

Ааре КУУЗИК, Койт ЛЭЭТС, Лууле МЕТСПАЛУ,
Кюлли ХИЙЕСААР, Тийт КААЛ, Тауно РЕЙМА,
Ыйе ХАЛДРЕ, Аво КОГЕРМАН, Сирье ТЕЭС,
Энок СЕИН

СТИМУЛЯЦИЯ ДЫХАТЕЛЬНОГО ОБМЕНА НАСЕКОМЫХ АНАЛОГАМИ ЮВЕНИЛЬНОГО ГОРМОНА И ПРИМЕНЕНИЕ РЕСПИРОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ИХ ПЕРВИЧНОГО ИСПЫТАНИЯ

К настоящему времени довольно подробно изучено морфогенетическое действие ювенильного гормона (ЮГ) и его синтетических аналогов (АЮГ), или ювеноидов. В значительно меньшей мере освещены физиологические и биохимические процессы действия АЮГ, непосредственно не связанные с изменениями морфогенеза. Почти не изучено влияние различных АЮГ на дыхательный обмен насекомых.

Известно, что имплантация активных прилежащих тел (*corpora allata*) несколько (обычно на 10—15%) увеличивает, а их удаление, или т. н. аллатектомия, уменьшает дыхание интактного насекомого. Однако ЮГ не функционирует как гормон метаболизма, он лишь регулирует многочисленные физиологические и биохимические процессы, связанные с биосинтезом, и в зависимости от характера этих процессов либо ингибирует, либо стимулирует газообмен насекомого (Steele, 1976). Ускорение дыхательного обмена в результате имплантации *corpora allata* или обработки АЮГ установлено в стадии имаго прежде всего у самок, так как в этой стадии развития ЮГ приобретает гонадотропную функцию, стимулируя созревание оварии, что сопровождается увеличенным дыхательным обменом (Steele, 1976). У самок тропических тараканов (*Supella* sp. и др.) интенсификация дыхания отмечена после их обработки ювеноидами, причем повышение потребления кислорода взято одним из показателей ювенильно-гормональной (ЮГ-) активности исследуемых препаратов (Thatte, Tonari, 1978).

Как показало изучение вредной черепашки (*Eurygaster integriceps*), АЮГ может оказывать гонадотропное действие в любой период имагинальной жизни насекомого (Буров и др., 1979). Утверждается, что у насекомых в стадии куколки ни ЮГ, ни АЮГ не могут вызвать заметного повышения уровня дыхательного обмена, а даже наоборот, — вследствие имплантации *corpora allata* у пчелиной огневки (*Galleria mellonella*) в стадии куколки уровень дыхания понизился в связи с прекращением метаморфоза (Sehnal, 1966). Аналогичные данные получены в результате инъекции цекропного масла (ЮГ) куколкам шелкопряда *Hyalophora cecropia* (Steen, 1961; Gilbert, Schneiderman, 1961) и обработки куколок мучного хрущака (*Tenebrio molitor*) дериватами фарнезола (Schmialek, Drews, 1965). Эти и подобные им результаты позволяют заключить, что АЮГ действуют на дыхательный обмен таким же образом, как и эндогенный ЮГ, т. е. косвенно, через морфологические изменения, вызванные в реактивированных ими тканях (Slama и др., 1974). Однако ювеноид нельзя отождествлять с эндогенным ЮГ,

поскольку по своей химической структуре он является для организма инородным веществом или т. н. ксенобиотиком и кроме гормонального действия может иметь еще ксенобиотическое действие.

Мало сведений имеется о том, как процессы нейтрализации или детоксикации АЮГ отражаются на газообмене насекомого. Описан лишь редкий случай гиперметаболизма, когда АЮГ вызвал исключительное, почти 10-кратное увеличение дыхания у питающихся личинок кожееда *Dermestes maculatus* (Coleoptera), что было обусловлено полным окислением жирных кислот (Slama, Hodkova, 1975; Slama, Kryspin-Sørensen, 1979).

У диапаузирующих куколок капустной белянки (*Pieris brassicae*) пик дыхания обнаружен вскоре после их обработки ювеноидом, а через 7—30 дней (в зависимости от биоактивности применяемых АЮГ) было отмечено постепенное повышение уровня их газообмена, обусловленное возобновлением морфогенеза (Метспалу, 1980; Куузик и др., 1980).

Целью настоящей работы было изучить стимулирующее действие разных доз ювеноидов на дыхательный обмен куколок *Tenebrio molitor* и *Galleria mellonella*. Чтобы максимально исключить двигательную активность насекомого, приводящую к методическим ошибкам при определении потребления кислорода, и чтобы сравнить уровень основного дыхательного обмена, опыты были проведены главным образом в стадии куколки. Обсуждаются также механизмы действия АЮГ на дыхание насекомых и возможности применения респирометрического биотеста для предварительной оценки ЮГ-активности препаратов.

Методика

Исследовали препараты, синтезированные в Институте химии АН ЭССР, в том числе и альтозар (этил-3,7,11-триметил-2,4-додекадиеноат). Растворителем ювеноидов в настоящих опытах служил этанол. От ацетона пришлось отказаться, так как он вызывал у насекомого общее раздражение и тем самым интенсифицировал общий обмен веществ. Органические и минеральные масла, даже если их применять в минимальном количестве, покрывают насекомое тонким слоем, влияя тем самым на его физиологию.

Для определения потребления кислорода были применены электролитические регистрирующие респирометры с компенсирующей камерой (Куузик, 1977), позволяющие следить как за уровнем дыхания насекомого, так и за ритмами дыхания. Для серийного определения, кроме того, были использованы электролитические респирометры исключительно

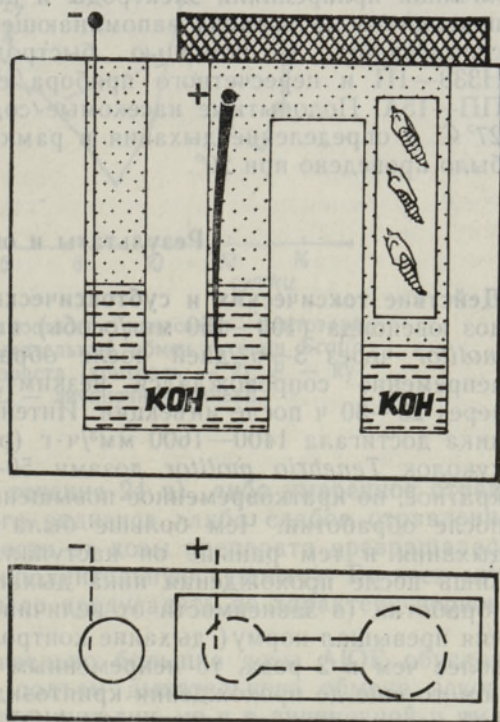


Рис. 1. Принципиальная схема электролитического респирометра.

простой и надежной конструкции без усилителя тока и без симметричной компенсирующей камеры. Такие респирометры были изготовлены из оргстекла. В кусок толщиной 20 мм были просверлены три вертикальных канала, которые образовали S-образную камеру (рис. 1). На дне правого канала находился адсорбент для поглощения CO_2 , а над ним контейнер из металлической сетки для объекта. В средний канал вставлен стеклянный капилляр с внутренним диаметром 2 мм, куда был опущен платиновый плюсовый электрод, прижатый к стенке капилляра. В левый открытый канал был помещен минусовый электрод. Электролитом для генерирования кислорода служил 30%-ный раствор КОН. Средний и правый каналы закрывали герметично в единую полость куском стекла при помощи вазелина. Чем интенсивнее объект дышал, тем выше поднимался мениск КОН в капилляре и тем большая часть электрода соприкасалась с электролитом, что соответственно повышало силу электролизного тока. Тем самым была достигнута отрицательная обратная связь между силой электролизного тока и интенсивностью потребления кислорода насекомым. Через некоторое время количество генерируемого кислорода уравнивалось с количеством потребляемого кислорода. Миллиамперметром для точного измерения электролизного тока служил универсальный цифровой вольтметр В7—21, а в качестве регистрирующего прибора — потенциометр КСП—4. Источником тока использовали стабилизированный источник питания БП 1,5—12 В. По электролизному эквиваленту кислорода следует, что 1 мА тока генерирует за час 208,6 мм³ кислорода. Термостатом для респирометра служил полупроводниковый микрохолодильник ТП—2М, регулируемый на заданную температуру электронным терморегулятором Ш 4526, гр. 21, датчиком которого было термосопротивление.

Для регистрации ритмов сердца личинку *Tenebrio molitor* клали в полиэтиленовую трубку так, что были исключены даже незначительные ее движения, а через отверстия, сделанные в трубке, к спинке личинки прикрепляли электроды и наносили препарат. Ритмы сердца появлялись на экранах запоминающего осциллографа С8—9А и регистрировались с помощью быстродействующего миллиамперметра Н338—1П и пересчетного прибора с цифроречатающим устройством ПП—15А. Подопытные насекомые содержались при температуре 25—27° С, а определение дыхания в рамках респирометрического биотеста было проведено при 20°.

Результаты и обсуждение

Действие токсических и субтоксических доз АЮГ. Инъекция больших доз ювеноида (100—150 мкг/особь) вызывала гибель куколки *Tenebrio molitor* через 3—6 дней после обработки, причем острый токсикоз непременно сопровождался резким пиком дыхания, наблюдаемым через 20—30 ч после инъекции. Интенсивность дыхания во время этого пика достигала 1400—1600 мм³/ч·г (рис. 2). Поверхностная обработка куколок *Tenebrio molitor* дозами 50—100 мкг/особь вызывала 2—3-кратное, но кратковременное повышение уровня дыхания через 20—30 ч после обработки. Чем больше была доза АЮГ, тем выше был пик дыхания и тем раньше он наступал. Гибель насекомого отмечалась лишь после прохождения пика дыхания, т. е. через 3—6 дней после обработки (в зависимости от величины дозы). Если резкий пик дыхания превышал норму (дыхание контрольных куколок того же возраста) более чем в 2 раза, то неизменным последствием была гибель насекомого еще до прохождения криптоэкдизиса, т. е. до внешних проявлений метаморфозных нарушений. АЮГ могли, таким образом, вызывать

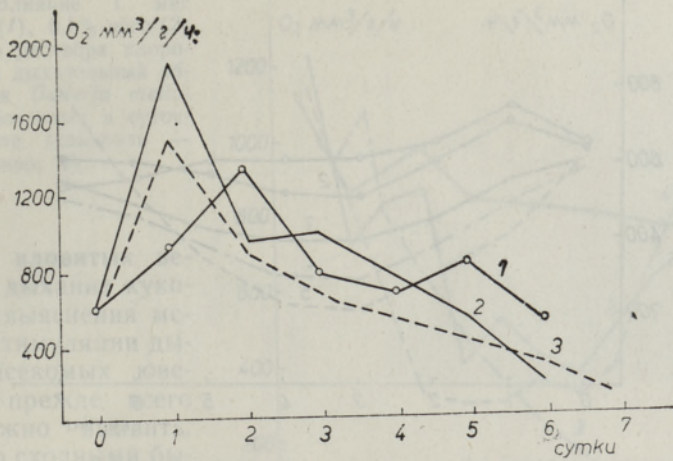


Рис. 2. Действие токсических доз (125 мкг/особь) ювеноида АЮГ—80А (1), хлорофоса (2) и пиретроида неопината (3) на дыхание куколок *Tenebrio molitor* 3-часового возраста.

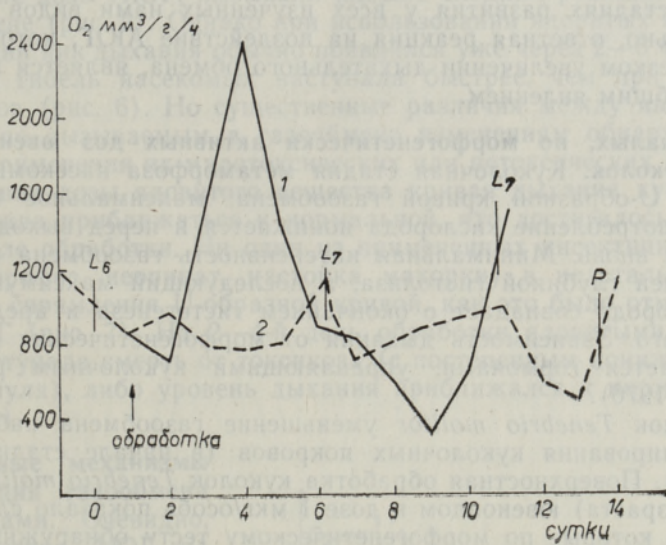


Рис. 3. Влияние поверхностного нанесения альдрина (100 мкг/особь) (1) на дыхательный обмен гусениц *Scotia segetum* предпоследнего возраста (контроль — 2). P — куколочная линька, L — личиночные линьки.

либо острый токсикоз (гибель в течение 24 ч), либо умеренное отравление и смерть до дефективного экдизиса, либо слабое отравление (куколка выживала и в зависимости от дозы препарата превращалась в адультид или перелиняла в дополнительную куколку). Во всех случаях степень токсикоза можно было предугадать по характеру первого пика уровня дыхания.

Следует отметить, что относительно большие дозы АЮГ обуславливают довольно существенный подъем дыхательного обмена вскоре после обработки не только в стадии куколки, но и в личиночной и има-

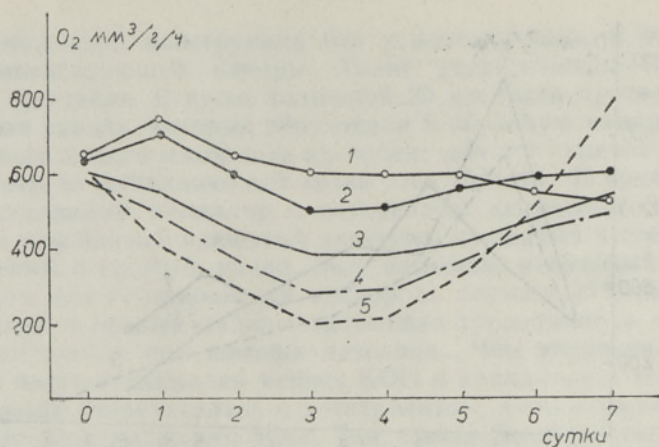


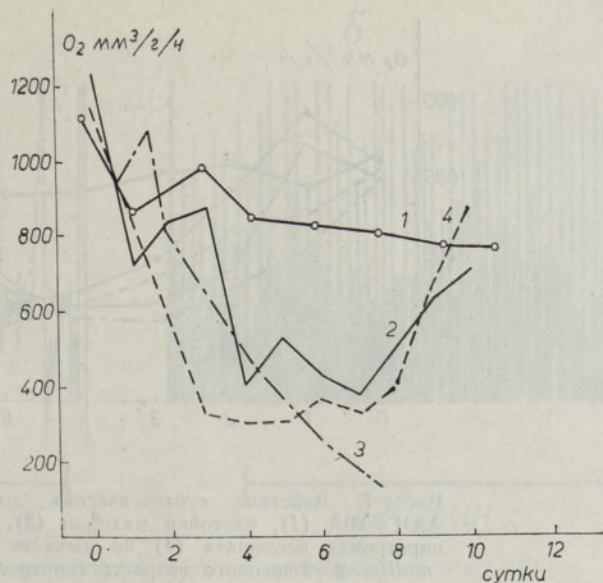
Рис. 4. Действие малых доз (1 мкг/особь) альтозара (1), АЮГ—80А (2), АЮГ—81А (3), параклорфенил-6,7-эпоксигеранилового эфира (4) и этанола (контроль) (5) на дыхательный обмен куколок *Tenebrio molitor* 2—3-часового возраста.

гинальной стадиях развития у всех изученных нами видов (рис. 3). Следовательно, ответная реакция на воздействие АЮГ, которая отражается в резком увеличении дыхательного обмена, является не исключением, а общим явлением.

Действие малых, но морфогенетически активных доз ювеноидов на дыхание куколок. Куколичная стадия метаморфоза насекомых характеризуется U-образной кривой газообмена: максимальное в момент окукливания потребление кислорода понижается и перед выходом имаго повышается вновь. Минимальная интенсивность газообмена совпадает с наибольшей глубиной гистолиза, а последующий максимум потребления кислорода совпадает с окончанием гистогенеза и предшествует выходу имаго. Зависимость дыхания от морфогенетических процессов обуславливается гормонами, управляющими куколичным развитием (Тыщенко, 1976).

У куколок *Tenebrio molitor* уменьшение газообмена наблюдается после формирования куколичных покровов (в начале стадии фартаного имаго). Поверхностная обработка куколок *Tenebrio molitor* (2—3-часового возраста) ювеноидом в дозе 1 мкг/особь показало следующее. Препараты, которые по морфогенетическому тесту обнаруживали слабую активность ($ID_{50} \geq 10$ мкг/особь), достоверно не изменяли U-образную кривую дыхания куколок. Ювеноиды же с умеренной ЮГ-активностью (ID_{50} от 10 до 0,2 мкг/особь) вызывали явное, но не существенное спрямление названной кривой. Морфогенетически высокоактивные АЮГ ($ID_{50} \leq 0,1$ мкг/особь) обуславливали почти полное спрямление кривой куколичного дыхания, и типичного уменьшения дыхания вообще не отмечалось или же минимальное плато оказывалось явно выше плато контроля (рис. 4). Таким образом, наибольшая разница в интенсивности дыхания между обработанными АЮГ и контрольными особями обнаруживалась в уровне минимального плато нормальной дыхательной кривой, т. е. через 3—4 сут после обработки. Как видно по рис. 4 и 5, высокоактивные АЮГ способны стимулировать дыхательный обмен на протяжении всего куколичного развития; во время минимального плато контроля уровень газообмена у обработанных особей был почти двукратным.

Рис. 5. Влияние 1 мкг АЮГ—80А (1), 0,1%-ного (2) и 1,0%-ного раствора хлорофоса (3) на дыхательный обмен куколок *Galleria mellonella*, обработанных в суточном возрасте (контроль — этанол; 4).

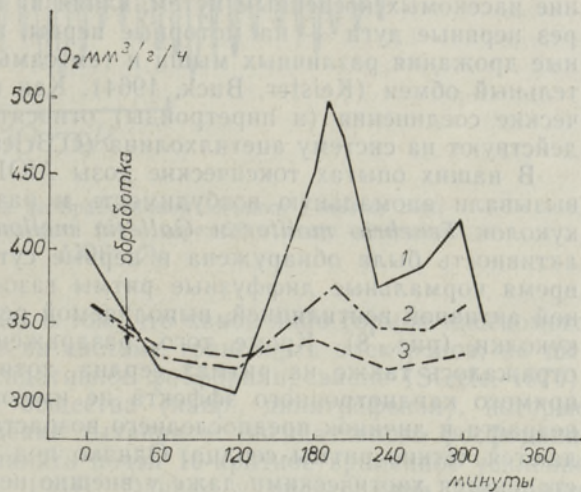


Действие ядовитых веществ на дыхание куколок.

Для выяснения механизма стимуляции дыхания насекомых ювеноидами прежде всего было важно выявить, насколько сходными были или в чем различались ответные реакции в дыхательном обмене насекомых на воздействие АЮГ и ядовитыми инсектицидами. Токсические и субтоксические дозы инсектицидов, как и большие дозы АЮГ, вызывали внешне сходные реакции в дыхательном обмене (рис. 2). Однако при использовании ядовитых веществ первый резкий пик дыхания обычно появлялся уже через 2—6 ч после обработки, и гибель насекомых наступала быстрее, чем при применении ювеноидов (рис. 6). Но существенные различия между инсектицидами и АЮГ по вызываемым в газообмене изменениям обнаруживались в случае применения их малотоксических или нетоксических доз. По мере уменьшения дозы ядовитого вещества кривая дыхания куколки постепенно стала приближаться к нормальной, что достигалось уже на 3-й день после обработки. Ни один из примененных инсектицидов (фосфолан, хлорофос, неопинат, настойка махорки) в нелетальной зоне не вызывал спрямления U-образной кривой, как это было отмечено в случае АЮГ (рис. 7). На 2—4-й день обработки ядовитыми веществами либо наступала смерть от токсикоза (с постепенным понижением дыхания до нуля), либо уровень дыхания приближался к норме (нелетальная доза).

Возможные механизмы стимуляции газообмена ювеноидами. Очевидно, что действие АЮГ на газообмен насекомых складывается из разных физиологических и биохимических механизмов. Поскольку первый, временный, подъем уровня

Рис. 6. Действие токсической (30 мкг/особь) (1) и субтоксической (3 мкг/особь) доз (2) фосфолана на дыхание куколок *Tenebrio molitor* 20—22-часового возраста (контроль — этанол; 3).



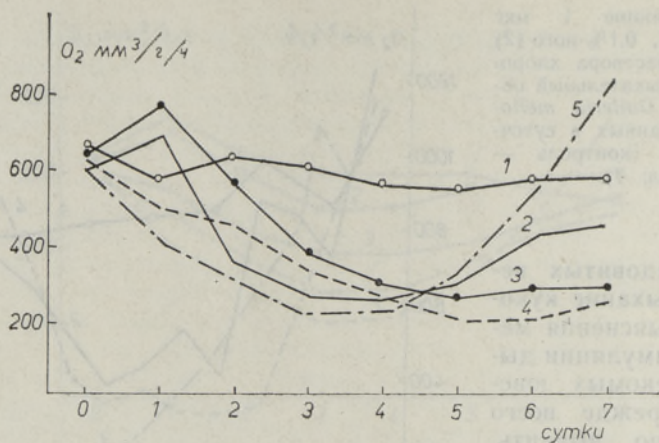


Рис. 7. Действие субтоксических доз (1 мкг/особь) АЮГ—80А (1), настойки маохорки (2), фосфолана (3) и пиретроида неопината (4) на дыхание куколок *Tenebrio molitor* 2—3-часового возраста (контроль — этанол; 5).

дыхания оказался характерным для всех насекомых, исследованных в настоящих опытах, и для всех постэмбриональных стадий развития, то он, очевидно, связан с непосредственным токсикозом и с нейтрализацией вредных веществ. В то же время он может быть результатом повышенного возбуждения нервной системы, вызывающего спонтанную мышечную активность. Оба названных явления могут одновременно воздействовать на дыхательный обмен.

Имеется немало данных о том, что многие токсические вещества способны временно стимулировать дыхание. Например, у жука *Popillia japonica* под действием токсичной дозы ДДТ уже в первые минуты наблюдалось повышение газообмена, а с уменьшением дозы максимум дыхания отмечался лишь через 10—12 ч после обработки (Ludwig, 1946). Аналогичное явление обнаружено нами при использовании как токсических доз АЮГ, так и ядовитых веществ. В начале проявлялось стимулирующее действие этих веществ на дыхательный обмен, а затем ингибирующее.

В настоящее время считают, что инсектициды действуют на дыхание насекомых косвенным путем, влияя на их сенсорную систему, а через нервные дуги — на моторные нервы, вызывая спазмы и спонтанные дрожания различных мышц и тем самым увеличивая общий дыхательный обмен (Keister, Buck, 1964). Как фосфор-, так и хлорорганические соединения (и пиретроиды) относятся к нейротоксинам, и воздействуют на систему ацетилхолина (O'Brien, 1968).

В наших опытах токсические дозы АЮГ, как и ядовитых веществ, вызывали аномальную возбудимость и раздражимость насекомого. У куколок *Tenebrio molitor* и *Galleria mellonella* спонтанная мышечная активность была обнаружена в первые сутки после обработки. В это время нормальные диффузные ритмы газообмена сменялись аритмичной активной вентиляцией, выполняемой резкими движениями брюшка куколки (рис. 8). Кроме того, раздражение, вызванное токсикозом, отражалось также на ритмах сердца, хотя известно, что ЮГ и АЮГ прямого кардиотропного эффекта не имеют. У куколок 2—3-часового возраста и личинок предпоследнего возраста (*Tenebrio molitor*) наблюдаются четкие ритмы сердца. Однако под действием АЮГ эти ритмы становятся хаотическими даже у внешне неподвижных особей (рис. 9).

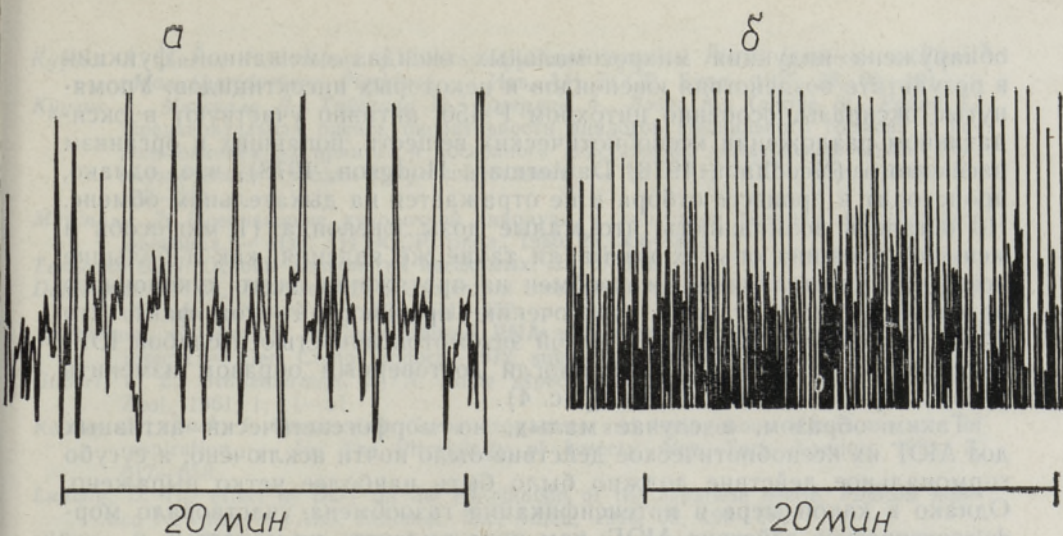


Рис. 8. Диффузные ритмы дыхания (а) и ритмы активной вентиляции (б).

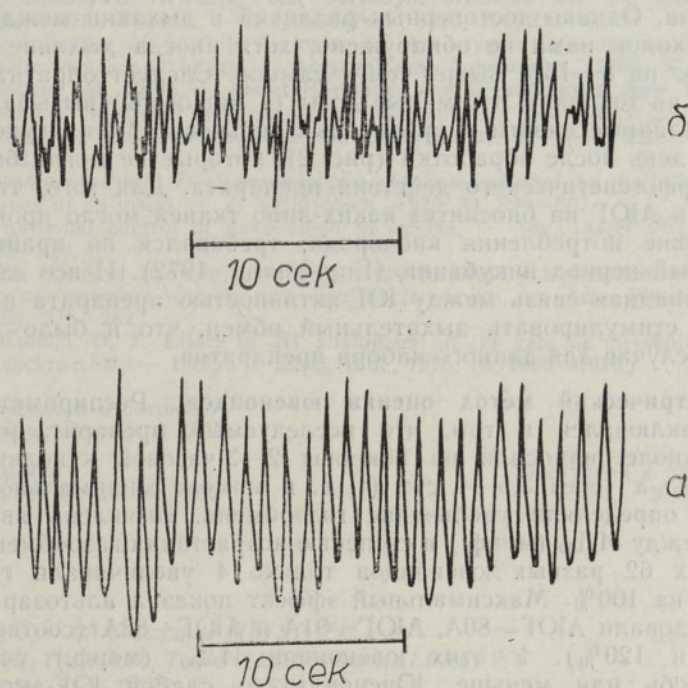


Рис. 9. Ритмы сердца необработанной личинки *Tenebrio molitor* предпоследнего возраста (а) и через 20 ч после нанесения АЮГ (б).

Нет убедительных данных о том, что какой-либо гормон насекомого оказывает прямое действие на систему транспорта электронов, на дыхательные ферменты и на окислительное фосфорилирование (Steele, 1976). Известны лишь некоторые вещества (напр., динитрофенол), которые способны вызывать разобщение дыхания от окислительного фосфорилирования и тем самым причинять почти 10-кратное временное усиление газообмена (Keister, Buck, 1964). Однако у целого ряда насекомых

обнаружена индукция микросомальных оксидаз смешанной функций в результате воздействия ювеноидов и некоторых инсектицидов. Упомянутые оксидазы, особенно цитохром P-450, активно участвуют в оксидативном разложении ксенобиотических веществ, попавших в организм насекомого (Needham, 1978; Dauterman, Hodgson, 1978), что, однако, происходит в процессе отбора и не отражается на дыхательном обмене. Но осталась возможность, что малые дозы ювеноида (1 мкг/особь и меньше) в наших опытах вызывали такие же явления, как и большие дозы, т. е. стимулировали газообмен на протяжении всего куколичного развития. Однако такому заключению противоречит тот факт, что АЮГ, обладающие высокой прямой энтомотоксичностью и слабой ЮГ-активностью (АЮГ—81А), не смогли достоверным образом изменить уровень куколичного дыхания (рис. 4).

Таким образом, в случае малых, но морфогенетически активных доз АЮГ их ксенобиотическое действие было почти исключено, а сугубо гормональное действие должно было быть наиболее четко выражено. Однако в какой мере в интенсификации газообмена участвовало морфогенетическое действие АЮГ, нам пока выяснить не удалось.

Известно, что ЮГ и АЮГ стимулируют синтез вителлогенных протеинов в жировом теле куколки (фаратной самки), а энергетические потребности этого биосинтеза могут отражаться на уровне дыхательного обмена. Однако достоверных различий в дыхании между обоими полами куколок нами не обнаружено, хотя иногда дыхание куколок-самок было на 8—15% выше, чем у самцов. Следует обратить внимание также на тот факт, что малые дозы (1 мкг/особь) вызывали достоверно доказанные сдвиги в уровне дыхательного обмена куколки уже на второй день после обработки (рис. 2), которые не могли быть следствием морфогенетического действия препарата. Для того, чтобы действие ЮГ и АЮГ на биосинтез каких-либо тканей могло проявиться в новом уровне потребления кислорода, требовался по крайней мере 3—4-дневный период инкубации (Engelmann, 1972). И все же существовала очевидная связь между ЮГ-активностью препарата и его способностью стимулировать дыхательный обмен, что и было доказано, во всяком случае для данного набора препаратов.

Респирометрический метод оценки ювеноидов. Респирометрический биотест заключался в том, что исследуемый препарат, растворенный в этаноле, наносили на покровы 2—3-часовой куколки в дозе 1 мкг/особь, а через 3,5—4 сут (т. е. в момент минимального плато контроля) определяли увеличение газообмена. Выявлена явная корреляция между ИД₅₀ (морф.) и степенью возрастания газообмена. Среди испытанных 62 разных ювеноидов только 4 увеличивали газообмен более чем на 100%. Максимальный эффект показал альтозар (210%), за ним следовали АЮГ—80А, АЮГ—81А и АЮГ—82А (соответственно 180, 150 и 120%). У этих ювеноидов ИД₅₀ (морф.) составляла 0,1 мкг/особь или меньше. Ювеноиды со слабой ЮГ-активностью (ИД₅₀ ≥ 10 мкг/особь) показали незначительный эффект по респирометрическому тесту: не более чем 30%-ное повышение дыхательного обмена. С препаратом АЮГ—80А в дальнейшем были проведены лабораторные, а затем и полевые опыты с целью изучения возможности его применения в борьбе с оранжерейной белокрылкой (*Trialeurodes vaporariorum*), наносящей большой ущерб тепличному растениеводству.

ЛИТЕРАТУРА

Буров В. Н., Хохлов Г. Н., Садикова Г. И. Нейроэндокринные механизмы регуляции имагинальной диапаузы. — В кн.: Гормональная регуляция развития насекомых и пути ее нарушения в целях борьбы с сельскохозяйственными вредителями. Л., 1979, 6—16.

- Куузик А. Циклы газообмена у диапаузирующих куколок *Pieris brassicae* и *Pieris gaeae* (Lepidoptera, Pieridae). — Изв. АН ЭССР. Биол., 1977, 26, 96—101.
- Куузик А., Метспалу Л., Хийесаар К., Когерман А., Лээтс К., Халдре Ы., Рейма Т. Предварительная оценка биоактивности аналогов ювенильного гормона с использованием их прямого и косвенного действия на дыхательный обмен диапаузирующих куколок капустной белянки. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1980, 29, 198—211.
- Метспалу Л. Прекращение куколочной диапаузы у капустной белянки воздействием ювеноида. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1980, 29, 306—312.
- Тыщенко В. П. Основы физиологии насекомых. Л., 1976, I.
- Dauterman, W. C., Hodgson, E. Detoxication mechanism in insects. — In: Biochemistry of Insects. New York, 1978, 541—577.
- Engelmann, F. Juvenile hormone-induced RNA and specific protein synthesis in adult insects. — Gen. Comp. Endocr., 1972, suppl. 3, 168—173.
- Gilbert, L. L., Schneiderman, H. A. Some aspects of insect metamorphosis. — Amer. Zool., 1961, 1, 11—51.
- Keister, M., Buck, J. Respiration: Some exogenous and endogenous effects on rate of respiration. — In: The Physiology of Insecta. New York—London, 1964, 3, 617—658.
- Ludwig, D. The effect of DDT on the metabolism of the Japanese beetle, *Popillia japonica* Newman. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1946, 39, 496—509.
- O'Brien, R. D. The biochemistry of toxic action of insecticides. — In: Biochemistry of Insects. New York, 1978, 515—539.
- Needham, A. E. Insect biochromes: their chemistry and role. — In: Biochemistry of Insects. New York, 1978, 233—305.
- Schmialek, P., Drews, G. Wirkung von Farnesylmethyläther auf die Atmung von *Tenebrio molitor* Puppen. — Z. Naturforsch., 1965, 206, 214—215.
- Seknal, F. The influence of juvenile hormone on the oxygen consumption of *Galleria mellonella* larvae and pupae. — Acta entomol. bohemoslov., 1966, 63, 258—265.
- Slama, K., Romaňuk, M., Sorm, F. Insect Hormones and Bioanalogs. New York, 1974.
- Slama, K., Hodkova, M. Insect hormones and bioanalogs: their effect on respiratory metabolism in *Dermestes vulpinus* L. (Coleoptera). — Biol. Bull., 1975, 148, 320—332.
- Slama, K., Kryspin-Sørensen, I. Hypermetabolic response induced by juvenile hormone analogues in an insect. — Z. Naturforsch., 1979, 34, 599—607.
- Steele, J. E. Hormonal control of metabolism in insects. — Adv. Insect Physiol., 1976, 12, 239—323.
- Steen, J. B. The effect of juvenile hormone on the respiratory metabolism of silkworm pupae, as recorded with a new semi-micro device. — Acta Physiol. Scand., 1961, 51, 275—282.
- Thalte, S. J., Tonapi, G. T. Effect of JH analogues on the rate of metabolism in the adult cockroaches. — Indian J. Exptl. Biol., 1978, 16, 1008—1010.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Институт химии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
30/III 1982

Aare KUUSIK, Koit LAATS, Luule METSPALU,
Külli HIIESAAR, Tiit KAAL, Tauno REIMA, Oie HALDRE,
Avo KOGERMAN, Sirje TEES, Enok SEIN

PUTUKATE HINGAMISAINEVAHETUSE STIMULEERIMINE JUVENILHORMOONI ANALOOGIDEGA JA NENDE ESMASKATSETAMISE RESPIROMEETRIINE MEETOD

Juvenoidi toksilised doosid kutsuvad esile jahumardika *Tenebrio molitor* nuku hingamisainevahetuse ajutise tõusu 1. või 2. ööpäeval pärast mõjutamist. Väike doos (1 µg isendi kohta) muudab U-kujulise hingamiskõvera seda sirgemaks, mida suurem on preparaadi juvenilhormonaalne aktiivsus. Kirjeldatud nähtusele tuginebki juvenoidide esmaskatsetamise respiromeetiline meetod.

Aare KUUSIK, Koit LÄÄTS, Luule METSPALU,
Külli HIIESAAR, Tiit KAAL, Tauno REIMA, Oie HALDRE,
Avo KOGERMAN, Sirje TEES, Enok SEIN

THE EFFECT OF JUVENIDS ON RESPIRATORY METABOLISM AND BIOASSAY BASED ON INCREASED METABOLIC RATE IN INSECTS

In the present study 62 compounds with juvenile hormone activity of *Tenebrio molitor* and *Galleria mellonella* pupae were screened. Most compounds had been prepared at the Institute of Chemistry of the Estonian Academy of Sciences.

For juvenoid treatments the usual ethanol compounds (1 μg per pupa) were used. Special attention was given to the effect of these analogues on respiration at pupal stage. Respiratory rates were measured at 20°C using an electrolytic recording respirometer for insects. Respiration studies were also carried out by making use of the gas-chromatographic micromethod. Bioassays were performed on fresh pupae of *Tenebrio molitor* and *Galleria mellonella*. The extent of the increase in the metabolic rate was found to differ according to the analogues. Increased metabolic rate was taken as a parameter of juvenile hormone activity of the chemicals screened in the present work. The topical treatment with 1 μg of the juvenoid JHA-80A yielded the essential modified type of the U-shaped metabolic course. JHA-80A was identified as a new highly potent insect growth regulator with juvenile hormone activity in morphogenetic and respiratory tests. Only the compounds with a high juvenile activity in the pupal assay on *Tenebrio molitor* (ID_{50} morph. 0.1 μg per pupa) were able to modify the U-shaped metabolic pattern to such a degree that in 4 days after the application of the juvenoid (1 μg per pupa) there appeared a more than 100 per cent increase in the rate of O_2 consumption in comparison with the control. Compounds with a low juvenile activity (ID_{50} morph. 10 μg per pupa), applied in doses of 1 μg per pupa, caused a negligible metabolic rise on the 4th day after application. High doses (30–50 μg per pupa) of juvenoids caused a steep rise in the metabolic rate already on the 1st or the 2nd day after application. Insecticides (organophosphates), when used in such doses, caused an enormous increase in the respiratory rate 2–10 h after application, and namely before the mortal toxic effect. Low doses of organophosphates did not modify the U-shaped curve of the pupal respiratory metabolism.