

<https://doi.org/10.3176/biol.1982.3.01>

УДК 595.7.11.632.9

Лууле МЕТСПАЛУ, Тийу ХАНСЕН

## ВЛИЯНИЕ ЮВЕНОИДОВ НА ОБМЕН ВЕЩЕСТВ У ДИАПАУЗИРУЮЩИХ КУКОЛОК КАПУСТНОЙ БЕЛЯНКИ

При разработке способов гормональной борьбы с насекомыми необходимо изучить как функцию гормональной системы насекомых, так и механизмы действия функциональных аналогов гормонов. Из гормонов насекомых наиболее изучен ювенильный гормон (ЮГ) и, кроме того, синтезирован ряд его аналогов. Экзогенный ЮГ и его синтетические аналоги (АЮГ) способны нарушить механизм регуляции развития насекомых. Характер влияния АЮГ зависит как от дозы препарата, так и от стадии развития насекомых при воздействии, от физиологического состояния насекомого и т. д. О биологической активности ювеноидов судят обычно по вызванным ими морфогенетическим эффектам. В данном случае для получения статистически достоверных результатов требуется большое число подопытных особей, потому что трудно достичь полной синхронизации развития и адекватности физиологического состояния насекомых.

В лаборатории экспериментальной энтомологии Института зоологии и ботаники АН Эстонской ССР разработан новый быстрый метод определения эффективности ювеноидов, т. н. диапаузный тест, основой которого служит действие АЮГ на общий метаболизм диапаузирующих куколок капустной белянки (отраженный в потреблении кислорода) (Куузик и др., 1980).

Куколочная диапауза возникает вследствие блокирования транспорта активационного гормона (гормона мозга) под влиянием краткосрочных фотопериодов. Этот гормон нейросекреторных клеток мозга стимулирует проторакальные железы к выделению экдизона, а при его отсутствии выделение экдизона прекращается и у насекомого наступает диапауза. В литературе имеется немало сведений о том, что диапаузу можно прервать с помощью экзогенного экдизона (Williams, 1954; Hsiao, Hsiao, 1969 и др.). Также известно, что ЮГ и АЮГ могут непосредственно, без участия мозга, активировать проторакальные железы к выделению экдизона и прерывать диапаузу (Gilbert, Schneiderman, 1959; Higuma и др., 1978; Метспалу, 1980; Куузик и др., 1980). Предполагается, что ЮГ и АЮГ способны стимулировать дыхательный обмен диапаузирующих насекомых либо непосредственно, действуя на дыхательные ферменты, либо косвенно, стимулируя процессы роста и дифференциации тканей.

Резкое повышение уровня потребления кислорода у диапаузирующих куколок капустной белянки отмечено нами уже в первые сутки после обработки, второе, более медленное повышение — через несколько недель после аппликации. По срокам появления этих пиков и по степени увеличения дыхания можно судить об общей ювенильно-гормональной активности АЮГ.

Целью настоящей работы было определить изменения интенсивности дыхания, вызванные ювеноидами разной активности у диапаузи-

рующих куколок капустной белянки, выяснить изменения в содержании жира, гликогена и глюкозы у куколок во время первого и второго подъемов дыхания.

### Материал и методика

Опыты проводились в 1980 г. Для получения куколок капустной белянки (*Pieris brassicae*) с листьев капусты собирали яйцекладки, которые инкубировали в термокамере. Вышедших из яиц гусениц выращивали в термостатах в условиях короткого фотопериода (12 ч света) при температуре 21° С. Куколки содержались при комнатной температуре (20—22°), чтобы они не прошли холодной реактивации (по нашим наблюдениям, реактивация у капустной белянки при такой температуре не происходит). Опыты проводили через 4 месяца после окукления. В это время куколки находились в глубокой диапаузе — дыхание поддерживалось на низком, характерном для диапаузы уровне и колебалось в пределах 30—50 мм<sup>3</sup> O<sub>2</sub>/г·ч. Перед гормональной обработкой определяли интенсивность дыхания куколок. Для каждой серии опыта старались выбрать куколок с более или менее одинаковым уровнем дыхания и из одной яйцекладки, что обеспечивало наибольшую адекватность физиологического состояния куколок.

Аналоги ювенильного гормона этил-3, 7, 11-триметил-2,4-додекадиеноат (альтозар) и *n*-амилгераниловый эфир, синтезированные в Институте химии АН Эстонской ССР, апплицировали на поверхность куколок. Растворенный в этаноле ювеноид (10<sup>-1</sup>) наносили топикально на тонкую мембрану между первым и вторым сегментами брюшка куколки из расчета 0,3 мкл на 100 мг веса куколки.

Уровень дыхания куколок определяли с помощью самопишущего электролитического микрореспирометра (Куузик, 1977) при температуре 20°. Содержание сухого вещества и воды определяли высушиванием куколок при 102° до постоянного веса. Для определения содержания жира использовали аппарат Сокслета (Ермаков и др., 1952). Методика определения гликогена и глюкозы описана ранее (Хансен, Вийк, 1979). Содержание веществ выражено в процентах к сырому весу.

### Результаты

Опыты показали, что оба ювеноида повышают уровень дыхательного обмена куколок капустной белянки. При использовании активного ювеноида альтозара первый подъем газообмена (135 мм<sup>3</sup>O<sub>2</sub>/г·ч) отмечается на третий день после аппликации (рис. 1). Затем он понижается, но не ниже исходного уровня, характерного для диапаузирующих куколок. Второй подъем интенсивности дыхания достигал максимума (215 мм<sup>3</sup>O<sub>2</sub>/г·ч) на десятый день после гормональной обработки.

У куколок, обработанных *n*-амилгераниловым эфиром, уровень дыхания оставался значительно ниже, чем у куколок, обработанных альтозаром, однако превышал уровень дыхания контрольных куколок почти на 200% (рис. 1). Первый максимум интенсивности дыхания (97 мм<sup>3</sup>O<sub>2</sub>/г·ч) отмечен на 7-й день после обработки, затем уровень дыхания несколько понижался. Второй пик дыхания (116 мм<sup>3</sup>O<sub>2</sub>/г·ч) имел место на 16-й день после аппликации. Таким образом, диапауза была прервана и биосинтез возобновлен. Имагинальные покровы были отложены, но экдизис не смог пройти нормально. Под действием альтозара образовалось фартаное имаго.

Вторым показателем метаболизма служила ежесуточная потеря веса куколок. Средние данные за первые 16 дней после обработки АЮГ

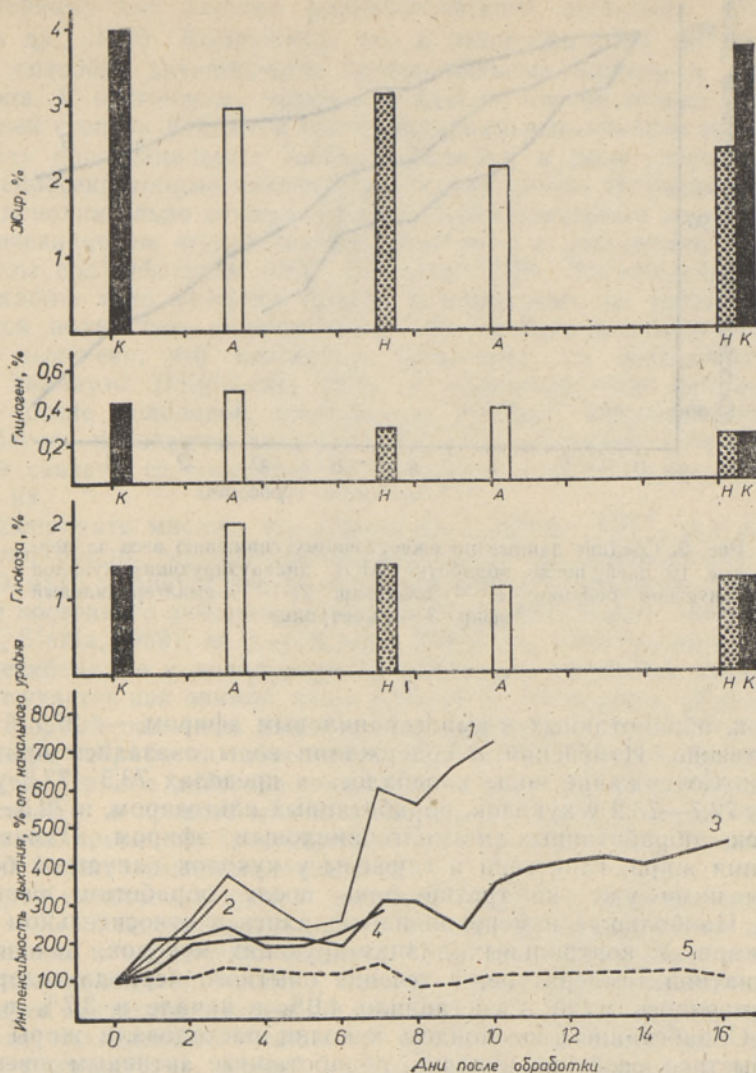


Рис. 1. Влияние ювеноидов на интенсивность дыхания, содержание жира, гликогена и глюкозы у диапаузирующих куколок капустной белянки. 1—2 — альтозар, 3—4 — *n*-амилгераниловый эфир, 5 — контроль. К — контроль, А — альтозар, Н — *n*-амилгераниловый эфир.

по ежесуточному снижению веса приведены на рис. 2. Уменьшение веса куколок находилось в корреляции с изменениями уровня дыхания — чем больше куколки потребляли кислорода, тем интенсивнее они теряли в весе. Так, у куколок, обработанных альтозаром, к 11-му дню вес уменьшился на 15% по сравнению с исходным весом, а у куколок, обработанных *n*-амилгераниловым эфиром, — на 11%, при этом у контрольных особей только на 5%.

Содержание сухого вещества у контрольных куколок в начале и в конце опыта составляло 26,5 и 26,2% соответственно. У куколок, обработанных ювеноидами, относительное содержание сухого вещества немного повышалось во время первого пика дыхания, а затем снова уменьшалось. У куколок, обработанных альтозаром, оно составляло 27,3% во время первого пика дыхания и 26,8% во время второго;

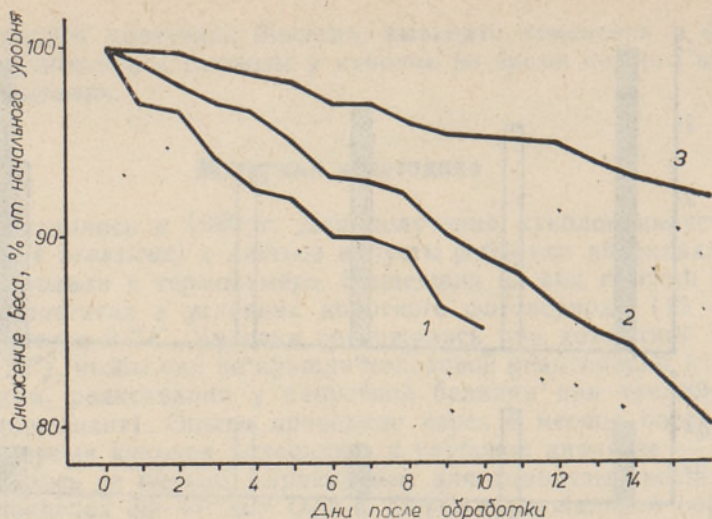


Рис. 2. Средние данные по ежесуточному снижению веса за первые 16 дней после обработки АЮГ диапаузирующих куколок капустной белянки. 1 — альтозар, 2 — *n*-амилгераниловый эфир, 3 — контроль.

у куколок, обработанных *n*-амилгераниловым эфиром, — 27,7 и 26,1% соответственно. Изменения в содержании воды оказались противоположными. Содержание воды колебалось в пределах 73,5—73,8 у контрольных, 72,7—73,2 у куколок, обработанных альтозаром, и 72,3—73,9% у куколок, обработанных *n*-амилгераниловым эфиром. Изменения в содержании жира, гликогена и глюкозы у куколок капустной белянки отмечены нами уже на третий день после обработки ювеноидом (рис. 1). Наибольшие изменения наблюдались в относительном содержании жира. У контрольных диапаузирующих куколок, находящихся при комнатной температуре, в течение опытного периода содержание жира изменялось мало и составляло 4,0% в начале и 3,7% в конце опытов. Обработанные ювеноидом куколки расходовали жиры значительно быстрее, особенно куколки, обработанные активным ювеноидом альтозаром. На третий день после обработки эти куколки содержали только 2,9% жира, а на десятый день даже 2,2%, т. е. в течение 1,5 недели половина резервных жиров была уже израсходована. Во время первого пика дыхания отмечено некоторое повышение содержания гликогена и глюкозы у куколок, обработанных альтозаром. Затем оно снова уменьшалось. У куколок, обработанных *n*-амилгераниловым эфиром, содержание изученных углеводов было близким к содержанию их в контрольных особях.

### Обсуждение результатов

По общепринятой концепции основной причиной куколочной диапаузы является дефицит гормона нейросекреторных клеток мозга (активационного гормона), что инактивирует проторакальные железы. В ходе реактивации транспорт активационного гормона деблокируется и проторакальные железы начинают выделять экдизон. Установлено, что титр экдизона при активном развитии и при диапаузе хорошо коррелирует с уровнем метаболизма — более интенсивному обмену соответствует более высокий титр гормона. Возможно, эта зависимость отражает регуляторную роль экдизона по отношению к уровню обмена,

характерному для данного физиологического состояния (Масленникова и др., 1976). Выяснилось, что и экзогенный ЮГ во время диапаузы способен активировать проторакальные железы к выделению экдизона. К настоящему времени доказано, что не только очищенный в высшей степени ЮГ, но и его функциональные аналоги могут стимулировать проторакальные железы. Экдизон, в свою очередь, активировывает нейросекреторные клетки мозга к выделению активационного гормона, дополнительно стимулирующего проторакальные железы, однако мозг, очевидно, не играет значительной роли в устранении куколочной диапаузы под действием АЮГ (Higuma, 1979). Раньше считалось, что прилежащие тела (*corpora allata*) у насекомого во время диапаузы остаются полностью неактивными. Но гистологическими исследованиями выяснено, что некоторая активность их сохраняется и во время диапаузы (Highnam, 1967), и инактивируются они полностью только после холодовой реактивации (Gilbert, Schneiderman, 1961). Способность небольших количеств ЮГ поддерживать проторакальные железы связана со способностью больших количеств гормона активировать их.

Общепринято мнение, что гормон из *c. allata* (ЮГ) или АЮГ стимулируют общий респираторный метаболизм диапаузирующих насекомых. Однако является это результатом прямого (Roussel, 1963 и др.) или же косвенного действия (Novak, Slama, 1962; Slama, Hodkova, 1975; Sehnal, Slama, 1966), не совсем ясно. Вероятно, в стимуляции дыхательного метаболизма у диапаузирующих куколок капустной белянки принимают участие как прямой, так и косвенный компоненты (Кузук и др., 1980). Первый подъем в дыхании диапаузирующих куколок на третий день после обработки обусловлен, возможно, прямым воздействием ювеноида. Прямое действие ювеноида на дыхательные ферменты может быть связано с процессами инактивации экзогенного вещества путем его метаболирования. Последующий за подъемом спад интенсивности дыхания служит свидетельством этому.

Второе увеличение уровня дыхания связано с процессами реактивации — ЮГ косвенно стимулирует гистогенез, активируя проторакальные железы к выделению экдизона. Так как подопытные куколки не проходили холодовой закалки, второй подъем интенсивности дыхания не следует считать естественной реактивацией. У куколок контрольного варианта, находящихся в таких же условиях как и опытные (при комнатной температуре), низкий уровень дыхания сохранялся в течение всего опытного периода. В природных условиях холодовая реактивация у капустной белянки происходит в начале зимы и куколки приобретают потенциальную способность к возобновлению развития к концу января. У куколок, прошедших холодовую реактивацию и перенесенных из природных условий в комнатную температуру (20—22°) в конце января, содержание жира быстро уменьшалось (в течение 2 недель почти в 2 раза), как и под влиянием альдозара. Содержание гликогена в это время почти не изменялось, а количество глюкозы повышалось, как и у куколок, обработанных АЮГ.

Из наших опытов следует, что ювеноид способен ослаблять или прерывать диапаузу, возобновлять процессы развития насекомых. Изменения в содержании жира, гликогена и глюкозы у куколок капустной белянки, по крайней мере в течение двух недель после обработки ювеноидом, такие же, как у куколок, проходивших холодовую реактивацию. Таким образом, ювеноид как функциональный АЮГ стимулирует проторакальные железы перед гистогенезом, вызывая развитие имагинальных тканей (фаратное имаго). Однако нормальной имагинальной линьки не происходит.

## ЛИТЕРАТУРА

- Ермаков А. И., Арасимович В. В., Смирнова-Иконникова М. И., Мурри И. К. Методы биохимического исследования растений, М.-Л., 1952.
- Куузик А. Циклы газообмена у диапаузирующих куколок *Pieris brassicae* L. и *P. rapae* L. (*Lepidoptera, Pieridae*). — Изв. АН ЭССР. Биол., 1977, 26, 96—101.
- Куузик А., Метспалу К., 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.
- Масленникова В. А., Черныш С. И., Абдель Наби А. А. Титр экдизона при индукции зимней и летней диапаузы капустной совки *Varathra brassicae* L. (*Lepidoptera, Noctuidae*). — Энтомол. обозр., 1976, 4, 768—776.
- Метспалу Л. Прекращение куколочной диапаузы у капустной белянки воздействием ювеноида. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1980, 29, 306—312.
- Хансен Т., Вийк М. К методике определения глюкозы и гликогена у насекомых. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1979, 28, 74—75.
- Gilbert, L. I., Schneiderman, H. A. Prothoracic gland stimulation by juvenile hormone extracts of insects. — Nature, 1959, 184, 171—173.
- Gilbert, L. I., Schneiderman, H. A. The content of juvenile hormone and lipid in *Lepidoptera*: Sexual differences and developmental changes. — Gen. Comp. Endocrinol., 1961, 1, 453—472.
- Higman, K. C. Insect hormones. — J. Endocrinol., 1967, 39, 1, 123—150.
- Hiruma, K., Shimada, M., Yagi, S. Activation of the prothoracic gland hormone in *Mamestra brassicae*. — J. Insect Physiol. 1978, 24, 215—220.
- Hiruma, K. Prevention of pupal diapause by the application of juvenile hormone analogue to the last instar larvae of *Mamestra brassicae*. — Appl. Entomol. Zool., 1979, 14, 76—82.
- Hsiao, C., Hsiao, T. H. Insect hormones: their effects on diapause and development of Hymenoptera. — Life Sci., 1969, 8, 767—774.
- Novak, V. I., Slama, K. The influence of juvenile hormone on the oxygen consumption of the last larvae instar of *Pyrhocoris apterus* L. — J. Insect Physiol., 1962, 8, 145—153.
- Roussel, J.-P. Étude de la consommation d'oxygène chez *Locusta migratoria* L. — J. Insect Physiol., 1963, 9, 349—361.
- Sehnal, F., Slama, K. The effect of corpus allatum hormone on respiratory metabolism during larval development and metamorphosis of *Galleria mellonella* L. — J. Insect Physiol., 1966, 12, 1333—1342.
- Slama, K., Hodkova, M. Insect hormones and bioanalogues: their effect on respiratory metabolism in *Dermestes vulpinus* L. (*Coleoptera*). — Biol. Bull., 1975, 148, 320—332.
- Williams, C. M. Isolation and identification of the prothoracic gland hormone of insects. — Anat. Record., 1954, 120, 743.

Институт зоологии и ботаники  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
28/XII 1981

Luule METSPALU, Tiit HANSEN

### JUVENOIDIDE MÕJU SUUR-KAPSALIBLIKA DIAPAUSIS NUKKUDE AINEVAHETUSELE

Juveniilhormooni analoogidega töötlemine kutsub suur-kapsaliblika diapausis nukkude hingamisainevahetuses esile kaks hapnikutarbimise tõusu. Kirjeldatud katsetes saabus esimene tõus aktiivse juvenoidi *altozar*'iga töödeldud variandis 3. päeval, *n*-amüülgeranüületriga töödeldud variandis 7. päeval (nähtavasti toimib juvenoid vahetult hingamisensüümidele). Seejärel hapnikutarbimine vähenes, kuid jäi kontrollvariandiga võrreldes kõrgemale tasemele. Teine hapnikutarbimise tõus oli aeglasem: maksimum saabus *altozar*'iga töödeldud nukkudel 10. ja *n*-amüülgeranüületriga töödeldud nukkudel 16. päeval. See tõus on seotud arengu käivitumisega, kuid normaalset imaginaalset kestumist ei esinenud (tekkis faraatvalmik).

Muutused nukkude rasva- ja süsivesikusisalduses ilmsid juba kolmandal päeval pärast töötlemist juvenoididega. Kõige suuremad muutused esinesid rasvasisalduses, eriti *altozar*'iga töödeldud nukkudel — 10 päeva jooksul kahanesis rasvavarud ligi kaks korda.

Glükoosi- ja glükogeenisisaldus oli esimese hapnikutarbimise tõusu ajal *altozar*'iga töödeldud nukkudel veidi kõrgem kontrollvariandi omast, seejärel mõlemad uuesti vähenesid. *n*-amülgeranüüleetriaga töödeldud nukkude süsivesikusisaldus oli lähedane kontrollvariandi omale.

Luule METSPALU, Tiitu HANSEN

#### EFFECT OF JUVENIDS ON THE METABOLISM IN DIAPAUSING PUPAE OF *PIERIS BRASSICAE* L.

In all cases topical applications of juvenile hormone analogues (JHA) in ethanol (concentration 1 : 10, doses of 0.3  $\mu$ l per 100 mg of pupa weight) were used.

The treatment with JHA caused two peaks in the respiratory metabolism in the diapausing pupae of *Pieris brassicae* L. The first peak in  $O_2$  consumption in the pupae treated with a relatively active JHA ethyl-3, 7, 11-trimethyl-2,4-dodecadienoate (called *altozar*) was observed on the 3rd day, and in those treated with *n*-amülgeranyl ether — on the 7th day after the treatment. JHA seems to have a direct effect on the respiratory metabolism by activating the respiratory enzymes in diapausing pupae. After that, the  $O_2$  consumption in the treated pupae decreased, still staying higher than in the control.

The second rise in the metabolic rate did not follow so quickly. In the pupae treated with *altozar*,  $O_2$  consumption reached the maximum on the 10th day, and in those treated with *n*-amülgeranyl ether — on the 16th day after the treatment. This second rise was due to the termination of the diapause. The pupae treated developed into pharate imagos, but a normal ecdysis was not observed.

Changes in the fat and carbohydrate reserves were observed on the 3rd day after the JHA treatment already. Most considerable changes took place in the fat content, especially in the pupae treated with *altozar*: in the course of 10 days after the treatment the fat content decreased nearly twice (Fig. 1). In the pupae treated with *altozar* the glucose and glycogen contents increased a little, after that they decreased again. Almost no difference was observed in the carbohydrate reserves in the pupae treated with *n*-amülgeranyl ether and in the control.