

Б. Л. Шура-Бура и В. Л. Гагаев

О ПРИМЕНЕНИИ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА ПРИ ИЗУЧЕНИИ МИГРАЦИЙ НАСЕКОМЫХ

[B. L. SHURA-BURA AND V. L. GAGAEV. LUMINESCENT ANALYSIS
IN THE INSECT MIGRATIONS STUDIES]

Миграция насекомых издавна изучалась путем выпуска из определенных мест меченых экземпляров с последующим отловом их на различных расстояниях от места выпуска. Обычно маркировка членистоногих производилась путем опрыскивания отловленных особей раствором краски или опыления порошковидными красителями. Подобные грубые манипуляции могли в какой-то мере искажать характер миграции и отрицательно отражаться на точности конечных результатов исследования. В качестве индикатора применялись также красящие вещества, вводимые при кормлении, которые можно было в дальнейшем обнаружить визуально через брюшные покровы насекомых или при микроскопическом исследовании содержимого кишечника. Этот метод, хотя и позволяет маркировать насекомых в естественных условиях, но слишком трудоемок вследствие необходимости индивидуального исследования их.

При изучении характера и дальности миграции насекомых хорошие результаты получены с помощью метода радиоактивных индикаторов (Шура-Бура, 1952, 1955; Schoof, Siverly and Jensen, 1952; Quarterman, Mathis a. Kilpatrick, 1954, и др.), позволяющего метить неограниченные количества членистоногих путем кормления радиоактивным изотопом и легко обнаруживать меченые экземпляры при помощи счетчика радиоактивных излучений. Однако в ряде случаев и метод меченых атомов оказывается недостаточным, например при необходимости изучить встречную миграцию насекомых из мест выплода в места кормления, из жилища в мусорные ямы и т. п. В подобных условиях необходима для решения задачи дополнительная маркировка насекомых. Применение для дополнительной маркировки окрашивания и других способов, описанных выше, не пригодно из-за громоздкости и трудоемкости.

Нами изучена возможность дополнительной маркировки насекомых различными люминофорами с последующим выявлением их методом люминесцентного анализа. Применение люминесцентного метода позволяет значительно расширить масштабы опытов по изучению перемещения насекомых ввиду простоты обнаружения меченых экземпляров.

Метод люминесцентного анализа основан на люминесценции некоторых веществ (люминофоров) при возбуждении их ультрафиолетовыми или корпускулярными лучами. Объектом исследования была избрана комнатная муха. В качестве люминофоров использованы были флюоресцеин, примулин, флоксин, трипафлавин, акридин, фенол-бляу, нейтральрот и др.

Маркировка мух производилась в садках посредством свободного кормления растворами люминофоров на сахарной воде. К некоторым

люминофорам (флюоресцеин) добавлялось небольшое количество едкого натра. При исследовании на наличие люминесценции, мухи переводились в стеклянные пробирки. Последние облучались в темном помещении ультрафиолетовыми лучами при помощи специальной установки. Эта установка предназначалась для люминесцентного анализа витаминов, но оказалась вполне пригодной и для наших целей. Аппарат состоит из металлического ящика, в верхней части которого помещается ртутно-кварцевая лампа. Ультрафиолетовые лучи от лампы выходят наружу через окно в ящике, закрытое фильтром Вуда. Для обнаружения люминесценции достаточно поднести испытуемых мух в пробирке снаружи к фильтру действующей установки. Пробирка и контрольные немеченые мухи освещаются очень слабо. При наличии люминофоров в исследуемых мухах, брюшко последних начинает ярко светиться тем или иным цветом. Яркую люминесценцию дают и оставляемые мухами капли выделений из зоба и кишечника. Характер свечения зависит как от природы люминофора, так и от концентрации раствора и реакции среды. Наилучшие сочетания и разведения растворов люминофоров устанавливаются экспериментально, как это показано на табл. 1 в отношении флюоресцеина.

Дальнейшие исследования были в основном проведены с раствором флюоресцеина 1 : 500, изготовленном на 0.1%-м растворе едкого натра. Получаемая при корм-

лении мух таким раствором флюоресцеина люминесценция настолько хорошо заметна через брюшные покровы, что время определения занимает несколько секунд.

Для определения длительности сохранения люминофора в маркированных мухах, 100 голодных мух было накормлено в садке раствором флюоресцеина с сахаром. Через каждые 24 часа 20 мух переводились в отдельный садок и в дальнейшем питались только сахарным раствором (без люминофора). В основном садке мухи ежедневно подкармливались меченым флюоресцеином сахарным раствором. Ежедневно мухи из всех садков исследовались на наличие люминесценции.

В результате этого опыта было установлено, что все мухи, независимо от длительности периода кормления флюоресцеином, давали интенсивное свечение, вполне достаточное для индикации. Одновременно было установлено, что длительность люминесценции у живых мух можно было проследить еще через 5 дней после прекращения маркировки мух путем кормления. Если в садок с мухами, получившими за 4—5 дней до этого флюоресцеин, поместить равное или большее количество нормальных, немеченых мух, а затем всех убить эфиром, то при помощи люминесцентной установки можно в течение нескольких минут обнаружить

Таблица 1

Характер люминесценции флюоресцеина в зависимости от его разведения и концентрации щелочи

№ пробы	Разведение флюоресцеина	Концентрация едкого натра (в %)	Цвет люминесценции
1	1:500	0.01	Светло-желто-зеленый
2		0.02	»
3		0.05	Желто-зеленый
4		0.1	»
5		0.25	»
6		0.5	»
7		1.0	Зелено-желтый
8	1:1000	2.0	»
9		0.01	Светло-желто-зеленый
10		0.02	»
11		0.05	»
12		0.1	Желто-зеленый
13		0.25	»
14		0.5	»
15		1.0	»
16		2.0	Зелено-желтый

96—98% меченых экземпляров. Более точный результат получается, если раздавить таких мух на бумаге. В таком случае легко обнаруживаются все меченые экземпляры.

Исследование раздавленных мух позволяет обнаружить меченые особи еще через 6—7 дней после маркировки (табл. 2).

При исследовании раздавленных мух необходимо учитывать, что некоторые ткани мух дают собственную люминесценцию. Эта люминесценция слабее, чем флюоресцеиновая, и имеет другой оттенок.

Поведение маркированных мух ничем не отличалось от поведения контрольных. Повышения имагинальной летальности не наблюдалось. Все это свидетельствует о том, что растворы флюоресцеина и других люминофоров в примененных дозировках не оказывали на мух токсического действия.

Таблица 2

Длительность сохранения флюоресцеина в мухах

	Живые мухи						Раздавленные мухи						
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7
Время в сутках после окончания маркировки	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	±
Наличие люминесценции . .	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	±

Не все из испытанных люминофоров оказались одинаково пригодными для маркировки мух. Наилучшие результаты были получены с флюоресцеином, затем примулином и флоксином. Растворы примулина, желтые на дневном свете, дают в ультрафиолетовых лучах чрезвычайно красивую и яркую люминесценцию сиреневого цвета. Флоксин дает хорошо заметное оранжевое свечение. Прочие испытанные люминофоры давали свечение или сходное по цвету, или недостаточно яркое для целей маркировки.

Полученные данные показывают, что люминофоры могут быть использованы для дополнительной маркировки мух при изучении миграций. Подбирая люминофоры с различным цветом люминесценции (красным, синим, желтым и т. п.), можно одновременно различно маркировать нужное количество насекомых в нескольких местах и, следовательно, отличать насекомых из различных мест выпуска или обычного обитания. Люминофоры могут быть использованы и для основной маркировки насекомых при изучении миграций, поскольку они длительно сохраняются в насекомых и могут быть обнаружены при помощи несложной методики.

ВЫВОДЫ

1. Миграцию мух можно изучать, применяя метод люминесцентного анализа. Маркировку мух люминофорами можно производить путем свободного кормления, что дает возможность метить их в естественных биотопах и изучать миграцию в природных условиях.

2. Наиболее пригодными для маркировки оказались флюоресцеин, примулин и флоксин. Маркированные мухи могут быть обнаружены через 5—7 дней после скармливания им раствора люминофора. Люминесценция хорошо заметна через брюшные покровы в первые 4—5 суток после маркировки.

3. Люминесцентный метод может быть использован как для дополнительной маркировки насекомых, так и для основной.

4. Люминесцентный метод маркировки должен оказаться пригодным при изучении миграций и у некоторых других групп насекомых.

ЛИТЕРАТУРА

- Ш у р а - Б у р а Б. Л. 1952. К вопросу об изучении миграции комнатных мух при помощи радиоактивных индикаторов. В кн.: Чтения памяти Н. А. Холодковского. Изд. АН СССР : 12—21.
- Ш у р а - Б у р а Б. Л. 1955. Опыт изучения миграции мух со свалки методом меченых атомов. Гигиена и санитария, 9 : 12—15.
- Q u a r t e r m a n K. D., W. M a t h i s, J. W. K i l p a t r i k. 1954. Urban fly dispersal in the area of Savannach, Georgia. Journ. Econom. Entomol., 47, 3 : 405—412.
- S c h o o f H. F., R. E. S i v e r l y and J. A. J e n s e n. 1952. House fly dispersion studies in metropolitan areas. Journ. Econom. Entomol., 45, 4 : 675—683.

Кафедра военной эпидемиологии
Военно-морского факультета
при I Ленинградском медицинском институте,
Ленинград.

SUMMARY

Insect marking by radioisotopes is more convenient than tagging with different paints. Radioisotopes marking is insufficient while studying insect migration from several points. It is necessary to combine it with additional painting different for every point of release. Forcible painting of insects is unfit while migration studying in natural conditions.

The new method of marking flies we proposed is made by means of feeding them with solution of luminescence paints. Differentiation of marked flies is easily done by lighting with ultraviolet. Abdomen of marked flies bright luminescence of different shades in accordance with sort of luminescent paints. Luminescence of living flies continues within 5 days whereas that of dead flies continues 7 days. Using different luminescent paints it is possible to mark flies from several points of release by feeding them in natural condition. Luminescent paints may be used for marking of non-radioactive flies in the migration studying as they are continuously found out by means of simple method.