

**ВЛИЯНИЕ МИКРОСПОРИДИЙ НА КАЛОРИЙНОСТЬ
ТКАНЕЙ ЛИЧИНОК КРОВСОСУЩИХ КОМАРОВ****П. Я. Килочицкий, В. М. Коржов, В. П. Шеремет**

Киевский государственный университет

Установлено, что заражение микроспоридиями *Thelohania opacita* Kudo личинок кровососущих комаров рода *Aedes* ведет к изменению размеров и веса пораженных особей, оводнению их организма и потере значительной части органических резервов.

Развитие патологического процесса, вызываемого инвазиями, влечет за собой нарушение нормального течения физиологических процессов у насекомых. Эти сдвиги в обмене веществ, как правило, затрагивают один из главных процессов — процесс накопления и использования энергии, который по существу охватывает все важнейшие функции организма насекомого (Гилмур, 1968; Тыщенко, 1976; Харсун, 1976).

В последнее время использованию простейших в общем плане интегрированной борьбы с насекомыми, имеющими медицинское значение, придается большое значение (Дубицкий, 1978). В этой связи интерес представляет оценка физиологического состояния инвазированных микроспоридиями насекомых, в частности личинок кровососущих комаров. Однако, в доступной нам литературе, помимо работы Алиханова (1973) об изменении веса личинок комаров под влиянием микроспоридий и результатов гистологического изучения патогенеза микроспоридиозов комаров, проведенного Левченко и Дзержинским (1973), подобных сведений мы не обнаружили. Нами проведено изучение влияния микроспоридий на содержание энергетических резервов у инвазированных личинок кровососущих комаров.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В опытах были использованы здоровые и инвазированные микроспоридиями *Thelohania opacita* Kudo личинки кровососущих комаров *Aedes cantans* Mg. и *Ae. cataphylla* Dyar. IV стадии, взятые из природных популяций.

Определение живого (сырого) веса личинок комаров проводили центрифужным методом, подвергая личинок центрифугированию в специальных капсулах в течение 3 мин при 3000 об./мин. Сухой вес был получен после выдерживания биопробы в сушильном шкафу при температуре 105° в течение 2 ч. Взвешивание проводили на микроаналитических весах. Определение общей калорийности тканей личинок проводили модифицированным методом бихроматной окисляемости. Навеску высушенного материала (около 1.5 мг) помещали в термостойкие пробирки и размельчали стеклянной палочкой. Затем добавляли 2 мл хромовой кислоты (20 г двуххромовокислого калия и 4 г сульфата меди в 1000 мл серной кислоты пробы Савалы) и помещали в блок-печь при температуре 130°. После 30 мин прогрева в каждую пробирку вносили по 1 мл дистиллированной воды, перемешивали и охлаждали. Калориметрировали при 605 нм против бланка. Расчет калорийности проводили по калибровочной кривой, построенной по экстинкциям стандартных растворов сахарозы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Заражение микроспоридиями вызывает у насекомых значительные изменения как морфологические (Brooks, 1971; Liu, 1972; Liu, Davies, 1972; Левченко, Держинский, 1973; Windels e. a., 1976), так и в общем обмене веществ (Smirnoff, 1973). Нарушение постоянства внутреннего состояния организма при протозойных инвазиях обусловлено снижением синтеза нуклеиновых кислот (Hartwig, Przelecka, 1971), изменением белкового и аминокислотного обменов (Карбаскова, 1969; Wang-Der-I, Moeller, 1970; Foti e. a., 1971; Фоти и др., 1972; Weiser, Lysenko, 1972) и связанных с ними ферментативных систем (Сидоров, Черкасова, 1974); нарушением дыхательного метаболизма и изменением активности ферментов углеводного распада (Kucera a. Weiser, 1975; Maurand, 1975; Листов, Нестеров, 1976) и значительными сдвигами в жировом обмене (Smirnoff, 1973; George a. Townes, 1976). Такое генерализированное патологическое изменение в метаболизме хозяина при микроспоридиозе отражается на физиологическом состоянии насекомого, проявляясь в нарушениях жизнедеятельности и нормального цикла развития.

При исследовании личинок комаров было отмечено, что характерным для инвазированных микроспоридиями насекомых признаком является патологическое увеличение толщины тела (по сравнению со здоровыми особями), при относительно неизменной или даже несколько меньшей длине. Изменение размеров тела при микроспоридиозах было отмечено и у личинок мошек (Maurand, 1975). Однако анализ результатов, представленных в табл. 1, показывает, что наблюдаемая тучность не влечет за собой увеличения весовых характеристик. Вес зараженных личинок в среднем на 9—19%, а высушенных — на 28—31% ниже, чем у контрольных. Аналогичное снижение веса при протозойной инвазии было показано для личинок комаров *Aedes caspius caspius* (Алиханов, 1973) и для гусениц еловой листовертки *Choristoneura fumiferana* (Wilson, 1976).

Таблица 1

Весовые характеристики здоровых и зараженных микроспоридиями *T. opacita* личинок комаров рода *Aedes*

Исследуемые характеристики	Состояние личинок	n	lim	$\bar{x} \pm m_x$	CV	t
<i>Ae. cataphylla</i>						
Средний вес личинки (в мг)	З	16	7.4 ÷ 10.7	9.5 ± 0.38	11.3	2.39 ***
	И	33	3.2 ÷ 11.4	7.7 ± 0.65	32.5	
Средний вес высушенной личинки (в мг)	З	16	1.6 ÷ 2.0	1.8 ± 0.06	9.4	4.63 *
	И	33	0.7 ÷ 1.8	1.3 ± 0.09	26.9	
Содержание сухого вещества (в %)	З	16		18.9		
	И	33		16.9		
<i>Ae. cantans</i>						
Средний вес личинки (в мг)	З	16	7.0 ÷ 10.6	8.6 ± 0.21	10.7	1.78 ****
	И	33	3.5 ÷ 12.7	7.8 ± 0.4	28.8	
Средний вес высушенной личинки (в мг)	З	16	1.4 ÷ 1.9	1.6 ± 0.04	9.1	7.62 *
	И	33	0.5 ÷ 2.0	1.1 ± 0.07	36.4	
Содержание сухого вещества (в %)	З	16		18.6		
	И	33		14.1		

Примечание. Здесь, в табл. 2: состояние личинок: З — здоровые, И — инвазированные микроспоридиями; n — количество наблюдений; lim — размах вариации $\bar{x} \pm m_x$ — среднее и его ошибка; CV — коэффициент вариации; t — уровни значимости средних по критерию Стьюдента: * $\beta = 0.001$, ** $\beta = 0.01$, *** $\beta = 0.05$, **** $\beta > 0.05$.

Анализируя данные по сухому весу личинок, выраженные в процентах к живому весу, следует отметить, что инвазированные личинки (особенно — *Ae. cantans*) содержат значительно больше воды, чем здоровые.

Таблица 2

Калорийность тканей здоровых и зараженных микроспоридиями *T. opacita* личинок комаров рода *Aedes*

Калорийность личинок на:	Состояние личинок	n	lim	$x \pm m_x$	CV	t
<i>Ae. cataphylla</i>						
1 г сырого веса (в кал./г)	З	16	789÷1126	929±33.7	10.2	3.62 **
	И	33	588÷1058	760±32.3	16.4	
1 г сухого веса (в кал./г)	З	16	4690÷5067	4678±47.8	2.7	6.66 *
	И	33	3794÷4680	4358±61.7	5.5	
1 особь (в кал./особь)	З	17	7.3÷9.9	8.8±0.32	10.2	6.46 *
	И	33	3.2÷7.8	5.6±0.33	23.0	
<i>Ae. cantans</i>						
1 г сырого веса (в кал./г)	З	16	736÷980	834±16.3	7.8	11.97 *
	И	33	393÷816	557±16.4	16.9	
1 г сухого веса (в кал./г)	З	16	3827÷4721	4380±61.6	5.6	4.29 *
	И	33	3302÷4535	4051±45.8	6.5	
1 особь (в кал./особь)	З	16	6.1÷8.1	7.1±0.15	8.6	7.89 *
	И	33	2.2÷8.9	4.6±0.28	35.4	

Это оводнение может быть связано как с изменением проницаемости покровов насекомых в связи с инвазией (Steinhaus, Tanada, 1969), так и в связи с протеканием патологических процессов в клетках зараженных животных (Поликар, Бесси, 1970). Возможно также, что оба эти процесса взаимосвязаны и являются одним из проявлений патогенеза микроспоридиоза насекомых.

Более точную картину физиологического состояния насекомого (по сравнению с весовыми характеристиками) может дать оценка баланса обмена по количеству углерода, входящего в состав органических веществ. Представленные в табл. 2 результаты определения калорийности в расчете на особь показывают значительное понижение энергоемкости инвазированных личинок. В связи с развитием инвазии калорийность тела обоих исследованных видов комаров снижается на 35—36%. Это предполагает значительное оскуднение накопленных резервов и внутриклеточных ассимилятов и свидетельствует о понижении жизнеспособности личинок. Сильно инвазированные личинки погибают на IV стадии.

Количественные сдвиги отмечаются и в удельной калорийности. Так, у инвазированных личинок *Ae. cataphylla* калорийность тела на 18 и на 11%, а у личинок *Ae. cantans* на 33 и на 8% ниже, чем у здоровых (соответственно при расчете на 1 г сырого и сухого веса). Учитывая различную энергетическую ценность основных субстратов окисления, можно предположить и качественные сдвиги в обмене веществ зараженных особей, т. е. усиленное расходование жировых запасов. Сходные изменения жировых резервов при поражении микроспоридиями отмечались ранее у чешуекрылых, перепончатокрылых (Smirnoff, 1973) и у жесткокрылых (George, Townes, 1976). Принимая во внимание факт усиленного катаболизма жиров, а также то, что при окислении липидов освобождается гораздо большее количество воды, чем при сгорании углеводов и белков, можно предположить, что наблюдаемое оводнение тканей инвазированных личинок является результатом и этого феномена в общем патогенезе микроспоридиозной инвазии насекомых.

Результаты биохимических исследований инвазированных микроспоридиями личинок кровососущих комаров рода *Aedes* подтвердились и при проведенном нами гистологическом изучении жирового тела пораженных личинок. Они согласуются также с гистологической картиной патологоморфологических изменений в органах и тканях инвазированных личинок комаров, приведенной в работе Левченко и Держинского (1973).

Более высокие значения вариаций по исследованным показателям пораженных личинок (см. таблицы) можно объяснить различной интенсивностью инвазии.

Таким образом, заражение личинок кровососущих комаров микроспоридиями ведет к изменению морфологических и физиологических характеристик у пораженных особей, оводнению их организма и к значительной потере органических веществ тела, в частности липидов. Значительные и невосполнимые потери резервных органических веществ наряду с глубокими функциональными нарушениями в организме комаров ведут к гибели сильно инвазированных личинок на IV стадии.

Л и т е р а т у р а

- А л и х а н о в Г. Ш. 1973. Влияние микроспоридий *Thelohania opacita* Kudo, 1922 на рост и развитие личинок комара *Aedes caspius caspius* Pall. природных популяций. — *Паразитология*, 7 (5) : 389—391.
- Г и л м у р Д. 1968. Метаболизм насекомых. — М., «Мир»: 1—230.
- Д у б и ц к и й А. М. 1978. Биологические методы борьбы с гнусом в СССР. Алма-Ата, «Наука»: 1—267.
- К а р б а с к о в а В. Б. 1969. Некоторые показатели азотистого обмена у здоровых и больных нозематозом пчел. — *Бюлл. Всесоюз. ин-та эксп. ветер.*, 4 : 85—87.
- Л е в ч е н к о Н. Г., Д з е р ж и н с к и й В. А. 1973. О вредоносном влиянии *Thelohania opacita* (Microsporidia, Nosematidae) на личинок кровососущих комаров (Diptera, Culicidae). — *Изв. АН КазССР, Сер. биол.*, 1 : 58—61.
- Л и с т о в М. В., Н е с т е р о в В. А. 1976. Об устойчивости малых хрущаков к бромметилу. — *Защита растений*, 6 : 48.
- П о л и к а р А., Б е с с и М. 1970. Элементы патологии клетки. М., «Мир»: 1—348.
- С и д о р о в Н. Г., Ч е р к а с о в а А. И. 1974. Активность протеазы в средней кишке медоносной пчелы летней генерации при экспериментальном нозематозе. — В кн.: *Вопросы ветеринарной арахно-энтомологии*, 5 : 100—108.
- Ф о т и Н., Ш е р б а н е с к у С., К р и ш а н Ю. 1972. Влияние нозематоза на содержание протеинов в гемолимфе пчел (*Apis mellifera* L.). — 23-й Международн. конгр. по пчеловодству (Москва, 1971), Румыния, «Анимондии»: 492—495.
- Х а р с у н А. И. 1976. Биохимия насекомых. Кишинев, «Катря Молдовеняскэ»: 1—336.
- В r o o k s W. M. 1971. The inflammatory response of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*, to infection by the microsporidian, *Nosema sphingidis*. — *J. Invertebr. Pathol.*, 17 (1) : 87—93.
- F o t i N., S e r b a n e s c u S., C r i s a n I. 1971. Influenta nosemozei asupra nivelului de proteina din hemolimfa la albina (*Apis mellifera* L.). — *An. Stat. cent. cerc. apicult. si sericult.*, 11 : 97—104.
- G e o r g e C. R., T o w n e s J. 1976. The effects of *Nosema whitei* on molting in *Tribolium castaneum*. — *J. Stored Prod. Res.*, 12 (3) : 199—200.
- H a r t w i g A., P r z e l e c k a A. 1971. Nucleic acids in intestine of *Apis mellifera* infected with *Nosema apis* and treated with fumagillin DCH: cytochemical and autoradiographic studies. — *J. Invertebr. Pathol.*, 18 (3) : 331—336.
- K u č e r a M., W e i s e r J. 1975. Lactate dehydrogenase isoenzymes in the larvae of *Barathra brassicae* and *Galleria mellonella* during microsporidian infection. — *J. Invertebr. Pathol.*, 25 (1) : 109—114.
- L i u T. P. 1972. Ultrastructural changes in the nuclear envelope of larval fat body cells of *Simulium vittatum* (Diptera) induced by microsporidian infection of *Thelohania bracteata*. — *Tissue and Cell*, 4 (3) : 493—501.
- L i u T. P., D a v i e s D. M. 1972. Ultrastructure of the cytoplasm in fat body cells of the blackfly *Simulium vittatum*, with microsporidian infection; a freeze-etching study. — *J. Invertebr. Pathol.*, 19 (2) : 208—218.
- M a u r a n d J. 1975. Les microsporidies des larves de simulies: systematique, donnees cytochimiques, pathologiques et ecologiques. — *Ann. parasitol. hum. et comp.*, 50 (4) : 371—396.
- S m i r n o f f W. A. 1973. Biochemical exploration in insect pathology. — *Curr. Top. Compar. Pathobiol. V. 2*. N. Y. — London: 89—106.
- S t e i n h a u s E. A., T a n a d a Y. 1971. Diseases of the insect integument. — *Curr. Top. Compar. Pathobiol. V. 1*. N. Y. — London: 1—86.
- W a n g - D e r - I, M o e l l e r F. E. 1970. Comparison of the free amino acid composition in the hemolymph of healthy and *Nosema*-infected female honey bees. — *J. Invertebr. Pathol.*, 15 (2) : 202—206.
- W e i s e r J., L y s e n k o O. 1972. Protein changes in the haemolymph of *Galleria mellonella* (L.) larvae infected with virus and protozoan pathogens. — *Acta entomol. bohemoslov.*, 69 (2) : 97—100.
- W i l s o n G. G. 1976. A method for mass producing spores of the microsporidian *Nosema fumiferanae* in its host, the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). — *Can. Entomol.*, 108 (4) : 383—386.

Windels M. B., Chiang H. C., Furgala B. 1976. Effects of *Nosema pyrausta* on pupa and adult stages of the European corn borer *Ostrinia nubilalis*. — J. Invertebr. Pathol., 27 (2) : 239—242.

THE EFFECT OF MICROSPORIDIANS UPON THE CALORIFIC VALUE
OF TISSUES OF BLOODSUCKING MOSQUITOES LARVAE

P. Ja. Kilochitzky, V. M. Korzhov, V. P. Sheremet

SUMMARY

It has been established that the infection of larvae of bloodsucking mosquitoes of the genus *Aedes* with microsporidians of *Thelohania opacita* Kudo results in changes of the size and weight of an infected individual, increase of water content in its organism and loss of a considerable part of energetic reserves.
