

УРОВЕНЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭНДОГЕННЫХ АКТИВАТОРОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ МЕМБРАН У РАЗНЫХ ВОЗРАСТОВ ГУСЕНИЦ НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА

© 2009 В.И. Пономарев, Е.М. Андреева, Н.В. Шаталин, Г.И. Клобуков,
Т.М. Стрельская
Ботанический сад УрО РАН, г. Екатеринбург

Снижение общей эндогенной активности активаторов свободно-радикальных процессов в связи с холодными периодами во время питания гусениц непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) позволило установить более высокую потребность в экзогенных активаторах у гусениц младших возрастов по сравнению со старшими.

Ключевые слова: непарный шелкопряд, эндогенные активаторы, перекисное окисление липидов

Дефолиация лесных насаждений, периодически происходящая при вспышках массового размножения лесных насекомых филлофагов, в отдельных случаях наносит им серьезный ущерб. Установление ключевых факторов, способствующих массовому размножению этих видов, является одной из задач лесной энтомологии. Одним из факторов высокого уровня выживания является степень соответствия условий питания потребностям гусениц разных возрастов.

Для гусениц непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) оптимальной среднесуточной температурой развития является 20-25⁰С. При более низких температурах снижается общая активность особей, падает скорость роста и синхронность развития. Температура 10⁰С является пороговой, при которой развитие гусениц прекращается [3]. Согласно литературным данным, холодовой стресс при длительных воздействиях вызывает физиологические и биохимические изменения в процессах

жизнедеятельности организма. Одним из таких последствий является увеличение образования активных форм кислорода, участвующих в процессах перекисного окисления липидов мембран (ПОЛ). По мнению многих авторов [5], ПОЛ является ключевым механизмом регуляции функционирования мембран, в связи с чем изменение активности этих процессов может влиять на устойчивость организма к холодному стрессу.

Во время вспышки массового размножения непарного шелкопряда в зауральской популяции (с 2005 г. по настоящее время), трижды в период питания гусениц устанавливались длительные периоды аномально низких температур (2006-2008 гг.).

Целью исследования было изучение влияния стрессовых факторов (низких температур) на успешность развития разных возрастов дочернего поколения гусениц, в том числе в зависимости от наличия в корме экзогенного катализатора свободно-радикальных процессов.

Объект и методика. Яйцекладки ежегодно (2005-2008 гг.) собирались в березовых насаждениях Каменск-Уральского района Свердловской области, близ п. Покровское. Выращивание гусениц непарного шелкопряда в лабораторных условиях проводилось в групповом режиме при постоянной температуре 27⁰С и влажности воздуха 60%. В каждом варианте начальное

Пономарев Василий Иванович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией. E-mail: v_i_ponomarev@mail.ru

Андреева Елена Михайловна, кандидат биологических наук, научный сотрудник

Шаталин Николай Владимирович, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник

Клобуков Георгий Игоревич, аспирант

Стрельская Татьяна Михайловна, соискатель

количество гусениц было не менее 100 особей. Гусеницы питались стандартной искусственной питательной среде (ИПС) [4] и ИПС с добавлением кристаллогидрата сульфата железа ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) из расчета 150 мг на 500 г среды. Для изучения характера влияния ионов железа на показатели развития гусениц в зависимости от возраста, проводилось отсаживание части гусениц в равных долях, изначально выращивавшихся на ИПС с добавлением ионов железа, на стандартную ИПС после выхода на каждый последующий возраст до пятого возраста включительно. Учитывали продолжительность развития гусениц и смертность, в том числе от каннибализма. В последних возрастах рассчитывали показатели питания [1]. Определение содержания каротиноидов в гусеницах проводилось по стандартной методике. Измерения проводились не спектрофотометре СФ-46, точность измерения 0,001.

Результаты и обсуждение. Гусеницы, выращенные из кладок 2005 г. в лабораторных условиях на стандартной ИПС, показали очень высокий уровень жизнеспособности, высокие скорость развития и массу куколок [1]. При выращивании гусениц из кладок 2007 и 2008 гг. отмечалось значительное снижение скорости развития гусениц, массовый каннибализм, достигавший 80-95% от всей выборки, появление дополнительных возрастов (с обычных 5 до 8 у самцов и с 6 до 10 и самок). В связи с тем, что очень часто каннибализм заключался только в съедании кутикулы и гиподермы, где сосредоточено большое количество эумеланина (активатора свободно-радикальных процессов) нами было сделано заключение, что он может быть обусловлен недостатком эндогенных катализаторов свободно-радикальных процессов. Резкое снижение адаптированности гусениц, чье родительское поколение пережило длительные холодные периоды в период питания, к стандартной ИПС в таком случае должно было быть обусловлено значительным снижением количества эндогенных активаторов свободно-радикальных процессов, в частности, оксигеназ. По мнению Г.В. Беньковской [2], повышение

фенолоксидазной активности при температурном стрессе указывает на включение антиоксидантных механизмов, опосредованных через фенольные соединения.

По мнению ряда авторов ПОЛ может регулироваться как эндогенными так и экзогенными агентами. В роли антиоксидантов могут выступать каротиноиды и аскорбаты. В [6] кроме антиоксидантной активности каротиноидов отмечается их прооксидантная роль, заключающаяся в способности переводить ионы Fe^{3+} в активную двухвалентную форму (Fe^{2+}). В свою очередь ионы металлов (в том числе и Fe^{2+}) способны индуцировать ПОЛ через инициализацию свободно-радикальных процессов. Было предположено, что баланс между этими разнонаправленными процессами так же участвует в регуляции ПОЛ.

Добавление ионов железа в среду привело к полной ликвидации негативных эффектов. Проведенный нами анализ концентрации каротиноидов в теле гусениц, питавшихся на разных вариантах ИПС, показал, что гусеницы, питавшиеся на стандартном корме, при той же массе накапливали в теле большее количество каротиноидов, чем гусеницы, питавшиеся на среде с добавлением FeSO_4 , а так же набирали значительно меньшую массу к 5 возрасту. При переводе гусениц с ИПС, содержащей FeSO_4 , на обычную в любом возрасте, общая скорость роста была выше, чем при изначальном питании на стандартном корме. Однако, у гусениц, переведенных на стандартную ИПС после выхода на второй возраст, начиная с четвертого возраста, вновь начал отмечаться каннибализм, достигавший 20%, наблюдалось замедление развития по сравнению с другими вариантами (пересадка на стандартную ИПС в 3-5 возрастах), появление дополнительных возрастов. Общая продолжительность развития гусениц, отсаженных на стандартную ИПС с третьего по пятый возраст, не различалась. Эти данные свидетельствуют о том, что наибольшая потребность в экзогенных активаторах свободно-радикальных процессов у гусениц непарного шелкопряда отмечается в младших возрастах.

В то же время при питании на ИПС с сульфатом железа до окукливания зафиксирована значительно более высокая доля темных гусениц (до 80%) по сравнению с гусеницами, питавшихся в старших возрастах на обычной ИПС (около 40%), что указывает на большую активность в этом варианте ДОФА-оксидазы, выводящей из организма избыток свободных радикалов. На более высокую активность эндогенных ферментов, регулирующих ПОЛ, указывает и резкое (в 1,5-1,6 раза) снижение использования усвоенного корма на прирост массы у гусениц старших возрастов.

Вывод: снижение общей эндогенной активности активаторов свободно-радикальных процессов в связи с холодными периодами во время питания гусениц непарного шелкопряда позволило установить более высокую потребность в экзогенных активаторах у гусениц младших возрастов, по сравнению со старшими.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Андреева, Е.М. Морфофизиологические и трофические характеристики гусениц непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L.
2. Беньковская, Г.В. Стресс-реакция как механизм реализации адаптивного потенциала особей и популяций насекомых // Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Уфа, 2009. – 42 с.
3. Воронцов, А.И. Биологические основы защиты леса. М.: Высш. школа, 1963. – 320 с.
4. Ильиных, А.В. Оптимизированная искусственная среда для культивирования непарного шелкопряда (*Opnergia dispar* L.) // Биотехнология. – 1996. - № 7. – С. 42-43.
5. Сорокина, И.В. Роль фенольных антиоксидантов в повышении устойчивости органических систем к свободно-радикальному окислению / И.В. Сорокина, А.П. Крысин, Т.Б. Хлебникова, В.С. Кобрин, Л.И. Попова // Новосибирск, 1997. – 67 с.
6. Polyakov, N.E. Carotinoides as scavengers of free radicals in a fenton reaction: antioxidants or pro-oxidants? / N.E. Polyakov, T.V. Leshina, T.A. Konovalova, L.D. Kispert // Free Radical Biology & Medicine. – 2001. – Vol. 31, No. 3. – P. 398-404.

LEVEL OF EFFICIENCY OF ENDOGENIC ACTIVATORS OF PEROXIDE LIPID OXIDATION OF MEMBRANES AT DIFFERENT AGE OF UNPAIRED SILKWORM CATERPILLARS

© 2009 V.I. Ponomarev, E.M. Andreeva, N.V. Shatalin, G.I. Klobukov, T.M. Strelskaya
Botanic Garden UB RAS, Ekaterinburg

Decrease in the general endogenic activity of activators of free-radical processes in connection with the cold periods during feeding of unpaired silkworm mulberry-fed caterpillars (*Lymantria dispar* L.) has allowed to establish higher need for exogenous activators at caterpillars of minor age in comparison with seniors.

Key words: unpaired silkworm, endogenic activators, peroxide lipid oxidation

Vasily Ponomarev, Doctor of Biology, Head of the Laboratory. E-mail: v_i_ponomarev@mail.ru
Elena Andreeva, Candidate of Biology, Research Fellow
Nikolay Shatalin, Candidate of Biology, Minor Research Fellow
Georgiy Klobukov, Graduate Student
Tatyana Strelskaya, Graduate Student