

До вивчення фізіологічних механізмів дії ДДТ

Л. І. Францевич

Інститут зоології Академії наук УРСР, Київ

Жодному інсектициду не було присвячено стільки статей, як ДДТ. Проте й сьогодні, через 90 років після синтезу ДДТ і після 25 років дослідження його інсектицидних властивостей, механізм дії цієї речовини на комах лишається неясним. Одна з теорій, що пояснює механізм дії ДДТ, така: при отруєнні насамперед знижується поріг чутливості розташованих у кутикулі рецепторів, а потім виникає нестабільність у тонких сенсорних волокнах. Замість поодиноких розрядів рецептори і уражені ділянки волокон генерують потоки повторних розрядів частотою до 400 імп/сек. Внаслідок посилення аферентного бомбардування патологічно підвищується активність центральної нервової системи, виникають корчі, що призводять до виснаження і загибелі комах. При поглибленні отруєння несталість може з'явитись і у моторних аксонах. Безпосередньо на центральну нервову систему і м'язові волокна ДДТ не впливає. Згадані явища призводять до багатьох вторинних біохімічних і гістологічних змін.

Загальновідомо, що ДДТ більш токсичний при знижених температурах. Всяка гіпотеза про механізм дії ДДТ повинна пояснити цей фундаментальний факт. (Крім ДДТ, від'ємний температурний коефіцієнт виявлений також у аналогів ДДТ, в ряді випадків для отрут групи гексахлорану, для піретринів, нафталіну і деяких інших інсектицидів.) Встановлено, що разом з посиленням процесів детоксикації ДДТ при підвищенні температури проникнення отрути в організм також посилюється і при 30—35° комахі можуть містити в кілька разів більше ДДТ, не виявляючи ознак отруєння, ніж паралізовані комахі при 15—17°. Отже, токсичність поглинутої дози отрути при підвищенні температури падає [5, 8, 9, 14]. Цей парадоксальний факт лежить в основі відомого явища оборотності отруєння ДДТ при нагріванні. Разом з відновленням нормальної координації рухів комах при нагріванні усуваються біохімічні зміни, що виникають при отруєнні [3]. Висловлювалися припущення, що при підвищенні температури змінюється розподіл отрути між фазами клітини, і її кількість в місцях первинної взаємодії зменшується [1, 11, 12]. У відповідності з цим при підвищенні температури має зникнути одна з перших ознак отруєння: поява спонтанних повторних розрядів у чутливих і моторних волокнах. Однак було показано, що час появи повторних розрядів у стегновому нерві таргана при перфузії ноги суспензією ДДТ не залежить від температури в межах 18—32° [13]. Повторні розряди у гігантських аксонах таргана, що виникають при отруєнні алетрином, найбільшою мірою виявлялись при 33° (чотири-п'ять розрядів підряд з довгими послідовними осциляціями) і зникають при 26° — залишаються поодинокі роз-

ряди з осциляціями [10]. Кількість черг повторних розрядів за одиницю часу в стегновому нерві таргана прямо залежить від температури. Водночас повторні розряди у нервовому ланцюжку максимально виявлені при 17° і зникають після нагрівання вище 30° [7]. Ітон і Стернберг [7] висловили припущення, що від'ємний коефіцієнт токсичності ДДТ пов'язаний з подіями, що відбуваються на рівні центральної нервової системи.

Ми дослідили вплив температури на різних фазах отруєння ДДТ.

Матеріал і методика досліджень

Досліди проведені на синіх м'ясних мухах *Calliphora erythrocephala* лабораторної культури. Спиртові розчини інсектицидів наносили на спинку або на ноги мухи за допомогою каліброваних капілярів об'ємом 1 мкл [4]. Спостереження за перебігом процесу отруєння проводили у світлих термостатах. Використано інсектициди: ДДТ (біс(п-хлорфеніл)-трихлоретан), γ -ізомер гексахлорану, гептахлор, хлорофос, метилетилтіофос, ДДВФ, ізолан, цидазол (1-*N*-(β -ціаноетил)-3-метилпіразоліл-*N,N*-диметилкарбамат), крезилан (*m*-крезил-*N*-метилкарбамат), нафталін, спиртовий екстракт піретрину й емульсію нікотину. Останні два препарати очищено з рослинного матеріалу, і точна концентрація активно діючої речовини невідома.

Для порівняння токсичності поглинутих доз ДДТ при різних температурах проводили отруєння на протязі певного часу при одній температурі, а облік токсичного ефекту — після короткого перебування при іншій температурі, згідно з методикою застосованою нами до личинок комарів [5]. Обернення отруєння перевіряли, вміщуючи мух, отруєних при 15°, у термостаті з температурою 30—35°.

Рухову активність окремих комах реєстрували на кімографі. До лапки комах підклеювали легкий гачок, з'єднаний із стрілкою міографа. Комаха під час реєстрації знаходилась у камері з органічного скла з водяною оболонкою. Температуру регулювали, подаючи гарячу і холодну воду. Для контролю за температурою в камері монтували термометр. Температуру змінювали повільно, щоб показання термометра не суперечили значенням температури повітря в камері, тіла і кінцівок комах.

Децентралізовані препарати мух готували, видаляючи торакальний синганглії. Мусі зрізали спинку і фіксували за крила у невеликому розправлячі. Розсунувши голками крилові м'язи і травні органи, оголяли ганглії, гачком розривали конективу і видаляли ганглії пінцетом. У розріз закладали ватний тампон, змочений фізіологічним розчином для комах. При підготовці масового матеріалу при роботі вдвох один препарат готували за 40—50 сек.

Для вивчення взаємодії різних інсектицидів з ДДТ на периферичному рівні готували велику партію децентралізованих препаратів мух. Групу 10—20 препаратів обробляли певним інсектицидом і близько години витримували в термостаті при 30°. Дози інсектицидів підбрано так, щоб вони викликали повну нерухомість цілих синіх м'ясних мух за 15—40 хв. Контрольні препарати було оброблено 2 мкл спирту. Потім препарати отруювали 10 мкг ДДТ. Порівнювали момент початку тремору ніг (час мобілізації) половини препаратів у досліді і в контролі. Після досліду перевіряли реакцію м'язів на пряме подразнення електричним струмом через голчасті електроди.

Дослідження виконано в лабораторії арахноентомології Київського державного університету ім. Т. Г. Шевченка.

Результати досліджень

Мухи *Calliphora erythrocephala*, отруєні топічно 5 мкг ДДТ, паралізуються на 50% при 15° за 15 хв, при 30° за 60 хв. Проте при 30° уже за 8 хв мухи поглинають дозу отрути, достатню для їх паралізу при 15°. Як і в досліді з личинками комарів, швидкість поглинання ДДТ більша при підвищеній температурі, а токсичність поглинутої дози менша.

Після видалення торакального ганглію кінцівки неотруєних мух при кімнатній температурі стають нерухомими. У отруєних ДДТ мух після видалення ганглію може спостерігатися автономний тремор ніг, що збуджується у периферичному нервово-м'язовому апараті. Ми порівняли можливість обернення отруєння і наявність автономного тремо-

ру. Обернення отруєння мух, отруєних 55 хв мух, отруєних 30—60 хв (для різних доз) вже не зникає в усіх випадках тремор ніг. Під час стерігається лише в першій фазі. Під час першої фазі рухів максимума

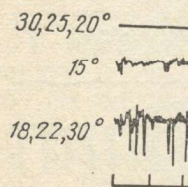


Рис. 1. Рухова ак

рі (11—13°) всі рухи зникають (рис. 1). Схожість з тремором. Під час комах. На кімограмах на секунду. Її за

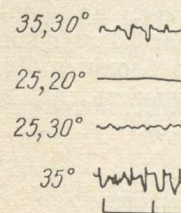


Рис. 2. Автоно

$m = 2,65 - 0,067 t^\circ$, $P_0 < 0,1\%$). Таким чином, частота рухів від температури стає меншою, ніж при нормалізації. Найбільш часто ляється в декапітова. Час мобілізації і ноги нанесли 10 м. Автономний тремор являється дуже слабким при 35° (рис. 2). Залежність виражається рівнянням $R = 0,47 (d.f. = 85, P_0 < 0,1\%)$. Час тремору від температури реєстрації. Однієї частоти рухів при

ру. Обернення отруєння можна досягти після експозиції протягом 5—55 хв мух, отруєних 5 мкг ДДТ, при 15°. Після експозиції тривалістю 30—60 хв (для різних особин) симптоми отруєння при відігріванні комах вже не зникають. Виявилося, що під час необерненої фази отруєння в усіх випадках після децентралізації відзначається автономний тремор ніг. Під час оберненої фази отруєння автономний тремор спостерігається лише в одному випадку з 15.

Під час першої (оберненої) фази отруєння ДДТ активність судорожних рухів максимальна при 15—18°. При більш низькій температу-

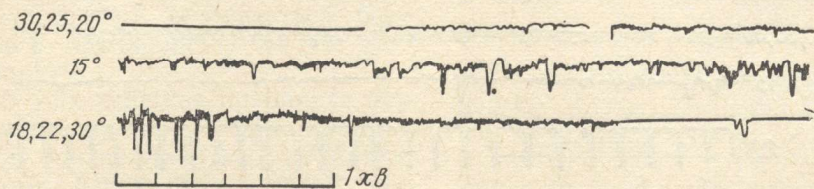


Рис. 1. Рухова активність мухи на першій фазі отруєння ДДТ при різних температурах.

рі (11—13°) всі рухи сповільнюються. При 30—35° корчі зовсім припиняються (рис. 1). Одночасно при нормалізації відігріті мухи втягають хоботок. Під час корчів хоботок завжди висунутий і робить сильні рухи. На кімограмах можна підрахувати кількість м'язових скорочень на секунду. Її залежність від температури наближено лінійна:

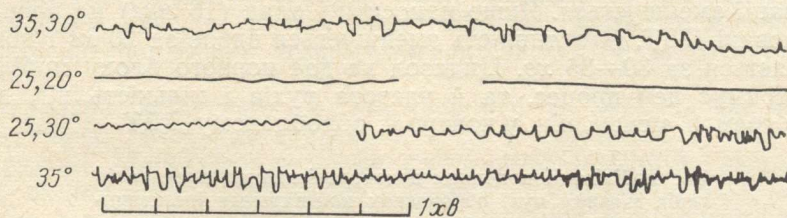


Рис. 2. Автономний тремор децентралізованого препарату мухи, отруєної ДДТ, при різних температурах.

$m=2,65-0,067 t^{\circ}$, при коефіцієнті кореляції $R=-0,53$ ($d.f.=42$, $P_0<0,1\%$). Таким чином, зворотна залежність судорожної активності від температури статистично дуже істотна. Амплітуда рухів при нагріванні менша, ніж при охолодженні, при тій же температурі реєстрації.

Найбільш часто зниження судорожних рухів при нагріванні виявляється в декапітованих комах. Цілі мухи в світлому приміщенні після нормалізації можуть виявляти довільну рухову активність.

Час мобілізації децентралізованих препаратів, яким на грудку і ноги нанесли 10 мкг ДДТ, становить 6 хв при 35° і 22 хв при 15°.

Автономний тремор децентралізованих препаратів при 15—18° проявляється дуже слабо і досягає максимальної інтенсивності при 30—35° (рис. 2). Залежність частоти автономного тремору від температури виражається рівнянням $m=0,109t^{\circ}-1,16$, при коефіцієнті кореляції $R=0,47$ ($d.f.=85$, $P_0=1\%$). Отже, пряма залежність частоти автономного тремору від температури статистично достовірна. Амплітуда тремору при нагріванні більша, ніж при охолодженні, при тій же температурі реєстрації. Однак коваріаційний аналіз не виявляє істотної різниці частот рухів при охолодженні і нагріванні в обох фазах отруєння.

Автономний тремор можна викликати нафталіном у відповідно більшій дозі (100 мкг), з такою ж, як для ДДТ, температурною залежністю (рис. 3).

На цілій комасі можна спостерігати прояв обох фаз отруєння: судорожні рухи при низьких температурах і автономний тремор при високих, з пригніченням рухової активності при проміжних температурах (рис. 4).

Основні результати дослідів по взаємодії інсектицидів з ДДТ на децентралізованих препаратах наведені в таблиці. Фосфорорганічні

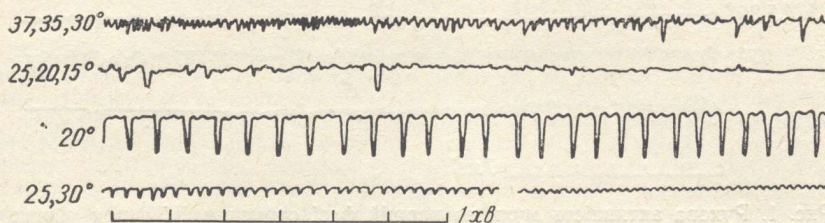


Рис. 3. Автономний тремор, викликаний отруєнням нафталіном.

інсектициди — хлорофос, ДДВФ, метилетилтіофос — не впливають ні на час початку автономного тремору, ані на його інтенсивність. Після обробки крезиланом або максимальною дозою ізолану 70—80% препаратів блокувалися зовсім, і лише в одного—трьох з десяти часом проявлялися слабкі рухи. При зменшенні дози ізолану ступінь затримки мобілізації зменшується. Якщо наносити ізолан (16 мкг) на препарати, мобілізовані ДДТ, їх активність зменшується вдвоє за 20 хв і повністю подавляється за 30—35 хв . Цидазол не дає повного блоку мобілізації, але затримує цей процес, та й частота рухів і кількість ніг, в яких бачимо тремор, менші, ніж у контролі, обробленому ДДТ.

Час мобілізації половини децентралізованих препаратів синіх м'ясних мух, оброблених контактними інсектицидами, а потім ДДТ

№ дослідів	Інсектицид	Доза (мкг)	Час мобілізації (хв)	
			в досліді	в контролі
1	хлорофос	50	8	8
2	метилетилтіофос	48	4	3
3	ДДВФ	17	2—4	3
4	ізолан	16	блок	3
5	те ж	8	37	4
6	» »	4	7	4
7	» »	2	4	4
8	крезилан	80	блок	5
9	цидазол	80	7	5
10	нікотин	2 мкл	23	3
11	гептахлор	80	5	3
12	піретрин	4 мкл	блок	3
13	те ж	4 мкл	блок	8
14	гексахлоран	20	4	8

Нікотин сильно затримує мобілізацію, викликану ДДТ, а піретрин блокує автономний тремор препаратів. Гептахлор не впливає на час і повноту мобілізації, але докорінно змінює картину тремору: рухи ніг

стають нечастими — ран не впливає на того, оброблені гек частіше тарзальний тремору. В контролі тремор однієї парату або коли у ранку. Цей спос істотно відрізняєтьс мору: останній від пинно і поширюєтс препарат.

В усіх дослідях мально реагували н нення м'язів, наві повного блоку ав мору.

Отруєння ДДТ що виникають у ві. Прояв симптомів от низьких температур не; 2) фаза автоном ня моторних аксон від температури. В тилежний.

Природно припу ного тремору, ураж температури. Це під ми [7]: приплив черг ться при підвищенні впливає на процеси мально поведінка к центральні процеси зменшення аферент тивність у самому змінюються сильним пов'язане із зменше при охолодженні або

Нейрогенна прир ні ДДТ була продем фенобарбіталом бло філ. Реакція м'язів нами децентралізова препарат, який само кування нормальної викликати карбамата том, ефірами фосфор Такі спостереження ром у нервово-м'язов чення самозбудження баматів і нікотину, я ри у хребетних і в ц

стають нечастими — два і менше на хвилину — і повільними. Гексахлоран не впливає на час мобілізації і інтенсивність ДДТ-тремору. Більш того, оброблені гексахлораном препарати виявляють слабкий тремор, частіше тарзальний, який, однак, ніколи не досягає інтенсивності ДДТ-тремору. В контролі часом один-два препарати з десяти можуть виявляти тремор однієї ноги, який виникає, мабуть, при підсиханні препарату або коли спирт потрапить у ранку. Цей спонтанний тремор істотно відрізняється від ДДТ-тремору: останній відбувається безупинно і поширюється на всі ноги препарату.

В усіх дослідах препарати нормально реагували на пряме подразнення м'язів, навіть у випадках повного блоку автономного тремору.

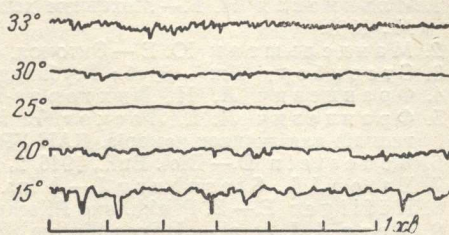


Рис. 4. Прояв обох фаз отруєння ДДТ у цілої мухи при різних температурах.

Обговорення результатів досліджень

Отруєння ДДТ проходить дві фази: 1) фаза рефлекторних корчів, що виникають у відповідь на черги спонтанних аферентних розрядів. Прояв симптомів отруєння у цій фазі прискорюється і посилюється при низьких температурах. При підвищенні температури отруєння оберне; 2) фаза автономного тремору, який виникає при посиленні отруєння моторних аксонів. Прояв симптомів цієї фази прямо залежить від температури. Вплив температури на обидві фази отруєння протилежний.

Природно припустити, що і в першій фазі, як і під час автономного тремору, ураження отруєних нервів посилюється з підвищенням температури. Це підтверджується електрофізіологічними дослідженнями [7]: приплив черг аферентних розрядів при отруєнні ДДТ посилюється при підвищенні температури. Проте, підвищення температури так впливає на процеси інтеграції в центральній нервовій системі, що нормальна поведінка комахи не порушується. При зниженні температури центральні процеси катастрофічно змінюються і, незважаючи на деяке зменшення аферентної активності, різко підвищується електрична активність у самому нервовому ланцюжку, координовані м'язові рухи змінюються сильними безладними корчами. Можливо, що це явище пов'язане із зменшенням пропускну здатності центральних синапсів при охолодженні або з порушенням процесів гальмування.

Нейрогенна природа виникнення автономного тремору при отруєнні ДДТ була продемонстрована Боденштейном [6]: наркотизація нервів фенobarбіталом блокувала автономний тремор м'язів черевця дрозодфіл. Реакція м'язів на пряме подразнення зберігалася. Застосований нами децентралізований препарат мухи являє, по суті, нервово-м'язовий препарат, який самозбуджується під впливом ДДТ. Відомо, що блокування нормальної нервово-м'язової передачі у комах не вдається викликати карбаматами груп езерину, сполуками з четвертинним азотом, ефірами фосфорної та етилфосфонові кислот, ацетилхоліном [2]. Такі спостереження дозволяли сумніватися, чи є ацетилхолін медіатором у нервово-м'язовому сполученні комах. В наших дослідах пригнічення самозбудження препарату досягалося при дії інсектицидних карбаматів і нікотину, які впливають на холінестеразу або холінорецептори у хребетних і в центральних синапсах комах. Можливо, що ці спо-

луки здатні дифундувати до нервово-м'язового сполучення і блокувати в ньому ті ж системи, пов'язані з медіатором ацетилхоліном. Піретрин, імовірно, блокує проведення в аксонах.

Література

1. Ильинская Н. Б.—Механизм действия ДДТ на насекомых. Изд-во АН СССР, М., 1961.
2. Мандельштам Ю. Е.—Энтомологическое обозрение, 1963, 42, 2.
3. Стернберг Дж.—В сб.: Гербициды и инсектофунгициды, ИЛ, М., 1961.
4. Францевич Л. И., Виктор-Набоков О. В.—Лаб. дело, 1962, в. 4.
5. Францевич Л. И., Лоскот В. М.—Влияние температуры на токсичность инсектицидов для личинок комаров. ДАН УССР, 1964, 3.
6. Bodestein D.—Biol. Bull., 1946, 2, 90.
7. Eaton J. L., Sternburg J.—J. Ins. physiol., 1964, 10, 4.
8. Häfliger E.—Z. Pflzh. und Pflschutz, 1954, B. 61.
9. Menn J. J. et al.—J. Econ. Entom., 1957, 50, 1.
10. Narahashi T.—J. Cell. Comp. Physiol., 1962, 59, 1.
11. Perkow W.—Die Insektizide. Huthig Verlag, Heidelberg, 1956.
12. Richards A. G., Cutkomp L. K.—Biol. Bull., 1946, 90, 2.
13. Roeder K. D., Weiant E. A.—Ann. Ent. Soc. Amer., 1951, 44, 3.
14. Vinson E. B., Kearns C. W.—J. Econ. Entom., 1952, 45.

Надійшла до редакції
7.XII 1964 р.

К изучению физиологических механизмов действия ДДТ

Л. И. Францевич

Институт зоологии Академии наук УССР, Киев

Резюме

Отравление ДДТ протекает в две фазы: для первой характерны рефлекторные судорожные движения, возникающие в ответ на патологические очереди повторных разрядов от отравленных рецепторов и сенсорных волокон. Проявление первой фазы максимально при 15—17° и исчезает при нагревании до 30—35°. При углублении отравления развивается вторая, необратимая фаза, для которой характерен тремор мышц, который сохраняется после изоляции периферического нервно-мышечного аппарата от центральной нервной системы и вызывается возбуждением в отравленных аксонах. Автономный тремор усиливается при повышении температуры. Первичный механизм отравления — появление неустойчивости в нервных волокнах — очевидно, имеет положительный температурный коэффициент. Но процессы, которые протекают в центральной нервной системе, так изменяются при снижении температуры, что, несмотря на уменьшение нормальной афферентной бомбардировки, вызывают некоординированные движения и беспорядочные судороги.

Опыты поставлены на синих мясных мухах *Calliphora erythrocephala* (целых и с удаленным торакальным ганглием), отравленных ДДТ. Двигательная активность регистрировалась кимографически.

Автономный тремор конечностей может быть блокирован или угнетен инсектицидными карбатами, никотином (что может возникать от нарушения нервно-мышечной передачи, связанной с системой ацетилхолин—холинэстераза) и пиретрином.

DDT poisoning movements arising in intoxicated receptors and vanishes on heating. A second phase appears, the peripheral nerve in poisoned axons. The primary mechanism of DDT poisoning evidently has a positive effect on the central nervous system and in normal afferent bombardment of convulsions.

Experiments were conducted with removed thoracic ganglia. The autonomous tremor of the limbs can be blocked or inhibited by insecticides, nicotine (which may arise from disturbance of nerve-muscle transmission, associated with the acetylcholine-cholinesterase system) and pyrethrin.

Study of the Physiological Mechanisms of DDT Action

L. I. Frantsevich

*Institute of Zoology, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev**Summary*

DDT poisoning occurs in two phases: the first is distinguished by reflex convulsive movements arising in response to pathological volleys of repeated discharges from the intoxicated receptors and sensory fibres. The first phase appears maximally at 15–17° and vanishes on heating to 30–35°. On intensification of poisoning the second, irreversible phase appears, typified by tremor of the muscles and persevering after isolation of the peripheral neuromuscular apparatus from the central nervous system and arises in poisoned axons. The autonomous tremor is intensified with a rise in temperature. The primary mechanism of intoxication — appearance of instability in the neural fibres — evidently has a positive temperature coefficient. But the processes occurring in the central nervous system alter so much with a fall in temperature that, despite the decrease in normal afferent bombardment, they evoke uncoordinated movements and disordered convulsions.

Experiments were conducted on bluebottles (*Calliphora erythrocephala*), intact and with removed thoracic ganglia. The motor activity was recorded kymographically.

The autonomous tremor of the limbs may be blocked or suppressed by insecticide carbamates, nicotine and pyrethrin.