

ВЛИЯНИЕ ИММУНИЗАЦИИ НА АКТИВНОСТЬ ГЕМОЦИТОВ ПО ОТНОШЕНИЮ К ЧУЖЕРОДНЫМ АБИОТИЧЕСКИМ ЧАСТИЦАМ У ЛИЧИНОК МЯСНОЙ МУХИ *CALLIPHORA VOMITORIA*

© Т. В. Кинд

Лаборатория биофармакологии и иммунологии насекомых
Биологического НИИ С.-Петербургского государственного университета;
электронный адрес: tatiana.kind@mail.ru

Бактериальная иммунизация личинок *Calliphora vomitoria* оказывает дифференцированное влияние на реакцию различных типов гемоцитов в ответ на инъекцию суспензии абиотических частиц. Эта реакция зависит от возраста личинок и соответственно состава иммуноцитов. Ювенильные плазматоциты, присутствующие в значительном количестве у кончающих питание и опустошающих зоб личинок, изначально очень активны, и уровень их реакции на чужеродные частицы не зависит от иммунизации. Плазматоциты I появляются после опустошения зоба. Иммунизация оказывает положительное влияние на степень их дифференцировки и соответственно на быстрее достижение периода возможности проявления защитного ответа. У иммунизированных особей повышается доля плазматоцитов, способных к фагоцитозу. Образование стабильных гиалиновых клеток также зависит от иммунизации, однако детали этого ответа различаются у личинок разного возраста. У кончающих питание и опустошающих зоб личинок иммунизация сама по себе индуцирует нарастание продукции гиалиновых клеток, а инъекция чужеродных частиц не оказывает дополнительного стимулирующего эффекта. После опустошения зоба и перехода к бродяжничеству иммунизация перестает оказывать прямое влияние, однако значительно повышает уровень чувствительности к инъекции угля. У иммунизированных особей появление в гемолимфе чужеродных веществ вызывает быстрое нарастание количества гиалиновых клеток за счет их дифференцировки из прогемоцитов и слабо дифференцированных плазматоцитов I.

Ключевые слова: насекомые, *Calliphora*, иммунитет, гемолимфа, фагоцитоз, плазматоциты, тромбоциты, гиалиновые клетки.

Среди гемоцитов, принимающих участие в очищении гемолимфы мух-каллифорид от чужеродных элементов, будь то бактерии, паразиты или абиотические частицы, наиболее активными являются тромбоциты и плазматоциты (Zachary et al, 1975; Кинд, 2005, 2007). Защитная роль этих двух типов прослеживается на всем протяжении развития личинок, однако в связи с тем что популяция гемоцитов испытывает кардинальные изменения гемоцитарной формулы на протяжении личиночного развития, меняется и уровень значимости отдельных элементов как в скорости определения инвазиверов, так и в скорости их элиминации из гемолимфы (Кинд, 2003, 2007).

Помимо онтогенетических различий наблюдаются и межвидовые вариации защитной клеточной реакции. Так, у близких видов *Calliphora vicina* и *C. vomitoria*, отмечена совершенно различная динамика нарастания количества и дифференцировки плазматоцитов в периоды опустошения зоба и перехода к состоянию бродячих личинок (Кинд, 2007). Если у *C. vicina* количество ювенильных плазматоцитов быстро сокращается в процессе опустошения зоба, а популяция плазматоцитов I нарастает только у опустошивших зоб личинок, у *C. vomitoria* деградация ювенильных плазматоцитов происходит значительно медленнее, а выброс в гемолимфу громадного количества

недифференцированных плазматоцитов I наблюдается еще до завершения опустошения зоба. Т.о. у последнего вида имеется хоть и короткий, но хорошо выраженный период, когда в гемолимфе в полном объеме присутствуют оба типа плазматоцитов. Кроме того, и стабильные гиалиновые клетки (предшественники тромбоцитов) у личинок *C. vomitoria* сохраняются в отличие от *C. vicina* в значительном количестве даже у молодых бродячих личинок. Это дает возможность предполагать, что и в реакции на бактериальную иммунизацию, обнаруженную нами у *C. vicina* (Кинд, 2010), будут выявлены видовые различия, позволяющие понять и смоделировать механизмы распознавания и дальнейшей изоляции чужеродных объектов определенными типами иммуноактивных гемоцитов.

Материал и методика

Для работы была использована лабораторная популяция *C. vomitoria* английского происхождения с полным отсутствием диапаузы в жизненном цикле. Личинки выращивались на свиных почках при 15 °С. При этой температуре период питания занимает около 10 сут, опустошение зоба — 40—48 ч, стадия зрелой бродячей личинки —

3—5 сут. Иммунизация опустошающих зоб (стадии длинного зоба, полуопустошенного зоба и короткого зоба) и бродячих личинок осуществлялась путем укола тонкой иглой, смоченной в суспензии грам-положительных и грам-отрицательных бактерий (*Escherichia coli* и *Micrococcus luteus*). Продолжительность развития и динамика пупаризации у контрольных и иммунизированных личинок были идентичными. Контрольные и иммунизированные особи содержались 2 сут при 15 °С после чего им производилась инъекция 10 мкл стерильной 2—5%-ной суспензии мелко растертого медицинского активированного угля с величиной частиц 0.1—1.0 мкм в физиологическом растворе (0.65 г NaCl, 0.014 г KCl, 0.012 г CaCl₂ и до 100 мл дистиллированной воды). В каждой серии использовалось по 50—100 особей. Через различное время после инъекции (от 1 мин до 4 ч) пробы гемолимфы исследовались под микроскопом с использованием дифференциально-интерференционного контраста (ДИК) по Номарскому при увеличении 400× (об. 40×). Эта методика позволяет получить барельефные полихромные изображения клеток и ряда клеточных структур, включая ядра, ядрышки, липидные и гликолипидные включения и вакуоли. Она очень удобна для распознавания отдельных типов гемоцитов и для анализа их состояния в процессе функционирования. В каждом варианте использовалось по 2 временных препарата гемолимфы. Капли гемолимфы, взятые после прокола в передних сегментах 5 личинок, смешивались на предметном стекле и немедленно исследовались под микроскопом. Изображения монослоя гемоцитов были получены с использованием цифровой видеокамеры Digital CDSP, установленной на микроскопе Jenamed. Они захватывались с помощью программы iuVCR и редактировались в Adobe Photoshop (v. 7). Для статистической обработки (среднее значение, стандартное отклонение и доверительный интервал) подсчитывалось количество гемоцитов различного типа и количество гемоцитов с прилипшими к мембране или с фагоцитированными частицами угля в 10 произвольно выбранных полях (по 5 полей для каждого препарата). В каждом варианте подсчитывались данные не менее чем для 100 гемоцитов.

Результаты

Для исследования реакции гемоцитов *C. vomitoria* на иммунизацию использовались личинки заканчивающие питание, а также в процессе и сразу после опустошения зоба. После уколов смоченной в суспензии бактерий иглой на более ранних стадиях развития (конец питания) наблюдалась значительная гибель подопытных личинок, а у опустошивших зоб особей период, необходимый для полного проявления эффекта иммунизации (2 сут при 15 °С), был недостаточным для достижения этапа запуска пупаризации и, следовательно, очередного резкого изменения состояния гемоцитов.

Через 2 сут после окончания питания зоб опустошается наполовину. В этот период начинается массивный выброс в гемолимфу прогемоцитов. Одновременно происходит активная продукция из прогемоцитов еще не дифференцированных плазматоцитов I, и в гемолимфе можно видеть крупные кластеры прогемоцитов, умеренное количество плазматоцитов I, немногочисленные ювенильные плазматоциты и гиалиновые клетки. При этом гиалиновых клеток достоверно больше у предварительно иммунизированных особей. После инъекции суспен-

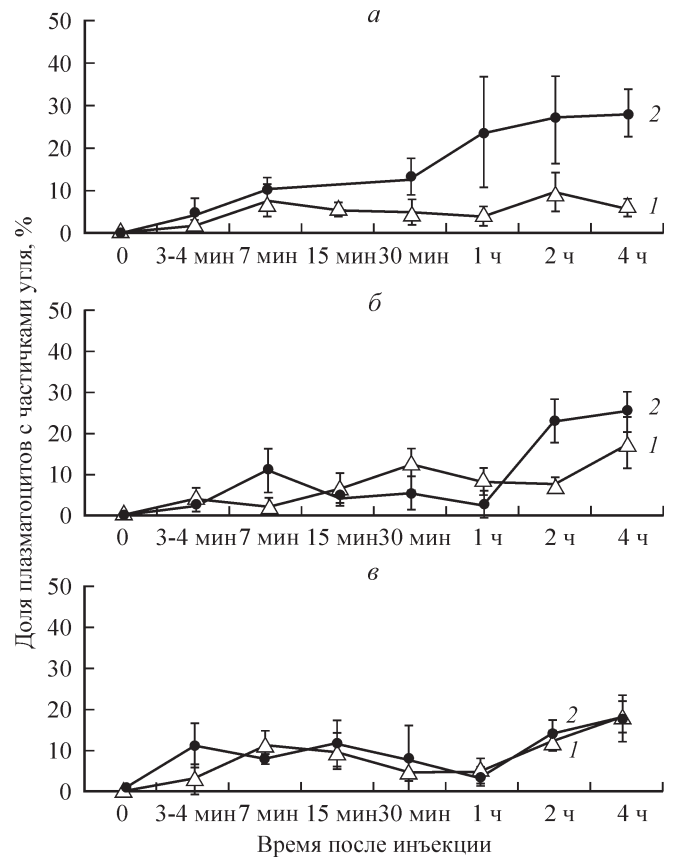


Рис. 1. Влияние иммунизации на защитную реакцию плазматоцитов личинок *Calliphora vomitoria* различного возраста.

Доля плазматоцитов с адгезированными или фагоцитированными частицами угля через различные сроки после инъекции в неиммунизированных (1) и иммунизированных (2) личинок: а — начало опустошения зоба (длинный зоб), б — конец опустошения зоба (короткий зоб), в — через 3 ч после опустошения зоба. Даны средние значения и их доверительные интервалы ($P = 0.05$).

зии частиц угля он очень быстро начинает связываться тромбоцитоидами и адгезироваться на поверхности ювенильных плазматоцитов, а затем и фагоцитироваться последними. При этом у иммунизированных личинок эти процессы происходят более интенсивно, чем у контрольных. Кроме того, иммунизация способствует образованию морул и прилипанию плазматоцитов к агглютинатам. Через 30—60 мин все ювенильные плазматоциты принимают участие в фагоцитозе, а еще через 1—2 ч заполняются частицами параллельно с освобождением от угля агглютинатов, которые начинают терять компактную форму и принимают вид тяжей. Гиалиновые клетки тоже до некоторой степени принимают участие в связывании посторонних частиц, которые нередко прилипают к их мембране. В целом доля гиалиновых клеток у иммунизированных личинок выше, чем у контрольных, хотя эти различия в большинстве случаев недостаточно достоверны.

Значительно более отчетливое влияние на защитную функцию гемоцитов иммунизация оказывает на более поздних этапах развития.

У наполовину опустошивших зоб личинок зоб через 2 сут опустошается практически полностью. В этот период, еще до момента инъекции угля, становится заметной определенная разница между иммунизированными и неиммунизированными (контрольными) особями на уровне

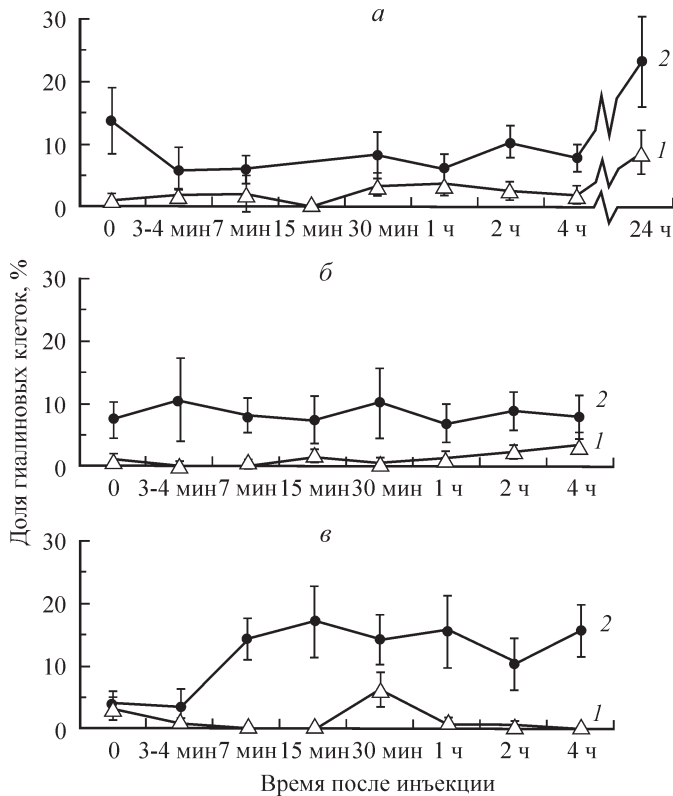


Рис. 2. Влияние иммунизации на выработку стабильных гиалиновых клеток у личинок *Calliphora vomitoria* различного возраста.

Доля гиалиновых клеток в различные сроки после инъекции суспензии угля в неиммунизированных (1) и иммунизированных (2) личинок: а — начало опустошения зоба (длинный зуб), б — конец опустошения зоба (короткий зуб), в — через 3 ч после опустошения зоба. Даны средние значения и их доверительные интервалы ($P = 0.05$).

гемоцитарной формулы. При практически полном совпадении состава плазматоцитов (уменьшение количества ювенильных плазматоцитов и нарастание числа плазматоцитов I при опустошении зоба) иммунизация приводит к некоторому увеличению размеров и степени заполненности включениями плазматоцитов I, а также к достоверному возрастанию доли стабильных гиалиновых клеток (рис. 2, а). Эта разница сохраняется практически неизменной на протяжении всего периода наблюдений, т. е. вплоть до 4 ч после инъекции суспензии угля. В то же время результаты инъекции чужеродных частиц демонстрируют, что иммунизация оказывает хорошо выраженное влияние и на фагоцитарные функции плазматоцитов. В отличие от ранее изученной в этом плане *C. vicina* у *C. vomitoria* адгезия частиц угля, к ювенильным плазматоцитам, хорошо заметная на ранних этапах реакции, слабо зависит от иммунизации и является начальным этапом не перехода частиц в агглютинаты, а их фагоцитоза. Тромбоцитоподобные агглютинаты, моментально заполняющиеся после инъекции угля как в контрольных, так и в иммунизированных личинок, с течением времени уменьшаются в размерах, и через 15—30 мин частицы начинают переходить в окружающие их ювенильные плазматоциты (рис. 3, б, з) а позже, и в плазматоциты I (рис. 3, д, е). При этом у иммунизированных личинок заполнение плазматоцитов I углем происходит значительно интенсивнее, чем у контрольных, очевидно за счет ускоренной дифференцировки первых (рис. 1, а). Через 2—4 ч плаз-

матоциты полностью заполняются углем, отделяются от агглютинатов и свободно лежат в гемолимфе (рис. 3, д, е). Сами тромбоцитоподобные агглютинаты теряют округлую форму и превращаются в систему тяжей с остатками поглощенных ранее частиц. У иммунизированных личинок возросшее количество гиалиновых клеток нередко сопровождается образованием протромбоцитоподобных, которые при сохранении целостности мембраны, приобретают способность к адгезии чужеродных частиц (рис. 3, з).

Через 2 сут после достижения стадии короткого зоба личинки заканчивают опустошение зоба и переходят в стадию бродяжничества, т. е. поиска места для пупаризации. В этот период, когда имеют место значительное снижение популяции ювенильных плазматоцитов и нарастание доли плазматоцитов I, после иммунизации, как и у более молодых личинок, происходит активация дифференцировки плазматоцитов I, а доля потенциальных тромбоцитоподобных достоверно возрастает. Эта разница, как и в предыдущем варианте, сохраняется неизменной на всем протяжении периода наблюдений (рис. 2, б). Сразу после опустошения зоба очищение гемолимфы от чужеродных частиц идет необычайно интенсивно как у иммунизированных, так и у контрольных личинок. Уже через 3—4 мин после инъекции уголь практически полностью исчезает из гемолимфы и скапливается в крупных агглютинатах, часто окруженных плазматоцитами с прилипшими и фагоцитированными частицами (рис. 4, а, з). В последующем, как и на более ранней стадии, наблюдается постепенное заполнение ювенильных плазматоцитов частицами с параллельным опустошением агглютинатов и исчезновением морул и капсул, причем динамика этого процесса не зависит от наличия или отсутствия иммунизации (рис. 4, б, в, д, е). Через 2—4 ч после инъекции все ювенильные плазматоциты заполняются полностью и начинаются фагоцитоз плазматоцитами I.

После иммунизации личинки с почти опустошенным зобом и соответственно инъекцией угля через сутки после начала периода бродяжничества функция фагоцитоза полностью переходит к плазматоцитам I, так как ювенильных плазматоцитов в гемолимфе практически не остается. Скорость гемоцитарной реакции при этом несколько снижается. В ранние сроки наблюдений (3—7 мин после инъекции) как у контрольных, так и у иммунизированных личинок в гемолимфе еще заметно наличие свободно плавающих несвязанных частиц, хотя основное их количество уже захвачено тромбоцитоподобными и плазматоцитами. В это же время наблюдается увеличение адгезии как угля к поверхности плазматоцитов I, так и плазматоцитов к агглютинатам с образованием капсул и морул. Влияние иммунизации ограничено повышением уровня продукции гиалиновых клеток. При этом многие гиалиновые клетки либо распадаются, образуя тромбоцитоподобные, либо, не меняя форму, приобретают способность к адгезии частиц.

Через 2 сут после иммунизации личинок, только что закончивших опустошение зоба, около 70 % особей приступало к пупаризации. Поэтому ответная реакция на появление в гемолимфе частиц угля исследовалась у гемоцитов, начавших предметаморфозные изменения. Вне зависимости от наличия или отсутствия иммунизации плазматоциты перед инъекцией в основном находились в фазе II (забиты катаболическими включениями), хотя небольшое количество сохранялось на предыдущем этапе дифференцировки. Количество гиалиновых клеток было в

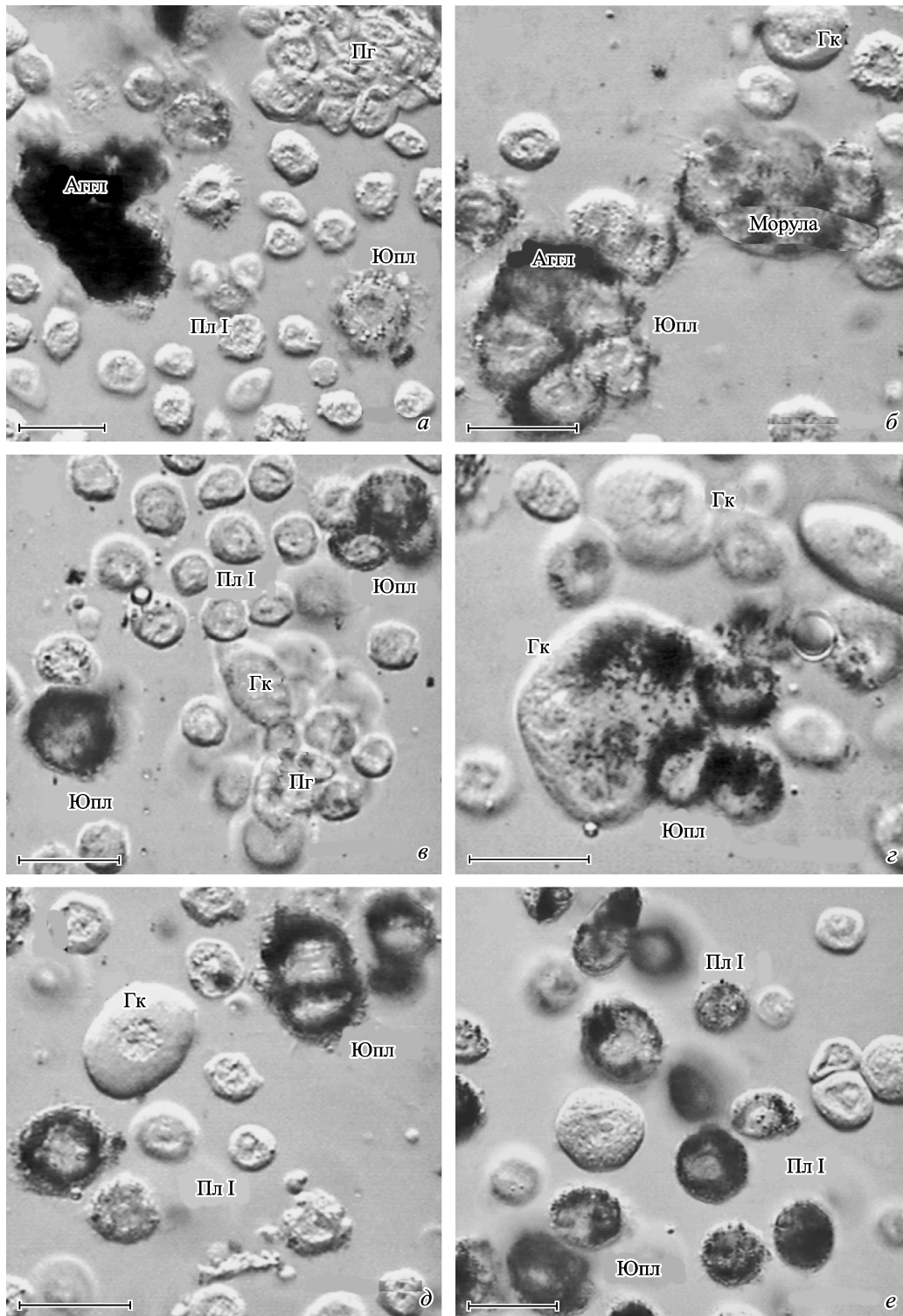


Рис. 3. Гемоциты полуупустошивших зоб неиммунизированных (левый ряд) и иммунизированных (правый ряд) личинок *Calliphora vomitoria* через 3—4 (а, б), 30 (в, г) мин и 4 ч (е) после инъекции суспензии угля. Дифференциальный интерференционный контраст по Номарскому.

Аггл — тромбоцитоидные агглютинаты, Гк — гиалиновые клетки, Пл I — плазматочиты I, Юпл — ювенильные плазматочиты. Масштабные отрезки — 20 мкм.

обоих вариантах незначительным. После инъекции угля он быстро скапливался в тромбоцитоидных агглютинатах или окружал плазматочиты, образуя морулы или капсулы (рис. 5, а, б; 6, а). Как и на более ранних стадиях, существование капсул и морул было недолговременным,

и уже через 30 мин после инъекции подавляющая часть плазматочитов утрачивала связь как с агглютинатами, так и между собой. В более поздние сроки, через 1—4 ч после инъекции, плазматочиты плотно заполняются углем, а агглютинаты, напротив, освобождаются от частиц и приоб-

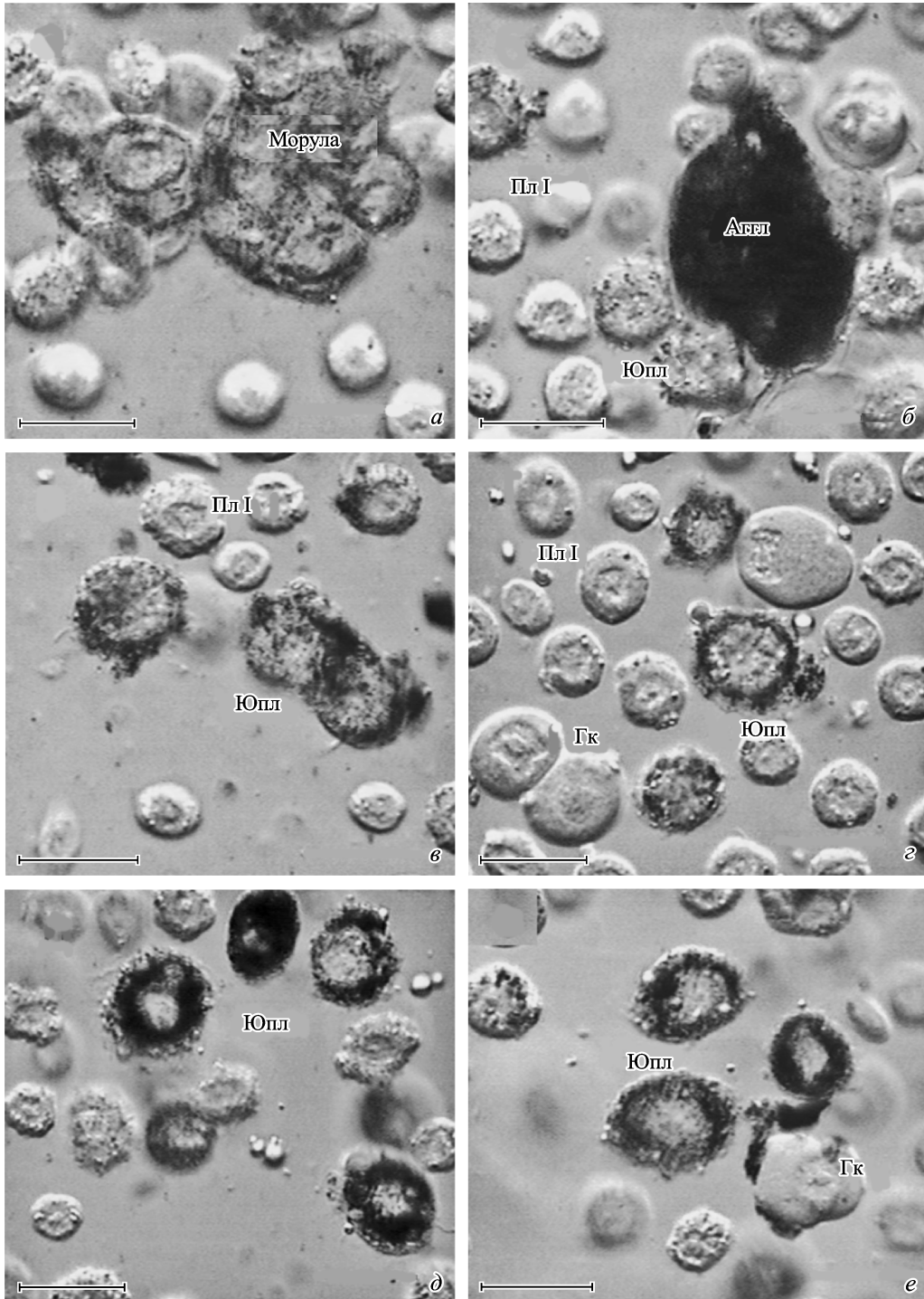


Рис. 4. Гемоциты почти опустошивших зоб неиммунизированных (левый ряд) и иммунизированных (правый ряд) личинок *Calliphora vomitoria* через 3—4 (а, б), 30 (в, г) мин и 4 ч (д, е) после инъекции суспензии угля. Дифференциальный интерференционный контраст по Номарскому.

Обозначения те же, что и на рис. 3. Масштабные отрезки — 20 мкм.

ретают форму тяжей (рис. 5, д, е; 6, з). При этом заполненные углем плазматоциты составляют не более 10—15% всех клеток этого типа вне зависимости от иммунизации (рис. 1, в).

По контрасту с отсутствием эффекта иммунизации на функционирование плазматоцитов она оказывает четко выраженный эффект на новообразование гиалиновых клеток в ответ на инъекцию. У опустошивших зоб личи-

нок иммунизация сама по себе не оказывает в отличие от более ранних этапов развития никакого влияния на гиалиновые клетки. Однако уже через 7—15 мин после инъекции суспензии угля разница в реакции контрольных и иммунизированных особей становится очевидной (рис. 2, в). В гемолимфе неиммунизированных личинок количество гиалиновых клеток на всем протяжении исследованного периода остается очень низким, в то время как у им-

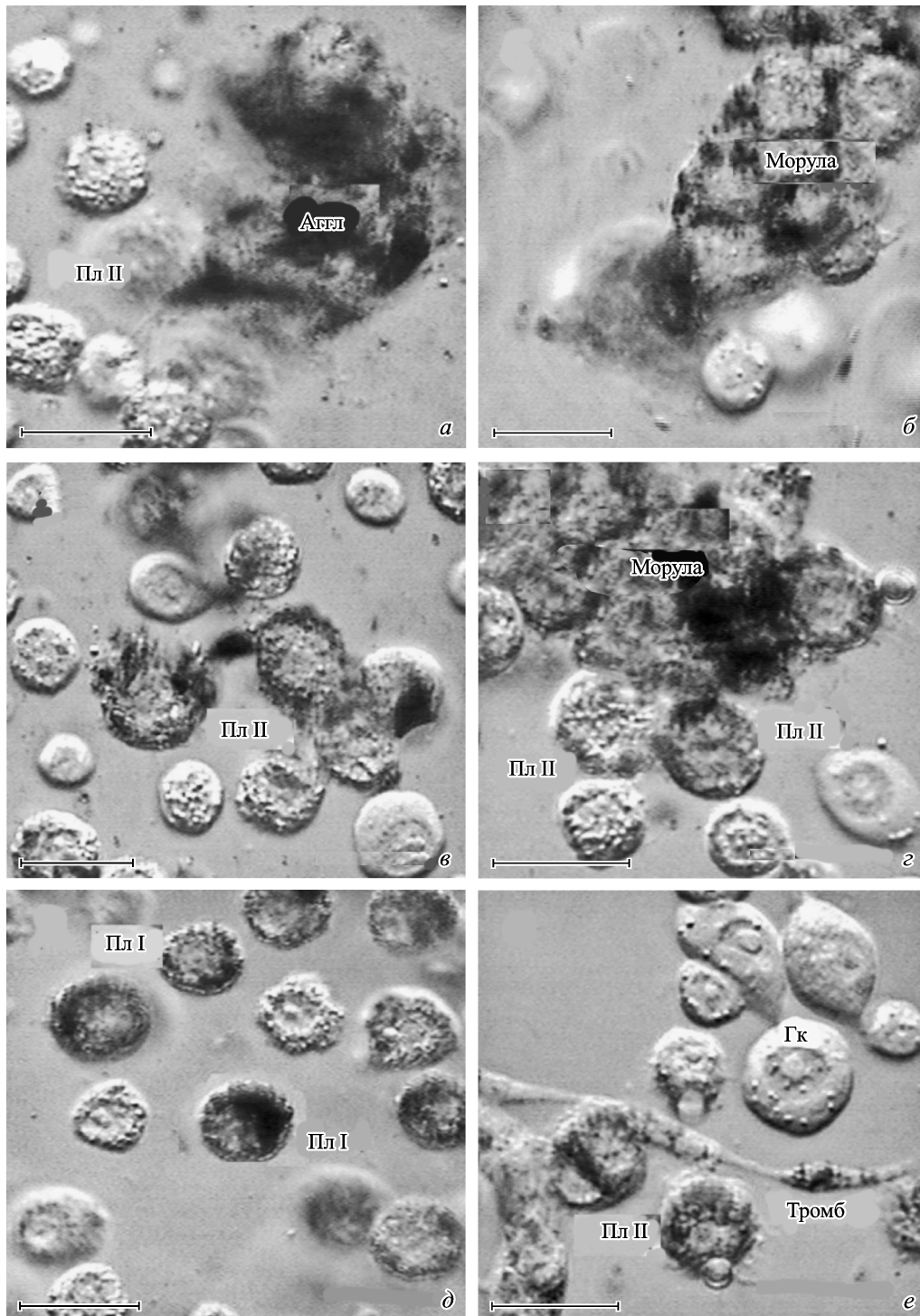


Рис. 5. Гемоциты бродячих неиммунизированных (левый ряд) и иммунизированных (правый ряд) личинок *Calliphora vomitoria* через 3—4 (а, б), 15 (в, з) мин и 4 ч (д, е) после инъекции суспензии угля. Дифференциальный интерференционный контраст по Нормарскому.

Пл II — плазматоциты II, Тромб — тромбоцитонды; остальные обозначения те же, что и на рис. 3, 4. Масштабные отрезки — 10 мкм.

мунизированных в пределах кластеров прогемоцитов быстро начинается их дифференцировка (рис. 7, з) с последующим увеличением размеров. Некоторые из этих клеток приобретают способность к адгезии частиц угля (рис. 7, а, в).

Обсуждение

Полученные результаты указывают на то, что у *C. vomitoria* иммунизация оказывает влияние не столько на функционирование гемоцитов, осуществляющих защитную функцию, сколько на уровень их дифференцировки.

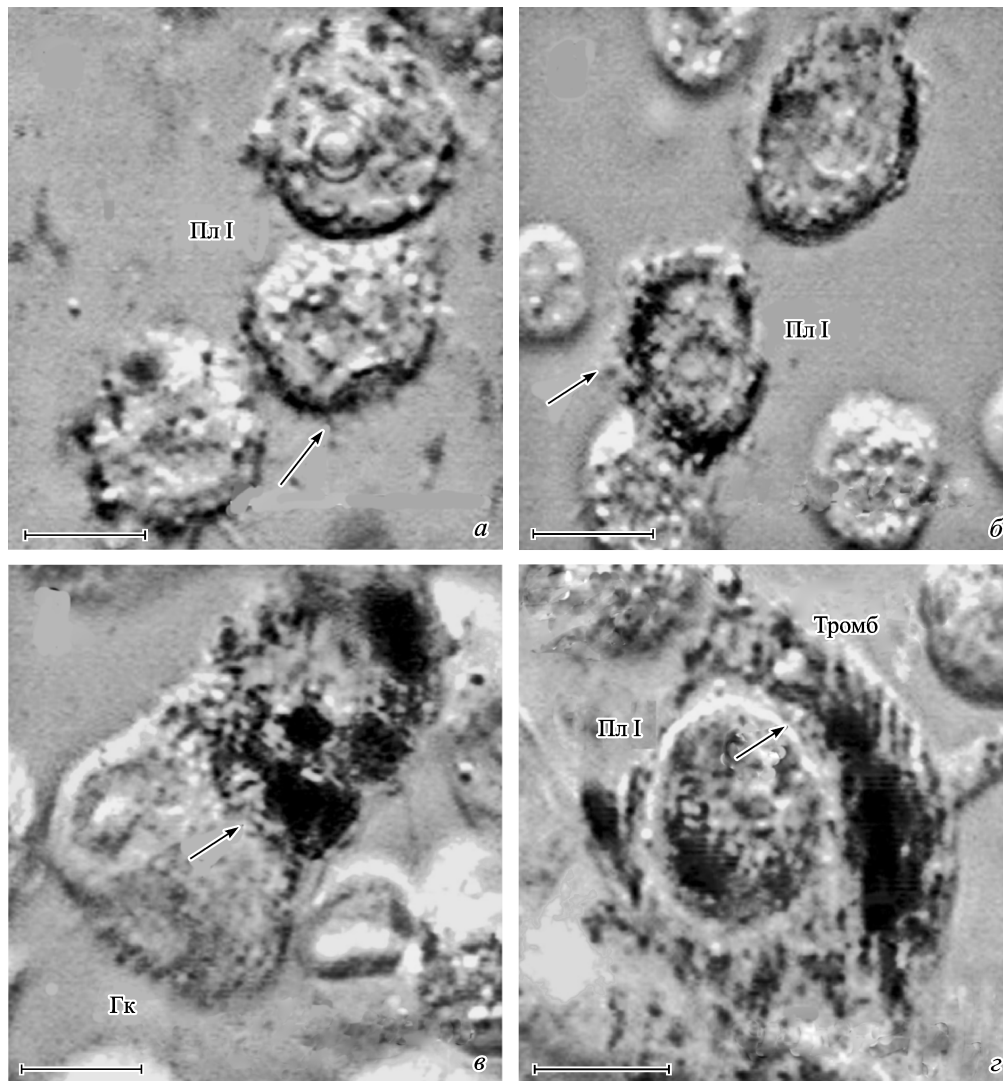


Рис. 6. Гемоциты иммунизированных опустошивших зоб личинок через различные периоды после инъекции суспензии угля. Дифференциальный интерференционный контраст по Номарскому.

а — 3—4 мин после инъекции; видна адгезия угля к плазматочитам I (стрелка). *б* — 15 мин после инъекции; уголь накапливается в цитоплазме плазматочитов; заметен фагоцитоз в зоне микроворсинок (стрелка). *в* — 30 мин после инъекции; плазматочиты заполняются частицами; в зоне контакта между агглютинатом и гиалиновой клеткой виден переход частиц в последнюю (стрелка). *г* — 4 ч после инъекции; опустошение тромбоцитных тяжей и переход частиц в плазматочиты (стрелка). Обозначения те же, что и на рис. 3—5. Масштабные отрезки — 10 мкм.

На всем протяжении опустошения зоба плазматочиты у иммунизированных личинок находятся на несколько более продвинутом этапе дифференцировки, чем у неиммунизированных, контрольных, особей.

Ювенильные плазматочиты, формирование пула которых практически завершается ко времени прекращения питания, являются чрезвычайно рецептивными к чужеродным частицам и вне зависимости от наличия или отсутствия иммунизации начинают сначала адгезировать, а затем и фагоцитировать их в первые же минуты после инъекции. В этот процесс вовлекаются все клетки данного типа. Исключение составляют только перегруженные катаболическими включениями деградирующие ювенильные плазматочиты у завершающих опустошение зоба личинок.

Совершенно другая ситуация складывается с плазматочитами I. Их реагирование на чужеродные частицы начинается только после достижения определенной степени дифференцировки, сопровождающейся появлением

в цитоплазме первых катаболических включений. Плазматочиты I начинают фагоцитоз в значительно более поздние сроки после инъекции, чем ювенильные плазматочиты, не ранее чем через 30 мин. Кроме того, популяция плазматочитов I является гетерогенной, и не более 20 % из них заполняются чужеродными частицами. В отличие от *S. vicina* плазматочиты I *S. vomitoria* почти не образуют морул. На ранних этапах реакции значительно чаще происходит не образование классических морул из плазматочитов с адгезированным углем, а инкорпорация плазматочитов в агглютинаты или прилипание к их поверхности. Вторым значительным отличием является быстрый фагоцитоз адгезированного угля, а не его переход в агглютинаты. Вследствие этого наблюдается постепенное заполнение чужеродными частицами ювенильных плазматочитов, а затем и наиболее дифференцированных плазматочитов I. Иммунизация в этом случае мало сказывается непосредственно на процессе фагоцитоза, но приводит к ускорению дифференцировки плазмато-

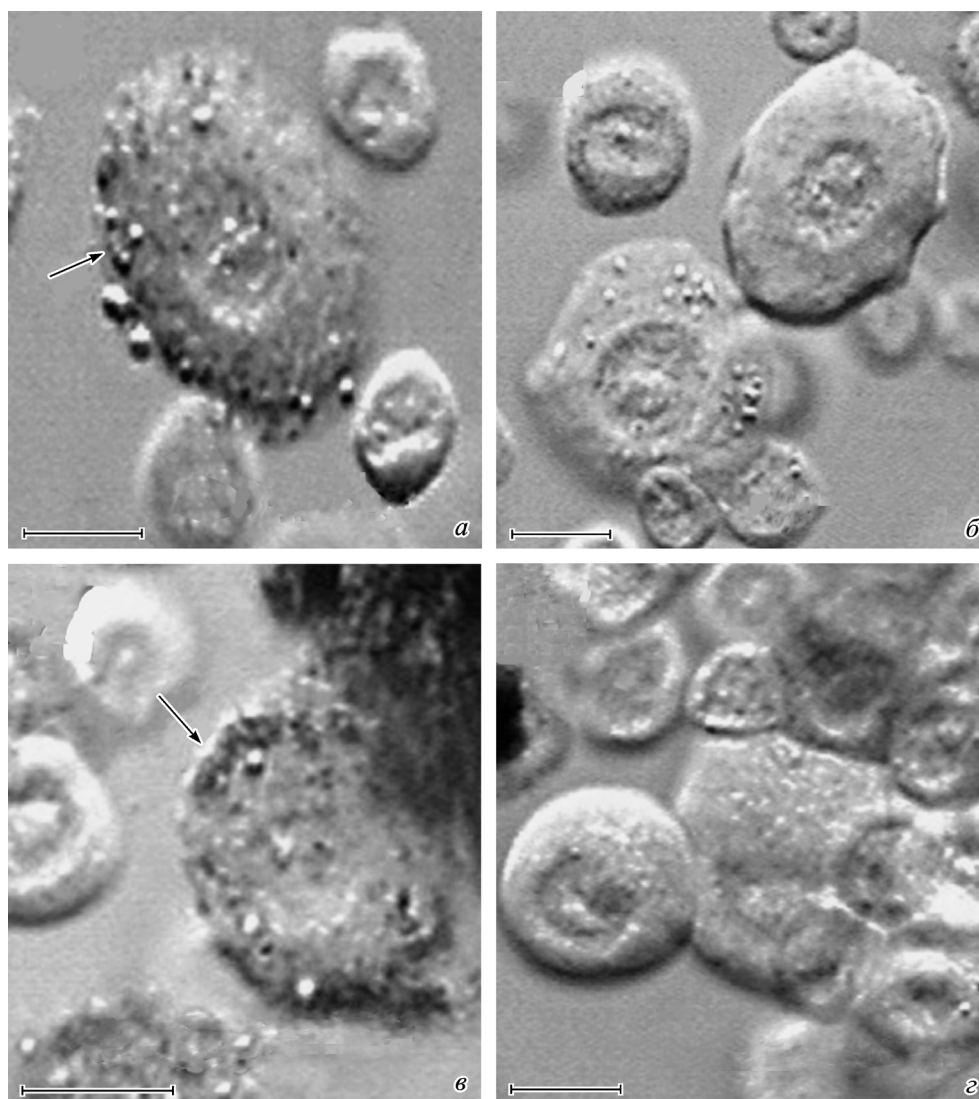


Рис. 7. Образование стабильных гиалиновых клеток в гемолимфе опустошивших зоб иммунизированных личинок *C. vomitoria*. Дифференциальный интерференционный контраст по Номарскому.

а — крупная гиалиновая клетка через 3—4 мин после инъекции; заметно прилипание к мембране жировых капелек и частиц угля (стрелка). *б* — две крупные клетки (одна из которых со слегка гранулированной цитоплазмой) через 30 мин после инъекции. *в* — адгезия угля к гиалиновой клетке через 1 ч после инъекции (стрелка). *г* — массовое образование гиалиновых клеток в пределах кластера прогемоцитов через 2 ч после инъекции. Масштабные отрезки — 10 мкм.

цитов I, что и определяет конечный результат — более высокую долю заполненных углем плазматочитов на поздних этапах экспериментов с опустошающими зоб личинками. У особей с опустошенным зобом, когда вся популяция плазматочитов достигает одного уровня дифференцировки, иммунитет перестает оказывать влияние как на рецептивность клеток, так и на поглощение ими угля (рис. 1).

Одними из наиболее вероятных медиаторов в процессах распознавания чужеродных объектов, их опсонии и фагоцитоза являются лектины (агглютинины) (Richards, Ratcliffe, 1990; McKenzie, Preston, 1992a, 1992b; Lavine, Strand, 2003; Ottaviani, 2005; Ao et al., 2007). Было показано, что флуоресцентные лектины окрашивают у *Calliphora vomitoria* преимущественно способные к фагоцитозу плазматочиты (McKenzie, Preston, 1992a). Их присутствие в гемолимфе ограничено личиночным периодом, а концентрация достигает максимума за 2—3 сут до пупариза-

ции (McKenzie, Preston, 1992b). При этом повышение активности гемагглютинаина у этого вида может индуцироваться инъекцией суспензии чужеродных частиц, но не уколом иглы и не инъекцией физиологического раствора. С этими данными вполне согласуется слабое влияние иммунизации на фагоцитарную реакцию плазматочитов на фоне изначально высокой концентрации лектинов в гемолимфе.

Второй клеточной системой, подверженной влиянию предварительной иммунизации являются гиалиновые клетки и конечный продукт их дифференцировки — тромбоциты. Эти клетки не окрашиваются флуоресцентными лектинами и обладают иным, еще не установленным способом рецепции «чужого». Результаты предварительных экспериментов по выявлению влияния различных воздействий на продукцию гиалиновых клеток у опустошивших зоб личинок продемонстрировали отсутствие эффекта иммунизации (Кинд, 2008). Однако, как

показали вышеизложенные результаты, это влияние все же имеет место и осуществляется двумя различными путями. У опустошающих зоб особей, когда происходит активная продукция этого типа клеток, иммунизация интенсифицирует этот процесс и через 2 сут во всех вариантах происходит достоверное увеличение их доли. Прямой эффект иммунизации исчезает после опустошения зоба. В то же время параллельно возрастает выраженность ответа на инъекцию частиц угля и наблюдается постепенное нарастание доли гиалиновых клеток, вызванное их активным образованием из прогемоцитов, что особенно хорошо заметно в районе кластеров.

Таким образом, полученные данные показывают, что при общем сходстве защитной клеточной реакции двух близких видов, влияние предварительной иммунизации у личинок *C. vomitoria* по целому ряду параметров отличается от такового у *C. vicina*. В отличие от *C. vicina* у *C. vomitoria* иммунизация оказывает влияние на защитную реакцию иммуноцитов не посредством регуляции процессов распознавания, адгезии и фагоцитоза чужеродных частиц, а путем индукции новообразования и дифференцировки потенциально активных клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы президента РФ «Ведущие научные школы» (НШ 7130. 2006.4).

Список литературы

Кинд Т. В. 2003. Гемоциты мясной мухи *Calliphora vicina* и их динамика при развитии личинок и индукции метаморфоза. Цитология. 45 (1) : 14—25.

Кинд Т. В. 2005. Агглютинация и фагоцитоз чужеродных абiotических частиц гемоцитами мясной мухи *Calliphora vicina*

na in vivo. I. Динамика фагоцитарной активности гемоцитов в онтогенезе личинок. Цитология. 47 (7) : 609—622.

Кинд Т. В. 2007. Гемоциты с различными типами защитной реакции в онтогенезе трех видов мясных мух рода *Calliphora*. В кн.: Стратегии адаптации наземных членистоногих к неблагоприятным условиям среды. Труды БиНИИ СПбГУ. 53 : 306—335.

Кинд Т. В. 2008. Дифференцировка стабильных гиалиновых клеток в гемолимфе личинок мясной мухи *Calliphora vomitoria* в ответ на инъекцию чужеродных частиц. Цитология. 50 (9) : 765—772.

Кинд Т. В. 2010. Агглютинация и фагоцитоз чужеродных абiotических частиц гемоцитами мясной мухи *Calliphora vicina in vitro*. II. Влияние бактериальной иммунной индукции на гемоцитарную активность. Цитология. 52 (6) : 431—441.

Ao J., Ling E., Yu X. Q. 2007. *Drosophila* C-type lectins enhance cellular encapsulation. Mol. Immunol. 44 : 2541—2548.

Lavine M. D., Strand M. R. 2002. Insect hemocytes and their role in immunity. Insect Bioch. Mol. Biol. 32 : 1295—1309.

McKenzie A. N., Preston T. M. 1992a. Functional studies on *Calliphora vomitoria* haemocyte subpopulations defined by lectin staining and density centrifugation. Develop. Comp. Immunol. 16 : 19—30.

McKenzie A. N., Preston T. M. 1992b. Biological characteristics of the *Calliphora vomitoria* agglutinin. Develop. Comp. Immunol. 16 : 85—93.

Ottaviani E. 2005. Insect immunorecognition. ISJ. 2 : 142—151.

Richards E. H., Ratcliffe N. A. 1990. Direct binding and lectin-mediated binding of erythrocytes to haemocytes of the insect *Extatosoma tiaratum*. Develop. Comp. Immunol. 14 : 269—281.

Zachary D., Brehelin M., Hoffmann J. A. 1975. Role of the «thrombocytoids» in capsule formation in the dipteran *Calliphora erythrocephala*. Cell Tissue Res. 162 : 343—348.

Поступила 27 IV 2009

EFFECT OF IMMUNIZATION ON THE *IN VIVO* IMMUNOCYTES REACTION TO FOREIGN PARTICLES IN THE LARVAE OF THE FLESH FLY *CALLIPHORA VOMITORIA*

T. V. Kind

Department of Entomology, Laboratory of Insect Biopharmacology and Immunology,
St. Petersburg State University; e-mail: tatiana.kind@mail.ru

Bacterial immunization of *Calliphora vomitoria* larvae induces hemocytic defense reaction in response to abiotic foreign particles injections. This reaction depends on the larval age and, consequently, the immunocytes composition. The juvenile plasmatocytes which are abundantly present in the end feeding and crop emptying larvae are initially very active and their reaction rate does not depend on the immunization. The plasmatocytes I appear after crop emptying. Immunization has a positive effect on their differentiation rate and, correspondently, the rapid progress in the defense response. The proportion of competent plasmatocytes in immunized larvae increases. The stable hyaline cells formation also depends on immunization, although elements of this response vary at different age steps. immunization of the end feeding and crop emptying larvae induces an increase in the percentage of hyaline cells, but alien particles injection does not provide additional stimulating effect. After crop emptying, immunization of wandering larvae ceases to exert an obvious direct influence, but significantly increases the sensitivity to charcoal injection. The emergence of foreign particles in the hemolymph of immunized wandering larvae causes a rapid increase in the number of hyaline cells due to prohemocytes and undifferentiated plasmatocytes differentiation.

Key words: insects, *Calliphora* immunity, hemolymph, phagocytosis, plasmatocytes, hyaline cells.