

Н. Г. БЕРИМ

## ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ НАСЕКОМЫХ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ГХЦГ И ДДТ

(Представлено академиком Е. Н. Павловским 14 I 1952)

Ранее проведенные исследования (<sup>4</sup>) показали, что ГХЦГ (гексахлорциклогексан) и ДДТ (дихлордифенилтрихлорэтан) вызывают у обработанных ими насекомых существенное нарушение обмена веществ, выражающееся в изменении интенсивности дыхания, снижении дыхательного коэффициента, потере значительного количества воды, а также жиров и углеводов. Эти исследования позволили установить некоторые пути преодоления физиологической устойчивости насекомых к данным инсектицидам. Дальнейшее развитие этого вопроса вызывало необходимость установить характер влияния ГХЦГ и ДДТ на деятельность ферментов насекомых и наметить дополнительные способы преодоления физиологической устойчивости насекомых к ГХЦГ и ДДТ путем изменения активности ферментов.

Учитывая характер нарушения обмена веществ у насекомых при отравлении их ГХЦГ и ДДТ, исследованию была подвергнута каталаза, активность которой, по литературным данным (<sup>6</sup>), находится в прямой коррелятивной связи с интенсивностью дыхания насекомых, а также липазы. Объектами исследования служили различные насекомые, главным образом, вредители полезащитных и плодовых насаждений — гусеницы боярышницы (*Arogia crataegi* L.), златогузки (*Nygmia phaeognthoea* Don.), зимней пяденицы (*Operophtera brumata* L.), ложногусеницы дубового пилильщика (*Emphytus braccatus* Kl.), личинки тополевого листоеда (*Melasoma populi* L.), а также другие насекомые, в частности личинки широкогрудого медляка (*Blaps lethifera* Marsch.).

Подопытные насекомые обрабатывались 5% дустами ГХЦГ и ДДТ из расчета 0,001 г действующего вещества на 1 г живого веса насекомого. В дальнейшем проводилось определение смертности насекомых, скорости действия на них инсектицидов, а также физиологических и биохимических показателей — интенсивности дыхания, дыхательного коэффициента в микрореспирометре Крога и активности ферментов. Определение активности каталазы производилось газометрически по объему кислорода, выделившегося из перекиси водорода при внесении в нее растертого с песком насекомого. Активность липаз определялась по продолжительности ферментации жира сливочной эмульсии (<sup>5</sup>). Растертые с песком насекомые (навеска 0,5 г) заливались 10 мл сливочной эмульсии, содержащей 1% жира, к которой добавляли 0,4 мл 2% раствора двууглекислого натрия  $\text{NaHCO}_3$  и 5 капель 0,1% водного раствора индикатора фенол красный. Пробы помещались в термостат и выдерживались там при температуре 38—40° до перехода окраски эмульсии из розового в желтый цвет.

При рассмотрении результатов опытов, представленных в табл. 1, можно убедиться в том, что при заметном повышении интенсивности дыхания и снижении дыхательного коэффициента активность каталазы у обработанных ГХЦГ и ДДТ насекомых почти не меняется. Это дает основание сделать заключение об отсутствии активирующего или инактивирующего действия этих инсектицидов на каталазу.

Таблица 1

Активность каталазы у насекомых, обработанных ГХЦГ и ДДТ

Вид и стадия насекомого	Активность каталазы в мл O <sub>2</sub> на 1 г жив. веса в час		Интенсивность дыхания в мм <sup>3</sup> O <sub>2</sub> на 1 г жив. веса в час		Дыхательный коэффициент	
	у необработ. насекомых	у обработ. через 2 ч. после обработки	у необработ. насекомых	у обработ. через 2 ч. после обработки	у необработ. насекомых	у обработ. через 2 ч. после обработки
Гусеницы боярышницы 5-го возраста, обработ. ГХЦГ	858	846	484	659	—	—
Гусеницы златогузки 2-го возраста, обработ. ГХЦГ	930	870	522	810	0,85	0,74
Личинки широкогрудого медляка, обработ. ДДТ	1200	1320	275	715,2	1	0,79—0,81

Что касается липаз, то данные, представленные в табл. 2, в общем свидетельствуют об активирующем действии на липазы ГХЦГ и ДДТ. Анализ этих данных показывает, что существует известная зависимость между устойчивостью насекомых к ГХЦГ и ДДТ и активностью липаз. Активность липаз оказалась меньшей у более устойчивых к ГХЦГ гусениц златогузки 4-го возраста, большей — у гусениц боярышницы 5-го возраста, зимней пяденицы 4-го возраста и ложногусениц дубового пилильщика, обладающих меньшей устойчивостью к ГХЦГ. Это вполне согласуется с выводами из ранее проведенных нами исследований (3, 4) о том, что наименьшей устойчивостью к ГХЦГ и ДДТ обладают насекомые с меньшим содержанием жиров, у которых интенсивность процессов окисления приводит к большему их расходу.

Таблица 2

Активность липаз у насекомых, обработанных ГХЦГ и ДДТ

Вид и стадия насекомого	Смертность в %		Скопость действия инсектицидов в час.	Активность липаз по продолжительности ферментации в часах		
	у необработ. насекомых	у обработ. насекомых		у необработ. насекомых	у обработ. после обработки инсектицидами через	
					2 часа	24 часа
Гусеницы боярышницы 5-го возраста, обработ. ГХЦГ	0	100	18	5,1	3,25	—
Гусеницы златогузки 4-го возраста, обработ. ГХЦГ	0	100	51	20	24	6,75
Гусеницы зимней пяденицы 4-го возраста, обработ. ГХЦГ	0	100	31	4,8	3,2	—
Ложногусеницы дубового пилильщика, обработ. ГХЦГ	0	100	6	6	3,2	—
Личинки широкогрудого медляка, обработ. ДДТ	0	100	21	6	4,6	—

Активирующее действие инсектицидов на липазы также проявляется различно у разных насекомых. У менее устойчивых к ГХЦГ насекомых (гусениц боярышницы, зимней пяденицы, ложногусениц дубового пилильщика) значительная активация липаз отмечается уже через 2 часа после обработки насекомых инсектицидом. У более устойчивых к ГХЦГ насекомых (гусениц златогузки) активация липаз отмечается лишь после сравнительно большого периода действия ГХЦГ (через 24 часа). Аналогичные закономерности установлены и в отношении действия ДДТ.

Различия в активности липаз у насекомых, обладающих различной устойчивостью к ГХЦГ и ДДТ, как и характер активирующего действия этих инсектицидов на липазы, могут быть обусловлены содержанием в насекомых, а также образованием в них под воздействием ГХЦГ и ДДТ различных веществ, влияющих на активность липаз. Такими веществами, в частности, могут являться соли кальция, активирующее действие которых на липазы является установленным фактом (1, 5).

Для подтверждения этого предположения мы взяли за основу известное положение энзимохимической теории возбуждения Х. С. Коштойнца (7, 8). По этой теории ацетилхолин, освобождающийся из связанного состояния при нервном возбуждении, действует на протоплазму не непосредственно, а, в частности, через мобилизацию ионов кальция на поверхности клеток из соответствующих соединений кальция с коллоидами, в которых кальций находится в неионизированном состоянии. Таким соединением является, в частности, протеинат кальция. В механизме освобождения ионов кальция из соответствующих соединений может принять участие уксусная кислота, образующаяся при гидролизе ацетилхолина под действием холинэстеразы. Эти ионы кальция активируют фермент аденозинтрифосфатазу и, следовательно, энзиматический распад аденозинтрифосфата — первичного звена химической динамики мышечной протоплазмы.

Так как инсектициды типа ГХЦГ и ДДТ действуют на нервную систему насекомых (9) и устойчивость последних к этим инсектицидам связывается с активностью холинэстеразы (10), можно было допустить возможность образования ионов кальция и у насекомых. Это могло служить причиной отмеченного нами активирования липаз у насекомых, обработанных инсектицидами.

Проверка этого положения была произведена нами по методике, использованной в работах Х. С. Коштойнца и сотрудников (8), путем осаждения кальция витальной краской ализарин красный С (чувствительность реакции 0,00005 моля) в виде яркокрасных хлопьев ализарата кальция. Из заднего конца тела у обработанных и необработанных инсектицидами насекомых путем небольшого надреза извлекалась на предметное стекло капля гемолимфы, на которую наносилась капля ализарина красного С. Изменение окраски и осадок исследовались под микроскопом. Исследование показало, что изменение окраски от желтой к красной произошло во всех вариантах, т. е. при прибавлении индикатора к гемолимфе обработанных и необработанных ГХЦГ насекомых. Это станет понятным, если учесть, что рН гемолимфы исследованных насекомых выше 7, а интервал перехода цвета из желтого в розовый для ализарина красного С — при рН 3,7—5,2. Однако в то время как у неустойчивых к инсектицидам насекомых с большой активностью липаз (гусениц боярышницы, зимней пяденицы, ложногусениц дубового пилильщика) наблюдается выпадение обильного осадка ализарата кальция, у устойчивых насекомых с относительно меньшей активностью липаз (гусениц златогузки) ализарат кальция не выпадает или выпадает в незначительном количестве.

Далее, у устойчивых гусениц златогузки выпадение значительного осадка ализарата кальция отмечается лишь после продолжительного

воздействия на них инсектицидом, т. е. после длительного периода нервного возбуждения.

Установление роли ионов кальция в активировании энзимохимических и в том числе липолитических процессов позволило выдвинуть предположение о возможности преодоления физиологической устойчивости насекомых к ГХЦГ и ДДТ путем комбинирования этих инсектицидов с солями кальция, в частности с хлористым кальцием. Хлористый кальций более удобен, так как, наряду с активирующим действием на липазы (1, 5), он вследствие своей гигроскопичности обладает еще значительными влагоотнимающими свойствами, что, по нашим данным, может также быть использовано для преодоления физиологической устойчивости насекомых к ГХЦГ и ДДТ (2).

Предварительные опыты по определению сравнительной токсичности 5% дуста ГХЦГ и дуста, содержащего 2,5% ГХЦГ, 2,5% хлористого кальция и 2,5% альбумина, показали более высокую токсичность последнего для гусениц златогузки, а также для личинок последнего возраста тополевого листоеда. В частности, при полной смертности личинок тополевого листоеда в обоих вариантах скорость действия на них 5% дуста ГХЦГ равнялась 72 час., а дуста, содержащего 2,5% ГХЦГ, 2,5% хлористого кальция и 2,5% альбумина — 52 час. Дуст, содержащий 2,5% хлористого кальция и 2,5% альбумина, но не содержащий ГХЦГ, вызвал лишь 20% смертности насекомых.

Вопрос усиления действия ГХЦГ и ДДТ на насекомых путем комбинирования этих инсектицидов с солями кальция должен быть предметом особого исследования, в результате которого должны быть определены соли кальция и соотношения их с ГХЦГ и ДДТ, дающие наилучший эффект.

Ленинградский сельскохозяйственный институт

Поступило  
7 I 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. Н. Бах и В. А. Энгельгардт (ред.), Ферменты, 1940. <sup>2</sup> Н. Г. Берим, 2-я экологич. конфер. при Киевск. гос. ун-те. Тезисы докладов, ч. 1, 1950. <sup>3</sup> Н. Г. Берим и Н. М. Эдельман, ДАН, 67, № 3 (1949). <sup>4</sup> Н. Г. Берим и Н. М. Эдельман, ДАН, 73, № 2 (1950). <sup>5</sup> С. Г. Гребельский, ДАН, 62, № 1 (1948). <sup>6</sup> И. В. Кожанчиков, ДАН, 27, № 1 (1946). <sup>7</sup> Х. С. Коштоянц, ДАН, 43, № 8 (1944). <sup>8</sup> Х. С. Коштоянц, И. А. Кедер-Степанова и В. А. Шидловский, ДАН, 59, № 1 (1948). <sup>9</sup> Л. В. Ягужинская, Медиц. паразит. и паразит. болезни, № 5 (1948). <sup>10</sup> Frank H. Babers and John J. Pratt, Journ. Physiol. Zool., 23, No. 1 (1950).