

УДК 577.151+591.8:595.771

© 1998 г. В.Я.ДВОРНИК, З.В.УСОВА

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ
НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ФОСФАТАЗ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ МОШКИ *WILHELMIA
SALOPIENSIS* EDW. (DIPTERA: SIMULIIDAE) В ПРЕИМАГИНАЛЬНЫХ ФАЗАХ РАЗВИТИЯ.
СООБЩЕНИЕ II. МАЛЬПИГИЕВЫ СОСУДЫ, ЖИРОВОЕ ТЕЛО И РЕПРОДУКТИВНАЯ
СИСТЕМА**

Введение

Мошки (сем. *Simuliidae*) являются одними из наиболее важных в эпидемиологическом отношении насекомых. В Африке они известны как переносчики онхоцеркоза, в странах умеренного пояса – как злостные кровососы и возбудители симулидотоксикоза крупного рогатого скота. В связи с их эпидемиологической значимостью мошки давно являются объектом обширных систематических и экологических исследований у нас в стране и за рубежом (см., например, Рубцов, 1956; Усова, 1961). Однако физиология этой группы насекомых до сих пор остается практически неизученной.

Настоящая статья является второй в серии сообщений, посвященных изучению локализации и роли одних из наиболее распространенных ферментов насекомых – неспецифических фосфатаз: щелочной (КФ 3.1.3.1) и кислой (КФ 3.1.3.2), – в организме личинки и куколки мошки *Wilhelmia salopiensis* Edw.

Материал и методы

Методика подготовки материала и его гистохимического исследования подробно описана нами ранее, в предыдущем сообщении (Дворник, Усова, 1997).

Количественное определение активности ферментов проводили *in situ* методом цитофотометрии. Краткое изложение его теоретических основ и методологических подходов, использованных нами, также дано в предыдущем нашем сообщении. Здесь упомянем, что количественные гистохимические методы (цитофотометрия) были впервые апробированы на насекомых нами и показали свою высокую эффективность и простоту в сравнении с общепринятыми биохимическими методами (Dvornik, 1992; Дворник, Усова, 1993).

Результаты и обсуждение

Следует отметить, что щелочная фосфатаза значительно менее распространена в организме личинок и куколок мошек, по сравнению с кислой. Из всех органов, рассматриваемых в данном сообщении, фермент был обнаружен нами лишь в клетках проксимального отдела мальпигиевых сосудов зрелых личинок и фаратных куколок, а именно, в щеточной каёмке. Его активность была в обоих случаях одинаковой и сравнительно невысокой – порядка 35 отн. ед.

В мальпигиевых сосудах личинок кислая фосфатаза обнаружена в клетках всех отделов. Ее активность в дистальном отделе несколько выше, чем в проксимальном (табл. 1). Этот факт, с одной стороны, указывает на функциональную дифференциацию отделов, а с другой, свидетельствует о более высоком уровне физиологических и биохимических процессов в дистальном отделе. Динамика активности фермента в фазе личинки показывает в целом слабую связь интенсивности процессов в мальпигиевых сосудах с развитием мошки. В фазе же куколки активность фермента в мальпигиевых сосудах вначале значительно возрастает, но затем снижается (табл. 1). Резкое увеличение активности кислой фосфатазы на стадии 1 – 2-дневной куколки связано, по-видимому, со значительным ростом концентрации в гемолимфе вредных продуктов лизиса личиночных органов и необходимостью более интенсивной их утилизации. После завершения формирования органов имаго активность фермента в мальпигиевых сосудах снова снижается до уровня, отмеченного в фазе личинки.

В клетках жирового тела активность кислой фосфатазы проявляется на протяжении всего преимагинального развития. По мере развития личинки активность фермента в клетках

жирового тела возрастает, достигая максимума у личинок V – VI возраста и несколько снижаясь у предкуколок (табл. 1).

Таблица 1.

Активность кислой фосфатазы (отн. ед.) в отделах мальпигиевых сосудов и жировом теле личинок и куколок мошки *W. salopiensis*

Стадии развития	Мальпигиевы сосуды		Жировое тело
	Проксимальный отдел	Дистальный отдел	
Личинка:			
III – IV	42,32±3,14	49,13±3,33	21,07±2,35
IV – V	45,10±2,16	51,26±2,07	43,73±6,70
V – VI	48,16±3,71	56,29±4,03	86,72±5,25
зрелая	47,51±4,32	56,70±5,25	70,64±7,43
Куколка:			
0 – 1-дневная	46,71±5,55		80,87±8,97
1 – 2-дневная	69,39±5,47		86,97±9,35
2 – 3-дневная	55,36±3,65		63,88±5,69
фаратная	49,19±2,74		41,66±5,17

В фазе куколки жировое тело претерпевает два состояния – диссоциированное, или рассеянное, и ассоциированное. Стадия диссоциированного жирового тела наблюдается с момента линьки на куколку и приблизительно до четвертого дня её развития, когда полностью завершается лизис всех личиночных органов.

На протяжении стадии рассеянного жирового тела максимум активности кислой фосфатазы наблюдается в начале второго дня развития, а затем снижается (табл. 1). Активность фермента в ассоциированном жировом теле фаратной куколки минимальна.

Исследованиями жирового тела личинок и куколок мошек (Усова, Савустьяненко, 1990) показано, что трофоциты жирового тела личинок содержат, главным образом, кислые жиры, а также белки и гликоген, образующие жирно-белковые и белково-гликогенные гранулы; в клетках жирового тела фаратных куколок самок преобладают нейтральные жиры, тогда как количество кислых жиров, белка и гликогена значительно уменьшается. Исходя из полученных нами данных по активности кислой фосфатазы этого органа мошек, следует предположить, что фермент, вероятнее всего, участвует в метаболизме белков и гликогена и, возможно, жирных кислот. Два пика его активности (у личинок VI возраста и полуторадневных куколок) связаны, соответственно, с наибольшей интенсивностью накопления запасных веществ, необходимых при метаморфозе, и максимумом их расходования, а также с увеличением снабжения тканей фосфатом. Полученные данные вполне согласуются с результатами исследований по другим видам насекомых (Bigliardi, 1968; Locke, Collins, 1968; Saleem et al., 1970; Aggarwal et al., 1987).

Представляются весьма интересными локализация и динамика активности кислой фосфатазы в онтогенезе репродуктивных органов мошек.

Фермент выявлен в фазе личинки в зачатках гонад как самцов, так и самок. Его активность у самок в течение личиночной фазы возрастает, достигая максимума у предкуколок, а у самцов максимум активности кислой фосфатазы наблюдается у личинок предпоследнего возраста, у предкуколок же незначительно снижается. У 0 – 1-дневных куколок активность фермента снижается, по сравнению со зрелыми личинками, почти наполовину. Затем, в процессе развития куколки, остается неизменной вплоть до середины второго дня развития, после чего снижается и становится минимальной у фаратных (табл. 2). При относительной стабильности значения активности кислой фосфатазы в объеме всей гонады её показатели в различных частях семенника существенно отличаются.

Начиная с линьки на куколку, происходит обособление семяпроводов, яйцеводов и придаточных желез. В семяпроводах кислая фосфатаза обнаруживается с момента их закладки в лизосомах клеток. Её активность остается постоянной вплоть до стадии фаратной куколки, а затем падает до минимального уровня (табл. 2).

Таблица 2.

Активность кислой фосфатазы (отн. ед.) в репродуктивных органах преимагинальных стадий мошки *W. salopiensis*

Стадии развития		Личинка					Куколка			
		III - IV	IV - V	V - VI	зрелая	0 - 1-дневная	1 - 2-дневная	2 - 3-дневная	Фаратная	
♂	семенники	33,34±2,32	49,48±3,02	84,15±12,15	80,43±6,39	48,83±5,26	45,72±5,99	25,51±2,25	18,68±2,09	
	семяпроводы	-	-	-	-	33,21±3,58	32,43±3,02	33,22±1,86	20,25±1,07	
♀	яичники	18,07±1,01	18,72±2,04	20,16±1,89	38,35±1,59	35,17±2,67	30,64±3,07	55,52±4,02	33,00±4,15	
	придаточные половые железы	-	-	-	-	30,82±1,84	31,07±2,26	31,86±1,70	29,20±2,26	

В фазе куколки активность фермента в яичниках ниже, чем в семенниках. Максимального значения она достигает к третьему дню развития куколки, а затем снова снижается. В придаточных половых железах активность фермента на протяжении всего развития куколки стабильна и лишь у фаратной куколки снижается (табл. 2).

Выше уже отмечалось, что наибольшей интенсивности процессы накопления запасных веществ в жировом теле достигают у личинок VI возраста. На этой же стадии развития наблюдается и максимум активности кислой фосфатазы в развивающихся зачатках семенников. В зачатках половых желез самок активность фермента остается сравнительно невысокой на протяжении всего преимагинального развития, заметно повышаясь лишь перед созреванием куколки (табл. 2). Однако это повышение не связано с максимумом расходования запасных веществ жирового тела, а, вероятно всего, является следствием завершения процессов клеточной дифференциации яичников.

Если принять активность кислой фосфатазы как показатель интенсивности обменных процессов в органах, то становится ясным, что способность самцов мошек к оплодотворению сразу после вылета является следствием интенсивных процессов дифференциации и созревания половых клеток, связанных, в свою очередь, с более высоким, по сравнению с самками, уровнем метаболизма в половых клетках в течение преимагинального развития.

Резюмируя вышеизложенное, следует признать, что в организме мошек в фазе личинки и куколки неспецифические фосфатазы выполняют широкий спектр физиологических функций, непосредственно связанных с процессами развития и дифференциации органов на клеточном и тканевом уровнях, а также подготовкой к метаморфозу и самим метаморфозом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Дворник И.Я., Усова З.В. Перспективы применения количественных цитофотометрических методов в изучении вредных насекомых//Тез. докл. XI конф. Украинского общества паразитологов. – Киев, 1993. – С.38.
- Дворник В.Я., Усова З.В. Количественное гистохимическое исследование активности неспецифических фосфатаз внутренних органов мошки *Wilhelmia salopiensis* Edw. (Diptera: Simuliidae) в преимагинальных фазах развития. Сообщение I. Пищеварительная система и слюнные железы//Изв. Харьков. энтомол. о-ва. – 1997. – Т.V, вып. 2. – С. 93–97.
- Лойда З., Госсрау Р., Шиблер Т. Гистохимия ферментов. Лабораторные методы. – М.: Мир, 1982. – 272 с.
- Рубцов И.А. Мошки (сем. Simuliidae). Сер. Фауна СССР. Насекомые двукрылые. Т.VI. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1956. – 859с.
- Усова З.В. Мошки Карелии и Мурманской области. – Л.: Наука, 1961. – 261с.
- Усова З.В., Савустьяненко Т.Л. Жировое тело предкуколки и зрелой куколки и использование его самкой в процессе жизнедеятельности//Мед. паразитол. и паразит. болезни. – 1990. – №2. – С. 127–134.
- Aggarwal R., Saini M., Dhillon S. Acid phosphatase activity during metamorphosis of *Athalia lugens proxima* (Klug) (Hymenoptera: Tenthredinidae)//Zool. Jahrb. Abt. Allg. Zool. und Physiol. Tiere. – 1987. – V.91. – P. 303–306.
- Bigliardi E. Rilievi istochimici submicroscopici sulle cellule pericardiali di alcuni ortopteroidei//Boll. zool. – 1968. – V.35. – P. 189–201.
- Dvornik V.Ya. Acid and alkaline phosphatase in the larval ganglia of blackfly, *Wilhelmia salopiensis* Edw. Qualitative and quantitative histochemical analysis//Proc. XIX Inter. Congr. Entomol. – Beijing, 1992. – P. 120.
- Locke M., Collins J. Protein uptake into multivesicular bodies and storage granules in the fat body of an insect//J. Cell Biol. – 1968. – V.36. – P. 453–483.
- Saleem A., Naqvi S., Quadri M. Histochemical studies of phosphomonoesterases in different tissues of desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.)//Pakistan J. Sci. and Ind. Res. – 1970. – V.12. – P. 264–267.

THE QUANTITATIVE HISTOCHEMICAL STUDY OF NON-SPECIFIC PHOSPHATASES ACTIVITY IN INTERNAL ORGANS OF A BLACKFLY, WILHELMIA SALOPIENSIS EDW. (DIPTERA, SIMULIIDAE), DURING PREIMAGINAL DEVELOPMENTAL PHASES. COMMUNICATION II. MALPIGHIAN TUBULES, FAT BODY AND REPRODUCTIVE SYSTEM

Donetsk State University, Ukraine

SUMMARY

By means of quantitative histochemical technique (cytophotometry) the dynamics of non-specific phosphatases activity was determined in Malpighian tubules, fat body and reproductive system of a blackfly, *Wilhelmia salopiensis* Edw., in preimaginal phases. The obtained data showed the enzymes fulfil a wide range of physiological function directly related to organogenesis, cellular differentiation, and metamorphosis. Ability of the blackfly males to couple right after emerging is owing to more intensive metabolism in testicles during the larval development.