

<https://doi.org/10.3176/biol.1980.1.06>

Лууле МЕТСПАЛУ

УДК 632.937

ВЛИЯНИЕ МИКРОСПОРИДИОЗА НА ГУСЕНИЦ КАПУСТНОЙ БЕЛЯНКИ ПОСЛЕДНЕГО ВОЗРАСТА

Преобладающее большинство простейших, принадлежащих к отряду микроспоридий (*Microsporidia*), паразитирует в насекомых. Болезни, вызванные этими простейшими, приобретают часто длительный и хронический характер, а во время эпизоотий уничтожается значительная часть вредителей. При хроническом заболевании паразиты отрицательно влияют на физиологическое состояние организма, ограничивая в итоге численность вредителей. Обоснованно утверждают, что внесение агента в популяцию хозяина и его сохранение там важнее, чем быстрая и непосредственная смертность, вызванная микроспоридиозом. В последнем случае происходит резкий спад численности насекомых-хозяев, сопровождающийся одновременным выздоровлением уцелевшей более болезнестойчивой части популяции, и таким образом появляется возможность увеличения численности этой резистентной части популяции в будущем. Использование простейших в интегрированной борьбе с вредителями требует основательного изучения взаимосвязей в комплексе хозяин—паразит—среда.

На капустной белянке (*Pieris brassicae* L.) — широко распространенном вредителе крестоцветных — паразитирует *Nosema mesnili* Paillot. Известно, что у множества насекомых при пероральном заражении наиболее восприимчивыми являются младшие личиночные возрасты. Однако большее внимание должно уделяться последнему возрасту гусениц, так как в этот период происходят самые большие изменения. Нашей целью было выяснить влияние микроспоридиоза на развитие капустной белянки при заражении на этом этапе. В природе гусеницы одной кладки до четвертого возраста находятся вместе и едят сравнительно мало. С четвертого возраста гусеницы расползаются по листьям. Если листья кормового растения загрязнены спорами простейших, которые попадают туда с экскрементами или из разлагающихся трупов, то гусеницы последнего возраста имеют большие возможности заразиться, так как основное количество пищи съедается именно в этот период.

Материал и методика

Яйцекладки капустницы были собраны в природе. Гусеницы, вылупившиеся в поле, для опытов не годятся, так как они могут быть заражены паразитическими перепончатокрылыми. Яйцекладки до вылупления гусениц хранились в лабораторных условиях в чашках Петри. Гусениц выкармливали в литровых стеклянных банках. Заражение гусениц

последнего возраста проводили однократно перорально из расчета $3 \cdot 10^5$ спор *Nosema mesnili* на каждую особь. Потребление кислорода (на 1 г живого веса в час при температуре 20 °С) определяли самопишущим электролитическим микрореспирометром (Кузник, 1977).

Результаты и их обсуждение

Большинство микроспоридий проходит весь цикл развития за 3—9 дней (Исси, 1974). Однако под влиянием некоторых факторов скорость их развития может быть иной. По данным Х. Блунка (Blunck, 1954), в зависимости от температуры развитие может завершиться за 4—14 дней. По данным И. В. Исси (1974), развитие ускоряется у насекомых, впадающих в диапаузу, а также ускоряется образование спор в конце каждого возраста. Для ускорения развития микроспоридий зараженных ими гусениц воспитывали в условиях короткого дня (для индукции диапаузы) при температуре 23°. Термический оптимум *N. mesnili* находится в пределах 23—27° (Исси, Червинская, 1969). Скорость развития микроспоридий зависит также от их количества — при больших дозах она ускоряется (Kharazi-Pakdel, 1969). Исползованная нами доза, по данным К. Р. Хийесаар (1974), летальна лишь для гусениц II—III возраста, для последнего же возраста, по нашим данным, она оказалась не летальной (погибло 8% гусениц). Снижение восприимчивости к болезни объясняется тем, что гусеницы в последнем возрасте получают сравнительно небольшое количество спор, так как объем кишечника у них увеличивается в несколько раз, а также увеличивается регенерационный коэффициент, утолщается эпителий кишечника и т. д. (Weiser, 1966).

Нами установлено влияние микроспориоза на прирост веса гусениц (рис. 1). На третий день после линьки зараженные гусеницы стали отставать в весе по сравнению с контрольными. В дальнейшем динамика привеса у них почти совпадала с таковой у контроля, хотя на более низком уровне. При этом надо отметить, что в продолжительности гусеничного возраста тоже наблюдались изменения. Вес куколок в контроле был 300 мг, а в опыте на $\frac{1}{3}$ меньше. Зная цикл развития *N. mesnili*, можно объяснить изменения в привесе гусениц. Споры простейшего после попадания в кишечник прорастают под воздействием кишечного сока. При прорастании полярная нить споры проникает сквозь стенку кишки, повреждая ее. В гемолимфе происходит шизогония первой степени. Шизонты проникают в такие ткани, химический состав которых отвечает их требованиям (Weiser, 1966). Первым местом локализации микроспоридий *N. mesnili* является эпителий средней кишки. В результате повреждений нарушается усвоение пищи. Далее происходит развитие паразита в клетках хозяина. Снова проявляется влияние болезни

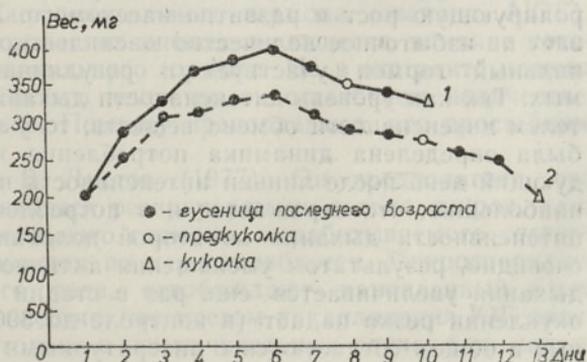


Рис. 1. Динамика прироста.
1 — контроль, 2 — опыт.

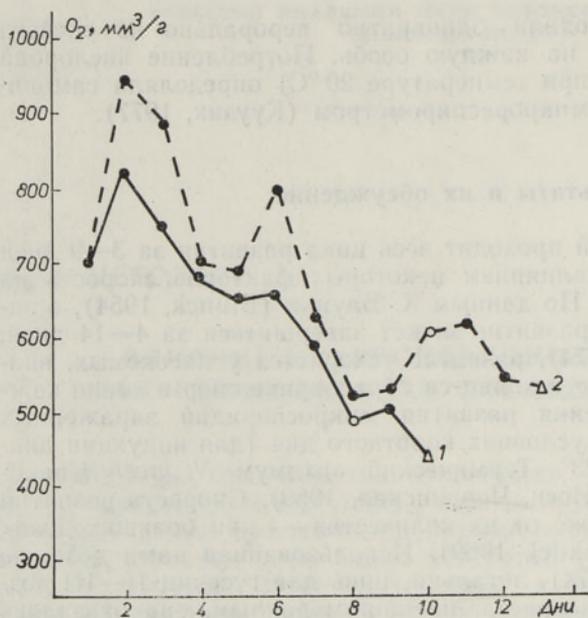


Рис. 2. Динамика потребления кислорода. 1 — контроль, 2 — опыт.

тогда, когда начинается разрушение клеточных стенок, а это происходит, по нашим данным, на шестой день после заражения. Уменьшение веса больных куколок имеет особое значение с точки зрения прогноза, так как репродуктивность бабочек находится в прямой зависимости от количества резервных веществ, накопленных во время гусеничного развития. Как уже отмечено, болезнь оказывает влияние также на длительность гусеничной стадии (рис. 1 и 2). В контроле продолжительность последнего возраста составляла 10, а в опыте 13 дней. Продление стадии развития объясняется по-разному. Х. Томсон (Thomson, 1958) причиной этого явления считает истощенность организма. Линька и окукливание насекомых могут происходить лишь тогда, когда накоплено необходимое минимальное количество резервных веществ для прохождения данного этапа развития. Для этого большим особям требуется значительно больше времени, так как интенсивность потребления и усвоения пищи у них нарушена. И. В. Исси (1968) рассматривает задержку в развитии как адаптацию паразита к неблагоприятным условиям вне организма хозяина. Чем короче промежутки между появлением гусениц двух последовательных поколений, тем короче период, во время которого паразиты находятся вне организма хозяина.

Развитие насекомых подчинено гормональному контролю. Высокая концентрация ювенильного гормона характерна для младших возрастов, но уменьшается непосредственно перед линькой гусеницы. У гусениц, болеющих нозематозом, имеет место нарушение линьки и метаморфоза (Walters, Finlayson, 1957; Исси, 1968, 1974). Эти нарушения указывают на то, что простейшие влияют на гормональную систему хозяина, контролирующую рост и развитие насекомого. Характер нарушений указывает на избыточное количество ювенильного гормона в организме. Ювенильный гормон участвует в регуляции обмена веществ насекомых. Так как уровень интенсивности дыхания является прямым показателем интенсивности обмена веществ, то у гусениц последнего возраста была определена динамика потребления кислорода (рис. 2). На следующий день после линьки интенсивность потребления пищи и прирост интенсивности дыхания во второй половине этого возраста является, очевидно, результатом уменьшения активности питания. Интенсивность дыхания увеличивается еще раз в стадии предкуколки, но затем при окукливании резко падает (в контроле до 300—400 $\text{мм}^3 O_2/\text{г}$). Эти данные в общем согласуются с литературными (Тихонравова, 1974; и др.).

Значительные расхождения обнаружены в уровне и динамике дыхания у зараженных и здоровых гусениц. На второй день после заражения потребление кислорода было выше, чем в контроле, но в дальнейшем оно понизилось и расхождения с контролем были незначительными. Резкий подъем интенсивности дыхания отмечен на шестой день, на седьмой же опять уменьшился. В то время, когда в контроле вредители достигали предкуколичной стадии, зараженные гусеницы продолжали еще питаться. Это показывает и повышение потребления кислорода на 9—10 день. Более высокий уровень потребления кислорода у больных особей сохранился и при окуклинии ($500 - 550 \text{ м}^3 \text{ O}_2/\text{г}$). Повышение дыхательного обмена в первой половине последнего возраста гусениц, очевидно, объясняется повреждением организма. Х. Шнайдерман и С. Виллиамс (Schneiderman, Williams, 1955) нашли, что небольшие повреждения являются причиной повышения интенсивности дыхания насекомых (раневой метаболизм), причем потребление кислорода повышается пропорционально объему повреждений. Исследуя нарушения метаболизма диапаузирующих цекропий, некоторые авторы (Shappirio, 1960; Shappirio, Harvey, 1965) нашли, что при повреждениях повышается интенсивность дыхания. Как известно, простейшие в начале своего развития вызывают повреждение организма хозяина. По данным А. С. Суссмана (Sussman, 1952), В. П. Приставко и Л. В. Янишевской (1971), В. А. Вейнера и соавторов (Weiner и др., 1969), уровень дыхания у зараженных грибными болезнями *Popillia japonica* Newm. значительно превышает таковой у здоровых. Эти ученые предполагают, что такое повышение уровня дыхания может быть результатом окислительных процессов самих грибов. В наших опытах дыхание нельзя было учесть, поскольку интенсивность дыхания у гусениц снижалась на 4—5 и 9—10 дни до уровня контроля. Повышение потребления кислорода на шестой день является, очевидно, причиной повреждения организма, так как споры простейших появились в гемолимфе гусеницы именно на шестой день после заражения (споры освобождаются при разрушении клеток в конце своего цикла развития). Продление гусеничной и prepupalной стадий, а также повышение потребления кислорода во второй половине гусеничной стадии, видимо, указывают на гормональные нарушения. Некоторые авторы находят, что простейшие вызывают в насекомом явления, симптомы которых подобны симптомам влияния ювенильного гормона (Walters, Finlayson, 1957; Fischer, Sanborn, 1962a, 1964). Сначала предполагали, что простейшие вызывают гипертрофию *corpora allata* и этим увеличивают количество ювенильного гормона, что препятствует метаморфозу. Но эффект ноземы проявлялся также у тех гусениц, *corpora allata* у которых была удалена. Позже Ф. М. Фишеру и Р. С. Санборну (Fischer, Sanborn, 1962b, 1964) удалось экстрагировать из паразитических простейших вещество, функционально подобное ювенильному гормону (аналог ювенильного гормона, ювеноид, АЮГ). К настоящему времени уже известно множество веществ, влияние которых аналогично влиянию ювенильного гормона. Но в экстракте ноземы до сих пор не удалось найти это вещество в достаточном количестве, чтобы объяснить его действие. Поэтому предполагают, что простейшие сами производят АЮГ.

Иной вывод сделал М. В. Листов (1977). Он предполагает, что жировое тело насекомых является резервуаром не только жиров, гликогена и белков, но и ювенильного гормона, вырабатываемого *corpora allata* и расходующего организмом по мере надобности. Микроспоридии, разрушая клетки жирового тела, освобождают накопленный в нем ЮГ в гемолимфу. Однако известно, что местом накопления ЮГ являются прилежащие тела, и только в исключительных случаях он накап-

ливаются в брюшке насекомого; например, у самки шелкопряда *Hyalophora cecropia* до 200 мг ЮГ (цекропного масла) обнаружено в тканях брюшка. Установлено, что самые разнообразные группы организмов, начиная с позвоночных и кончая одноклеточными, продуцируют ЮГ (Schneiderman, Gilbert, 1964; Schneiderman и др., 1960). Если микроорганизмы действительно выделяют аналоги ЮГ, то паразиты должны быть способны заменять хирургически удаленные прилежащие тела. Как уже отмечено, такие опыты были проделаны. Кроме того, известно, что профильтрованная субстанция ноземы, не содержащая споры, показала ЮГ-активность (Brand, 1972).

Наиболее убедительно подтверждают ЮГ-активность ноземы опыты реактивации куколочной диапаузы у капустных белянок *Pieris brassicae*. В данном случае можно предполагать, что аналог ЮГ, выделяемый ноземой, вызывает активацию проторакальных желез. Из наших опытов следует, что ювеноид, апплицированный диапаузирующим куколкам, реактивирует их вскоре (неопубликованные данные автора). Аналогичные данные для куколок некоторых шелкопрядов имеются в литературе (Gilbert, 1964; Gilbert, Schneiderman, 1959). Хотя механизм влияния АЮГ, выделяемых простейшими, пока еще не ясен, можно предполагать, что нарушения в росте и развитии насекомых, а также повышение потребления кислорода ими обязаны именно веществу, обладающему активностью ЮГ. Гусеницам последнего возраста свойственны процессы, контролируемые балансом экдизона — ювенильного гормона. Известно, что насекомые чувствительны к ЮГ на определенных этапах развития, а именно, до т. н. критического периода, совпадающего с репликацией ДНК в клеточных ядрах. Л. Варяс и соавторы (Varjas и др., 1976) изучали титр ЮГ гусениц последнего возраста капустной белянки и нашли, что он минимален 2—3 дня после последней линьки. Очевидно, этот период является критическим для детерминации метаморфоза. Ювеноид, произведенный простейшими, очевидно, оказывает ювенилизирующее действие, отсрочивая метаморфоз. Это происходит благодаря тому, что простейшие присутствуют постоянно в организме насекомого и могут влиять на него также в чувствительные к ЮГ периоды.

ЛИТЕРАТУРА

- Исси И. В. Микроспоридии, регулирующие численность вредных насекомых. — Тр. ВИЗР, 1968, 31, 300—330.
- Исси И. В. Применение микроспоридий для биологической борьбы с насекомыми, вредящими сельскому хозяйству. — В кн.: Биологические средства защиты растений. М., 1974, 360—373.
- Исси И. В., Червинская В. П. О влиянии температурных условий на развитие микроспоридий *Nosema mesnili* Paillet и *Plistophora schubergi* Zwölfer. — Зоол. журн., 1969, 48, 1140—1146.
- Куузик А. Циклы газообмена у диапаузирующих куколок *Pieris brassicae* L. и *Pieris rapae* L. (Lepidoptera, Pieridae). — Изв. АН ЭССР. Биол., 1977, 26, 96—101.
- Листов М. В. Влияние патогенных простейших на гормональный баланс малых хрущаков (Coleoptera, Tenebrionidae). — Энт. обозрение, 1977, 56, 731—735.
- Приставка В. П., Янишевская Л. В. Интенсивность потребления кислорода гусеницами яблочной плодовой гусеницы *Laspeyresia pomonella* инфицированными грибом *Beauveria bassiana*. — Зоол. журн., 1971, 50, 1255—1256.
- Тихонравова Н. М. Соотношение и смена аэробноза и анаэробноза в онтогенезе колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) и капустной белянки (*Pieris brassicae* L.). — В кн.: Вопросы экологической физиологии беспозвоночных. М., 1974, 45—81.
- Хийесаар К. Р. Влияние микроспоридиоза на биологию капустной белянки (*Pieris brassicae* L.) и ее паразита (*Apanteles glomeratus* L.) с учетом возможности использования болезни в биологической борьбе. Автореф., Тарту, 1974.

- Blunck, H. Mikrosporidien bei *Pieris brassicae* L., ihren Parasiten und Hyperparasiten. — Z. Ang. Ent., 1954, **36**, 316—333.
- Brand, Th. v. Hormone und hormonartige Substanzen in Parasiten. — Parasitenphysiologie, 1972, 201—207.
- Fischer, F. M., Sanborn, R. C. Observations on susceptibility of some insects to *Nosema*. — J. Parasitol., 1962a, **48**, 926—932.
- Fischer, F. M., Sanborn, R. C. Production of insect juvenile hormone by the microsporidian parasite *Nosema*. — Nature, 1962b, **194**, 1193.
- Fischer, F. M., Sanborn, R. C. *Nosema* as a source of juvenile hormone in parasitized insects. — Biol. Bull., 1964, **126**, 235—252.
- Gilbert, L. I. Maintenance of the prothoracic gland by the juvenile hormone in insects. — Nature, 1964, **193**, 1205—1207.
- Gilbert, L. I., Schneiderman, H. A. Prothoracic gland stimulation by juvenile hormone extracts of insects. — Nature, 1959, **184**, 171—173.
- Kharazi-Pakdel, A. Recherche sur la pathogenic de *N. melolonthae* Krieg. — Entomophaga, 1969, **13**, 289—318.
- Schneiderman, H. A., Gilbert, L. I. Control of growth and development in insects. — Science, 1964, **143**, 325—333.
- Schneiderman, H. A., Gilbert, L. I., Weinstein, M. I. Juvenile hormone activity in microorganisms and plants. — Nature, 1960, **188**, 1041—1042.
- Schneiderman, H. A., Williams, C. M. An experimental analysis of the discontinuous respiration of the cecropia silkworm. — Biol. Bull. Woods Hole, 1955, **109**, 123—143.
- Shappirio, D. G. Oxidative enzymes and the injury metabolism of diapausing cecropia silkworm. — Ann. N-Y Acad. Sci., 1960, **89**, 537—548.
- Shappirio, D. G., Harvey, W. R. The injury metabolism of the cecropia silkworms. — J. Insect Physiol., 1965, **11**, 305—327.
- Sussman, A. S. Studies of an insect mycosis. — Mycologia, 1952, **44**, 493—505.
- Thomson, H. M. The effect of microsporidian parasite on the development, reproduction and mortality of the spruce budworm *Choristoneura fumiferana*. — Canad. J. Zool., 1958, **34**, 499—511.
- Varjas, L., Paquia, P., Wilde de J. Juvenile hormone titers in penultimate and last instar larvae of *Pieris brassicae* and *Barathra brassicae* in relation to the effect of juvenoid application. — Experimentia, 1976, **32**, 249—251.
- Walters, W. A., Finlayson, L. H. Abnormal metamorphosis in saturniid moths infected by a microsporidia. — Nature, 1957, **180**, 713—714.
- Weiner, B. A., Julian, G. St., Kwolek, W. F. Rate of oxygen uptake of healthy and diseased larvae of the Japanese beetle. — J. Invert. Pathol., 1969, **13**, 250—255.
- Weiser, J. Nemoci hmyzu. — Nakl. Čs. Ak. Ved. Prague, 1966.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
26/II 1979

Luule METSPALU

MIKROSPORIDIOOSI MÕJU SUURE KAPSALIBLIKA *PIERIS BRASSICAE* L. VIIMASE KASVUJÄRGU RÕÖVIKUTELE

Artiklis analüüsitud katsetes nakatati suure kapsaliblika röövikuid pisieoselise *Nosema mesnili* Paillot spooridega (3×10^5 spoori isendi kohta). Selle tagajärjel pikenes röövikute viimane kasvujärk, samuti eelnukujärk. Nakatatud nukud kaalusid kontrollnukkudest vähem, nende hapnikutarbimus oli aga suurem, eriti 2. ja 6. päeval. Kõrgem hingamistase säilis ka eelnuku- ja nukustaadiumis.

Luule METSPALU

THE EFFECT OF MICROSPORIDIOSIS ON THE LAST INSTAR LARVAE OF *PIERIS BRASSICAE* L.

The last instar larvae of *Pieris brassicae* L. were infected with spores of the microsporidian *Nosema mesnili* Paillot. The titre of inoculum was $3 \cdot 10^5$ spores per individual.

The effects of the microsporidian *N. mesnili* were revealed in a prolongation of the feeding period of the last instar larvae, and in a delay in the larval-pupal moulting. The weight of the diseased pupae was found to be less than the weight of the healthy ones. The oxygen consumption by the diseased larvae was higher than that by the normal ones. On the 2nd and 6th day, the diseased larvae consumed considerably more oxygen than the control ones. The diseased pupae consumed more oxygen than the normal ones.