

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕРИЛИЗУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ГАММА-ЛУЧЕЙ НА ПОЛОВУЮ СИСТЕМУ ВОСТОЧНОЙ ПЛОДОЖОРКИ

В. В. ВАСИЛЯН, Л. О. ВАРДАНИЯН, С. Е. ЕДИГАРЯН, Дж. А. ЕРИЦЯН

Прослежена динамика оогенеза у самок, а также выявлено состояние гонад бабочек восточной плодовой моли в норме и при гамма-облучении. Отмечены основные нарушения и отклонения, приводящие к резкому подавлению процесса оогенеза и снижению плодовитости.

Ключевые слова: восточная плодовая мошь, лучевая половая стерилизация, цитоморфология.

В основе лучевой половой стерилизации как генетического метода борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур лежит принцип регуляции репродуктивного потенциала путем воздействия на гонады различными ионизирующими излучениями. Знание цитоморфологических и цитогенетических основ этого принципиально нового подхода необходимо для большей целенаправленности при разработке практических способов его применения.

Действие цитостатических веществ—хемостерилиантов—на гонады чешуекрылых и других насекомых изучено достаточно хорошо, в меньшей мере исследовано влияние радиации [3—5, 7, 8, 10, 11]. Механизм действия стерилизующих агентов на гонады насекомых более подробно изучен у самцов, нарушения же в процессе яйцобразования, ведущие к значительному снижению репродуктивного потенциала самок или их абсолютному бесплодию, изучены меньше.

По данным Ла Шанса и Кристалла [9], хемостерилианты действуют как на питающие и фолликулярные клетки, так и на ооцит, в результате чего резко уменьшается длина яичников, подавляется их рост, нарушается синтез желтка в ооцитах и снижается плодовитость, а из-за повреждения генетического аппарата у самцов повышается стерильность отложенных яиц, хотя сперма при этом сохраняет подвижность и конкурентоспособность.

Исследованиями Булыгинской и др. [1] на озимой и хлопковой совке, карадрине и яблонной плодовой мошь доказано, что никаких видимых морфологических изменений в семенниках этих видов при хемостерилизации не происходит, так как, в отличие от самок, самцы выходят из куколок уже половозрелыми. Влияние цитостатических веществ на самцов в основном сводится к повреждению генетического материала спер-

матозоидов, что приводит к летальным мутациям и гибели зиготы. У самок резко снижается плодовитость.

По данным Ашрафи и др. [5], при гамма-облучении самцов *Plodia interpunctella* в стадии гусеницы 5-го возраста происходят значительные нарушения сперматогенеза, наблюдается гибель сперматогоний и сперматоцитов при дозах выше 20 крад. Однако при облучениях на более поздних стадиях (куколок перед вылетом имаго и имаго), когда сперматогенез в основном завершен, цитоморфологических нарушений не наблюдается, но при скрещивании нормальных самок с такими самцами плодовитость значительно снижается.

Амересекер и др. [4] также отмечают подавление сперматогенеза при гамма-облучении в дозах 15 крад и выше на более ранних стадиях (отмирание сперматогоний и сперматоцитов, олигоспермия) у *Circulifer tenellus*. При более поздних же облучениях (в стадии сперматоидов и пучков сперматозондов) самцы сохраняют жизнеспособность спермы, но стерильны. Облучение самок дозами 10—20 крад подавляет оогенез и вызывает атрофию половых клеток.

В представленной работе обобщены результаты двухлетних лабораторных исследований по выявлению механизма стерилизующего действия гамма-облучения на половую систему опасного карантинного вредителя—восточной плодовой мушки.

Материал и методика. Исследования велись на Ноемберянской популяции вредителя, на опорном пункте Арм. НИИЗР в пос. Баграташен Ноемберянского района.

Подопытный материал выведен из гусениц, собранных в персиковом саду и докормленных в лаборатории на зеленых плодах яблок сорта Ренет Симиренко.

Облучению подвергали стадию куколки за 1—3 дня до вылета бабочек, в первом и втором поколении вредителя, на гамма-облучателе (источник Co^{60}) марки «РХМ-γ-20» в Груз. ИЗР и «Стебель-63-М» в НИИЗ Груз. ССР (Мцхети). Испытано 6 доз: 10, 20, 30, 35, 40 и 50 крад. Всего использовано 640 облученных и 560 нормальных (контрольных) куколок, вскрыто 326 бабочек.

Бабочек, вылетевших из облученных куколок, вскрывали в физиологическом растворе, и состояние их гонад с помощью бинокля (увел. 12,5×2) сравнивали с состоянием гонад вскрытых контрольных (необработанных) особей. При этом у самок учитывали количество отложенных яиц, отрождение из них гусениц, а также количество и состояние яиц в яйцевых трубках. Цитоморфологический анализ овариол проводили по методике Кристофера (1911), упрощенной Булыгинской и др. [1]. Вскрытие живых самок проводили под биноклем, выделяли гонады, морфологические и количественные учеты, а также классификацию развивающихся яйцеклеток проводили по следующей условной схеме: ооциты, занимающие менее половины объема яйцевой камеры—I группа; ооциты, занимающие более половины объема яйцевой камеры и содержащие большее количество желтка—II группа; созревшие, готовые к откладке яйца с хорионом—III группа.

Объем выборки составлял в каждом варианте при каждом вскрытии 3—4 пары особей. У каждой самки подсчитывали количество яйцеклеток, содержащихся в 4—8 овариолах. В немногих случаях, в связи с гибелью бабочек, вскрыто по 2—3 особи.

Вскрытия проводили на второй день облучения (на однодневных бабочках), на шестой (на 3—5-дневных), на восьмой (на 5—7-дневных), на двенадцатый (5- и 9-дневных) и пятнадцатый (8- и 12-дневных бабочках).

Исследовали следующие варианты скрещивания бабочек: облученная самка × нормальный самец—для выявления непосредственного воздействия радиации на гонады самок; нормальная самка × облученный самец—для определения влияния лучей на го-

нады самцов, а также их опосредованного (через сперму) воздействия на необлученных самок; нормальная самка $\times$ нормальный самец (контроль)—для исследования нормального течения оогенеза и сравнения с опытными вариантами; облученная самка $\times$ облученный самец—для выявления влияния одновременного облучения обоих родителей на потомство.

Обобщены результаты облучения дозами: минимальной—10 крэд, максимальной—50 крэд и оптимальной—35 крэд для самцов и 20 крэд для самок.

Микрофотосъемки гонад проведены под биноклем аппарата марки «Киев» с микропасаждой.

Результаты и обсуждение. У необлученных самок, как показали наблюдения, уже на второй день после вылета обнаруживается достаточное количество ооцитов I и II групп в процессе роста и развития, что говорит об успешном начале оогенеза. Образование, рост и созревание ооцитов продолжается в течение всей жизни бабочки, поскольку в овариолах обнаруживаются ооциты всех трех условно принятых групп на протяжении всей жизни. Сформировавшиеся яйцеклетки в основном созревают, о чем свидетельствует резкое нарастание среднего количества созревших ооцитов в овариолах на 15-й день вылета. Отмечается лишь незначительное угнетение процесса оогенеза с возрастом самки (рис. 1). Овариолы развиты нормально, вителлярный набит зрелыми

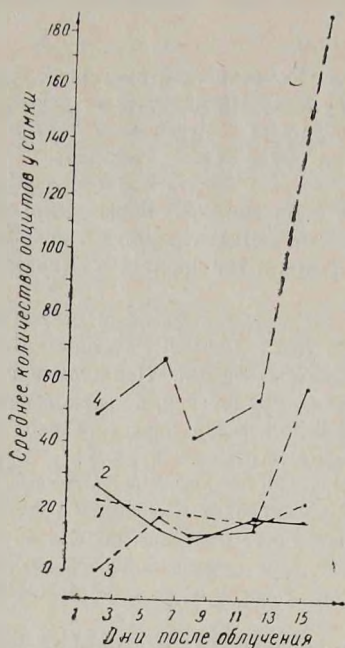


Рис. 1. Динамика оогенеза у необлученной самки восточной плодовой мошки (контроль). 1—среднее количество ооцитов, занимающих менее половины объема яйцевой камеры; 2—среднее количество ооцитов, занимающих более половины объема яйцевой камеры; 3—среднее количество готовых к откладке яйцеклеток с хорионом; 4—общее количество ооцитов у одной самки (в овариолах + отложенные).

яйцеклетками, в камерах верхушечной части имеются молодые ооциты (рис. 2).

При облучении куколок дозой 10 крэд к 6-му дню у самок успевает образоваться заметное число ооцитов I и II групп, ооцитов с хорионом (III группа) пока мало. Дальнейшее образование новых ооцитов замедляется и идет на убыль. Количество же ооцитов III группы сначала незначительно, с 8-го дня нарастает за счет успевших сформироваться

до этого, а после 12-го дня резко снижается из-за подавления образования новых. С этого же дня происходит спад в динамике оогенеза и уже на 15-й день общее количество сформировавшихся ооцитов у одной самки составляет в среднем 22 шт. (рис. 3).



Рис. 2. Овариолы нормальной самки восточной плодоярки на 8-й день вылета.

При дозе 20 крэд ко второму дню облучения успевает сформироваться у одной самки в среднем 15 ооцитов I группы и 28—второй, в то время как созревших ооцитов в овариолах еще не имеется. Уже после шестого дня облучения образование новых ооцитов сильно подавляется и идет на убыль. На 15-й день в овариолах самок ооциты I и II групп полностью отсутствуют. Количество созревших ооцитов нарастает до 12-го дня, после чего убывает. Общее количество яйцеклеток варьирует в пределах 33—67 шт. после чего резко уменьшается и уже на 15-й день составляет в среднем 8 яиц на самку. Камеры верхушечной части овариол почти пусты, либо в них обнаруживаются резорбированные молодые ооциты. Отмечается также резорбция и дегенерация зрелых ооцитов в вителлярной части овариол (рис. 4).

При дозе гамма-облучения 35 крэд у самок ко второму дню облучения успевает образоваться в среднем 22 яйцеклетки I группы и 29—

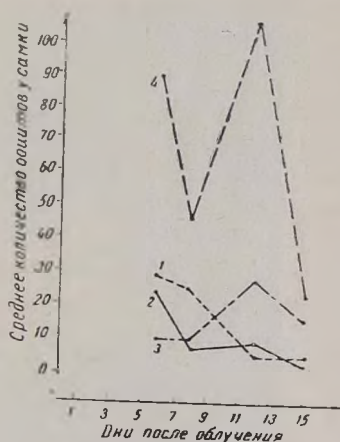


Рис. 3. Динамика оогенеза у самки восточной плодоярки при гамма-облучении в дозе 10 крэд.

второй, т. е. воздействие лучей проявляется не сразу. Уже после второго дня оогенез сильно подавляется. Так, на восьмой день обнаруживается в овариолах в среднем по 3 ооцита I и II групп, а на 12-й они вообще отсутствуют. Часть успешных сформироваться и созреть яиц откладываются, часть же дегенерирует. Максимальное количество яйцеклеток отмечается на второй день, после чего убывает до минимума на 15-й день облучения.

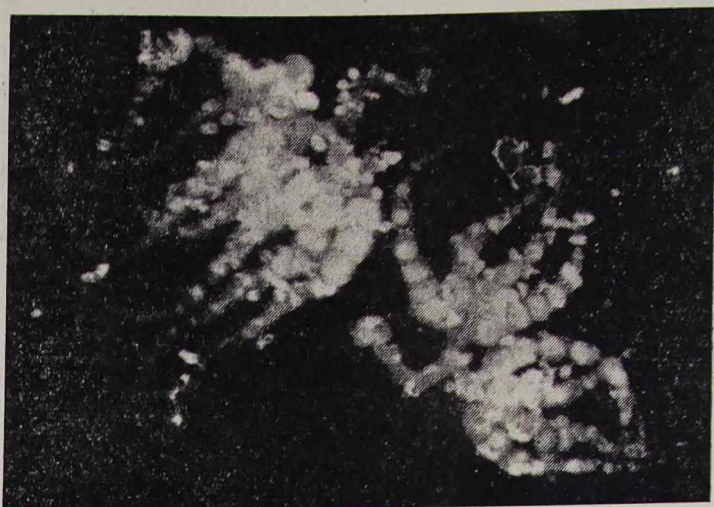


Рис. 4. Овариолы самки восточной плодовой мушки на 8-й день облучения дозой: 20 крад.

При дозе 50 крад на второй день облучения созревшие ооциты в овариолах еще не обнаруживаются, однако оогенез начался, и к этому времени успевает образоваться в среднем 19 ооцитов I и 28—II групп. Образование новых ооцитов продолжается до 6-го дня, после чего подавляется и уже к 8-му дню полностью прекращается. Количество ооцитов II группы резко падает, что свидетельствует не только о подавлении образования новых, но и дегенерации и резорбции имеющихся ооцитов I группы. После восьмого дня заметно снижается также количество ооцитов III группы, что говорит о подавлении процесса созревания (вителлогенеза) имеющихся в овариолах ооцитов I и II групп. В результате уже на 12-й день бабочки бывают абсолютно бесплодны (рис. 5). Наблюдается значительное уменьшение величины овариол по сравнению с контролем, гермариальная часть оказывается совершенно пустой или же полностью атрофированной, в камерах вителляррия встречаются готовые к откладке яйца, часть которых резорбирована (сморщена, отстает от стенок камер и рассасывается) (рис. 6).

Одновременным вскрытием облученных и нормальных самцов выявлено, что гамма-лучи не вызывают особых нарушений в развитии половой системы самцов. На 15-й день облучения дозами 35 и 50 крад у

самцов половая система уменьшается в размерах, семенник темнеет, сморщивается, при дозах же 10 и 20 крад заметных отклонений от нормы не наблюдается.

Наши наблюдения показали, что при скрещивании нормальной самки с облученными (различными дозами) самцами плодовитость не снижается, иногда бывает даже выше, чем при скрещивании ее с необлученным самцом. Это доказывает, что копуляция нормальной самки с облученным самцом не влияет на течение оогенеза, т. е. гамма-лучи не оказывают опосредованного (через сперму) воздействия на процесс оогенеза и плодовитость самки.

Вскрытия показали, что у облученных более высокими дозами самок жировое тело развито лучше, чем у контрольных. Можно предположить, что это связано с подавлением процесса яйцеобразования и питания ооцитов, менее интенсивным расходом жира на питание развивающихся и растущих ооцитов. Аналогичное явление заметили Адамс и Нельсон [2], Бейли и Шипп [6] у домашней мухи, которые делают вывод, что под непосредственным действием радиации на половые железы имеет место вторичное влияние яичника на секрецию жирового тела.

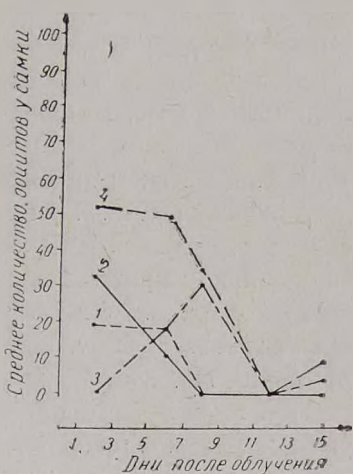


Рис. 5. Динамика оогенеза у самки восточной плодовой мушки при дозе 50 крад.

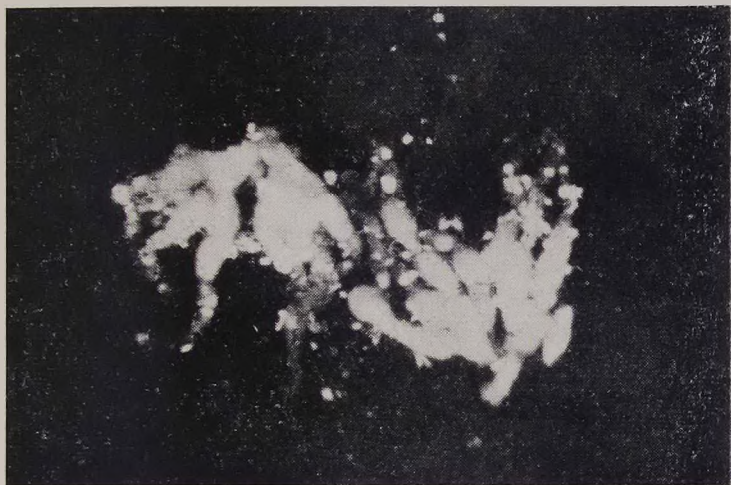


Рис. 6. Овариполы самки восточной плодовой мушки на 8-й день облучения дозой 50 крад.

Таким образом, гамма-облучение восточной плодовой мушки вызывает морфологические и функциональные нарушения в половой системе сам-

ки, приводящие к сдвигам в динамике оогенеза. Вследствие цитостатического воздействия лучей на гонады значительно подавляется или же полностью прекращается образование молодых и созревание уже имеющихся в овариолах ооцитов, что и приводит к резкому снижению плодovitости или же к полному бесплодию самки.

Степень и сила цитостатического воздействия зависят от дозы: при минимальной дозе, 10 крaд, оогенез не прекращается, но протекает более медленно, сводясь к минимуму на 15-й день облучения. При дозе 20 крaд аналогичное явление отмечается на 12-й день, а на 15-й день оогенез прекращается. При 35 крaд—соответственно на 8-й и 12-й дни облучения, при дозе 50 крaд—на 6-й и 8-й дни. При дозе 50 крaд особенно сильно выражены явления дегенерации, резорбции яйцеклеток и атрофия овариол. У необлученных же самок образование, рост и созревание ооцитов продолжается в течение всей жизни. Основная часть сформировавшихся яйцеклеток созревает и откладывается.

При гамма-облучении самцов особых морфологических нарушений в гонадах не наблюдается. При высоких дозах заметно уменьшается величина их. Стерилизующий эффект гамма-лучей при этом обуславливается гибелью зиготы, вследствие летального мутагенного воздействия радиации на сперму.

Скрещивание нормальных самок с облученными самцами не подавляет процесс оогенеза, т. е. гамма-лучи не оказывают опосредованного (через облученного самца или его сперму) действия на плодovitость самки.

Институт защиты растений МСХ АрмССР

Поступило 12.III 1979 г.

**ԱՐԵՎԵԼՅԱՆ ՊՏՂԱԿԵՐԻ ՍԵՌԱԿԱՆ ՍԻՍՏԵՄԻ ՎՐԱ ԳԱՄՄԱ-
ՀԱՌԱՐԱՅԹՆԵՐԻ ԱՄԼԱՅՆՈՂ ԱԶԳԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՑԻՏՈՄՈՐՖՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆԸ**

Վ. Վ. ՎԱՍԻԼՅԱՆ, Լ. Հ. ՎԱՐԳԱՆՅԱՆ, Ս. Ե. ԵՐԻԿՍՅԱՆ, Զ. Ա. ԵՐԻՑՅԱՆ

Գյուղատնտեսական վնասատուների դեմ պայքարի նոր՝ ճառագայթային ամլացման մեթոդի հիմքում ընկած է միջատների բաղմացման ճնշումը, որն իրականացվում է տարբեր տիպի իոնացնող ճառագայթներով:

Մեր կատարած լաբորատոր հետազոտությունների միջոցով պարզվել է ձվագոյացման (օօգենեզ) պրոցեսի դինամիկան արևելյան պտղակերի նորմալ և ճառագայթահարված թիթեռների մոտ, ինչպես նաև նրանց սեռական օրգանների վիճակը՝ կյանքի տարբեր ժամկետներում:

Հայտնաբերվել են այն հիմնական խախտումները և շեղումները նորմալից, որոնք հանգեցնում են օօգենեզի ճնշմանը, պտղաբերության խիստ նվազմանը, դիդոտայի անկենսունակությանը, որոնցով էլ վերջին հաշվով պայմանավորվում է գամմա ճառագայթների ամլացնող ազդեցությունը այս վնասատուի թիթեռների վրա:

CYTOMORPHOLOGICAL STUDY OF THE STERILIZING EFFECT OF GAMMA-IRRADIATION ON THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF THE ORIENTAL FRUIT MOTH

V. V. VASILIAN, L. H. VARDANIAN, S. Y. YEDIGARIAN, J. A. YERITSIAN

Observation have been made on the dynamics of females oogenesis. Gonade status has been revealed in normal and irradiated fruit moths. It has been noted that principal disturbances and deviations cause sharp pressure on the oogenesis process, decrease of fertility and induce sterilizing effect of gamma-irradiation on the pest.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Булыгинская М. А., Иванова Т. В., Чугунова Г. Д. Энтомол. обозр., 46, 3, 569—581, 1967.
2. Adams T. S., Nelson D. K. J. Insect Physiol., 13, 1—19, 1969.
3. Ahmed J., Gadallah, Wendell W. Kilgore and Ruth R. Painter J. Econ. Entomol. 63, 6, 1777, 1970.
4. Ameresekere R. V. et al. Ann. entomol. Soc. America, 64, 5, 1025—1031, 1971.
5. Ashrafi Sh., Brower J. et al. Ann. entomol. Soc. Amer., 2, 65, 5, 1144—1149, 1972.
6. Bailley P., Shipp E. J. Insect Physiol., 16, 7, 1293—1299, 1970.
7. Causse R. Ann. Zool. Ecol. Anim., 4, 2, 607—615, 1970.
8. Chung S. L., Tashiro et al. Econ. Entomol., 64, 4, 832—837, 1971.
9. La Chance L. E., and Crystal M. M. Biol. Bull., 125, 2, 280—288, 1963.
10. La Chance Leo E., Leverich Ann. P. Ann. Entomol. Soc. America, 61, 1, 164—173, 1968.
11. Offori F. D. Radiobiol. Appl. Neutron. Irradiat. Proc., 233—237, Vienna, 1972.