

АКАДЕМИЯ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР
ИНСТИТУТ ЗООЛОГИИ

На правах рукописи

ЕЛФИМОВА Татьяна Борисовна

УДК 593.195 : 632.937.19

**ОПТИМАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ
МАССОВОГО ПОЛУЧЕНИЯ СПОР
ДВУХ МИКРОСПОРИДИЙ РОДА
VAIRIMORPHA
В КАПУСТНОЙ СОВКЕ**

03.00.19 — ПАРАЗИТОЛОГИЯ И ГЕЛЬМИНТОЛОГИЯ

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

АЛМА-АТА

1985

Работа выполнена в проблемной научно-исследовательской лаборатории сельскохозяйственной протозоологии Ленинградского ветеринарного института.

Научные руководители: доктора биологических наук — старший научный сотрудник И. В. Исси и профессор Т. А. Шибалова.

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор А. М. Дубицкий и кандидат биологических наук, старший научный сотрудник В. А. Лукин.

Ведущее учреждение — Всесоюзный институт экспериментальной ветеринарии.

Защита состоится «...» 1985 г. в час. на заседании Специализированного совета, шифр К 008.17.01 при Институте зоологии АН КазССР.

Адрес института: 480032, г. Алма-Ата, 32, Академгородок, Институт зоологии АН КазССР.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института зоологии АН КазССР.

Автореферат разослан «14» *нояб. 85* 1985 г.

**Ученый секретарь
Специализированного совета,
доктор биологических наук**

Э. И. Прядко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Микробиологический метод защиты сельскохозяйственных культур все более широко применяется в нашей стране и за рубежом. Он основан на внесении в агроценоз энтмопатогенных микроорганизмов или биопрепаратов на их основе для подавления численности вредителей. Создание биопрепаратов обуславливает необходимость массового размножения их продуцентов в лабораторных, а затем в промышленных условиях. Уже широко используются промышленные бактериальные препараты, начинают применяться вирусные и грибные. Способность микроспоридий образовывать устойчивые к внешним воздействиям споры, успешное заражение насекомых низкими дозами, быстрое распространение среди них и передача от поколения к поколению, говорят о перспективности их применения в виде биопрепаратов. Создан первый промышленный препарат на основе микроспоридий (Henry, Ota, 1980). Начальный этап разработки препаратов заключается в массовом разведении микроспоридий в условиях лаборатории.

Целью наших исследований было разработать оптимальные условия массового получения спор двух микроспоридий рода *Vairimorpha* в чешуекрылых насекомых.

В связи с этим решались следующие задачи:

1) определить воздействие условий содержания – температуры, корма и продолжительности фотопериода – на рост, развитие и жизнедеятельность здоровых и зараженных микроспоридиями гусениц капустной совки;

2) выяснить влияние условий содержания насекомого-хозяина на интенсивность спорообразования двух микроспоридий рода *Vairimorpha*;

3) установить последствие обработки ювеноидом гусениц капустной совки на интенсивность спорообразования двух видов микроспоридий рода *Vairimorpha*;

4) выявить влияние условий хранения на выживаемость спор *Vairimorpha antheraeae* и *V. heterosporum*.

Научная новизна. Изучено влияние условий содержания гусениц капустной совки на продуктивность их паразитов – микроспоридий. Показана возможность увеличения выживаемости и массы зараженных насекомых путем изменения температурного, кор-

мового и светового режимов. Определены условия, способствующие интенсивному спорообразованию микроспоридий. Исследовано действие ювеноида на зараженных гусениц и на продукцию спор микроспоридий. Прослежено изменение типа спорогонии микроспоридий при разных условиях температуры и длины фотопериода. Установлены условия, обеспечивающие высокую жизнеспособность спор при хранении в течение года.

Практическое значение. Подтверждена возможность использования гусениц капустной совки для разведения микроспоридий рода *Vairimorpha*. Определены оптимальные режимы содержания насекомых, позволяющие получать споры микроспоридий в количествах, достаточных для полевых опытов по созданию очагов эпизоотий или подавлению численности вредных насекомых. Методические подходы к получению спор микроспоридий в массовых количествах могут быть использованы научно-исследовательскими учреждениями, разрабатывающими сходные вопросы, и биолaborаториями.

Апробация работы. Материалы диссертации представлены на Всесоюзных съездах ВОПР (Вильнюс, 1982) и паразитологов (Киев, 1983), доложены на научных конференциях Ленинградского ветеринарного института, Паразитологического общества (Ленинград, 1983), кафедры паразитологии и лаборатории сельскохозяйственной протозоологии ЛВИ (1982-1983), лаборатории энтомопатогенных микроорганизмов ВИЗР (1984).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 работ.

Объем работы. Диссертация изложена на 182 страницах машинописного текста, включая 13 таблиц и 26 рисунков. Она состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов и практических рекомендаций. В списке использованной литературы 196 источников, в том числе 143 зарубежных. В приложении дано 12 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ВВЕДЕНИЕ

Обоснована актуальность темы исследования, изложена цель, определены задачи и назначение работы.

Работа выполнена в проблемной научно-исследовательской лаборатории сельскохозяйственной протозоологии Ленинградского ветеринарного института в 1980-1983 гг.

1. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОСПОРИДИЙ, ВОЗМОЖНОСТИ ИХ МАССОВОГО РАЗВЕДЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ

Дана характеристика типа микроспоридий и анализ мировой литературы по массовому разведению микроспоридий и оценка возможности их использования в качестве продуцентов биопрепаратов. Рассмотрены способы внесения микроспоридий в природу для борьбы с вредителями плодовых культур и леса, полевых культур, с прямокрылыми на пастбищах.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКИ

Объекты исследования. Используются два вида микроспоридий рода *Vairimorpha* (Vairimorphae, Microsporidia), патогенные для широкого круга совок Noctuidae и перспективные как продуценты биопрепаратов (Kellen, Lindegren, 1974; Туха, Брокс, 1979; Симчук, 1981), и имеющие диморфическую спорогонию.

Основной объект исследования - микроспоридия *V. antheraeae* Simchuk, Lyusenko, Tchetkarova 1979 из дубового шелкопряда *Antheraea pernyi*. Экспериментально она заражает американскую белую бабочку, мельничную, южную амбарную и большую вошинную огневок, озимую и капустную совок, кольчатого шелкопряда, златогузку, античную полнянку и лугового мотылька (Симчук и др., 1979). Дополняющие данные получены на микроспоридии *V. heterosporum* (Kellen, Lindegren, 1969) из южной амбарной огневки *Plodia interpunctella* и заражающей капустную совку и большую вошинную огневку (Kellen, Lindegren, 1974). Обе микроспоридии получены из ВИЗРа.

В качестве насекомого-хозяина при разведении микроспоридий использована капустная совка *Mamestra brassicae* (Noctuidae), - вредитель многих сельскохозяйственных растений, в связи с ее биологическими особенностями: нормальной жизнедеятельностью бабочек в небольшом замкнутом пространстве; крупными размерами гусениц, обеспечивающими накопление значительных количеств спор; невысокой степенью каннибализма; восприимчивостью к многим энтопатогенным организмам, а также с разработкой объединением "Агроприбор" технологической линии по выращиванию гусениц.

Методики проведения лабораторных экспериментов

Массовое разведение совок. Гусениц I-II и VI возрастов содержали в банках объемом 0,5 л по 50-100 и по 10-20 особей, соответственно, в IV-V возрастах в чашках Петри по 10-20 особей, при температуре 20-22°C и 16-часовом фотопериоде. Для опытов отбирали гусениц в первый день после линьки на IV или V возраст. Для нивелировки различий потомство от каждой пары насекомых равномерно распределяли по вариантам опыта так, чтобы суммарно масса гусениц в каждом варианте была примерно одинакова. Подопытные гусеницы содержались в чашках Петри по 5 особей.

Использованы полусинтетические среды: стандартная (№ 1) (Успенская, Хлистовский, 1967), с добавлением целлюлозы (№ 2) (Эдельман, 1974) или хмеля (№ 3) (Елфимова, 1983). Исследовано влияние константных температур 17, 20, 23 и 26°C и 12- и 16-часового режимов освещения.

Приготовление суспензий спор микроспоридий велось по методике В.Н.Воронина и И.В.Иоси (1974). Титр спор подсчитывали в камере Горяева. Требуемые дозы спор получали разведением исходных суспензий. Для заражения использовали споры со сроком хранения при +6°C не более 2-х месяцев.

Заражение насекомых. Группе из 5 гусениц однократно скармливали 0,3-0,5 г корма с 0,03-0,05 мл суспензии спор, из расчета не более 10^3 - 10^4 на насекомое.

Обработка насекомых явеноидом. Альтозар (Зозкон, США) получен из ВИЗР. Постановка опытов велась по следующей схеме:

№№ опы-	Среды	Температура (°C)	Вид микроспоридий Vairimorpha	Возраст гусениц при обработке явеноидом			День снятия опыта
				за-вс-нии	с. кор-момР	труп-важно	
I	I	23	antheraeae, контроль	У	У	УI	15 или до гибели
II	2	23	antheraeae, heterosporium, контроль	У	У	УI	20
III	2	23	- "	IV	У	-	20
	I	20	- "	У	-	УI	22
	3	20	- "	У	-	УI	22
	3*	20	- "	У	-	УI	22

* Споры даны со средой № I

Стадии развития микроспоридий определяли микроскопированием мазков из живых или погибших гусениц на 7, 10, 15, 20, 22 или 30-й день после их заражения.

Подсчет продуктивности микроспоридий. Определяли воздушно-сухую массу гусениц и количество спор микроспоридий на 1 мг массы и на всю гусеницу.

Для оценки влияния хранения на жизнеспособность микроспоридий споры содержали: в трупах хозяев, в виде неочищенной и очищенной суспензий в дистиллированной воде или растворах 0,9%-ном хлорида натрия, 50%-ном глицерина и 38%-ном сахарозы. Жизнеспособность спор после 12 месяцев хранения при +6 и -10°C определяли путем их окрашивания 0,01%-ным раствором акридина оранжевого и последующего люминесцентного микроскопирования.

Общее количество вариантов опытов достигало 61, использовано более 3000 насекомых.

Статистическая обработка экспериментальных данных После преобразования результаты опытов статистически обработаны по Стьюденту (Методические указания, 1980) и представлены в виде плеяд сходств и различий между вариантами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СОДЕРЖАНИЯ КАПУСТНОЙ СОВКИ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ МИКРОСПОРИДИЙ РОДА *VALTIMORPHA*

Важнейшие факторы внешней среды, оказывающие влияние как на насекомое-хозяина, так и на микроспоридий в лабораторных условиях — это компоненты корма, температура и продолжительность фотопериода. В нашу задачу входило выявление условий, обеспечивающих хорошее выживание зараженных насекомых, их наибольшую массу и наивысшее количество спор микроспоридий в 1 мг массы хозяина, что обеспечивало максимальную продуктивность микроспоридий в данном варианте.

3.1. Влияние корма насекомого-хозяина на размножение микроспоридий. Выживание и рост насекомых в значительной мере обусловлены качеством полусинтетических питательных сред. Поскольку у крупных особей хозяина образуется больше спор, увеличение продукции спор может быть достигнуто введением в со-

став корма в виде веществ, стимулирующих питание и рост хозяина, например, целлюлозы или хмеля. Они только стимулировали питание гусениц (среда 2), либо одновременно снижали влияние бактериальной микрофлоры и повышали выживание зараженных гусениц (среда 3).

Как известно (Здельман, 1974), для развития капустной совки оптимальна среда 2. На ней в наших опытах были выше выживаемость гусениц, масса куколок, вылет бабочек и их плодовитость. Нами получено (табл. I), что добавление в корм целлюлозы благоприятно влияет и на образование в гусеницах спор микроспоридии *V. antheraeae* - количество спор в 1 мг сухой массы хозяина статистически достоверно превышает таковое во всех других вариантах. С учетом наилучшего выживания гусениц (87%) на этой среде нами в вар. 25 отмечена максимальная суммарная продуктивность микроспоридии *V. antheraeae* - $10,19 \times 10^{11}$ спор. Добавление хмеля, стимулирует накопление массы хозяином, на спорообразование микроспоридий действует угнетающе.

Таблица I

Влияние компонентов среды на капустную совку и на продукцию микроспоридий *V. antheraeae* (А) и *V. heterosporum* (Б) (23°C, 16 ч света, 20 дней)

Среда (№)	Варианты (№)	Выживаемость гусениц (%)	Средняя масса гусениц или куколок (мг)	Продуктивность микроспоридий		
				спор/мг $\times 10^7$	спор/гус. $\times 10^9$	суммарная $\times 10^{11}$
1	А(24)	77,8	83,4±5,9	9,8±0,9	7,25±1,3	6,19
	Б(3)	60	106,2±6,1	21,4±1,5	22,4±2,0	13,44
	К	55	78,7 ^к	-	-	-
2	А(25)	87,1	94,2±7,0	14,8±2,4	11,7±3,8	10,19
	Б(4)	75,9	89,3±7,0	13,8±2,3	9,1±1,7	6,91
	К	100	91,3 ^к	-	-	-
3	А(26)	89,7	95,4±4,4	7,6±1,1	7,3±1,3	6,5
	Б(5)	75,9	103,2±3,3	14,0±1,5	14,0±1,6	11,01
	К	100	77,4 ^к	-	-	-

Примечание. Отмечены варианты со статистически достоверным повышением продуктивности микроспоридий.

При заражении гусениц микроспоридией *V. heterosporum* наилучшей средой для размножения простейших стала среда I. Показатели продуктивности микроспоридии в вар. 3 были наибольшими и достоверно отличались от вар. 4 и 5 этого же опыта. Масса гусениц также была выше, но различие не было достоверным. Стимулирующее действие среды I с высоким содержанием протеина наглядно проявилось на развитии микроспоридии *V. heterosporum*.

Выживаемость хозяина на среде I была самой низкой (60%), добавление в корм целлюлозы или хмеля снижало смертность гусениц до 24%. Несмотря на это, наибольшая суммарная продукция спор микроспоридии *V.heterosporum* по варианту получена на среде I ($13,4 \times 10^{11}$ спор) за счет увеличения количества спор, образовавшихся в I мг массы хозяина. Различия в реакциях двух близких видов микроспоридий на состав питательной среды данного хозяина отражает, вероятно, их адаптацию к развитию в специфических для них хозяевах: дубовом шелкопряде, питающемся кормом, богатым клетчаткой, и южной амбарной огневке – кормом, содержащим много белков.

3.2. Влияние температуры на размножение микроспоридий. Необходимо определить оптимального температурного режима для получения максимального количества спор двух микроспоридий в гусеницах капустной совки диктовалась рождением оптимумов, установленных для хозяина – $+20-22^{\circ}\text{C}$ (Масленникова и др., 1985) и паразитов – $+26-27^{\circ}\text{C}$ (Kellen, Lindgren, 1969; Симчук и др., 1979). Варианты опыта различались по константным температурам и длительности содержания гусениц, зараженных микроспоридиями (7-30 дней при заражении гусениц IY или Y возраста спорами *V. antheraeae* (табл.2).

Таблица 2
Влияние температуры на капустную совку и на продукцию спор микроспоридии *V. antheraeae* (среда I, 16 ч света, заражение в IY возрасте)

Варианты №	t, °C		Выживаемость (%)	Масса гусениц (мг)	Продуктивность микроспоридии		
	дни				спор/мг $\times 10^7$	спор/гус. $\times 10^9$	суммарная $\times 10^{11}$
4	18	30	94,1	79,0±5,9	5,3±0,9	3,6±0,6	3,39
5	17	погиб.	-	32,2±3,9	2,3±0,7	0,65±0,24	-
10	20	погиб.	-	30,1±2,3	3,6±0,7	1,0±0,3	-
24	23	20	77,8	83,4±5,9	9,8±0,9	7,5±0,2	6,19
17	23	погиб.	-	44,7±7,6	6,3±0,8	1,7±0,4	-
21	26	15	47,7	63,0±7,4	4,4±0,5	2,9±0,8	1,38
23	26	погиб.	-	22,9±3,0	4,3±0,4	1,7±0,3	-

Результаты опытов показали, что масса гусениц быстрее нарастает с повышением температуры: сходные показатели достигнуты при 20°C – на 15-й день, при 23°C – на 20-й, при 18°C – на 30-й. При низких температурах усиливался каннибализм, а при повышенных снижалась выживаемость гусениц. Наиболее благоприятны для зараженного хозяина были: температура 23°C и срок 20 дней. В этих условиях сухая масса зараженных гусениц достигала в среднем 83,5 мг при выживании 76% насекомых.

Начало массового спорообразования микроспоридий также за-

висит от температуры содержания гусениц: на 7-й день после заражения оно происходит только при 23 и 26°C, на 10-й день — также при 20°, а на 15-й уже во всех четырех режимах. Максимальная продукция спор микроспоридий *V.antheraeae* на гусеницу за 15 дней получена при 26° ($2,9 \times 10^9$ — вар.21) и за 20 дней при 23° (8×10^9 — вар.24) (рис.1). Условия получения максимального количества спор для *V.heterosporum* были те же: 23°C и 20 дней. Показатели продуктивности обеих микроспоридий были выше описанных в литературе, кроме того, в наших опытах оставалось живыми не менее 60–80% больных насекомых.

Температурные условия влияли и на тип спорогонии микроспоридий: при 23 и 26°C образовывались только моноспоры, при 17 и 20° и 16-часовом фотопериоде выявлены группы из 8 спор.

Таким образом, на основе анализа экспериментов по получению при разных температурных условиях спор микроспоридий *V.antheraeae* и *V.heterosporum* в гусеницах капустной совки, зараженных в IV возрасте, оптимальными определены: температура 23°C и срок 20 дней.

3.3. Влияние длины светового дня на размножение микроспоридий. Влияние фотопериода исследовано нами в связи с данными о действии активного или диапаузирующего состояния насекомого-хозяина на развитие микроспоридий (Weiser, 1966; Исси, 1974). Сравнивалось влияние 16- и 12-часового освещения на продуктивность микроспоридий и на выживание и массу гусениц капустной совки, зараженных в IV возрасте. Нами получено (табл.3), что на 15-й и 20-й дни опыта при 12-часовом фотопериоде увеличение продукции спор у обеих микроспоридий шло только за счет роста интенсивности их размножения, тогда как масса зараженных гусениц оставалась на одном уровне вследствие преимущественной гибели мелких особей. И хотя суммарная продукция спор за 20 дней при коротком световом дне была меньше, чем при длинном, эти показатели достоверно не различались (вар.44 и 25 для *V.antheraeae* и вар.17 и 4 для *V.heterosporum*) (рис.1,2). Вероятно, продуктивность микроспоридий *V.antheraeae* и *V.heterosporum*, выраженная количеством спор в 1 мг сухой массы хозяина, в этих условиях достигала своего потенциального максимума. Формирование диапаузы у насекомых влияло на спорогонии микроспоридий: при 16-часовом освещении октоспоры образовывались в единичных особях, 12-часовом — во всех гусеницах.

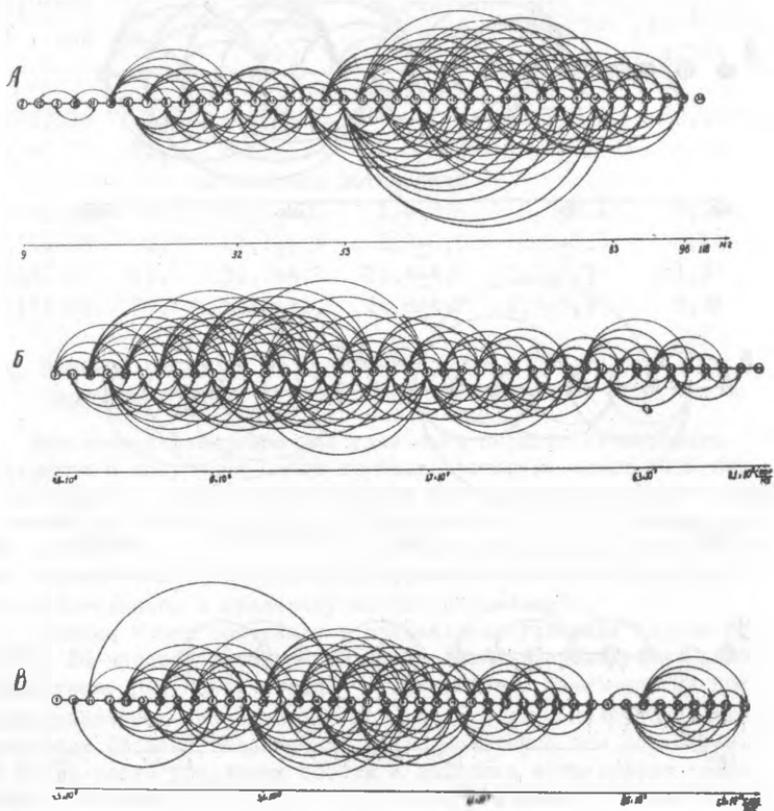


Рис. I. Плеяды сходства и различий по вариантам показателей массы зараженных гусениц капустной совки (А) и продуктивности микроспоридии *V. antheraceae* (Б - спор/мг, В - спор/гус.)

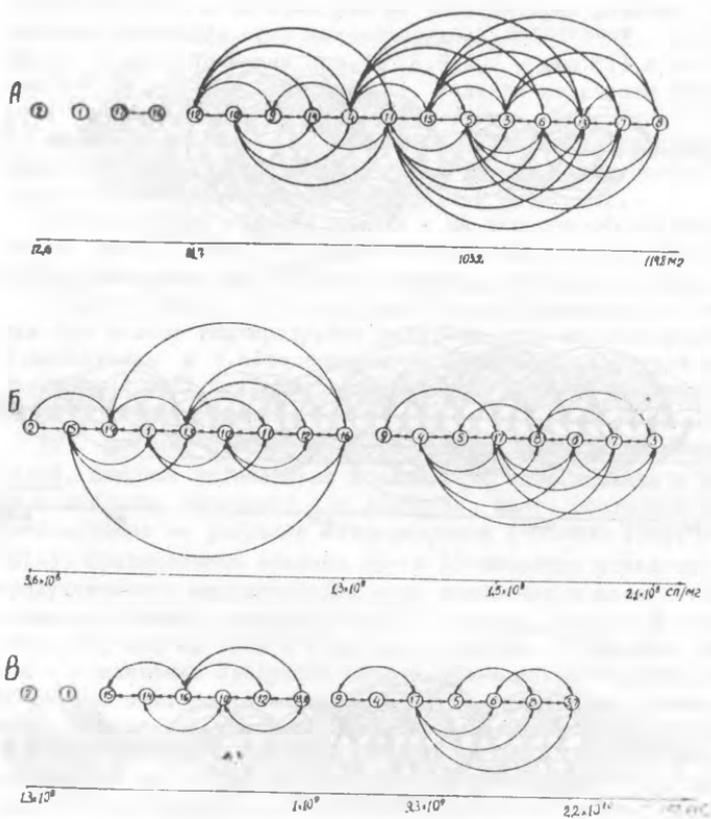


Рис.2 Плясы сходства и различия по вариантам показателей массы зараженных гусениц (А) и продуктивности микроспоридии *V.heterosporum* (Б - спор/мг, В - спор/гус.)

Таблица 3

Влияние фотопериода на капустную совку и на продукцию спор микроспоридий *V.antheraeae* (А) и *V.heterosporum* (Б) (среда 2, 25°C)

Варианты № дни	Эффективность (%)	Масса гусениц (мг)	Продуктивность микроспоридий		
			спор/мг $\times 10^7$	спор/гус. $\times 10^9$	суммарная $\times 10^{11}$
16-часовой фотопериод					
А(25) 20	37,1	74,2±7,0	14,8±2,4	11,7±3,8	10,19
Б(4) 20	75,9	89,3±7,0	13,8±2,3	9,1±1,7	6,91
12-часовой фотопериод					
А(43) 15	92,0	36,6±3,0	1,4±0,2	0,6±0,1	0,51
Б(16) 15	95,0	62,1±7,3	1,3±0,9	0,8±0,5	0,74
А(44) 20	21,7	36,9±4,2	21,4±4,6	7,0±2,3	1,52
Б(17) 20	35,7	51,5±11,1	14,8±4,2	9,3±5,4	3,32

4. ВЛИЯНИЕ ЮВЕНОИДА НА КАПУСТНУЮ СОВКУ И ПРОДУКЦИЮ СПОР МИКРОСПОРИДИЙ

Применение ювеноидов для удлинения периода личиночного развития и получения более крупных насекомых может быть перспективно при массовом разведении микроспоридий, способствуя увеличению количества спор, образующихся в каждом насекомом. Мы определяли влияние аналога ювенильного гормона — алтозоара на продуктивность микроспоридий, размножающихся в организме чувствительного к препарату насекомого-хозяина.

Гусениц совки содержали в оптимальных условиях (среда 2, 23°C, 16-часовой фотопериод), определенных предыдущими экспериментами. При поверхностном (топикальном) нанесении на покровы насекомых использованы дозы значительно ниже приводящих к гибели (Мазина, Федосимова, 1982). Появление при обработке в У1 возрасте уродливых особей и задержка метаморфоза говорили о наличии некоторого эффекта в отношении насекомого-хозяина. Но при нанесении по 0,1 мкг Д.В.альтозара гусеницам, зараженным в У возрасте микроспоридиями, достоверных различий в продукции спор микроспоридий и в массе насекомых по сравнению с контролем не получено (вар.36 и 33 для *V.antheraeae*, вар.9 и 6 для *V.heterosporum*) (рис.1,2).

Основываясь на успешном применении на зараженных микроспоридиями гусеницах совки *Heliothis virescens* другого ювеноида, метопрена, с кормом в течение двух дней (Nordin, 1981), давшем увеличение массы гусениц и продукции спор микроспори-

дии *Valrimorpha necatrix*, мы предусмотрели вариант по пероральному введению зараженным гусеницам капустной солки У возраста альтозара. Доза препарата в корме — 100 мкг, рекомендована для большинства ювенидов (Sehnal et al., 1976). В результате нами достигнута самая большая масса гусениц (118,3 мг), зараженных в IV возрасте микроспоридией *V. anthracaeae*, максимальная выживаемость (93%) и самая высокая продуктивность микроспоридии ($12,0 \times 10^9$ спор/гус.). Все это привело к получению максимальной продукции спор по вар. 35 ($11,2 \times 10^{11}$ спор). При введении альтозара с кормом гусеницам, зараженным в IV возрасте микроспоридией *V. heterosporum*, наблюдалось достоверное увеличение количества спор на I гусеницу за счет увеличения массы хозяина в вар. 8 по сравнению с вар. 4, без обработки. С учетом относительно высокой выживаемости зараженных гусениц (61%) продуктивность микроспоридии *V. heterosporum* по вар. 8 достигала максимума ($12,4 \times 10^{11}$ спор). Влияние альтозара на развитие обеих микроспоридий при более низкой температуре 20°C проявилось слабо.

Таким образом, изучение влияния альтозара на насекомых-хозяев и на продукцию спор микроспоридий показало целесообразность применения аналога ювенильного гормона для увеличения продуктивности микроспоридий.

6. ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ХРАНЕНИЯ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ СПОР МИКРОСПОРИДИЙ

Необходимость подбора условий для сохранения спор микроспоридий живыми вызвано снижением их жизнеспособности и инвазионности вне организма насекомых. Основным фактором, вызывающим гибель микроспоридий при хранении — рост бактериальной и грибной флоры (Maddox, 1966; Митрохин, Тимканова, 1978), для подавления которой применяются консерванты, антибиотики, отрицательные температуры (Fuha, Brooks, 1979), вакуумное высушивание, лиофилизация спор (Pilleu, 1976; Fuha, Brooks, 1979; Teeter, Kramer, 1979).

Нашими исследованиями показана возможность вакуумной сушки спор *V. anthracaeae* и сохранения их при +6°C при добавлении глицерина или сахарозы в течение 12 месяцев, что дало 86 и 81% живых спор, соответственно, тогда как без протектантов за этот период сохранился только 21% живых спор. Сохранение в течение 10–12 месяцев 95–100% жизнеспособных спор *V. anthracaeae*

гаеае было получено при температурах $+6^{\circ}\text{C}$ или -10°C при помещении погибших от микроспоридиоза гусениц в воду или изотонический раствор. В отличие от *V.antheraeae* споры *V.heterosporum* лучше сохранялись в тканях хозяина при температуре $+6^{\circ}\text{C}$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные представлены в виде плеяд сходства и различия между основными контролируемыми показателями, влияющими на продуктивность двух изучаемых видов микроспоридий. Эти показатели объединяются в группы по признаку отсутствия достоверных различий между ними, что расширяет наши представления об оптимальных условиях развития обоих партнеров (рис. 1, 2).

Самая большая масса (118 мг) насекомых получена на 20-й день содержания гусениц, зараженных микроспоридией *V.antheraeae* в IV возрасте и обработанных веноидом с кормом на среде 2 при температуре 23°C и 16-часовом фотопериоде. Ни один другой вариант не дал аналогичного результата. Наиболее близкие показатели получены в интервале 83-96 мг (вар. 24, 25, 26, 33, 34 и 36) при тех же температуре, освещении и продолжительности опыта, независимо от среды, возраста при заражении и обработки веноидом. Это говорит о доминирующем влиянии на массу гусениц светового и температурного режимов. Наибольшая продуктивность микроспоридии *V.antheraeae*, равная $6,3 \times 10^4 - 2,1 \times 10^8$ спор/мг (вар. 24, 25, 26, 33, 34, 35, 36 и 44) и $5,5 \times 10^9 - 1,2 \times 10^{10}$ спор/гус. (вар. 24, 25, 26, 33, 34, 35, 36 и 44), отмечена в тех же условиях: 23°C и 20 дней. Возраст при заражении, состав корма, длина светового дня и применение веноида не оказывали существенного влияния. Таким образом, температурные режимы получения наивысших количеств спор и наибольшей массы насекомых совпадают, не меньшую роль играет и продолжительность опыта. Мы видим, что группа вариантов с максимальной продуктивностью микроспоридии *V.antheraeae* из расчета на 1 гусеницу, согласуется с группами вариантов по количеству спор на 1 мг массы и по показателям массы хозяина. Принимая во внимание, что общая продуктивность микроспоридий по варианту зависит также от выживания насекомых на день снятия опыта, на основе выбранных вариантов определяются следующие, статистически не различающиеся по выживаемости, условия: среда 2 или 3, 23°C , 16 ч света, заражение гусениц в IV возрасте, с

введением ювеноида с кормом или без него.

При заражении капустной совки микроспоридией *V.heterosporum* выделяются следующие наилучшие показатели: масса насекомых 103,2-114,8 мг (вар.3,5,6,7,8,13), продуктивность микроспоридии $1,48 \times 10^8$ - $2,14 \times 10^4$ спор/мг (вар.3,6,7,8,17) или $9,3 \times 10^9$ - $2,24 \times 10^{10}$ спор/гус. (вар.3,5,6,7,8,17) (рис.2). Следовательно, группы вариантов с лучшими показателями массы гусениц и продуктивности микроспоридий совпадают. Определяющие условия - 23°C и продолжительность 20 дней. Возраст при заражении, состав корма, длина светового дня и введение в корм ювеноида существенно не влияли на продуктивность микроспоридии. С учетом выживаемости зараженных насекомых определены условия получения максимального количества спор *V.heterosporum*: температура 23°C, заражение гусениц в IV возрасте, срок опыта 20 дней.

Суммируя все изложенное, отмечаем сходство между условиями массового получения спор обеих микроспоридий в капустной совке, причем для *V.heterosporum*, в отличие от *V.antheraeae*, приемлемы все 3 среды и 2 световых режима.

ВЫВОДЫ

1. Показана принципиальная возможность массового получения спор микроспоридий *V.antheraeae* и *V.heterosporum* в количествах, достаточных для постановки полевых опытов, путем разведения на неспецифичном хозяине - капустной совке.

2. Условия содержания зараженных микроспоридиями гусениц капустной совки, обеспечивающие их наибольшие выживаемость, накопление массы и интенсивное размножение в них микроспоридий, либо соответствуют оптимуму насекомых, либо занимают промежуточное положение между оптимумами партнеров паразито-хозяйинной системы.

3. Гусеницы капустной совки с максимальной сухой массой получены при 23°C и 16-часовом фотопериоде при заражении *V.antheraeae* - на среде 3 (выживаемость 90%), при заражении *V.heterosporum* - на среде I (выживаемость 60%).

4. Продуктивность микроспоридий, выражающаяся количеством спор на 1 мг массы насекомого-хозяина достигает своего видоспецифического предела с разной скоростью в зависимости от условий содержания насекомых (температуры и длины фотопериода).

да), превышая инвазионную дозу в 10^6 раз. Максимальная продукция спор микроспоридий с учетом выживания гусениц получена при 23°C и 16-часовом фотопериоде на 20-й день после заражения для *V.antheraeae* – на среде 2, для *V.heterosporum* – на среде 1.

5. Интенсификацию спорообразования у обеих микроспоридий можно получить помещением насекомых в условия, формирующие диапаузу у гусениц капустной совки, а его ускорение – повышением температуры до 26°C .

6. Продукция спор обеих микроспоридий может быть увеличена скариливанием гусеницам капустной совки У возраста аналога ювенильного гормона – альтозара после их заражения простейшими в IV возрасте. Достоверное увеличение продукции получено за счет образования насекомых с большей массой.

7. Высокая жизнеспособность спор микроспоридий *V.antheraeae* и *V.heterosporum* в условиях лаборатории сохраняется в течение 12 месяцев в тканях хозяина при температуре около $+6^{\circ}\text{C}$; для микроспоридии *V.antheraeae* неизменным условием является наличие водной среды.

8. Параметры содержания гусениц капустной совки при разведении на них микроспоридий двух видов рода *Vairimorpha*, разработанные нами, могут служить основой для лабораторного регламента получения спор в массовых количествах.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Научно-исследовательским учреждениям и биолaborаториям, разрабатывающим вопросы массового получения спор микроспоридий рода *Vairimorpha*, целесообразно использовать в качестве биологического субстрата капустную совку.

2. Биолaborаториям для получения спор микроспоридий *V.antheraeae* и *V.heterosporum* в количествах, достаточных для полевых испытаний, использовать разработанные нами приемы содержания насекомых и микроспоридий, как дающие более высокую продуктивность в сравнении с ранее описанными.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Влияние температуры содержания гусениц капустной совки на продукцию спор *Vairimorpha antheraeae*. – В сб.: Инфекционные и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных

Нечерноземной зоны СССР. Науч. тр. ЛВИ, вып.72.Л., 1982, с. 34-39.

2. Влияние температуры содержания гусениц капустной совки на спорообразование микроспоридии *Vairimorpha antheraeae*. - Тез. докл. III Всес.съезда ВОПР, Вильнюс, 1982, с.121-122.

3. Влияние компонентов корма хозяина на образование спор микроспоридий вида *Vairimorpha antheraeae*. - Тез. докл. II Всес. съезда паразитологов, Киев, 1983, с.110-111.

4. Влияние ювеноида альтозара на продукцию спор микроспоридии *Vairimorpha antheraeae* в гусеницах капустной совки. - В сб.: Актуальные вопросы профилактики и ликвидации заразных болезней сельскохозяйственных животных. Науч. тр. ЛВИ, вып.73, Л., 1983, с.32-36.

5. Влияние условий содержания гусениц капустной совки на спорообразование микроспоридии *Vairimorpha heterosporum*. - М., 1985. - 13с. (№ 21 - деп.). РЖ "Защита с.-х. растений от вредителей и болезней", 1985, № 3, с.65.