<br>4,83±0,37                  | 4,51±0,21 | **<br>3,55±0,26             | 2,54±0,28 |
|                | Куколка             | **<br>7,8±0,1        | 6,5±0,1  | **<br>5,24±0,14                  | 4,84±0,13 | **<br>2,12±0,13             | 1,73±0,18 |

**Примечание:** \* 20 мин – оптимальный вариант выдержки грены в водном экстракте коры дуба; контроль – необработанная грана; \*\* – достоверность различий Р < 0,05.

Таблица 3

**Изменение активности каталазы гусениц V возраста дубового шелкопряда под воздействием экстракта коры дуба на разных кормовых растениях (n = 30)**

| Кормовое растение | Вариант опыта | Активность каталазы, мкмоль/л |
|-------------------|---------------|-------------------------------|
| Береза            | 20 мин        | 0,39±0,03*                    |
|                   | Контроль      | 0,28±0,06                     |
| Ива               | 20 мин        | 0,24±0,01*                    |
|                   | Контроль      | 0,18±0,02                     |

**Примечание:** \* – достоверность различий Р < 0,05.

Таблица 4

**Активность некоторых ферментов гемолимфы куколок дубового шелкопряда в зависимости от воздействия экстракта коры дуба и кормового растения (n = 30)**

| Кормовая линия | Вариант опыта | Активность ферментов         |                               |                                 |                             |
|----------------|---------------|------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
|                |               | γ-глутамил-трансфераза, ед/л | аланинамино-трансфераза, ед/л | аспартат-аминотрансфераза, ед/л | панкреатин-амилаза, ммоль/л |
| Березовая      | 20 мин        | 39,61±1,21*                  | 61,25±3,71*                   | 76,46±7,13*                     | 19,52±2,08*                 |
|                | Контроль      | 30,0±1,42                    | 42,63±5,29                    | 53,28±5,21                      | 13,61±0,97                  |
| Ивовая         | 20 мин        | 32,56±1,23*                  | 38,28±4,48*                   | 39,37±2,52*                     | 17,71±0,91*                 |
|                | Контроль      | 21,19±1,51                   | 21,54±2,80                    | 22,73±1,95                      | 14,15±0,77                  |

**Примечание:** \* – достоверность различий Р < 0,05.

Следовательно, различие химизма листа кормовых растений оказывает значительное влияние на содержание в гемолимфе дубового шелкопряда белковых соединений и почти не влияет на уровень содержания в гемолимфе триглицеридов и глюкозы. Воздействие же биологически активных веществ водного экстракта коры дуба проявляется в количественном увеличении содержания триглицеридов и глюкозы в гемолимфе гусениц и куколок как на березе, так и на иве по сравнению с контролем, но не меняет установленных выше положений о характере изменений количества этих соединений в гемолимфе при превращении гусеницы в куколку и в зависимости от кормового растения. Для более полной характеристики воздействия экстракта коры дуба на течение физиологических процессов в организме шелкопряда определялась активность не-

ници и куколок как на березе, так и на иве по сравнению с контролем, но не меняет установленных выше положений о характере изменений количества этих соединений в гемолимфе при превращении гусеницы в куколку и в зависимости от кормового растения. Для более полной характеристики воздействия экстракта коры дуба на течение физиологических процессов в организме шелкопряда определялась активность не-

которых ферментов в гемолимфе и гомогенатах гусениц и куколок дубового шелкопряда. Полученные данные по активности каталазы суммированы в табл. 3.

Каталаза – важнейший окислительный фермент, отражающий уровень обмена веществ и реагирующий на состав кормового субстрата. Из данных табл. 3 следует, что уровень активности каталазы у опытных гусениц выше, чем у контрольных, как на березе, так и на иве, что является еще одним подтверждением повышения уровня обмена веществ у дубового шелкопряда под воздействием экстракта коры дуба, который, согласно всем вышеуказанным характеристикам жизнеспособности и продуктивности дубового шелкопряда, можно назвать биостимулятором. В то же время установленное нами различие активности каталазы в зависимости от кормового растения четко прослеживается и указывает на большую пригодность листа березы, чем листа ивы, для разведения дубового шелкопряда в условиях Беларуси, так как уровень содержания каталазы у гусениц при питании листом березы выше, чем при питании листом ивы, как в опыте (на 62,5%), так и в контроле (на 55,5%).

Итак, дубовый шелкопряд при питании листом березы имеет более высокий уровень активности каталазы, чем при питании листом ивы, но под воздействием биостимулятора (экстракта коры дуба) активность каталазы возрастает, причем на березе в большей степени, чем на иве, т.е. различие в активности каталазы на разных кормовых растениях сохраняется, несмотря на влияние биостимулятора. Куколка китайского дубового шелкопряда зимует в состоянии диапаузы и содержит уникальный малоисследованный набор ферментов.

Поэтому полученные нами данные о ферментативной активности  $\gamma$ -глутамилтрансферазы, аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, панкреатинамилазы, кроме выявления степени воздействия экстракта коры дуба на процессы развития и биологическую продуктивность дубового шелкопряда, имеют самостоятельную научную ценность. Данные об активности вышеуказанных ферментов гемолимфы куколок шелкопряда приведены в табл. 4.

Фермент  $\gamma$ -глутамилтрансфераза играет важную роль в процессах метаболизма, отвечает за биосинтез разнообразных  $\gamma$ -глутамилпептидов в живых организмах, в определенных условиях может осуществлять и гидролитическую функцию, содержится в различных тканях млекопитающих и более низкоорганизованных животных

[9]. Так, у тутового шелкопряда этот фермент найден в стенке кишечника, жировом теле, шелкоотделительной железе, глазных тканях, в зародыше и других тканях, причем в каждой из них активность фермента достигает максимальных значений в определенный период развития насекомого [9].

Немногочисленные исследования изменения активности  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в онтогенезе позволяют выявить особенность фермента: резкую активацию его деятельности в периоды интенсивного развития и становления организма при его радикальной перестройке. Например, у домовой мухи резкий скачок активности фермента наблюдали в конце личиночной фазы развития: активность фермента удваивалась к моменту превращения личинки в куколку, продолжая расти в последующие 1–2 ч, после чего падала столь же резко и окончательно исчезала в течение 24 ч [10]. Эти наблюдения позволили предположить, что  $\gamma$ -глутамилтрансфераза служит для создания фонда определенных аминокислот в виде их  $\gamma$ -глутамильных производных, которые необходимы организму для реализации последующих стадий развития.

Детальный анализ  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в онтогенезе был осуществлен в организме тутового шелкопряда [9]. Пики активности фермента наблюдались в периоды зарождения тканей, накануне линьки и в периоды полового созревания и достаточно определенно указывали на связь между функционированием фермента и такими важными в жизни насекомого моментами, как линька, тканевая дифференцировка и репродуктивные процессы.

Все вышеуказанное свидетельствует о важной роли  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в обмене веществ живых организмов и насекомых в частности. Поэтому впервые проделанное нами определение активности  $\gamma$ -глутамилтрансферазы в гемолимфе куколок дубового шелкопряда само по себе важно, а прослеживание изменений ее активности под воздействием разнокачественного корма и биостимулятора повышает научную ценность полученных результатов. Итак, в гемолимфе диапаузирующих куколок дубового шелкопряда  $\gamma$ -глутамилтрансфераза есть, и она сохраняет свою довольно высокую активность. Согласно нашим данным по активности каталазы (табл. 3), обработка греши дубового шелкопряда водным экстрактом коры дуба повышает уровень обмена веществ насекомого как на березе, так и на иве, о чем свидетельствуют и данные об активности  $\gamma$ -глутамилтрансферазы (табл. 4).

Таблиця 5

## Влияние обработки гренни водным экстрактом почек бересклета повислой на жизнеспособность и продуктивность дубового шелкопряда

| Кормовое<br>растение | Показатель  | Варианты экспозиции, мин |            |            | Контроль<br>(необработанная<br>гренна) |
|----------------------|---|--------------------------|------------|------------|--|
|                      |   | 5                        | 10         | 20         |  |
| Ива                  | Оживление гренни, %                                 | 90,33±1,63               | 93,74±2,15 | 95,37±1,19 | 96,02±2,61                             |
|                      | Выживаемость гусениц<br>абсолютная, % к контролю    | 74,41±1,12               | 78,31±2,61 | 82,66±2,15 | 82,51±1,33                             |
|                      | Выживаемость гусениц<br>относительная, % к контролю | 105,70                   | 111,20     | 117,84     | 117,20                                 |
|                      | Масса кокона, г (самки)                             | 7,04±0,12                | 7,15±0,17  | 7,39±0,11  | 7,42±0,11                              |
|                      | Масса кокона, г (самцы)                             | 4,81±0,18                | 4,91±0,10  | 5,43±0,15  | 5,49±0,12                              |
|                      | Масса шелковой оболочки,<br>г (самки)               | 0,65±0,01                | 0,72±0,07  | 0,91±0,05  | 0,92±0,06                              |
|                      | Масса шелковой оболочки,<br>г (самцы)               | 0,54±0,02                | 0,61±0,05  | 0,79±0,03  | 0,77±0,08                              |
|                      | Шелкonoсность коконов,<br>% (самки)                 | 11,22±0,25               | 12,42±0,38 | 14,54±0,41 | 14,04±0,37                             |
|                      | Шелкonoсность коконов,<br>% (самцы)                 | 9,23±0,15                | 10,07±0,25 | 12,31±0,41 | 12,39±0,12                             |
|                      | Оживление гренни, %                                 | 89,05±1,35               | 92,98±1,03 | 96,32±1,50 | 96,12±1,53                             |
| Береска              | Выживаемость гусениц<br>абсолютная, % к контролю    | 68,33±1,33               | 31,92±1,71 | 90,61±1,73 | 89,71±1,96                             |
|                      | Выживаемость гусениц<br>относительная, % к контролю | 108,3                    | 129,8      | 143,6      | 142,2                                  |
|                      | Масса кокона, г (самки)                             | 7,16±0,05                | 7,35±0,03  | 7,75±0,07  | 7,64±0,08                              |
|                      | Масса кокона, г (самцы)                             | 5,22±0,03                | 5,16±0,05  | 5,71±0,04  | 5,68±0,03                              |
|                      | Масса шелковой оболочки,<br>г (самки)               | 0,73±0,03                | 0,79±0,01  | 0,98±0,01  | 0,95±0,02                              |
|                      | Масса шелковой оболочки,<br>г (самцы)               | 0,61±0,02                | 0,66±0,01  | 0,82±0,03  | 0,81±0,01                              |
|                      | Шелкonoсность коконов,<br>% (самки)                 | 10,21±0,12               | 10,74±0,13 | 12,64±0,10 | 12,43±0,31                             |
|                      | Шелкonoсность коконов,<br>% (самцы)                 | 11,49±0,15               | 12,79±0,12 | 14,36±0,26 | 14,08±0,16                             |
|                      |   |                          |            |            | 11,52±0,08                             |

На березе активность фермента  $\gamma$ -глутамилтрансферазы повышается на 9,6 ед/л по сравнению с контролем, на иве – на 11,3 ед/л. Также четко устанавливается зависимость уровня активности  $\gamma$ -глутамилтрансферазы от вида кормового растения. На березе активность фермента как в опыте, так и в контроле превышает аналогичные показатели на иве приблизительно на 7–9 ед/л. Таким образом, анализ активности одного из важнейших ферментов белкового обмена дубового шелкопряда в зависимости от воздействия экстракта коры дуба и вида кормового растения показал, что активность  $\gamma$ -глутамилтрансферазы закономерно возрастает как под воздействием биостимулятора, так и под воздействием более благоприятного для развития насекомого химизма листа березы повислой. Экспериментальные данные, приведенные в табл. 4, показывают, что активность аланинаминотрансферазы – фермента синтеза глицина и аланина – значительно выше в гемолимфе куколок, полученных из греен, обработанной экстрактом коры дуба, чем в гемолимфе контрольных куколок. Согласно данным М.И. Жуковой и соавт. [11], чем выше метаболический потенциал организма дубового и тутового шелкопрядов (объема шелкопродукции), тем выше активность ферментов синтеза глицина и аланина. Следовательно, повышение активности аланинаминотрансферазы у опытных куколок также указывает на повышение уровня обмена веществ в организме дубового шелкопряда под воздействием экстракта и согласуется с данными об увеличении шелкопродукции (массы кокона и его шелконосности) (табл. 1). Видовые отличия березы и ивы по питательности листа влияют на активность аланинаминотрансферазы. На иве она уменьшается по сравнению с березой почти на 20 ед/л. Аспартатаминотрансфераза – фермент синтеза аспаргиновой кислоты, кроме этого он играет важную роль в обмене аминокислот, осуществляя связь через  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту между белковым, углеводным и жировым обменами. Чем выше активность аспартатаминотрансферазы в тканях тутового шелкопряда, тем интенсивнее идут процессы обмена веществ в организме [12]. Сопоставления биологических показателей дубового шелкопряда (табл. 1) с активностью аспартатаминотрансферазы (табл. 4) показали, что самые высокие значения жизнеспособности (выживаемости яиц и гусениц) и продуктивности (массы коконов, шелконосности) дубового шелкопряда согласуются с самой высокой активностью этого фермента в варианте опыта 20 мин по сравнению с контролем. Активность данного фермента также чутко реагирует на химический состав кормового

растения. Активность аспартатаминотрансферазы резко уменьшается (почти на 30 ед/л) при выращивании дубового шелкопряда на иве по сравнению с кормлением шелкопряда листом березы.

Активность панкреатинамилазы гемолимфы как опытных, так и контрольных куколок отличается незначительно. Этот фермент, согласно нашим данным, в наименьшей степени реагирует на изменение условий питания и воздействие биологически активных веществ экстракта на организм дубового шелкопряда по сравнению с другими изученными ферментами.

Воздействие экстракта коры дуба при 20-минутной выдержке греен приводит на иве к возрастанию выживаемости греен на 13,0%, гусениц – на 18,0%, массы коконов – на 30%; на березе соответственно грены – на 15,0%, гусениц – на 45,0%, коконов – на 35% по сравнению с контролем. Вид кормового растения оказывает значительное влияние на содержание в гемолимфе дубового шелкопряда белковых соединений и почти не влияет на уровень содержания в гемолимфе триглицеридов и глюкозы. Воздействие же биологически активных веществ водного экстракта коры дуба проявляется в количественном увеличении содержания белка, триглицеридов и глюкозы в гемолимфе гусениц и куколок как на березе, так и на иве по сравнению с контролем (табл. 5).

Повышение активности каталазы,  $\gamma$ -глутамилтрансферазы, аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в гемолимфе куколок указывает на повышение уровня обмена веществ в организме дубового шелкопряда под воздействием экстракта коры дуба, причем на березе активность ферментов возрастает в большей степени, чем на иве, и различие в активности ферментов сохраняется при воздействии биостимулятора.

Применение для обработки греен шелкопряда экстракта почек березы дало хорошие результаты. Анализ результатов применения обработки греен водным экстрактом почек березы при выращивании гусениц на срезанных ветвях березы (табл. 5), как наиболее перспективного кормового растения дубового шелкопряда в Беларуси, показал, что предложенный способ повысил шелконосность коконов самок на 2,28%, самцов – на 3,84% по сравнению с контролем (вариант опыта – 20 мин). Полученные нами данные свидетельствуют также о том, что обработка греен шелкопряда водным экстрактом почек березы с экспозицией 20 мин обеспечила высокий уровень оживления греен, который вырос по сравнению с контролем на 26,5%. Наблюдалось также зна-

чительное увеличение массы коконов самок на 10,0%, самцов – на 17,4% по сравнению с контролем. При применении 5–10-минутной экспозиции экстракта на грену шелкопряда вышеуказанные показатели были выше контрольных, но ниже, чем при 20–30-минутной экспозиции.

Использование данного способа обработки грены при выкармливании гусениц листом ивы (табл. 5) также дало более высокие значения вышеуказанных показателей по сравнению с контролем. Если же сравнить результаты воздействия на продуктивность дубового шелкопряда этих двух способов обработки грены (табл. 1, 5) по варианту экспозиции – 20 мин, то применение экстракта почек бересклета увеличивает значение всех показателей на иве примерно так же, как и обработка грены корой дуба. На березе использование экстракта почек бересклета повислой увеличивает шелконосность коконов самок на 1,3%, шелконосность коконов самцов – на 1,68% по сравнению с обработкой грены экстрактом коры дуба.

**Заключение.** Таким образом, оба способа обработки грены дубового шелкопряда, опробованные в Беларуси, эффективны, так как приводят к увеличению выживаемости шелкопряда и возрастанию его продуктивности на нетрадиционных кормовых растениях – березе и иве.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Денисова, С.И. Теоретические основы разведения китайского дубового шелкопряда в Беларуси: монография / С.И. Денисова. – Минск: УП «Технопринт», 2002. – 233 с.
- Синицкий, Н.Н. Разведение дубового шелкопряда / Н.Н. Синицкий [и др.]; под общ. ред. Н.Н. Синицкого. – Киев, 1952.
- Способ обработки грени шелкопряду: а. с. СССР. Кл. А01К67/04 / Т.Б. Арефінська, М.Л. Алексеніцер. – № 1780674; заявл. 08.08.94; № 94086564; опубл. 28.02.97 // Бюл. 1.
- Тамарина, Н.А. Основы технической энтомологии / Н.А. Тамарина. – М., 1990.
- Способ приготовления корма для дубового шелкопряда: а. с. СССР, кл. А.01 К 67/04 / В.А. Радкевич, Т.М. Роменко, С.И. Денисова, З.Н. Соболь. – № 1015874; заявл. 27.10.81; № 3349456; опубл. 7 мая 1983 г.
- Филиппович, Ю.Б. Практикум по общей биохимии / Ю.Б. Филиппович, Т.А. Егорова, Г.А. Севастьянова. – М.: Просвещение, 1983. – 318 с.
- Денисова, С.И. Трофическая специализация дендрофильных чешуекрылых: монография / С.И. Денисова. – Витебск: Изд-во УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2006. – 217 с.
- Демяновский, С.Я. Жиры в организме дубового шелкопряда / С.Я. Демяновский, В.А. Зубова // Биохимия. – 1956. – Т. 21, вып. 6. – С. 676–682.
- Горленко, В.А.  $\gamma$ -глутамилтрансфераза, свойства и роль в обмене веществ / В.А. Горленко, Ю.Б. Филиппович // Успехи современной биологии, 1979. – Т. 88, вып. 3(6). – С. 367–385.
- Корниш-Боудэн, Э. Основы ферментативной кинетики / Э. Корниш-Боуден. – М., 1976.
- Жукова, Н.И. Активность ферментов синтеза глицина и аланина в тканях и органах тутового и дубового шелкопрядов и связь их с шелкообразованием / Н.И. Жукова, С.М. Клунова, Ю.Б. Филиппович // Журнал общей биологии. – 1975. – Т. 36. – № 2. – С. 297–301.
- Санкина, Т.М. Биохимия насекомых / Т.М. Санкина, Т.А. Егорова, Ю.Б. Филиппович // Сб. статей МГПИ им. В.И. Ленина. – М., 1975. – Вып. 18. – С. 177–186.

#### REFERENCES

- Denisova S.I. Teoreticheskiye osnovi razvedeniya kitaiskogo dubovogo shelkopriada v Belarusi. Monografiya [Theoretical Bases for Chinese Oak Silkworm Breeding in Belarus. Monograph], Mn., UP «Tekhnoprint», 2002, 233 p.
- Sinitski N.N. Razvedeniye dubovogo shelkopriada [Oak Silkworm Breeding], Kiyev, 1952.
- Aretinska T.B., Alekseenitser M.L. Sposob obrobkigreni shovkopriadu [Way of Silkworm Gren Treatment], A.s. SSSR. Kl. AO1K67/04, № 1780674, zayavl. 08.08.94, № 94086564, 28.02.97. Bul. 1.
- Tamarina N.A. Osnovi tekhnicheskoi entomologii [Bases of Technical Entomology], M., 1990.
- Radkevich V.A., Romenko T.M., Denisova S.I., Sobol Z.N. Sposob progotovleniya korma dlja dubovogo shelkopriada [Way of Making Oak Silkworm Fodder. Certificate of Authorship], Avt. Svid. SSSR, kl. A.01 K 67/04, № 1015874, zayavl. 27.10.81, № 3349456, 7 maya 1983 g.
- Filippovich Yu.B., Yegorova T.A., Sevastyanova G.A. Praktikum po obshchey biokhimii [Practice Book on General Biochemistry], M., Prosveshcheniye, 1983, 318 p.
- Denisova S.I. Troficheskaya spetsializatsiya dendrofilnikh cheshuerekrylykh. Monografiya [Trophy Specialization of Dendrophil Lepidoptera. Monograph], Vitebsk, Izd-vo UO «VGU im. P.M. Masherova», 2006, 217 p.
- Demianovki S.Ya., Zubova V.A. Biokhimiya [Biochemistry], 1956, 21(6), pp. 676–682.
- Gorlenko V.A., Filippovich Yu.B. Uspekhi sovremennoi biologii [Successes of Contemporary Biology], 1979, 88, 3(6), pp. 367–385.
- Kornish-Bouden E. Osnovi fermentativnoi kinetiki [Basics of Enzyme Kinetics], M., 1976.
- Zhukova N.I., Klunova S.M., Filippovich Yu.B. Zhurnal obshchey biologii [Journal of General Biology], 1975, 36(2), pp. 297–301.
- Sankina T.M., Yegorova T.A., Filippovich Yu.B. Biokhimiya nasekomikh Sb. Statei MGPI im. V.I. Lenina [Biochemistry of Insects. Collection of Articles], M., 1975, 18, pp. 177–186.

Поступила в редакцию 30.09.2016

Адрес для корреспонденции: e-mail: kzoolog@vsu.by – Денисова С.И.