



## Конкурс для школьников «Гениальные мысли» Автореферат проекта победителя конкурса

**Название работы – Влияние водных дисперсий наночастиц металлов на развитие личинок насекомых.**

**Автор – Никельшпарг Матвей Ильич (9 класс, МАОУ "Гимназия № 3", г. Саратов).**

**Руководитель – Дородницына Лариса Васильевна, учитель биологии, МАОУ "Гимназия № 3".**

### **Основная идея работы, цели, задачи**

Одна из важных задач предприятий, синтезирующих наночастицы, является исследование их воздействия на живые организмы. Так, например, ведутся активные поиски новых антибактериальных препаратов на основе водных растворов наночастиц металлов (Шульгина и др., 2017г; Петрицкая Е.Н. и др., 2016г.).

*Целью нашей работы* было изучить влияние водных дисперсий наночастиц серебра и золота на насекомых, начиная с личиночной стадии.

В работе впервые исследуется влияние наночастиц золота и серебра на личинок насекомых, на примере куколок и имаго паразита-галлообразователя *Aulacidea hieracii* (хозяин-растение – ястребинка могучая), а также сверхпаразитов личинок *A. hieracii* - насекомых из семейства Сynipidae. В связи с тем, что подобные исследования на данных насекомых ранее не проводились, автором был разработан протокол исследования. В результате исследований автором установлено, что обработка личиночной стадии насекомых может приводить не только к гибели личинок, а в дальнейшем и куколок, но и мутациям и повреждениям у имаго. Однако наши наблюдения показали, что данные процессы у галлообразователя и его эктопаразитов происходят по-разному, поэтому исследование не закончено и требует продолжения.

### **Основные результаты**

В соответствии с поставленной целью: изучение влияния наночастиц золота и серебра на насекомых, автор предполагал получить три возможных варианта развития событий:

1. Нейтральное воздействие.
2. Наночастицы оказывают положительное влияние на насекомых (не убивают личинок, способствуют их развитию и т.д.).
3. Наночастицы оказывают отрицательное влияние на насекомых (убивают личинок, задерживают развитие, снижают фертильность и т.д.).

### **Материалы и методы**

Исследование проводилось на личинках насекомых-галлообразователях, зимующих в галлах ястребинки могучей. Выбор был сделан для удобства исследования, так как личинки были хорошо изучены ранее (Аникин и др. 2017). На данной стадии личинки не питаются и просты в содержании и выращивании. Галлообразователь является перепончатокрылым насекомым с полным превращением – яйцо-личинка (Рис.1) – куколка (Рис.2) – имаго (Рис.3) (взрослое насекомое). В процессе последнего метаморфоза изначально желтая куколка темнеет за 1-2 дня до превращения во взрослое насекомое.



*Рис. 1. Личинка*

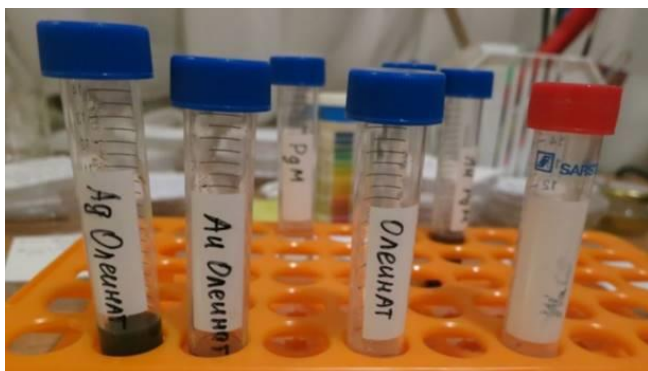


*Рис. 2. Желтая куколка*



*Рис. 3. Имаго*

Сбор проводился в декабре 2018 года в г. Саратове. Личинки насекомых-галлообразователей и их эктопаразиты раскладывались в чашки Петри по 5 личинок в чашку. Автором была разработана система контроля, так как на личинки оказывалось два воздействия: «капание как процесс» и «воздействие активных веществ – OleNa, Ag/OleNa, Au/OleNa».



*Рис. 5. Используемые растворы*

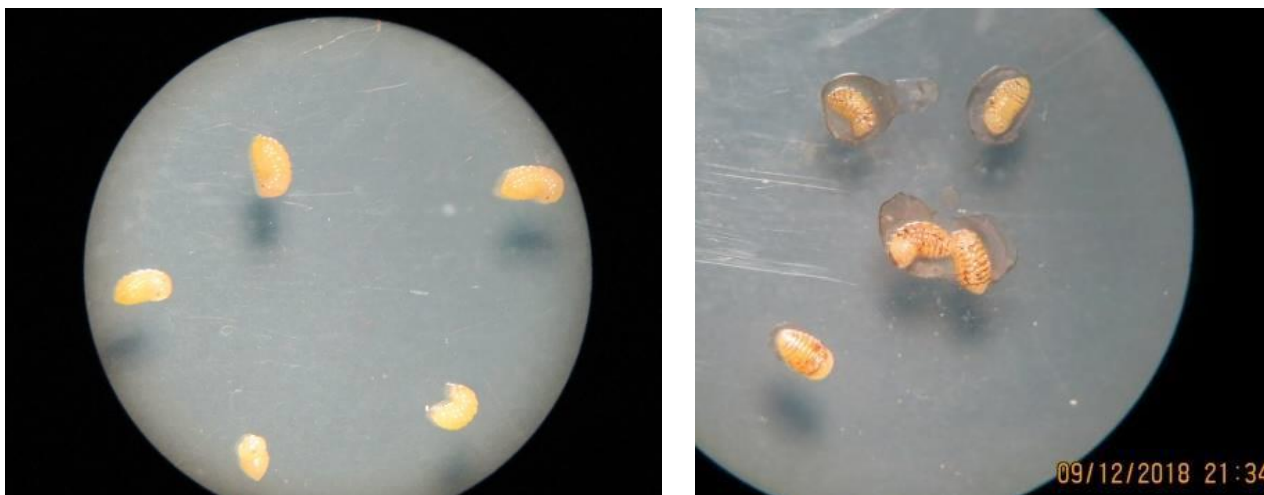


*Рис. 6. Работа автора в домашней лаборатории*

Всего было задействовано 10 чашек с насекомыми:

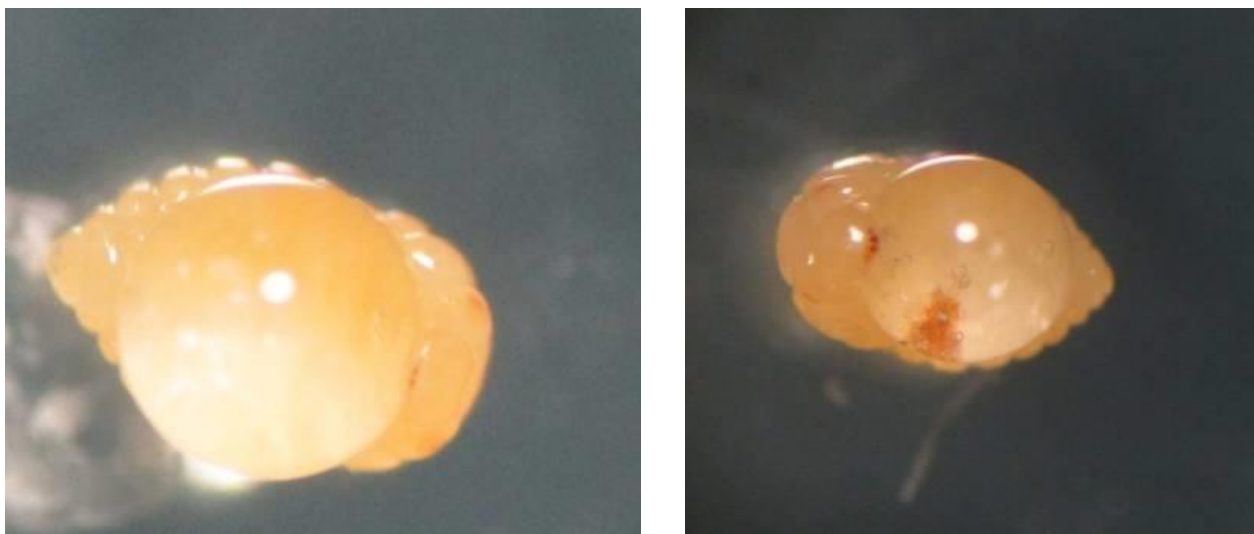
1. Проба «Сухие» - здоровые галлообразователи без воздействия. Контроль к «капанию».
2. Проба «NaCl» - галлообразователи, на которые капали физраствор, являющийся нейтральным по отношению к личинкам. Контроль к стабилизатору OleNa.
3. Проба «Олейнат» - галлообразователи, на которые капали стабилизатор OleNa. Контроль для наночастиц.
4. Проба «Серебро» - галлообразователи, на которые капали Ag/OleNa/W 500
5. Проба «Золото» - галлообразователи, на которые капали Au/OleNa/ W 500

То же самое было проделано с эктопаразитами галлообразователей (5 чашек Петри).



*Рис. 7. Примеры проб (чашки Петри с испытуемыми). Слева «сухие», справа – обработанные раствором с «серебром»*

Каплю каждого раствора дозировали с помощью автоматической пипетки. Дозу рассчитывали экспериментальным образом на отдельных, не участвующих в эксперименте личинках. Личинки испытуемых имеют размер всего 1-2 мм. При выборе дозы было впервые обнаружено, что поверхность галлообразователей гидрофобна, эффект лотоса на экзувии не позволял личинке погрузиться в каплю. Опытным путем нами была установлена доза 0,1мкл на одну личинку.



*Рис. 8. Эффект лотоса наблюдался у личинок независимо от жидкости.  
Слева личинка обработана физраствором, справа – OleNa.*

Личинки экропаразита, в отличие от галлообразователей не имеют такого выраженного эффекта. Тем не менее, было решено применить ту же дозу.

На все личинки капали по одной капле только один раз 09/12/2018г. Затем каждый день производили съемку каждой личинки с помощью фотоаппарата Canon S100 через объектив бинокулярного микроскопа Микромед МС-2 Zoom, данные об изменениях в личинках заносились в лабораторный журнал.

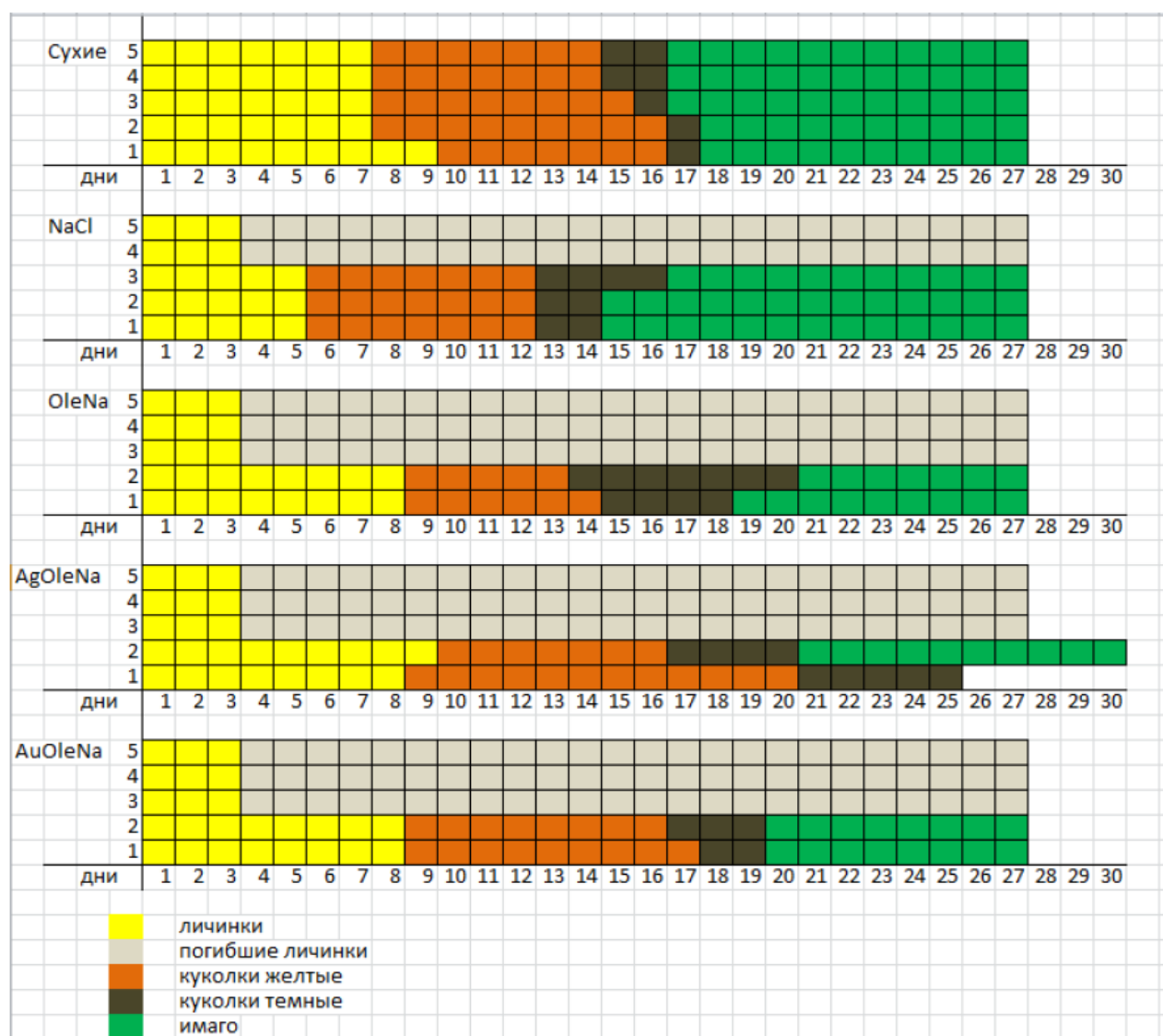
## **Результаты**

В результате эксперимента были построены кривые выживаемости галлообразователей. «Сухие» развивались стандартно, в соответствии с развитием в природе (Аникин, 2017;

Никельшпарг, Лаврентьев, 2016). Все 5 личинок превратились в здоровых имаго. На остальных подопытных оказало влияние «капание как процесс». Как минимум 2 из 5 погибло через три дня в каждой пробе, где было это действие. Личинки с физраствором 3 из 5 развились стандартно в здоровые особи, однако значительно быстрее «Сухих». При воздействии на личинок растворов OleNa, AgOleNa, AuOleNa погибли 3 личинки из 5. Причем, хуже всех обстояло дело с AgOleNa, где выжил лишь один экземпляр имаго (Таблица). Все насекомые в трех пробах (OleNa, AgOleNa, AuOleNa) развивались со значительной для данного типа животных задержкой.

*Таблица. Выживаемость насекомых в зависимости от способа воздействия на них различными растворами.*

Пробы/ Результаты	Количество личинок	Количество окуклившихся	Количество имаго	Количество поврежденных имаго
Сухие	5	5	5	0
NaCl	5	3	3	0
Олиенат	5	2	2	0
Серебро	5	2	1	1
Золото	5	2	2	2



*Рис. 9. График выживаемости насекомых*

Выжившие имаго в трех пробах OleNa, AgOleNa, AuOleNa имели повреждения. Наиболее частым явилось слипание крыльев, также ко всем особям прилипал различный мельчайший «мусор» со дна чашки, от которого имаго с трудом избавлялись, долго очищались, иногда безрезультатно. Основная причина гибели куколок была неспособность куколки снять верхний липидный слой, покрытый нанорастворами. Мы предполагаем, что растворы обладают сильными адгезивными свойствами с поверхностью данных насекомых, либо меняют какие-либо физиологические и анатомические свойства самих животных.



*Рис. 10. Личинка, обработанная AuOleNa, попыталась окуклиться, но в не смогла снять с себя экзувий*



*Рис. 11. Обработанная AuOleNa желтая личинка погибла на 3 день, развившаяся (рядом) темная куколка не смогла превратиться в имаго.*



*Рис. 12. Имаго самки с поврежденными крыльями (слева) и имаго «хромого» самца, нога которого не смогла отлепиться от экзувия во время выхода из куколки.*

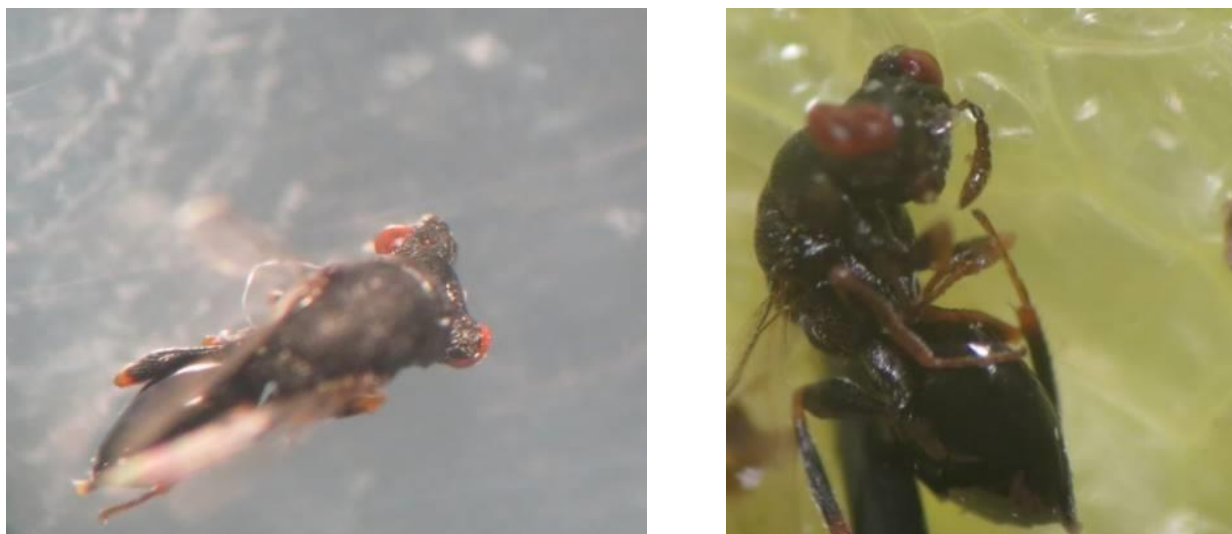


*Рис. 13. «Сухие» личинки превратились в здоровых имаго, 3 самца и 2 самки*



*Рис. 14. Эффект действия раствора с «Серебром». Погибли три личинки, из куколки попыталось выйти имаго, но не смогло очиститься, слиплись лапки и усики с телом. Вышла только одна здоровая самка.*

Эктопаразиты галлообразователей в природе развиваются позже, чем галлообразователи. Некоторые из них в данный момент (24/01/2019) живы, исследование продолжается. Но можно констатировать факт отрицательного воздействия на них OleNa, AgOleNa, AuOleNa. Например, появление насекомых с физическими уродствами:



*Рис. 15. Голова одного из паразитов «как бы разделилась на две», на одной половине головы три фрагмента глаза, три простых глазка и усик, на другой половине два фрагмента глаза, усика нет. Насекомое оказалось жизнеспособно, однако оно не смогло полностью очиститься от экзувия, вело себя беспокойно.*

Еще одна особенность влияния данных растворов наночастиц на паразитов, как было сказано выше, – невозможность полностью «очиститься» от экзувия с усиков (антенн) при линьке на имаго. Как известно, усики представляют важную роль в поиске партнера и при спаривании, с помощью усиков самец в природе исполняет «брачный танец». Мы наблюдали изменение поведения самца эктопаразита, который, наткнувшись на самку, начинал свой «брачный танец», самка убегала, а самец продолжал танец, не замечая отсутствие самки, в одиночестве, сам с собой. Такое поведение у здоровых особей ранее нами не наблюдалось никогда.



*Рис. 16. Усики эктопаразита не смогли очиститься от экзувия. На голове прилип мельчайший мусор (остатки экзувиев и экскрементов)*

Таким образом, нам удалось ответить на поставленный вопрос: наночастицы золота и серебра, стабилизированные OleNa, оказывают на личинок, куколок и имаго *Aulacidea Hieracii* и их эктопаразитов отрицательное воздействие.

### **Выводы, заключение, перспективы**

Мы получили предварительные данные, которые свидетельствуют о том, что растворы наночастиц металлов могут быть использованы в качестве активных компонентов в дезинсекции, так как оказывают отрицательное влияние на насекомых. Наше исследование не только дало нам новые знания о галлообразователях и их эктопаразитах, но и поставило ряд вопросов. Например, на какой слой кутикулы личинки или куколки осаждаются растворы, как глубоко проникают и проникают ли в личинку, как располагаются наночастицы на кутикуле, приобретают ли новые свойства наночастицы при взаимодействии с липидным слоем личинок и куколок и т.д. На эти вопросы мы предполагаем ответить в следующих исследованиях.

В результате исследования нами установлено отрицательное воздействие наночастиц золота и серебра, стабилизированных OleNa, на разные стадии развития некоторых насекомых. Однако, возможно другой результат будет при испытании этих препаратов на других насекомых, других групп живых объектов. Мы рекомендуем проверить действие данных экспериментальных препаратов на холоднокровных и теплокровных животных перед массовым применением этих соединений для нужд человека.

### **Список цитированных источников**

1. Шульгина Т. А., Нечаева О. В., Глинская Е. В., Дарьин Н. И., Торгашова А. С., Теслюк Д. А., Бабайлова А. В., Панфилова Е. А. Антимикотическая активность наночастиц серебра в зависимости от используемого стабилизатора // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. 2017. Том. 17. Выпуск. 4. С. 466 – 469.
2. Шульгина Т. А., Нечаева О. В., Торгашова А. С., Беспалова Н. В., Глинская Е. В., Шуршалова Н. Ф. Влияние водных дисперсий наночастиц металлов на адгезивные свойства стандартных и клинических штаммов *Staphylococcus aureus* // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. 2017. Том. 17. Выпуск. 2. С. 184 – 188.
3. Петрицкая Е.Н., Рогаткин Д.А., Русанова Е.В., Сравнительная характеристика антибактериального действия препаратов серебра и наносеребра *in vitro* // Альманах клинической медицины: -2016г, С. 221-226
4. Аникин В.В., Никельшпарг М.И., Лаврентьев М.В., Эволюционные стратегии освоения насекомыми-галлообразователями своих травянистых кормовых растений на территории Саратовской области // Научные труды Национального парка «Хвалынский». Саратов-Хвалынский, 2017. Вып.9. С. 241-244
5. Никельшпарг М.И., Лаврентьев М.В. Эколого-биологическая характеристика насекомого-галлообразователя (Hymenoptera: Cynipidae), развивающегося на ястребинке могучей (*Hieracium robustum* Fr. s. L.) // Исследования молодых ученых в экологии и биологии: Сб. И85 науч. тр. – Саратов, 2016. – Вып. 14. С.56.
6. Аникин В. В., Никельшпарг М. И., Никельшпарг Э. И., Лаврентьев М. В. Численность и фенология выхода орехотворки *Aulacidea hieraci* L., 1758 (Hymenoptera: Cynipidae) и её паразитоидов из галлов на ястребинке могучей (*Hieracium x robustum* Fr.) // Энтомологические и паразитологические исследования в Поволжье. Саратов, 2018. Вып. 15. С. 82–88.