

## БИОЛОГИЯ

УДК 576.895

В.П. Перевозкин, С.Ю. Семёнов, В.С. Галкин, А.К. Сибатаев

**ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ РАСТВОРЕННОГО В ВОДЕ КИСЛОРОДА  
НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ  
МАЛЯРИЙНОГО КОМАРА *ANOPHELES ATROPARVUS* (DIPTERA, CULICIDAE)**

Приведены результаты экспериментального исследования устойчивости к асфиксии преимагинальных стадий развития малярийных комаров *Anopheles atroparvus* Van Thiel, 1927 в зависимости от концентрации растворенного кислорода в воде в разных температурных режимах. Установлено, что в условиях отсутствия доступа к атмосферному воздуху продолжительность жизни личинок и куколок увеличивается при увеличении концентрации растворенного кислорода в воде. В то же время в обескислороженной воде особи младших возрастов гибнут быстрее, чем особи старших возрастов, и, наоборот, в насыщенной кислородом воде личинки младших возрастов отличаются относительно высокой жизнеспособностью в сравнении с особями старших возрастов. Показано для всех преимагинальных стадий развития, что скорость гибели особей закономерно увеличивается при повышении температуры воды от 15 до 30°C.

**Ключевые слова:** *Anopheles atroparvus*; стадии развития; регуляция численности; асфиксия.

Ущерб, наносимый кровососущими насекомыми здоровью и трудоспособности людей, огромен. Комары рода *Anopheles* (Diptera, Culicidae) способны переносить ряд возбудителей трансмиссивных болезней, наиболее опасной и распространенной из которых является малярия. В настоящее время на Земле около 2 млрд человек живут в эпидемиологически опасных зонах, а смертность их исчисляется миллионами в год [1, 2].

В связи с этим малярийные комары являются объектами постоянного повышенного внимания со стороны биологов, медиков и служб эпидемнадзора. Следует подчеркнуть, что высокая генетическая вариабельность и мутационный процесс обеспечивают быстрое возникновение форм комаров, устойчивых к применяемым инсектицидам, что обостряет проблему полной ликвидации очагов малярии и ставит задачу разработки принципиально новых методов борьбы с *Anopheles*.

Среди известных в настоящее время способов уничтожения комаров на преимагинальных стадиях развития следует особо отметить подходы, основанные на создании условий кислородного голодания личинок и куколок с последующей их гибелью от асфиксии [3], устойчивость к которой теоретически выработаться не может. В то же время без выяснения особенностей физиологии насекомых, способствующих поддержанию их жизнеспособности в условиях недостатка кислорода, невозможно адекватно применять соответствующие методы истребления данных кровососов.

Целью настоящей работы являлось изучение устойчивости к асфиксии у преимагинальных стадий развития малярийных комаров *Anopheles atroparvus* в зависимости от концентрации растворенного кислорода в воде в разных температурных режимах.

**Материалы и методики исследования**

Объектом для исследования послужили личинки I–IV возрастов и куколки *Anopheles atroparvus* из лабораторной линии. Опыты проводились в камеральных условиях.

В эксперименте использовались пластиковые прозрачные флаконы объемом 27 мл. В каждом опыте во

флакон при помощи медицинской груши помещались 10 личинок определенного возраста или куколок комаров. Сосуды наполнялись до краев отстоянной водопроводной водой и закрывались крышками таким образом, чтобы не оставалось видимых пузырьков воздуха и не было доступа атмосферного воздуха внутрь.

В опытах, помимо температурного режима (15, 23, 30°C), задавалась определенная концентрация кислорода в воде: 1) отсутствие кислорода (достигалось добавлением в воду расчетного количества  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ); 2) насыщенная кислородом до 7–8 мг/л вода (насыщение происходило путем контакта воды в сосуде с атмосферным воздухом). Таким образом, всего было поставлено 30 вариантов опытов. В ходе эксперимента регистрировалось время от начала опыта до гибели последней особи в емкости. Повторность вариантов опыта – от двух до четырех. Количество повторностей увеличивали до трех-четырех в случае получения разницы в результатах первой и второй повторностей более чем на 10% или высокой степени неточности в определении времени гибели. В таблице приведены максимальные продолжительности жизни личинок по всем повторностям опыта. Температура воды 15 и 23°C устанавливалась путем содержания ее в сосудах в двух лабораториях, имеющих соответствующие постоянные режимы; для поддержания 30°C воды флаконы помещали в термостат ТС 1–20. Концентрацию растворенного в воде кислорода определяли с помощью электрода Кларка (оксиметр HI 9143, Германия).

Статистический анализ проводился с использованием программы Microsoft Excel. Определялись коэффициенты корреляции и пропорциональности (параметр линейного приближения по методу наименьших квадратов) времени жизни объектов исследования и температуры среды.

**Результаты исследования и обсуждение**

Дыхание личинок *Anopheles* осуществляется с помощью трахейной системы открытого типа. От задней пары дыхалец по спинной стороне тела проходят два главных трахейных ствола, достигающих переднего отдела

груди. Главные стволы разветвляются в каждом сегменте. Самые мелкие разветвления – трахеолы – имеют диаметр 1–2 мкм и заканчиваются на поверхности клеточных мембран. Густое сплетение трахеол располагается позади последней камеры спинного сосуда и снабжает кислородом клетки гемолимфы – гемоциты. Как известно, гемолимфа принимает лишь косвенное участие в процессе дыхания, поскольку дыхательные пигменты, подобные гемоглобину, у насекомых отсутствуют [4, 5].

Каких-либо специальных дыхательных движений в трахеях не наблюдается. Дыхание совершается путем диффузии кислорода из атмосферы или воды в трахеи благодаря разнице в его парциальном давлении. Атмосферный воздух поступает в трахеи через пару дыхалец, расположенных на последнем сегменте брюшка. Дыхальца окружены замыкательным аппаратом, образующим стигмальную пластинку. Личинки комаров, не обеспокоенные никакими внешними воздействиями, находятся на поверхности воды в горизонтальном положении. Они прикрепляются к поверхностной пленке с помощью раскрытой стигмальной пластинки, а также при помощи плечевых клапанов и звездчатых волосков [4].

У куколок комаров органами захвата воздуха являются дыхательные рожки. Они имеют форму воронок и расположены на дорсальной стороне головогруди. Полость рожков перегорожена разветвленными фильтрующими волосками и открывается одним концом наружу, а другим – в полость трахейного ствола. У куколок *Anopheles* фильтрующие волоски развиты относительно слабо, но наружное отверстие органа затянуто тонкой кутикулярной мембраной, через которую происходит диффузия воздуха [6, 7].

Типичной реакцией особей преимагинальных стадий развития на вспугивание является резкий нырок вглубь воды, иногда на десятки сантиметров [5].

У личинок при нырке дыхальца закрываются лопастями стигмальной пластинки. Однако замыкание никогда не бывает полным. Между передней и боковыми лопастями образуется воздушная полость. Вода не может попасть в дыхальца и вытеснить оттуда воздух из-за несмачиваемости стигмальной пластинки, которая периодически смазывается секретом слюнных желез. Можно часто наблюдать, как изогнувшаяся личинка обрабатывает стигмальную пластинку лопастями верхней губы [4]. Подобное устройство замыкательного аппарата, а также способность использовать для дыхания растворенный в воде кислород через покровы и жабры позволяют личинкам ограниченное время находиться в воде. Куколки также способны активно нырять и перемещаться в толще воды. В то же время продолжительное удерживание личинок и куколок под водой приводит к гибели их от асфиксии.

Результаты опытов показали различную скорость гибели преимагинальных стадий развития комаров в условиях недостатка кислорода в воде (таблица). Данные, представленные в таблице, свидетельствуют, что повышение температуры воды снижает время выживания личинок и куколок, причем эта закономерность проявилась в обеих сериях опытов независимо от насыщенности воды кислородом. При отсутствии кислорода в воде коэффициент корреляции для всех стадий оказался не ниже 0,979 (см. таблицу); при насыщенной кислородом воде – не ниже 0,902, что, согласно шкале Чеддока, соответствует качественной характеристике силы связи «весьма высокая». Это свидетельствует о том, что, как и у всех типичных пойкилотермных организмов, процессы метаболизма у личинок и куколок комаров прямо зависят от температуры среды, в данном случае воды.

Летальное время преимагинальных стадий развития *Anopheles atroparvus* в зависимости от температуры и концентрации кислорода в воде

| Преимагинальные стадии | Концентрация растворенного кислорода в воде, мг/л | Температура воды, °С |          |          | Коэффициент корреляции |
|------------------------|---|----------------------|----------|----------|------------------------|
|                        |   | 15                   | 23       | 30       |                        |
| Личинки I возраста     | 0   | 21 мин               | 14 мин   | 10 мин   | 0,99308                |
|                        | 7–8   | 4200 мин             | 3420 мин | 2700 мин | 0,99988                |
| Личинки II возраста    | 0   | 55 мин               | 30 мин   | 14 мин   | 0,99617                |
|                        | 7–8   | 4560 мин             | 2640 мин | 1980 мин | 0,9722                 |
| Личинки III возраста   | 0   | 71 мин               | 31 мин   | 15 мин   | 0,97925                |
|                        | 7–8   | 5820 мин             | 2760 мин | 565 мин  | 0,99842                |
| Личинки IV возраста    | 0   | 93 мин               | 50 мин   | 19 мин   | 0,99849                |
|                        | 7–8   | 1620 мин             | 120 мин  | 48 мин   | 0,9028                 |
| Куколки                | 0   | 131 мин              | 71 мин   | 21 мин   | 0,9999                 |
|                        | 7–8   | 199 мин              | 80 мин   | 38 мин   | 0,97345                |

В то же время в опытах показано, что в насыщенной кислородом воде (7–8 мг/л) все преимагинальные стадии более длительное время сохраняли жизнеспособность при соответствующих температурных режимах, чем в условиях отсутствия O<sub>2</sub>. Особенно выражено это проявилось у личинок младших возрастов. Для особей I возраста LT<sub>100</sub> в насыщенной кислородом воде более чем в 200 раз превышало этот показатель в воде с отсутствием кислорода; для особей II возраста – не менее чем в 80 раз. Наименьшие различия зарегистрированы для куколок (см. таблицу). Таким образом, личинки за счет жаберного и покровного дыхания, а куколки только за счет покровного дыхания в толще воды

способны длительное время сохранять жизнеспособность в условиях изоляции от атмосферного кислорода.

В отношении скорости гибели преимагинальных стадий развития в двух сериях эксперимента при альтернативных концентрациях кислорода зафиксированы две противоположные тенденции. При полном отсутствии кислорода в воде во всех трех заданных режимах температур наблюдалось близкое к линейному возрастание устойчивости особей к асфиксии от I возраста к куколкам (рис. 1).

В насыщенной кислородом воде при начальной концентрации кислорода 7–8 мг/л, наоборот, личинки младших возрастов отличались повышенной жизне-

способностью в сравнении с особями старших возрастов. Такая четкая зависимость установлена для двух температурных режимов: 23 и 30°C. Отклонение от прямо пропорционального изменения показателей

жизнеспособности по возрастам отмечено только в серии опытов при температуре 15°C, когда наибольшую жизнеспособность проявили личинки III и II возрастов (рис. 2).

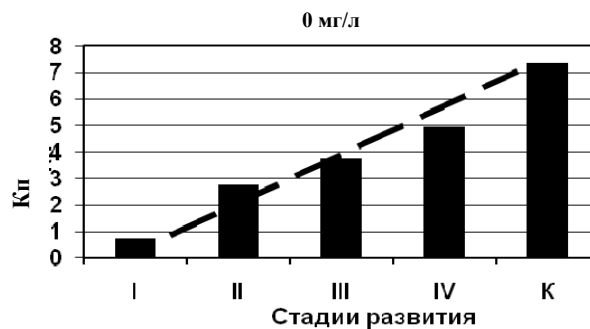


Рис. 1. Коэффициент пропорциональности (Кп) времени жизни и температуры среды для разных стадий развития *Anopheles atroparvus* при отсутствии кислорода в воде. I, II, III, IV – возрасты личинок, K – куколки. Пунктиром обозначена линия тренда

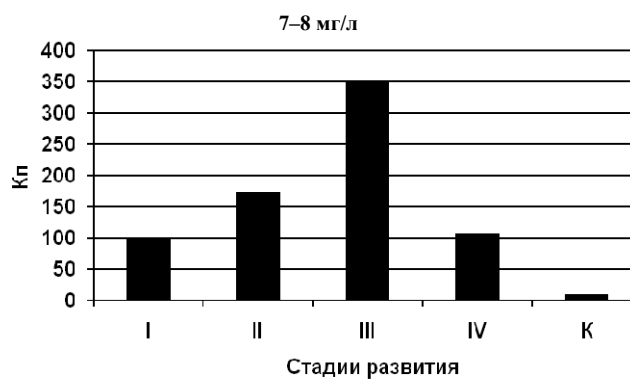


Рис. 2. Коэффициент пропорциональности (Кп) времени жизни и температуры среды для разных стадий развития *Anopheles atroparvus* при концентрации кислорода в воде 7–8 мг/л. I, II, III, IV – возрасты личинок, K – куколки

Однако при таких параметрах среды отдельные личинки II и III стадий развития оставались живыми в сосудах более 3–4 сут (см. таблицу), при этом соответствующие коэффициенты пропорциональности на два порядка выше, чем в первой серии экспериментов при полном отсутствии кислорода в воде. В таком случае жизнеспособность особей могла определяться другими индивидуальными особенностями их физиологии, которые проявились при длительном прохождении эксперимента. Очевидно, этот вопрос требует дополнительного изучения. В то же время закономерной остается тенденция повышенной жизнеспособности особей младших возрастов по отношению к последним преимагинальным стадиям развития комаров в насыщенной кислородом

воде. Можно предположить, что хотя покровное дыхание у личинок старших возрастов обеспечивает меньшую часть потребности в кислороде, в их трахеях и стигмальном аппарате запасается больше воздуха.

Таким образом, при проведении мероприятий по уничтожению преимагинальных стадий развития комаров с помощью методов, вызывающих у них асфиксию, необходимо учитывать температуру и насыщенность кислородом воды, а также возрастную структуру популяций насекомых. Уничтожение личинок комаров по способу, описанному в [3], при низкой температуре воды и высокой доле личинок младших возрастов требует, по-видимому, нескольких последовательных обработок водоема.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Онищенко Г.Г.* Об эпидемической ситуации и заболеваемости природноочаговыми инфекциями в Российской Федерации и мерах по их профилактике // *ЖМЭИ*. 2001. № 3. С. 22–28.
2. *Литвин В.Ю., Коренберг Э.И.* Природная очаговость болезней: развитие концепции к исходу века // *Природная очаговость болезней: исследования института Гамалеи РАМН* / Под ред. Э.И. Коренберга. М., 2003. 254 с.
3. *Пат. 2370952 С1 РФ, А01М 1/20 (2006.01).* Способ уничтожения личинок комаров / С.Ю. Семенов, А.К. Сибатаев, В.П. Перевозкин; Заявитель и патентообладатель ГОУВПО Томский государственный университет. 2008133300/12, заявл. 13.08.2008, опубл. 27.10.2009.
4. *Мончадский А.С.* Личинки кровососущих комаров СССР и сопредельных стран (подсем. Culicinae). М.: Изд-во АН СССР, 1951. 290 с.
5. *Ясюкевич В.В., Расницын С.П.* Роль обскребывания субстрата в питании личинок малярийных комаров // *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1989. № 1. С. 19–22.
6. *Шванвич Б.Н.* Курс общей энтомологии. М.: Советская наука, 1949. 900 с.
7. *Захваткин Ю.А.* Курс общей энтомологии. М.: Колос, 2001. 376 с.

Статья представлена научной редакцией «Биология» 14 марта 2011 г.