

Ааре КУУЗИК, Аво КОГЕРМАН

АНОМАЛИИ В МЕТАМОРФОЗЕ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА (*LEPTINOTARSA DESEMLINEATA* SAY), ВЫЗВАННЫЕ ОБРАБОТКОЙ ЛИЧИНОК ПОСЛЕДНЕГО ВОЗРАСТА АНАЛОГОМ ЮВЕНИЛЬНОГО ГОРМОНА

Гормональная регуляция развития насекомых с полным превращением (*Holometabola*) построена по общей схеме и существенных различий не имеет. Но все же в ответных реакциях на искусственное гормональное воздействие часто обнаруживается видовая специфика. Известно, что избирательное воздействие, или селективность, синтетических аналогов ювенильного гормона (АЮГ или ювеноидов) может определяться как химической структурой, так и временем их применения, быстротой разрушения в организме насекомого, проницаемостью покровов тела и рядом других факторов. Таким образом, селективные свойства ювеноидов во многом зависят от биологических особенностей вида, которые часто недооцениваются. Биологией вида во многом продиктован также выбор возможных путей и наиболее подходящего времени для применения АЮГ.

В физиологии колорадского жука обнаружены некоторые характерные черты, которые расширяют возможности применения АЮГ в борьбе с этим вредителем. Исходя из результатов, полученных в области физиологических исследований состояния покоя колорадского жука, высказана идея о возможности предотвращения диапаузы путем гормонального воздействия (Ушатинская, 1971, 1974) и проведены обнадеживающие опыты (Иованович, 1974). Естественно, имеются и другие пути применения ювеноидов, и одним из них является торможение развития личинок, что в принципе можно рассматривать как искусственно индуцированную личиночную диапаузу. Если обработку личинок провести в последнем возрасте, то развитие их ингибируется, а это ведет к нарушению метаморфоза на поздних его этапах. Целью настоящей работы было изучить возникновение аномалий в метаморфозе колорадского жука и их зависимость от времени применения АЮГ.

Методика

Пара-хлорфенилгераниловый эфир (в дальнейшем — АЮГ или ювеноид) синтезирован на химическом экспериментальном участке Опытнотехнической базы АН ЭССР по технологии, выработанной в Институте химии АН ЭССР (Лээтс и др., 1976). Неповрежденная поверхность кутикулы обрабатывалась 1%-ным ацетоновым раствором ювеноида в дозе 10 мкг на особь.

Опыты проводились в четырех вариантах по 15 личинок в каждом. В варианте *A* личинки обрабатывались трижды — на 1-е, 2-е и 3-и сутки после линьки, в варианте *B* дважды — на 1-е и 2-е сутки, в варианте *B* один раз — на 1-е сутки, в варианте *Г* — только на 5-е сутки после линьки.

Интенсивность дыхания при полном мышечном покое (основной дыхательный обмен) определялась с помощью регистрирующего электролитического микрореспирометра (Куузик, 1977) при температуре 20 °С. Для исследования ритмов газообмена использовался газовый хроматограф с детектором теплопроводности газов (катарометр) (Куузик, 1976).

Колорадские жуки для опытов выращивались в искусственной среде круглогодично на растущем картофеле с учетом необходимых для бездиапаузного развития условий, описанных ранее (Ушатинская, Йирковский, 1976; Wilde, 1957).

После трехкратной обработки (*A*) ювеноидом большинство (75%) личинок стали перманентными, т. е. питались 2—4 недели и погибали, оказавшись неспособными пройти куколочную линьку. Интенсивность питания таких личинок сокращалась уже через 3—4 дня. Перманентные личинки зарывались в землю, но не строили колыбельку для куколки. Остальные личинки этого варианта линяли в куколки с 5—9-дневным опозданием и погибали до появления имагинальной кутикулы.

Личинки, у которых поверхностная обработка была произведена дважды (вариант *B*), питались 7—9 дней и проделывали куколочную линьку с 5—6-дневным опозданием. Аномалии у личинок этого варианта выявлены на поздних этапах метаморфоза. Пигментация надкрыльев и их частичная склеротизация произошли до завершения аполизиса под старой кутикулой, в результате чего они не смогли расправиться. Очевидно, процесс выделения новой кутикулы значительно опередил процесс аполизиса и экдизиса, отчего нерастворенный слой старой эндокутикулы склеился с новой. Сбрасывание экзuvia протекало постепенно в течение 3—4 дней и неодновременно со всех частей тела. Сперва были освобождены голова и ноги. При этом следует обратить внимание на различную степень уродливости надкрыльев — от зачатков крыльев до нормальных размеров. Следовательно, степень нарушения метаморфоза различна. У некоторых особей крылья после полного экдизиса оказались мешковидными из-за наполненности их гемолимфой (рис. 1). У многих колорадских жуков после окончательного сбрасывания старой кутикулы не оставалось куколочных признаков, и их вряд ли можно называть адультидами. В некоторых аналогичных опытах с этим же видом отмечено появление адультидов — имаго с некоторыми признаками куколки (Meltzer, Heijnsbergen, 1966). Кроме того, гибель жуков в наших опытах наступала не во время имагинальной линьки, как это часто отмечалось в других работах (Sláma и др., 1974; Sehnal, Skuhravy, 1976), а во время затянувшейся линьки. Жуки с уродливыми крыльями жили 5—8 дней и погибали от голода. Из-за деформации покровов тела они могли лишь с трудом передвигаться.

В варианте *Г*, где личинки были обработаны ювеноидом после окончания питания, но до их зарывания в почву, у 40—50% особей последствия оказались почти такими же, как и в предыдущем варианте: метаморфоз был нарушен, и появились нежизнеспособные уродливые жуки. Остальные личинки этого варианта превращались в метательные формы. У таких промежуточных форм сохранялась личиночная кутикула на брюшке, а грудь и ноги обладали куколочными признаками (рис. 2).

У всех обработанных ювеноидом личинок максимальный вес был таким же, как и у контрольных — в среднем 180—210 мг у самцов и

250—280 мг у 15—20% самок. К стадии предкуколки вес нормально снижается на 25—30%. Если учесть, что рост личинок возможен лишь во время линек, а у напитавшихся личинок вес всегда достигает своего возможного предела (который предопределяется величиной кутикулярных покровов тела), то нелегко было бы ожидать увеличения веса их после гормональной обработки. Вес куколок опытных вариантов сразу после линьки также достоверно не отличался от веса куколок контрольной серии.

Однако у некоторых видов насекомых, особенно у чешуекрылых, после применения АЮГ отмечается в последнем возрасте увеличение веса на 20—40% (Srihari, Gahukar, 1975).

Интенсивность потребления кислорода изучалась у личинок варианта Б, но достоверных изменений по сравнению с личинками контроля обнаружено не было. Если на пятый день после линьки уровень дыхания у них значительно превышал уровень дыхания у контрольных личинок, то это явно было результатом более длительного периода питания и последующего понижения дыхательного обмена с наступлением предкулолочного развития (рис. 3).

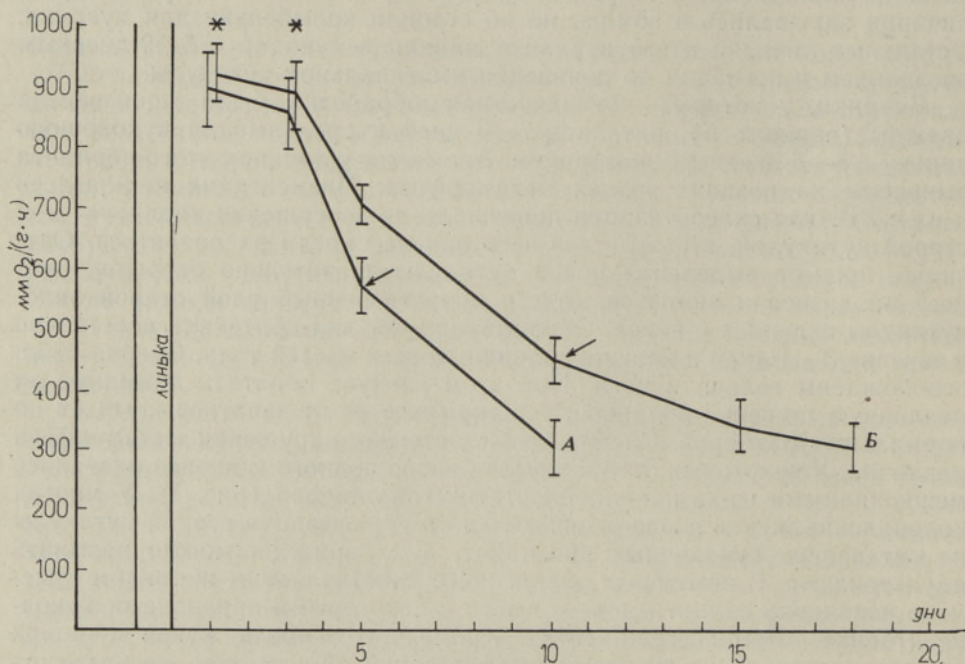


Рис. 3. Динамика интенсивности дыхания у нормальных личинок последнего возраста (А) и у особей, обработанных дважды ювеноидом (Б). Крестом отмечено время нанесения АЮГ, стрелкой — время превращения в предкуколку. Указаны границы доверительных интервалов при $P=0,95$ ($N=5$).

Высказано мнение, что ювенильный гормон (ЮГ) и его аналоги могут активировать дыхательный обмен у личинок косвенно по мере вызванных ими морфогенетических изменений (Sláma и др., 1974). Отсюда вытекает, что АЮГ, будучи апплицирован на взрослую личинку, не обязательно вызывает подъем в дыхательном метаболизме.

В исключительных случаях, например у *Dermestes vulpinus*, уровень дыхания взрослых личинок после обработки их ювеноидом повышался почти в 10 раз (Sláma, Hodkova, 1975).

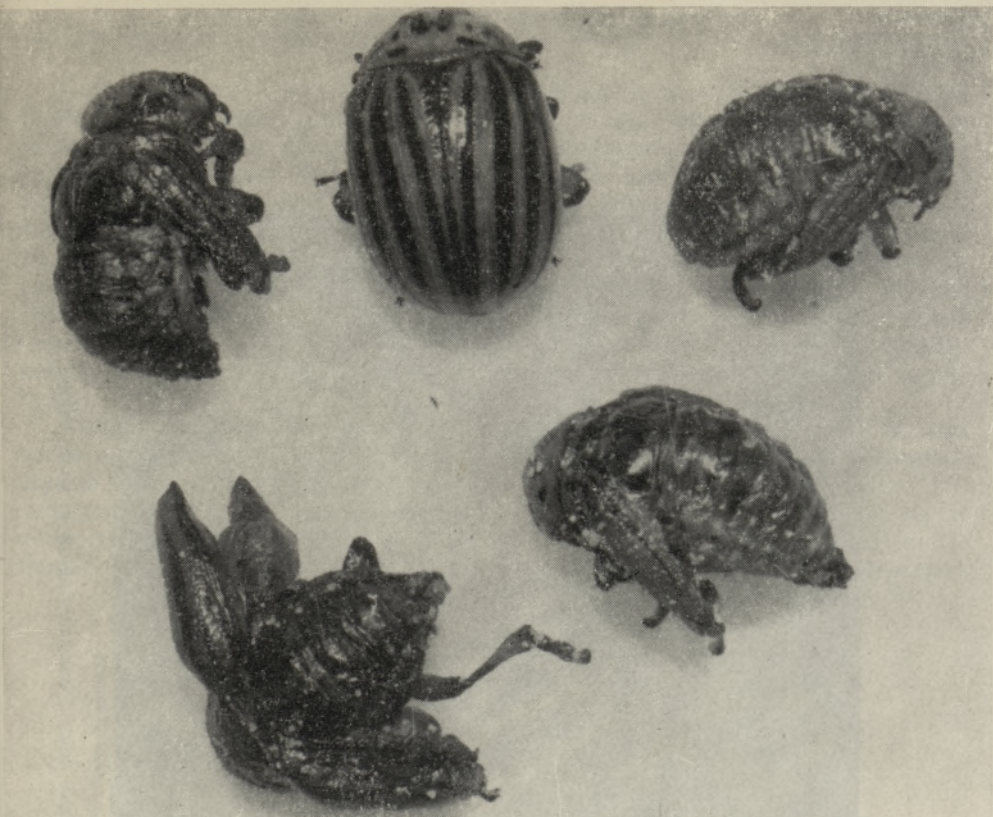


Рис. 1. Нежизнеспособные жуки с уродливыми крыльями (в середине верхнего ряда нормальная особь).



Рис. 2. Промежуточная форма: куколка, сохранившая личиночные покровы на брюшке и на голове.



Рис. 5. Дефекты надкрыльев, вызванные отсутствием куколочной колыбельки.

Как известно, во время метаморфоза для куколок характерна U-образная кривая уровня газообмена. Нами исследовались ритмы выделения CO_2 во время наибольшего подавления аэробного обмена, когда потребление O_2 достигало $180\text{--}200 \text{ мм}^3 \text{ O}_2/(\text{г}\cdot\text{ч})$ (4—5-й дни кукольного развития). В это время CO_2 нормально выделяется резкими выбросами через 2—4-часовые интервалы. У обработанной дважды ювеноидом серии куколок (B) длительность упомянутых интервалов (циклов газообмена) на 4-й день развития была максимально 50 мин (рис. 4). Возможно, что причиной таких относительно коротких циклов газообмена послужило укорочение последнего межлиночного периода (от кукольной линьки до преждевременного образования новой кутикулы).

Ритмы газообмена исследовались также у жуков варианта B, где после метаморфоза было получено 70—80% внешне почти нормальных жуков лишь с незначительными дефектами надкрыльев (рис. 5). Эти дефекты возникали не в результате нарушения метаморфоза, а из-за неспособности зарывшихся в почву личинок строить кукольную колыбельку. Имаго, будучи вплотную окружено почвой, не может нормально

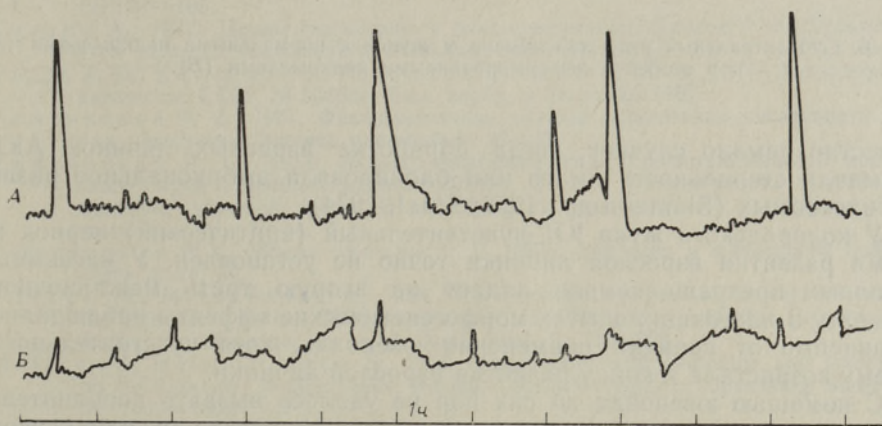


Рис. 4. Ритмы выделения CO_2 на 4-й день развития куколки у нормальных особей (A) и у особей, сформировавшихся из обработанных дважды ювеноидом личинок (B).

расправить надкрылья, что вызывает их деформацию. Однако даже малейшие деформации надкрыльев нарушают герметичность субэлитральной полости, что в свою очередь приводит к изменению ритма газообмена. Субэлитральная полость у неподвижных жуков открывается ритмично, сопровождаясь резким поглощением O_2 и последующим выделением CO_2 , причем при температуре 20° циклы газообмена продолжаются обычно 8—15 мин. Малейшие дефекты надкрыльев ведут к нарушению такого ритма газообмена и замене его более частыми циклами, регулируемой работой дыхалец (рис. 6). Субэлитральные циклы газообмена можно рассматривать как адаптацию для уменьшения респираторных потерь воды, а утрата этой функции уменьшает выживаемость жуков во время засушливых периодов и голодания.

Жуки варианта B давали очень малочисленное потомство, а именно 15—25 личинок (т. е. в 4—6 раз меньше, чем в контрольной серии), что, вероятно, является результатом внутренних аномалий метаморфоза. Однако в настоящей работе овидность АЮГ подробно не изучалась.

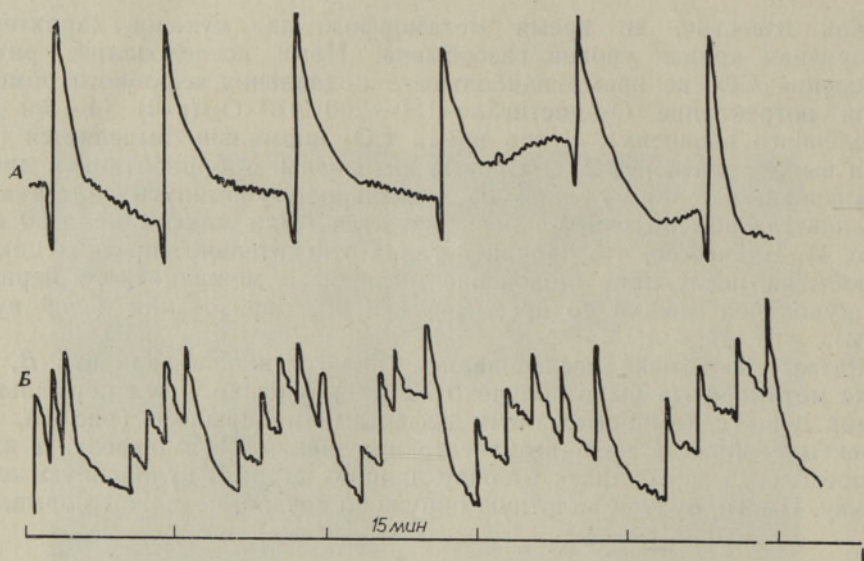


Рис. 6. Субэлитральный ритм газообмена у жуков с нормальными надкрыльями (А) и у особей с деформированными надкрыльями (Б).

Известно немало случаев, когда обработка взрослых личинок АЮГ вызывала стерильность имаго или блокировала эмбриональное развитие насекомых (Sláma и др., 1974; Staal, 1974).

У колорадского жука ЮГ-чувствительный (критический) период во время развития взрослой личинки точно не установлен. У насекомых с полным превращением он падает на вторую треть межличиночного периода. В настоящих опытах морфогенетические эффекты наблюдались независимо от времени применения ювеноида, хотя чувствительность к нему возрастала к концу развития взрослой личинки.

С помощью ювеноида до сих пор не удалось вызвать дополнительных линек и лишних личиночных возрастов не только у колорадского жука, но и у других видов жуков, а причиной этого считается антиювильный механизм насекомого (Sláma и др., 1974). У взрослых личинок капустной белянки (*Pieris brassicae*) после критического периода обнаружено повышение титра ЮГ, что, как считают, предотвращает преждевременный рост и дифференциацию имагинальных дисков (Vargas и др., 1976). Продление развития взрослой личинки компенсируется укорочением последнего межличиночного периода, что вызывает дискоординацию функций отдельных компонентов нейро-эндокринной системы и аномалии в метаморфозе.

В результате антагонистического взаимодействия ювильного гормона и экдизона продленный срок окукливания личинок после обработки ювеноидом сходен с личиночной диапаузой (Staal, 1974). У некоторых видов насекомых во время личиночной диапаузы обнаружены относительно высокие титры ЮГ (Fakaya, Mitsuhashi, 1958). Признаками искусственной личиночной диапаузы у колорадского жука являются торможение развития, т. е. удлинение периода развития, а также постоянное понижение дыхательного обмена и уменьшение активности питания. Период интенсивного питания у личинок опытных вариантов составлял не более 25—30% общей длительности питания взрослой личинки.

Изложенные в настоящей работе результаты показывают, что испы-

танный АЮГ, будучи применен в незначительных дозах в последнюю стадию развития личинки, способен вызвать летальные нарушения метаморфоза у колорадского жука. При этом не обнаружен критический период, который затруднял бы практическое применение ювеноида. Другими словами, продолжительные морфогенетические эффекты получены при использовании ювеноида как до критического периода, так и после него. Известны также случаи, когда обработка колорадского жука определенными АЮГ не давала положительных результатов (Sehnal, Skuhravy, 1976), что, очевидно, объясняется прежде всего малой активностью их.

ЛИТЕРАТУРА

- Иванович Т. А., 1974. Влияние некоторых физиологически-активных веществ гормональной природы на диапаузу колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say). В сб.: Вопросы экологической физиологии беспозвоночных. М.: 176—187.
- Куузык А., 1976. Изучение цикличности газообмена у жуков (*Coleoptera*) при помощи постоянной записи газового хроматографа. Изв. АН ЭССР. Биол. 25 (2): 97—105.
- Куузык А., 1977. Циклы газообмена у диапаузирующих куколок *Pieris brassicae* L. и *P. rapae* L. (*Lepidoptera*, *Pieridae*). Изв. АН ЭССР. Биол. 26 (2): 96—101.
- Лээтс К. В., Когерман А. П., Аммон К. В., Ранг Х. А., 1976. Авторское свидетельство СССР № 533585. Бюл. изобр. и открытий (40).
- Ушатинская Р. С., 1971. Физиологические методы ограничения численности вредных насекомых. Защита растений 6: 22—23.
- Ушатинская Р. С., 1974. Эколого-физиологическая приспособленность колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) к периодичности абиотических факторов внешней среды. В сб.: Вопросы экологической физиологии беспозвоночных. М.: 5—44.
- Ушатинская Р. С., Пирковский Г. Г., 1976. Экология и физиология колорадского жука. М.
- Fukaya, M., Mitsuhashi, J., 1958. The hormonal control of larval diapause in the rice stem borer, *Chilo suppressalis*. II. The activity of the corpora allata during the diapause. Japan. J. Appl. Zool. 2: 223—226.
- Meltzer, J., Heijnsbergen, S., 1966. Experiments with neotenine and isoprenoids on the Colorado potato beetle. Meded. Landbouwhogeschool. Opzoeking Staat Gent 30: 1599—1608.
- Sehnal, F., Skuhravy, V., 1976. Effects of juvenoids on *Leptinotarsa decemlineata* (Col., *Chrysomelidae*) and considerations on their practical significance. Z. angew. Entomol. 81 (4): 401—412.
- Sláma, K., Romaňuk, M., Sorm, F., 1974. Insect hormones and bioanalogs. Wien—New York.
- Sláma, K., Hodkova, M., 1975. Insect hormones and bioanalogs: their effect on respiratory metabolism in *Dermestes vulpinus* L. (*Coleoptera*). Biol. Bull. 148: 320—332.
- Staal, G., 1974. Biological activity and bio assay of juvenile hormone analogs. In: Insect Juvenile Hormones, Chemistry and Action. New York—London.
- Srihari, T., Gahukar, R. T., 1975. The influence of juvenile hormone on food consumption and growth in the last instar larvae of *Pieris brassicae* L. (*Lepidoptera*: *Pieridae*). Bull. Soc. zool. France 100 (3): 327—333.
- Varjas, L., Paguia, P., Wilde, J. de, 1976. Juvenile hormone titers in penultimate and last instar larvae of *Pieris brassicae* and *Barathra brassicae*, in relation to the effect of juvenoid application. Experimentia 32 (2): 249—251.
- Wilde, J. de, 1957. Breeding the Colorado beetle under controlled conditions. Z. Pflanzenkrankh. 64 (7): 589—593.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Институт химии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
23/V 1977

Aare KUUSIK, Avo KOGERMAN

JUVENIILHORMOONI ANALOOGI PÕHJUSTATUD MOONDEHÄIRED
KARTULIMARDIKAL (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY)

Resüme

Kartulimardika viimase kasvujärgu vastseid töödeldi erinevatel aegadel pindmiselt atsetoonis lahustatud juveniilhormooni analoogi (JHA) parakloorfenüülgeranüületriiga (doos 10 µg). 1., 3. ja 5. arengupäeval JHA-ga mõjustatud vastsete areng peatus, nad ei läbinud ka eelnukustadiumi. Kahekordne töötlus (1. ja 2. päeval) aeglustas vastsete arengut ja põhjustas letaalse moondehäire: valmikukutiikula enneaegse ladestumise ja osalise sklerotiseerumise vana kesta all. Tagajärjeks olid ebardliku välimusega eluvõimetud mardikad (joon. 1). JHA ühekordne aplitseerimine esimesel päeval pärast viimasesse kasvujärku kestumist pidurdas vastsete arengut mõne päeva võrra. Sellised vastsed ei suutnud ehitada nukuhälli mulla all ning neist kujunesid moonutatud kattetiibadega ja vähese viljakusega mardikad (joon. 5). JHA manustamine toitumise lõpetanud vastseile põhjustas metateelseid vaheforme: nende rindmik sarnanes nuku omaga, kuid tagakeha säilitas vastse tunnused (joon. 2).

Isekirjutava elektrolüütilise respiromeetri ja gaasikromatograafi abil võrreldi aeroobse ainevahetuse taset ja gaasivahetusrütme JHA-ga mõjustatud vastseist kujunenud nukkudel ja valmikuil ning normaalseil isendeil. Gaasivahetusrütmides ilmnesis suuremad erinevused kui hingamisintensiivsuses.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Zooloogia ja Botaanika Instituut

Toimetuse saabunud
23. V 1977

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Keemia Instituut

Aare KUUSIK, Avo KOGERMAN

DISTURBANCES IN THE METAMORPHOSIS CAUSED BY THE TREATMENT
OF THE LAST INSTAR LARVAE OF *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY
WITH A JUVENILE HORMONE ANALOGUE

Summary

The last instar larvae were treated topically and individually with 10 µg of acetonic solution of a juvenile hormone analogue (JHA) — para chloro phenyl geranyl ether. Oxygen consumption and the microrhythms of gas exchange were automatically recorded with an electrolytical respirometer. The cyclic gas exchange was continuously registered by means of a gas chromatograph.

The JHA was sufficiently active in topical applications and appeared to be relatively stable in the body. The JHA applied on freshly ecdysed last instar larvae did not affect their growth, and the pupae were not heavier than the normal ones. The development, however, was inhibited by the JHA in the last instar larvae. A single treatment of freshly ecdysed larvae caused deformed adults. Most of the affected larvae were not able to construct a normal pupal «cradle» in the soil. From those larvae there developed adults with deformed elytra (Fig. 5). Even when these deformations were scarcely visible, a disturbance of the subelytral rhythm was observed in the gas exchange (Fig. 6).

The effects of the JHA action were revealed in a prolongation of the feeding period of the last instar larvae and in a considerable delay in the larval-pupal moult, depending on the time of treatment. The delay of pupation was proportional to the number of applications. The rate of food consumption was slower in the larvae whose duration was prolonged. The delay in the time of pupation was counterbalanced by the shortening of the pupal-adult intermoult period.

The nonfeeding period of the affected larvae was relatively more prolonged than the feeding period. This is reflected in the shape of the O₂ consumption curve (Fig. 3).

Treatment of the early last instar larvae with JHA did not cause considerable increase in the respiratory metabolism. The treatment with any amounts of JHA at any time was never followed by a supernumerary larval moult. The maximum morphogenetic response of the larvae treated twice was the production of larval-pupal intermediates with more larval or more pupal characteristics (Fig. 2). Dauerlarvae were produced by the treatment with JHA three times.

The reproductive system was also affected by a single treatment with JHA in the one-day-old last instar larvae, resulting in fewer eggs from which the embryos were not able to hatch, or in immature eggs.

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Zoology and Botany*

Received
May 23, 1977

*Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Chemistry*