

Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 20 (59). 2007. № 4. С. 74-77.

УДК 578.23

ВЕРТИКАЛЬНАЯ ПЕРЕДАЧА ПОЛИЭДРОВ ВИРУСА ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА

Оберемок В.В.

Обнаружена трансовариальная передача полиэдров вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда. Вирусные полиэздры были найдены преимущественно внутри яйца, а не на его поверхности. Показано, что на стадии яйца большинство вирусных полиэдров расположено в прилегающей к зародышу дейтоплазме (желтке).

Ключевые слова: трансовариальная передача, вирусный полиэдр, яйцо насекомого.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус ядерного полиэдроза (*Lymantria dispar Nucleopolyhedrovirus*) является важным регулятором численности непарного шелкопряда (*Lymantria dispar*) [1]. Горизонтальная и вертикальная передачи вируса обеспечивают его надежную циркуляцию среди особей непарного шелкопряда. Однако в литературе есть неоднозначные взгляды на вертикальную передачу вируса у непарного шелкопряда. Некоторые исследователи полагают, что вирус передается через поверхность яйца, а перенесение его внутри яйца маловероятно [2]. L.S. Bauer et al. (1998) [3] пришли к выводу, что трансовариальная передача вируса является относительно неэффективной.

Р. Григорова (1959) [4, с. 123] не обнаружила полиэдров вируса в яйцах непарного шелкопряда, полученного из популяции, где наблюдались вспышки эпизоотий. Вместе с тем существуют (чаще теоретические) предположения о том, что трансовариальная передача вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда все же существует [5 – 7].

Практически отсутствуют в научной литературе данные о трансовариальной передаче полиэдров вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда и о процессах, протекающих с их участием на стадии яйца. А.В. Ильиных и В.Г. Ульянова (2005) [8] считают, что, по-видимому, вертикальную передачу вируса в виде вирионов или полиэдров через внутреннее содержимое яйца следует рассматривать как маловероятную. В то же время трансовариальная передача полиэдров вируса ядерного полиэдроза тутового шелкопряда была показана в ряде работ [4, 9], что говорит о такой возможности и среди других вирусов рода *Nucleopolyhedrovirus*.

Исходя из сказанного выше, целью данного исследования стало изучение трансовариальной передачи полиэдров вируса ядерного полиэдроза и установление некоторых закономерностей развития яиц, зараженных вирусом.

ВЕРТИКАЛЬНАЯ ПЕРЕДАЧА ПОЛИЭДРОВ ВИРУСА ЯДЕРНОГО

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали яйцекладки непарного шелкопряда, собранные в Челябинской области в 2006 году. Яйца хранились в морозильной камере. Для обнаружения полиэдров яйца растирали в ступке с добавлением 200 мкл дистиллированной воды. Яйца были поделены на 3 группы по 16 яиц. К первой группе относятся яйца, которые растирали сразу после того, как доставали из морозильной камеры. Ко второй группе относятся яйца, которые исследовали после того, как они пролежали 7 суток при комнатной температуре (22-25 °C) и из них гусеницы не вылупились (в норме это происходило через 3-5 суток). К третьей группе относятся яйца, в которых на наличие полиэдров были исследованы только зародыши гусениц сразу после того, как их достали из морозильной камеры. Перед микроскопированием зародыши гусениц промывали в воде.

Определение вируса проводили по Л.М. Тарасевич [4]. Количество полиэдров в 0.00025 мкл жидкости подсчитывали в камере Горяева под микроскопом Биолам (Д12/У11) с использованием техники фазового контраста. Статистическую обработку данных проводили по П.Ф. Рокицкому [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены данные о диаметре и количестве полиэдров в первой и второй группах.

Таблица 1.

Количество вирусных полиэдров в I и II группах и их диаметр ($\bar{x} \pm S_x$)

Группы	Количество полиэдров, 0.00025 мкл	Размер полиэдров, мкм
I группа	$14.83 \pm 3.61^*$	0.123 ± 0.020
II группа (контроль)	2.77 ± 1.40	0.193 ± 0.029

* достоверность различий выборочных средних по критерию Фишера по сравнению с контролем ($F > F_{0.05}$); указан 95 % доверительный интервал

Из данных табл. 1 видно, что количество полиэдров в яйцах уменьшается по мере развития яйца. Обнаружено достоверное различие между I и II группами в количестве вирусных полиэдров ($F > F_{0.05}$). Это можно объяснить тем, что вирусные полиэдры преимущественно находятся в веществе, окружающем зародыш, а не в самом зародыше. Это согласуется с данными, полученными Л.М. Тарасевич [4] на яйцах тутового шелкопряда. Вирионы, происходящие из вирусных полиэдров, передают инфекцию от насекомого к насекомому [11, 12], поэтому, если бы они были сформированы внутри зародыша, то в нем бы и остались. Маловероятно, чтобы вирусный полиэдр формировался в организме и там же уничтожался защитными силами организма. По мере развития яйца происходящие из полиэдров вирионы, по-видимому, из окружающей зародыш дегенерации попадают в клетки эмбриона, и там образуется второй фенотип вируса – почкающийся вирус [11, 12]. Почкающийся вирус в свою очередь постепенно распространяет инфекцию от клетки к клетке по организму [11, 12]. При этом вирусные полиэдры действительно

переносят инфекцию от насекомого к насекомому. Нужно заметить, что прилегающий к зародышу желток (образование материнских тканей) выполняет функцию передачи вирусных полиздротов к зародышу в отсутствие самой матери.

Несмотря на то, что среднее количество вирусных полиздротов во второй группе достоверно уменьшилось по сравнению с первой группой ($F > F_{0.05}$), выход гусениц из яйца не наблюдался. По-видимому, развитие зародышей происходило, но до определенного этапа, после которого они погибали. Уменьшение количества полиздротов представляется возможным только при живом яйце.

Из данных табл. 1 видно, что средний диаметр вирусных полиздротов в ходе развития яйца увеличился (на 35%). Возможно, что в трансовариальной передаче вируса участвуют особые вирусные полиздры вертикальной передачи, отличающиеся от вирусных полиздротов горизонтальной передачи размерами [4] и предназначением.

Чтобы доказать предположение о том, что вирусные полиздры преимущественно находятся в дейтоплазме, окружающей зародыш, а не в самом зародыше, были исследованы эмбрионы гусениц яиц, которые были заморожены. Из табл. 2 видно, что количество вирусных полиздротов, находящихся внутри зародыша в среднем в 11.5 раз меньше, чем во всем яйце. При этом I и III группы по количеству полиздротов достоверно различаются между собой ($F > F_{0.05}$). Это доказывает то, что вирусные полиздры находятся преимущественно в дейтоплазме (желтке), прилегающей к зародышу. Наличие полиздротов в гусеницах может быть объяснено как попаданием желтка вовнутрь эмбриона во время развития яйца, так и тесным контактом эмбрионов с желтком, при котором часть желтка могла остаться на зародышах при их извлечении из яйца.

В табл. 2 представлены данные о диаметре и количестве полиздротов в первой и третьей группах.

Таблица 2.
Количество вирусных полиздротов в I и III группах и их диаметр ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Группы	Количество полиздротов, 0,00025 мкл	Размер полиздротов, мкм
I группа	$14.83 \pm 3.61^*$	0.123 ± 0.020
III группа (контроль)	1.29 ± 0.86	0.190 ± 0.028

* достоверность различий выборочных средних по критерию Фишера по сравнению с контролем ($F > F_{0.05}$); указан 95 % доверительный интервал

Из табл. 1 и табл. 2 видно, что большинство вирусных полиздротов находились внутри яиц, а не на их поверхности. Если бы большинство вирусных полиздротов находилось на поверхности яйца, то их количество бы не уменьшилось, так как при развитии яйца его внешняя поверхность не взаимодействует с ферментами и различными химическими веществами, находящимися внутри яйца. Нужно отметить, что в третьей группе у 19% яиц содержание полиздротов было близким к нулю. Среди яиц первой группы данное явление не встречалось. Данный факт также подтверждает нахождение большинства (или всех) вирусных полиздротов внутри яйца.

ВЕРТИКАЛЬНАЯ ПЕРЕДАЧА ПОЛИЭДРОВ ВИРУСА ЯДЕРНОГО

ВЫВОДЫ

- Полиэдры вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда могут передаваться трансовариально.
- На стадии развития яйца (за 3-5 суток до вылупления гусениц) большинство полиэдров сконцентрировано в прилегающей к зародышу дейтоплазме.
- Вирусные полиэдры находятся преимущественно внутри яйца, а не на его поверхности.
- В дейтоплазме яиц встречаются вирусные полиэдры, которые в среднем на 35% меньше полиэдров, находящихся внутри зародышей.

Список литературы

- Воронцов А.И. Лесная энтомология. – М.: Высшая школа, 1975. – 386 с.
- Гулий В.В., Рыбина С.Ю. Вирусные болезни насекомых и их диагностика. – Кишинев, 1988. – 187 с.
- Злотин А.З. Техническая энтомология. – К.: Наукова думка, 1989. – 184 с.
- Ильиных А.В., Бахвалов С.А., Моховиков С.М. Естественное вирусоносительство у массовых видов лесных насекомых-фитофагов и его связь с жизнеспособностью хозяев // Вопросы вирусологии. – 1995. – №4. – С. 186–187.
- Ильиных А.В., Ульянова В. Г. Латентность бакуловирусов // Экология. – 2005. № 5. – С. 599–606.
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Вышэйш. шк., 1973. – 320с.
- Тарасевич Л.М. Вирусы насекомых. – М.: Наука, 1975. – 245 с.
- Bauer L.S., Miller D.L., Maddox J.V., McManus M.L. Interactions between a *Nosema* sp. (Microspora: Nosematidae) and nuclear polyhedrosis virus infecting the gypsy moth, *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) // J. of Invert. Pathol. – 1998. – Vol.74. – P. 147–153.
- Charpentier G., Desmarteaux D., Bourassa J.-P., Belloncik S., Arella M. Utilization of the polymerase chain reaction in the diagnosis of nuclear polyhedrosis virus infections of gypsy moth (*Lymantria dispar*, Lep., Lymantriidae) population // J. of Appl. Entomol. – 2003. – Vol. 127. – P. 405–412.
- Jehle J.A., Blissard G.W., Bonning B.C., Cory J.S., Herniou E.A., Rohrmann G.F., Theilmann D.A., Thiem S. M., Vlak J.M. On the classification and nomenclature of baculoviruses: A proposal for revision // Archives of virology. – 2006. – Vol. 151. – P. 1257–1266.
- Khurad A.M., Mahulikar A., Rathod M.K., Rai M.M., Kanginakudru S., Nagaraju J. Vertical transmission of nucleopolyhedrovirus in the silkworm, *Bombyx mori* L. // J. Invertebr. Pathol. – 2004. – Vol. 87. – P. 8–15.
- Volkman L.E. Nucleopolyhedrovirus interactions with their insect hosts // Adv. Virus Res. – 1997. – Vol.48. – P. 313–348.

Оберемок В.В. Вертикальна передача поліедрів віруса ядерного поліедрозу непарного шовкопряда // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2007. – Т. 20 (59). – № 4. – С. 74–77.

Виявлено трансоваріальну передачу поліедрів вірусу ядерного поліедроза непарного шовкопряда. Вірусні поліедри було знайдено переважно у яйці, а не на його поверхні. Доведено, що на стадії розвитку яйця більшість поліедрів зконцентровано у дейтоплазмі (жовтку).

Ключові слова: трансоваріальна передача, вірусний поліедр, яйце комахи.

*Oberemok V.I. Vertical transmission of *Lymantria dispar* Nucleopolyhedrovirus polyhedrons* // Uchenye zapiski Tavricheskogo Natsionalnogo Universiteta im. V. I. Vernadskogo. Series «Biology, chemistry». – 2007. – V.20 (59). – № 4. – P. 74-77.

Transovarial transmission of *Lymantria dispar* Nucleopolyhedrovirus polyhedrons is found. Virus polyhedrons were found mainly inside of the eggs. It is shown that at the egg stage majority of virus polyhedrons are located in adjacent to embryo deutoplasma (yolk).

Keywords: transovarial transmission, virus polyhedron, insect egg.

Поступила в редакцию 05.12.2007 г.