ПАРАЗИТОЛОГИЯ, XIII, 3, 1979

УДК 576.895.77

ДИНАМИКА НЕКОТОРЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ В ГЕМОЛИМФЕ ЛИЧИНОК II И III СТАДИЙ ПОДКОЖНОГО ОВОДА СЕВЕРНОГО ОЛЕНЯ (HYPODERMATIDAE)

Н. И. Бороздина

Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крайнего Севера, г. Норильск

Результаты исследований гемолимфы показали, что концентрация азота зависит от физиологического состояния личинок подкожного овода северного оленя. Наиболее напряженно метаболизм азотсодержащих соединений происходит в растущем организме и в период линьки.

Гемолимфа насекомых выполняет важные физиологические функции. С нею к тканям насекомых доставляются различные питательные вещества, а из тканей в нее поступают продукты обмена, подлежащие выделению из организма. Целью настоящей работы явилось изучение интенсивности процессов белкового обмена в организме личинок подкожного овода северного оленя *Oedemagena tarandi* L., показателями которого служат изменения фракций азота в гемолимфе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом служила гемолимфа личинок подкожного овода северного оленя (северного подкожника) с момента перехода их во II стадию и до выпадения из подкожных капсул. Для получения достоверных результатов гемолимфу собирали от группы личинок — 15—20 — II и 5—7 — III стадий. Гемолимфу выпускали через надрез в области третьего грудного сегмента с дорсальной стороны в охлажденные флаконы, сразу же замораживали и сохраняли до проведения исследований при отрицательной температуре. Личинок собирали с оленей (быков и телят) из стад Потаповского опытно-производственного хозяйства в Дудинском р-не Таймырского национального округа в течение шести лет. Пораженность оленей составляет в среднем 100—200 особей на одно животное.

Аммиак определяли по методу Юхаса и Сегеди в модификации Алиевой (1972); мочевину — по Мишону и Арно в модификации Радченкова и Радченковой (1970); аминный азот — по Поппе и Стивенсу в модификации Курилова и Радченковой (1970); общий и остаточный азот — микрометодом Къельдаля. Показатели белкового азота получали по разнице между общим и остаточным азотом.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Общий и белковый азот. В результате проведенных исследований установлено, что картина изменений в содержании общего азота в гемолимфе личинок II и III стадии однотипна (табл. 1). В гемолимфе молодых личинок отмечено высокое содержание общего азота, которое несколько снижается у более зрелых особей вскоре после линек.

С возрастом концентрация общего азота увеличивается и достигает максимума перед второй линькой и выпадением их из подкожных капсул. Период линьки характеризуется снижением уровня общего азота (на 19.7%). При сравнении средних показателей содержания общего азота в гемолимфе личинок II и III стадий установлено, что у особей, завершающих паразитический образ жизни, уровень последнего в 1.2 раза выше.

Таблица 1

Содержание фракций азота в гемолимфе (мг%) личинок подкожного овода северного оленя

Степень зрелости	Дата сбора материала	Количество проведенных исследований	Общий, $M \pm m$	Остаточный, $M \pm m$	Белковый, $M \pm m$
Вскоре после линьки	13 XI	24	345.0±19.3	204.0±25.0	141.0±0.9
Более зрелые	13 XI	66	317.6±10.7	196.7±9.4	121.9±4.5
Зрелые	17 I	24	296.2±5.1	144.7±4.1	151.5±7.0
»	17 II	60	320.1±4.1	151.8±3.6	168.3±19.1
Незадолго до линьки	22 III	39	323.3±4.5	138.3±3.2	185.0±0.7
То же	25 III	21	385.8±9.5	182.0±5.2	203.8±14.2
Перед линькой	8 IV	27	484.4±4.1	170.3±4.3	314.1±15.4
Среднее по II стадии			353.2	169.6	183.6
Вскоре после линьки	8 IV	54	389.4±12.4	146.0±3.0	243.4±12.6
То же	19 IV	30	280.0±5.4	171.1±4.9	108.9±5.2
Более зрелые	19 IV	66	282.6±2.8	151.2±3.7	131.4±3.9
Зрелые	6 V	102	411.7±9.3	139.0±2.6	272.7±9.6
»	19 V	45	452.5±7.5	170.9±2.2	281.8±7.2
»	1 VI	39	577.6±14.0	179.7±6.0	397.9±11.9
Перед выпадением	25 VI	90	512.7±4.3	183.1±3.7	329.6±4.4
Среднее по III стадии			415.2	163.0	252.2

Содержание белкового азота в гемолимфе личинок в основном повторяет картину изменений концентрации общего азота. Перед второй линькой и выпадением белковый азот накапливается и расходуется в процессе линьки. Расход белкового азота за время линьки личинок соответствовал 14.2%. Средний уровень белкового азота у личинок III стадии в 1.3 раза выше.

Остаточный азот. Содержание остаточного азота в гемолимфе обусловлено интенсивностью белкового обмена и используется для характеристики различных физиологических состояний насекомых.

Количество остаточного азота в гемолимфе молодых личинок обеих стадий снижается к середине возраста и увеличивается перед линькой и выпадением (табл. 1). Отношение остаточного азота к белковому меняется на протяжении всего периода развития личинок в подкожных капсулах. Если в начале развития личинок обеих стадий соотношение остаточного азота к белковому равно 1.5, то к моменту очередной линьки или выпадению этот показатель снижается втрое, свидетельствуя об увеличении содержания белкового азота. В гемолимфе линяющих личинок уровень остаточного азота снизился на 22.6%.

Аминный азот. В результате наших исследований установлено, что в гемолимфе молодых личинок содержание аминного азота высокое. У более зрелых личинок уровень аминного азота резко падает, особенно у особей II стадии. Так, гемолимфа личинок II стадии, анализированная 17 января, содержала в 1.8 раза меньше аминного азота, чем у перелиняв-

ших особей (табл. 2). Очевидно, в это время происходит интенсивный синтез белковых молекул. Период окончательного формирования личинок II стадии характеризуется постепенным увеличением уровня аминного азота. За время линьки содержание аминного азота значительно снижается (на 42.1%). С возрастом паразита концентрация аминного азота быстро повышается и достигает самых высоких показателей перед выпадением личинок из подкожных капсул. При сравнении средних показателей аминного азота у личинок II и III стадий оказалось, что в гемолимфе особей, заканчивающих паразитирование, уровень последнего в 1.3 раза выше.

Таблица 2

Динамика аммиака, мочевины и аминного азота в гемолимфе личинок подкожного овода северного оленя

Степень зрелости паразита	Дата сбора материала	Количество проведенных исследований	Концентрация (мг %)		
			аммиака $M \pm m$	мочевины $M \pm m$	аминного азота $M \pm m$
Вскоре после линьки	4—5 XI	12	3.70±0.309	123.08±6.28	43.87±6.98
Более зрелые	4—5 XI	15	4.92±0.268	124.61±5.65	29.87±3.10
Зрелые	17—22 I	30	6.05±0.208	—	24.2±9.26
»	11—12 II	75	3.12±0.120	220.93±14.49	39.44±2.49
»	13 III	24	8.19±0.325	231.70±4.09	32.37±1.69
Незадолго до линьки	25 III	27	5.33±0.358	107.30±7.95	29.17±4.84
Перед линькой	6 IV	18	3.35±0.128	80.55±12.78	36.16±5.14
Среднее по II стадии			4.82	148.2	33.59
Вскоре после линьки	25 III	12	5.87±1.11	93.30±13.52	20.96±6.19
То же	6 IV	15	3.97±0.19	98.33±15.88	44.61±1.11
Более зрелые	6 IV	15	4.01±0.21	84.33±14.63	43.58±5.06
Зрелые	5 V	36	4.22±0.20	97.95±4.80	31.73±1.69
»	18 V	45	9.17±0.34	102.20±4.83	41.56±1.24
»	28 V	42	11.7±1.12	82.00±8.27	48.60±3.28
»	24 VI	27	8.11±0.85	143.30±7.99	57.96±4.58
Перед выпадением	24 VI	12	0.90±0.10	110.00±0.00	63.45±9.14
Среднее по III стадии			5.98	101.38	44.06

Аммиак. Концентрация аммиака в гемолимфе личинок подкожного овода находится в обратной зависимости от содержания аминного азота. Чем ниже уровень аминного азота в гемолимфе личинок, тем выше содержание аммиака, и наоборот. В гемолимфе линяющих личинок резко возрастает количество аммиака (на 75.2%).

Мочевина. У личинок подкожного овода нейтрализация аммиака, видимо, происходит за счет образования мочевины, значительная концентрация которой обнаружена в гемолимфе. Наибольшим содержанием мочевины отличается гемолимфа личинок II стадии (табл. 2). Самые высокие показатели мочевины получены в гемолимфе зрелых личинок, анализированной 17 января и 11 февраля. Перед линькой содержание мочевины снижается до минимума. У перелинявших в III стадию личинок концентрация мочевины повышается (на 15.9%) и остается на этом уровне до полного формирования личинок. В гемолимфе личинок перед выпадением содержание мочевины снова повышается.

Таким образом, установлено, что больший процент остаточного азота гемолимфы личинок подкожного овода приходится на мочевину.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании полученных в настоящей работе результатов и данных предыдущих исследований установлено, что индивидуальное развитие личинок подкожного овода северного оленя протекает неравномерно, что проявляется в периодических спадах и подъемах интенсивности физиологических процессов.

После каждой линьки молодые личинки отличаются повышенным обменом, связанным с активным ростом, процессами органообразования, накопления питательных веществ, т. е. процессы ассимиляции доминируют. Многообразны изменения белкового обмена в процессе роста особей. Белки являются прежде всего главным строительным материалом. Поэтому увеличение содержания белков в тканях животных во время роста считается закономерным. Постепенное накопление белка личинками за время паразитирования в подкожных капсулах мы наблюдали ранее (Бороздина, 1974). Об интенсивности накопления белков личинками можно судить по изменению биохимического состава гемолимфы, содержащей азотистые вещества.

В гемолимфе личинок подкожного овода наблюдается постепенное увеличение общего и белкового азота, содержание которых достигает максимума перед очередной фазой развития насекомых. На накопление белкового азота в гемолимфе в процессе онтогенеза личинок насекомых указывали Филиппович (1953), Чен и Левенбук (Chen a. Levenbook, 1966). Исключением является период линьки. Во время линьки, даже если она не сопровождается изменениями формы, происходят значительные изменения в обмене веществ (Niewerko a. Cepelewies, 1950). Во время линьки в гемолимфе личинок подкожного овода отмечено снижение содержания общего и белкового азота. Вероятно, гемолимфа служит поставщиком белка при построении тканей личинок III стадии.

Период интенсивного роста личинок характеризуется повышенным содержанием остаточного азота в гемолимфе. К середине развития особей каждой стадии, когда рост личинок в основном заканчивается, содержание остаточного азота в гемолимфе снижается. Период подготовки личинок к линьке и выпадению характеризуется повышением уровня остаточного азота. За время линьки концентрация остаточного азота также уменьшается. Более полную картину в расшифровке изменений остаточного азота мы получили при изучении динамики его составных частей (аминного азота, аммиака, мочевины). Высокие показатели остаточного азота в гемолимфе молодых личинок обеих стадий обусловлены повышенным содержанием аминного азота в это время. По мере развития личинок концентрация аминного азота в гемолимфе постепенно снижается. Уменьшение концентрации аминного азота, видимо, связано с усиленным потреблением аминокислот из гемолимфы для синтеза белков растущего организма. Установлено, что аминокислоты в животном организме распадаются в результате их дезаминирования, что приводит к потере аминогруппы. При этом из NH_2-группы образуется аммиак. По-видимому, и у личинок подкожного овода происходит дезаминирование аминокислот, что подтверждается значительным повышением содержания аммиака в гемолимфе, отмеченное после снижения концентрации аминного азота. Интенсивный расход аминокислот происходит, вероятно, и во время линьки личинок. В гемолимфе личинок, готовящихся к линьке и особенно к выпадению, увеличивается содержание не только белкового, но и остаточного и, в частности, аминного азота. Очевидно, в гемолимфе личинок создается резерв белка и аминокислот для удовлетворения повышенного спроса паразитов в азотистых соединениях после линьки и в период метаморфоза.

Известно, что гемолимфа насекомых содержит в 15—20 раз больше свободных аминокислот, а соответственно аминного азота, чем кровь теплокровных животных (Гилмур, 1968). Сыворотка крови северного оленя, по данным Соломоновой (1974), содержит 12—29 мг% аминного азота

или в три раза меньше, чем гемолимфа личинок подкожного овода хозяина. Если допустить, что личинки *Oedemagena tarandi* питаются кровью северного оленя, то можно предположить, что северный подкожник обладает собственным азотистым обменом. Следовательно, результаты наших исследований подтвердили мнение Сэнде и Карчера (Sande, Karcher, 1960) о том, что насекомые, ведущие паразитический образ жизни, обладают собственным обменом азотсодержащих соединений вне зависимости от их состава в потребляемой пище.

Основным конечным продуктом белкового обмена у личинок подкожного овода, очевидно, служит мочевина. Как показали полученные нами данные, мочевина в значительных количествах присутствует и накапливается в гемолимфе, затем либо удаляется через мальпигиевы сосуды, либо откладывается в клетках жирового тела. Процесс синтеза мочевины необходим для ограждения животных от отравления аммиаком и удаления его из организма.

Подводя итог полученным данным, можно прийти к выводу, что наиболее напряженно обмен азота происходит в растущем организме и особенно в период линьки.

ВЫВОДЫ

1. Соотношение фракций азота в гемолимфе тесно связано с физиологическим состоянием личинок подкожного овода.

2. По мере развития личинок в каждой стадии отмечено постепенное увеличение концентрации общего и белкового азота, достигающее наибольшего уровня перед линькой и выпадением.

3. Периоду интенсивного роста личинок соответствует повышенное содержание остаточного и аминного азота, которое снижается в гемолимфе зрелых особей. Перед линькой и особенно перед выпадением личинок концентрация остаточного и аминного азота увеличивается.

4. Уровень аммиака в гемолимфе находится в обратной зависимости от содержания аминного азота.

5. Концентрация мочевины в растущем организме личинок снижается перед линькой и увеличивается перед выпадением.

6. Линька характеризуется снижением содержания изучаемых фракций азота, за исключением аммиака и мочевины.

7. Личинки подкожного овода, ведущие паразитический образ жизни, обладают собственным белковым обменом.

Литература

Алиева З. М. 1972. Методика определения аммиака и мочевины в крови и в других биологических жидкостях. — В кн.: Новые методы и модификации биохимических и физиологических исследований в животноводстве. Боровск : 17—22.

Бороздина Н. И. 1974. Возрастные изменения биохимических показателей у личинок II и III стадий подкожного овода северного оленя. — Паразитология, 8 (5) : 438—446.

Гилмур Д. 1968. Метаболизм насекомых. М. : 3—229.

Курилов Н. В., Радченкова Т. А. 1970. Определение азотистых веществ в содержимом рубца. — В кн.: Новые методы и модификации биохимических исследований в животноводстве. М. : 60—65.

Радченков В. П., Радченкова Т. А. 1970. Определение мочевины модифицированным методом Мишона и Арно. — Там же : 71—72.

Соломонова Л. Д. 1974. Уровень бродильных процессов в рубце и некоторые показатели обмена веществ у северных оленей в зависимости от сезонов года. Автореф. канд. дис., Боровск : 3—22.

Филиппович Ю. Б. 1953. Связь белков и аминокислот гемолимфы с синтезом белков шелка в организме дубового шелкопряда. — Уч. зап. Моск. гос. пед. ин-та им. В. И. Ленина, 77 (7) : 125—182.

Chen P. S., Levenbook L. 1966. Studies on the haemolymph of the blowfly Phormia regina. 2. Synthesis and breakdown as reveled by isotopic labelling. — J. Insect. Physiol., 12 (12) : 1611—1627.

Niewerko W. A., Cepelewies S. 1950. Studies in the biochemistry of the warmoth (Galleria mellonella). 1. Growth of the larvae and their chemical composition. — Acta. Biol. Experim., 1950, 15 (24) : 57—68.

Sande N. van, Karcher D. 1960. Species differentiation of insects by hemolymph electrophoresis. — Science, 131 : 1103—1104.

DYNAMICS OF SOME NITROGEN-CONTAINING COMPOUNDS IN THE HAEMOLYMPH OF THE 2nd AND 3rd STAGE LARVAE OF THE WARBLE FLY OF THE REINDEER (Hypodermatidae)

N. I. Borosdina

SUMMARY

The content of the total protein, residual and amine nitrogen, urea and ammoniac depends on the physiological state of the warble fly larvae of the reindeer. Metabolism of nitrogen-containing compounds carries out most intensively in the growing organism and during the moulting period. The moulting period is characterized by the fall in the total protein, residual and amine nitrogen and increase of the ammonias and urea.