ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ НА КОЛОРАДСКОГО ЖУКА В СВЕТЕ ГИСТОПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Е. Б. ГОЛЬДИН
Крымский агротехнологический университет, г. Симферополь, п/о Аграрное, Крым. Тел./факс: 380 652 221389;
E-mail: Evgeny_goldin@mail.ru

Abstract. We have already discussed pathological effects of cyanobacteria on invertebrate organism in our papers. This study involved natural communities of Microcystis aeruginosa and Colorado potato beetle larvae of the second instar: food and insects taken separately and together were treated by 0.5% water suspension of cyanobacterial powder. The dynamics of inhibitory cyanobacterial action and histological alterations were observed in larvae during 7 days. The pathological process took place in midgut (epithelial hypersecretion, vacuolization, proliferation, degradation and desquamation), Malphigian tubes (caryolysis and desquamation in epithelium) and fat body (vacuolization and caryolysis) during the first 24 hours. During the following days these processes progressed (necrosis of midgut epithelium, muscle layer exposed and intestine wall destructed, total degradation and necrobiosis of fat body, dystrophy of Malphigian tubes), alterations in muscle fibres were observed (tissue homogenization, refining of fibres and dystrophy). Treatment of larvae caused the destruction of cuticle, hypoderm, respiratory system and subcuticular fat body. Complex treatment caused intense mortality.

Ключевые слова: цианобактерии, Microcystis aeruginosa, колорадский жук, биологическая активность, гистопатология.

Введение

Биологически активные вещества цианобактерий (синезеленых водорослей, Cyanoprocariota) и их роль в межвидовых отношениях, привлекают внимание специалистов и широких кругов населения, вызывая самые различные мнения. За последние годы зарегистрировано много примеров долгосрочных и многосторонних симбиотических, антагонистических и паразитических связей, существующих между цианобактериями и растительноядными членистоногими ("grazers") в естественных экосистемах и зависящих от комплексных биохимических взаимодействий. Результаты исследований показывают, что вторичные метаболиты цианобактерий выполняют защитную функцию, оказывая влияние на жизненные функции конкурентов и/или растительноядных организмов, вызывая стресс, репеллентный и детеррентный эффекты, но не всегда летальный эффект, и служат важным инструментом в построении межвидовых взаимоотношений

в водных экосистемах. насекомых является одним из наиболее важных и интересных разделов биологической науки. При этом гистопатологические исследования изменений, происходящих в организме фитофага под воздействием цианобактерий, позволяет выявить причины гибели и определить механизм межвидовых взаимодействий в природе.

С практической точки зрения биоцидные метаболиты цианобактерий могут быть источником препаратов для сельского хозяйства и медицины, предназначенных для биологического контроля численности вредных организмов, что представляет собой одну из наиболее перспективных тенденций в прикладном аспекте использования вторичных метаболитов.

Материалы и методы

Нами было проведено изучение патологического процесса у личинок колорадского жука второго возраста на протяжении семи суток. Личинки подвергались пероральному, контактному или смешанному воздействию 0,5%-ной суспензии высушенной тепловым способом природной популяции цианобактерий (98,0% *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenk.) из Днепра. Контрольные насекомые вели нормальный образ жизни и питались необработанным кормом. С первого по седьмой день через определенные интервалы (на первые, вторые, третьи, пятые и седьмые сутки) проводили параллельное изучение патоморфологического состояния органов и тканей тест-объектов.

Личинок, лишенных головной капсулы, фиксировали в растворе Буэна в течение 24 часов, а затем отмывали в 70˚ этаноле до его полной прозрачности. После промывки материал обезвоживали в последовательно сменяемых спиртах – 80˚, 90˚ (по три часа), 96˚, абсолютный (по 6-12 часов). Обезвоженный материал проводили через ряд смесей абсолютного спирта и ксилола (по 15-30 минут), а затем помещали на два часа в ксилол, после чего подвергали пропитыванию в смеси парафина с ксилолом (1:1) в термостате при 37˚С (два часа). Перед заливкой материал выдерживали в парафине, расплавленном при 57˚, в открытых чашках Петри. Парафин меняли дважды: первое пропитывание длилось три часа, а второе – два. Окончательную заливку осуществляли в специальных формочках.

Серию парафиновых срезов толщиной 5-6μ окрашивали гематоксилином по Бемеру с дополнительной окраской эозином. Наряду с общими методами окрашивания, в нашем исследовании применялись специальные: для выявления мышечных волокон – по Ван-Гизону, слизи – муцикармином, содержания полисахаридов и нейтральных мукополисахаридов – реактивов Шиффа (ШИК-реакция), кислых белков и кислых мукополисахаридов – толуидиновым синим в разведении 1:1000.

Результаты и обсуждение

Изучение общего состояния внутренних органов и покровов тест-объектов на протяжении экспериментов свидетельствует о существенных изменениях в организме, вызванных цианобактериями. Это влияние отражается практически на всех элементах строения личинок колорадского жука. Уже в первые 24 часа после начала питания обработанным кормом у многих насекомых в средней кишке происходит гиперсекреция эпителия, а в апикальных отделах начинается разрушение клеток. У отдельных особей эти процессы сопровождаются пролиферацией и десквамацией эпителия кишечника. В цитоплазме клеток жирового тела наблюдается распространенная крупно– и мелкокапельная вакуолизация, а в отдельных клетках – даже кариолизис. В мальпигиевых канальцах начинается десквамация единичных эпителиальных клеток. Остальные органы и ткани пока остаются незатронутыми.

В течение следующих суток получают развитие процессы гиперсекреции и пролиферации в базальных отделах эпителия средней кишки. На отдельных участках усиленно делящиеся клетки образуют куполообразные скопления под эпителиальным пластом. Продолжается десквамация эпителиальных клеток, оголяющая мышечную стенку кишечника. В клетках жирового тела уже преобладают крупные вакуоли, интенсивно протекает кариолизис, в результате которого образуются обширные участки безъядерных клеток. У некоторых клеток жирового тела гиперхромные ядра увеличиваются, приобретая неправильную форму. Поражается все больше клеток эпителия мальпигиевых сосудов – увеличивается число безъядерных клеток.

На вторые сутки патологические изменения появляются в мышечной ткани – происходит гомогенизация цитоплазмы и кариопикноз в миобластах. Наблюдается также гиперплазия и полиморфизм ганглиозных клеток.

На третьи сутки у большинства подопытных личинок эпителий средней кишки охвачен вакуолизацией, гиперсекрецией и пролиферацией, а у некоторых особей явно выражен некроз эпителиальных клеток и их десквамация с обнажением мышечного слоя. В клетках жирового тела продолжается патологическая вакуолизация. Их гиперхромные ядра с мелкораспыленным хроматином находятся в различном состоянии. В одних клетках они очерчены четко, в других – уплощены и сдвинуты к периферии, а в третьих – уже произошел кариопикноз и кариолизис, и в жировом теле заметно большое количество безъядерных клеток. В целом, жировое

тело находится на стадии начала дистрофии. Границы между клетками, в основном, сохраняются, но отмечена их тенденция к стиранию. Интенсивная гиперсекреция и пролиферация эпителия средней кишки в первоначальный период заражения могут быть расценены как защитная реакция организма на токсины цианобактерий.

По мере ослабления организма и снижения его сопротивляемости гиперсекреция и пролиферация в средней кишке как защитные механизмы на пятые и седьмые сутки выражены менее интенсивно. Но десквамация с обнажением мышечного слоя, дистрофические и некробиотические изменения становятся глубже.

Параллельно наблюдается деградация выделительной системы – мальпигиевых канальцев, очевидно связанная как с общей интоксикацией, так и поражением средней кишки – мальпигиевы сосуды впадают в просвет кишечника на границе средней и задней кишки.

Распад жирового тела частично связан с детеррентной активностью цианобактерий. По всей вероятности, в этом случае происходит не просто с сокращение жирового тела в объеме, но его дистрофия и некроз, что объясняется не только голоданием личинок, а также проникновением биологически активных веществ цианобактерий.

Общие изменения в пищеварительной и выделительной системах, возникающие при пероральном заражении, а также истощение насекомых, приводит к снижению их активности и дистрофии мышечных волокон. Однако обработка самих личинок тоже приводит к ряду патологических нарушений. В первые 24 часа у насекомых обнаруживаются очаговые изменения кутикулы, проявляющиеся в отслоении эпи– и экзокутикулы, кариолизисе и фрагментарном некрозе гиподермы.

Совместная обработка насекомых и корма резко меняет гистопатологическую картину, наблюдаемую при раздельном нанесении суспензии. Сочетание экзо– и эндогенного воздействия биологически активных веществ синезеленых водорослей вызывает значительно более глубокие поражения во всех органах насекомых, чем их пероральное попадание с кормом или наружная обработка в отдельности.

Поражение жизненно важных органов и невозможность их нормального функционирования приводят к гибели насекомых.

Выводы

1. Взаимоотношения цианобактерий и растительноядных организмов в природе носят сложный комплексный характер, что подтверждается результатами модельных опытов.

2. В комплексе взаимодействий цианобактерий и растительноядных

организмов доминирует детеррентная составляющая, но нельзя исключать и другие аспекты (ингибирующее действие токсинов).

3. Поверхностная обработка насекомых также приводит к тяжелым поражениям личинок.

4. Совместная обработка насекомых и корма вызывает значительно более глубокие поражения во всех органах насекомых, чем их пероральное попадание с кормом или наружная обработка в отдельности.