

УДК 638.2:621.386

© 1999 г. Е. А. БОЙКО, О. А. ШАЛАМОВА, В. М. ЛИТВИН<sup>1)</sup>

**ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРНОГО ОБЛУЧЕНИЯ ГРЕНЫ НА НЕКОТОРЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА (*BOMBYX MORI L.*)**

Одним из важных аспектов использования лазера в медицине и сельском хозяйстве является биостимулирование – эффект, в результате которого происходят физиологические и биохимические сдвиги в клетках и тканях, позволяющие влиять на обмен веществ и улучшать некоторые показатели организма (Гамалея, 1981). Для выяснения механизмов действия лазера на биологические объекты интересно выявление эффектов стимулирования не непосредственно после воздействия, а спустя определенный промежуток времени. Облучая семена, исследователи получали увеличение всхожести, роста, урожайности растений (Звягинцева и др., 1976; Действие ..., 1976; Лахно и др., 1998), длины корневой системы (Бельский, Шахов, 1984).

В шелководстве известны работы, в которых воздействие светом He-Ne лазера при кратковременных экспозициях (до 2 минут) вызывало повышение жизнеспособности гусениц, массы кокона, количества коконов на коробку, длину нити и т. д. (Канарев, До Тхи Чам, 1985; Канарев, Греков, 1987; Греков, 1988). Так как в этих работах облучение отрицательно действовало на оживление грены, то авторы связывали увеличение изучаемых показателей с гибелью наименее жизнеспособных зародышей в грене. В то же время другими исследователями подобраны условия облучения, при которых происходит повышение оживления грены (Овесенка, Васильева, 1984). Известны также исследования, в которых обработка грены лазером вызывала увеличение жизнеспособности гусениц при больших экспозициях (5 и 20 минут) (Підвищення ..., 1998).

Таким образом, данные по стимулированию важных биологических показателей тутового шелкопряда противоречивы. Поэтому целью данного исследования было выяснение возможности и условий стимулирования биологических и хозяйственно важных признаков тутового шелкопряда под влиянием облучения He-Ne лазера.

**МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ**

Объектами исследования служили две породы тутового шелкопряда: Мер.-6 и Мер.-7, а также реципрокные гибриды F<sub>1</sub> Мер.-6×Мер.-7 и Мер.-7×Мер.-6. Грену пород и гибридов на 2-е сутки инкубации облучали He-Ne лазером при экспозиции 10 минут и плотности мощности 0,26 мВт/см<sup>2</sup>. В качестве контроля использовали необлученную грену тех же генотипов.

Учитывали показатели: дружность выхода "мурашей" из грены (дружность оживления грены), жизнеспособность гусениц, массу кокона, оболочки, куколки, шелконосность, плодовитость имаго и оплодотворенность грены, массу оплодотворенного яйца, ритмику кровообращения гусениц пятого возраста, гемоцитарную формулу.

Показатель дружности выхода "мурашей" (В) подсчитывали следующим образом. Ежедневно считали количество "мурашей", вышедших из яиц, а затем производили расчет по формулам:

$$B = \frac{\sum p(a)}{n} \text{ и } M = \frac{\sum pw}{n},$$

где w – день выхода гусениц, p – количество ожившей грены за каждый день, n – количество всей ожившей грены, a – разность между M и w.

Чем больше величина B, тем дружность оживления меньше (Михайлов, Ковалев, 1956).

Ритмику кровообращения учитывали на 5-е сутки пятого возраста, замечая время, за которое спинной кровеносный сосуд сократился 25 раз, а затем рассчитывали количество ударов в минуту.

Гемоцитарную формулу считали по стандартной методике (Злотин, 1989).

<sup>1)</sup> Авторы благодарят профессора В. Г. Шахбазова за консультации при проведении работы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таблица 1 обобщает данные, проведенных экспериментальных исследований.

Таблица 1

### Влияние лазерного облучения на биологические показатели тутового шелкопряда

Генотип	Вариант	Дружность выхода "мурашей"	Ритмика кровообращения спинного сосуда, удар/мин	Жизнеспособность гусениц, %
Мер.-6	контроль	0,209±0,017	47,52±0,59	51,83
	опыт	0,354±0,040 **	48,07±0,44	32,77 **
Мер.-7	контроль	0,360±0,045	47,81±0,35	76,34
	опыт	0,361±0,034	47,36±0,30	59,56 **
Мер.-6×Мер.-7	контроль	0,311±0,047	48,58±0,39	57,05
	опыт	0,439±0,106	48,85±0,28	54,93
Мер.-7×Мер.-6	контроль	0,497±0,028	45,07±0,44	41,67
	опыт	0,397±0,045	50,20±0,58 **	27,85

Примечание: \* –  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$ ; \*\*\* –  $P < 0,001$  (по критерию Стьюдента);

\*\* –  $P < 0,01$  (по критерию  $\chi^2$ )

Как видно из таблицы, облучение грены лазером привело к неоднозначным изменениям дружности выхода "мурашей" у разных генотипов. Если у гибрида Мер.-6×Мер.-7 наблюдалась тенденция к уменьшению изучаемого показателя, то у породы Мер.-6 он снизился на 69,38% ( $P < 0,01$ ). В то же время оживление грены Мер.-7×Мер.-6 после облучения происходило дружнее, по сравнению с контрольным значением, что позволяет говорить о тенденции к увеличению оживления под влиянием лазерного облучения данного режима на развитие этого генотипа.

Показатель частоты сокращений спинного сосуда гусениц, выращенных из грены, облучённой лазером, в большинстве случаев не претерпели заметных изменений. Лишь в случае с гибридом Мер.-7×Мер.-6 отмечено достоверное ( $P < 0,01$ ) увеличение изучаемого показателя на 11,38% по сравнению с контрольным вариантом. Кроме того, в варианте с облучением этот показатель у гибрида Мер.-7×Мер.-6 превышает значение лучшей родительской породы Мер.-6 на 4,43% ( $P < 0,01$ ).

Облучение грены привело к снижению жизнеспособности гусениц пород Мер.-6 и Мер.-7 на 36,77% ( $P < 0,01$ ) и 78,02% ( $P < 0,01$ ) соответственно, у гибридов же наблюдается только тенденция к снижению жизнеспособности.

В большинстве случаев лазерное облучение грены не оказало влияния на хозяйственно-ценные показатели выкармли данных генотипов. В тех вариантах, где влияние было выявлено, оно оказалось неоднозначным: у самцов породы Мер.-6 масса кокона увеличилась на 3,67% ( $P < 0,05$ ); у самок гибрида Мер.-6×Мер.-7 масса оболочки уменьшилась на 7,03% ( $P < 0,05$ ), масса кокона – на 5,40% ( $P < 0,05$ ), масса куколки – на 4,98% ( $P < 0,05$ ); у самцов породы Мер.-7 масса куколки уменьшилась на 5,10% ( $P < 0,001$ ).

Изучение репродуктивных показателей тутового шелкопряда (табл. 2) показало, что облучение грены не оказало достоверного влияния на плодовитость имаго, оплодотворённость грены и массу оплодотворенного яйца. Но, в отношении плодовитости имаго у всех изучаемых генотипов в опытных вариантах можно говорить о тенденции к увеличению этого показателя.

Следующий этап работы был проведен на клеточном уровне и заключался в исследовании влияния лазерного облучения грены на гемоцитарную формулу гусениц тутового шелкопряда. Результаты экспериментальных исследований приведены в таблице 3.

Данные таблицы свидетельствуют о значительных генотипических различиях между породами и гибридами по количеству пролейкоцитов и макронуклеоцитов. Так, в контроле количество пролейкоцитов у гибридов меньше, а макронуклеоцитов больше, чем у родительских пород. Для породы Мер.-6 это утверждение является достоверным. Количество пролейкоцитов у этой породы выше, чем у гибрида Мер.-6×Мер.-7 на 17,79% ( $P < 0,001$ ) и гибрида Мер.-7×Мер.-6 на 16,24% ( $P < 0,05$ ). Количество макронуклеоцитов у породы Мер.-6 ниже, чем у гибридов Мер.-6×Мер.-7 и Мер.-7×Мер.-6 на 17,13% ( $P < 0,05$ ) и 24,79% ( $P < 0,001$ ) соответственно. Снижение

количества незрелых клеток гемолимфы – пролейкоцитов, и повышение количества дифференцированных – макро-нуклеоцитов может служить подтверждением факта более интенсивного протекания процессов дифференцировки гемоцитарных клеток у гибридных гусениц.

Таблица 2

**Влияние облучения грены на репродуктивные показатели тутового шелкопряда**

Порода, гибрид	Вариант	Плодовитость имаго, шт	Оплодотворённость грены, %	Масса оплодотворённого яйца, мг
Мер.-6	контроль	660,80±25,83	96,76±0,69	0,635±0,009
	опыт	683,90±24,04	97,04±0,61	0,622±0,028
Мер.-7	контроль	686,20±20,39	95,23±1,60	0,637±0,013
	опыт	725,80±15,94	98,67±0,61	0,650±0,007
Мер.-6×Мер.-7	контроль	676,00±30,99	96,98±0,77	0,613±0,110
	опыт	706,20±19,01	95,86±1,36	0,593±0,090

Таблица 3

**Влияние лазерного облучения на гемоцитарную формулу тутового шелкопряда**

Генотип	Вариант	Про-лейкоциты	Макро-нуклеоциты	Микронук-леоциты	Фагоциты	Эозино-филы	Эно-цитойды
Мер.-6	контроль	39,49±1,46	31,22±3,49	24,52±4,32	2,59±2,59	1,37±0,98	0,71±0,43
	опыт	19,46±1,77***	59,70±2,28***	17,00±1,51	0,00±0,00	3,74±1,35	0,29±0,29
Мер.-7.	контроль	31,55±6,76	34,11±7,94	19,68±2,74	12,55±1,07	2,54±1,14	0,38±0,38
	опыт	21,81±2,51	48,51±3,81	23,11±2,27	0,00±0,00***	3,87±2,56	0,00±0,00
Мер.-6× Мер.-7	контроль	21,70±2,47	48,35±6,51	27,15±5,40	1,38±0,87	4,84±2,18	0,36±0,36
	опыт	24,55±1,46	51,68±4,47	19,96±8,15	0,00±0,00	4,58±1,11	0,00±0,00
Мер.-7× Мер.-6	контроль	23,25±6,45	56,01±4,10	18,21±3,34	0,00±0,00	2,78±1,30	0,00±0,00
	опыт	35,51±6,44	43,77±3,61*	15,36±3,62	0,00±0,00	5,36±1,27	0,00±0,00

Примечания: см. табл. 1.

Анализ гемоцитарной формулы у гусениц, полученных из грены, облученной лазером, показал следующее: параллельно с уменьшением доли пролейкоцитов соотношение форменных элементов у пород сдвинулось в сторону увеличения количества макро-нуклеоцитов. Так, у породы Мер.-6 под воздействием лазера количество пролейкоцитов уменьшилось на 20,03% ( $P < 0,001$ ), а макро-нуклеоцитов увеличилось на 28,48% ( $P < 0,001$ ) в сравнении с контролем. У гибридов наблюдалось обратное, то есть на фоне тенденции к повышению пролейкоцитов количество макро-нуклеоцитов снизилось. У гибрида Мер.-7×Мер.-6 это снижение достоверно: количество макро-нуклеоцитов уменьшилось на 12,24% ( $P < 0,05$ ). Возможно лазерное облучение грены несколько ускорило процессы дифференцировки гемоцитов у пород и приостановило его у гибридов.

**ВЫВОДЫ**

Полученные результаты показывают, что однократное облучение грены тутового шелкопряда светом He-Ne лазера с плотностью мощности 0,26 мВт/см<sup>2</sup> при экспозиции 10 минут не оказало достоверного влияния на изучаемые показатели. В ряде случаев облучение достоверно ухудшило дружность выхода "мурашей" на 69,38%, жизнеспособность пород на 16,78–19,06%, массу оболочки на 7,03%, массу кокона на 5,40%. В некоторых случаях, наоборот, наблюдался эффект повышения массы кокона на 3,67%, учащения ритмики кровообращения спинного сосуда на 11,38%.

Неоднозначность результатов данного исследования, по-видимому, связана с тем, что пока исследовался только один режим облучения, на который разные генотипы шелкопряда реагировали по-разному. Исследования при других режимах облучения планируется продолжить.

- Бельский А. И. Предпосевное лазерное облучение семян для ускоренного выращивания посадочного материала яблони // Биол. действие лазерного излучения. – Куйбышев: КГУ, 1984. – С. 9.
- Гамалея Н. Ф. Актуальные вопросы механизма биологического действия излучения лазеров // Применение методов и средств лазерной техники в биологии и медицине. – К.: Наукова думка, 1981. – С. 128–134.
- Греков Д. Испитване на някои методи за повишаване жизненоста при създаване на породи, линии и хибриди на копринената пеперуда (*Bombyx mori* L.): Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Институт «Васил Кодаров». – Пловдив; София, 1988. – 29 с.
- Действие лазерного излучения на семена риса / Е. П. Алешин, Г. И. Третьяков, П. И. Зима, В. В. Зайка // Проблемы биоэнергетики организма и стимуляция лазерным излучением. – Алма-Ата, 1976. – С. 129.
- Звягинцева М. К., Остапченко Э. А., Петрыкин А. Д. Эффективность облучения лазерным светом семян овощных культур // Проблемы биоэнергетики организма и стимуляция лазерным излучением. – Алма-Ата, 1976. – С. 136–137.
- Злотин А. З. Техническая энтомология. – К.: Наукова думка, 1989. – 184 с.
- Канарев Г., Греков Д. Влияние лазерного облучения на повышение устойчивости тутового шелкопряда (*Bombyx mori* L.) к полиэдрозу // Животноводство. – 1987. – Т. 32, кн. 4. – С. 137–146.
- Канарев Г., До Тхи Чам. Влияние на облъчването на бубени семена с лазерни лъчи върху развитието и продуктивността на копринената буба (*Bombyx mori* L.) // Животновъд. науки. – 1985. – 22, № 12. – С. 47–53.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
- Лахно В. И., Зворский В. И., Приемко А. А. Опыт релизации лазерных сельскохозяйственных технологий // Применение лазеров в медицине и биологии: X Межд. науч.-практ. конф. – Харьков, 1998. – С. 14–15.
- Михайлов Е. Н., Ковалев П. А. Селекция и племенное дело в шелководстве. – М, 1956. – С. 131–132.
- Овесенска Л., Васильева Й. Влияние от облъчване на породи от *Bombyx mori* L. на стадий яйце с He-Ne лазер на репродуктивните им признаци // Генетика и селекция (НРБ) – 1984. – 17, № 5. – С. 394–403.
- Підвищення життєздатності шовковичного шовкопряда під впливом He-Ne лазером / В. Г. Шахбазов, Л. М. Чепель, Н. Н. Григорьева, В. М. Литвин // V З'їзд Укр. ентомол. тов-ва. – К., 1998. – С. 184.

Институт шелководства УААН

Ye. A. BOYKO, O. A. SHALAMOVA, V. M. LITVIN

**THE INFLUENCE OF LASER IRRADIATION OF EGGS  
ON SOME BIOLOGICAL INDECES OF SILKWORM**

*Sericultural Institute, Ukrainian Academy of Agrarian Sciences*

SUMMARY

It has been revealed that laser irradiation of eggs produces an ambiguous effect on simultaniety of 'small caterpillars' hatching, viability, and spinal blood-vessels circulation rate of caterpillars, mass of cocoon and silk cover.