

УДК 595.7—11

Ааре КУУЗИК, Лууле МЕТСПАЛУ, Кюлли ХИЙЕСААР,
Тийт КААЛ, Ёйе ХАЛДРЕ, Эви ПИХУ, Энок СЕЙН

ИНДУКЦИЯ СУПЕРЛИЧИНОК *GALLERIA MELLONELLA* ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЮВЕНОИДОВ И ЭКДИЗОИДОВ С ЦЕЛЬЮ ПЕРВИЧНОЙ ОЦЕНКИ ИХ БИОАКТИВНОСТИ

Механизмы метатетелий (сохранение личиночных признаков во время метаморфоза) и протетелий (преждевременный метаморфоз), вызванные воздействием ювенильного гормона (ЮГ) и аналогами ЮГ (АЮГ) хорошо известны, хотя названные явления изучены главным образом у немногочисленных видов чешуекрылых *Lepidoptera* и жуков *Coleoptera*. На основе индукции метатетелических, т. е. промежуточных личиночно-куколичных и куколично-имагинальных форм разработаны общеизвестные биотесты для первичной оценки ювеноидов, причем наиболее часто тест-объектом служат пчелиная огневка *Galleria mellonella* и мучной хрущак *Tenebrio molitor*. Однако в случае биотеста, проведенного в личиночно-куколичных промежуточных формах *G. mellonella*, невозможно получить максимального балла, т. е. перфектной дополнительной личиночной линьки (ДЛЛ) на дополнительный личиночный возраст (ДЛВ) или т. н. суперличинки, поскольку обработку ювеноидом проводят в то время, когда часть эпидермальных клеток уже утратила чувствительность к ЮГ, а другая — нет, что и приводит к образованию интермедиатов. У гусениц *G. mellonella* последнего (VII) возраста этот т. н. критический период индукции промежуточных форм продолжается всего лишь 20—24 ч, до и после этого срока ответы на АЮГ являются асимптоматическими и для получения адекватных баллов требуются уже увеличенные дозы АЮГ.

Уже из классических опытов пересаживания прилежащих тел (*corpora allata*) в начале последнего возраста гусениц *G. mellonella* известно, что это приводит к образованию ДЛВ (Pierho, 1942). Аналогичные результаты получены при обработке ювеноидами гусениц в первый день после линьки на VII возраст (Sehnal, Schneiderman, 1973; Ciemiog и др., 1979). Из этих работ видно, что доля гусениц, прошедших ДЛЛ, зависит от применяемых доз и от ювенильно-гормональной активности препарата.

Более сложным является первичное испытание натуральных и синтетических аналогов гормона линьки — экдизоидов, из-за их ограниченного проникновения через покровы тела. Куколический биотест для экдизоидов основан на стимуляции склеротизации личиночной кутикулы у двукрылых *Diptera*, т. е. на ускорении экдизоидами процесса куколической линьки брюшной части, изолированной от передней части тела лигатурой.

Известно, что экдизоны в определенных условиях могут вызывать аналогичные ювенилизирующие эффекты как ЮГ, так и АЮГ (Schneiderman, 1971). Экдистерон вызывает синтез личиночной кутикулы при инъекции в начале VII личиночного возраста (Hwang-Hsu и др., 1979).

Механизмы индукции ДЛВ у насекомых до сих пор недостаточно изучены и возможность использовать их в целях оценки гормональной активности ювеноидов и экдизоидов остается пока нереализованной.

В настоящей работе обсуждаются гормональные механизмы формирования ДЛВ у *G. mellonella* и изучаются возможности биологического тестирования ювеноидов и экдизоидов с помощью индукции ими ДЛВ.

Материал и методика

G. mellonella выращивали при температуре 30°C в постоянной темноте на искусственной диете (Sehnal, 1966) при относительной влажности 70—80%. В этих условиях VII возраст гусениц продолжался 180—190 ч, причем подвижные предкуколки в коконах появились через 152 ч, фаратные куколки через 172 ч. Случаев спонтанного возникновения ДЛВ (VIII возраст) не было. Возраст подопытных гусениц был определен с точностью ± 2 ч. Гусениц содержали в чашках Петри по 3 особи в каждой.

Ювеноиды синтезированы в Институте химии АН ЭССР. В опытах применяли главным образом препараты группы алкенилфениловых эфиров (Когерман и др., 1979) и алкил-1-хлор-3-метил-5-алкокси-2-пентенаминов (Лээтс и др., 1985). Экдистерон получен из Института химии растительных веществ АН УзбССР.

Ювеноиды растворяли в этаноле, раствор в объеме 1 мкл на 100 мг живого веса топикально наносили на спину гусениц.

Экдистерон в одних опытах растворяли и наносили таким же образом как ювеноид. В параллельных опытах экдистерон (25% раствор в воде) инъецировали в гусениц в объеме 0,5 мкл на 100 мг живого веса. Количество введенного в тело гусеницы раствора не превышало таким образом 2% общего его объема (сублетальным пределом считается 5%).

После обработки гусеницы содержались в тех условиях, что и до обработки.

Результаты опытов

Индукция ДЛЛ ювеноидами. Для изучения чувствительности гусениц VII возраста к АЮГ в отношении индукции ДЛВ от времени обработки использовали препарат АЮГ-80А (100 мкг/100 мг) (табл. 1). 0-дневные гусеницы (возрастом до 24 ч) проявляли более или менее однородную чувствительность и 70—80% из них проделывали ДЛЛ к 10-му дню обработки. Явные различия заключались лишь в сроках

Таблица 1

Появление ДЛЛ в зависимости от времени обработки после линьки на VII возраст дозой АЮГ-80А 100 мкг/100 мг *, %						
Время обработки, г	Появление ДЛЛ в дни после обработки					Всего ДЛЛ
	1-й	3-й	5-й	8-й	10-й	
3	—	20	15	15	5	90
10	—	—	30	10	20	82
24	—	—	50	20	15	100
48	—	—	—	18	12	45
72	—	—	—	10	—	20

* $n=20-30$.

появления первых ДЛЛ. Гусеницы, обработанные 3 ч после линьки на VII возраст, начали линять на ДЛВ уже в 3-й день после обработки, а у особей, обработанных в 1-й день развития (возрастом 24—30 ч) первый ДЛВ был обнаружен лишь на 5-й день. У гусениц, обработанных в 3-й день развития (48—52 ч), процент ДЛЛ явно уменьшался. Исходя из проведенных нами опытов для определения зависимости индукции ДЛВ как от дозы, так и от АЮГ, в дальнейшем обрабатывали только 0-дневные гусеницы (3—20 ч).

Среди испытанных препаратов наибольшей активностью в отношении индукции ДЛЛ обладал АЮГ-80А и *p*-этил-6,7-эпоксигераниловый эфир. Для вызывания ДЛВ у 50% гусениц достаточно дозы 0,05 мкг д. в., в таком случае 1 мкг препарата вызывал 100% линьку на VIII возраст. Большинство гусениц линяли через 4—5 дней после обработки (табл. 2).

Таблица 2

Индукция ДЛЛ различными ювеноидами

Ювеноид	Индукция ДЛЛ, мкг/100 мг			Биотест ИД ₅₀	
	ИД ₅₀	ИД ₂₀	ИД ₁₀	«Тенебрио»	«Галлерия»
<i>p</i> -этилфенил-6,7-эпоксигераниловый эфир	0,05	0,001	0,001	0,01	—
<i>p</i> -хлорфенил-6,7-эпоксигераниловый эфир	0,1	0,005	0,005	0,06	—
<i>n</i> -(3-метил-5-изобутоксн)-2-пентенилморфолин	—	5	0,1	0,8	—
<i>n</i> -(3-метил-5-изопропоксн)-2-пентенилдибутиламин	—	10	1	20	1
<i>m</i> -метоксифенил-6-метилгераниловый эфир	—	—	—	50	—
<i>n</i> -(3-метил-5-изобутоксн)-2-пентенил-дибутиламин	—	—	—	1	50
АЮГ-80А	0,05	0,001	0,001	0,02	—

В случае индукции ДЛЛ межлиночный период (VII и VIII) сокращался почти вдвое по сравнению с нормальной длительностью VII возраста.

При использовании малых доз АЮГ или малоактивных препаратов, ДЛЛ не состоялась и ювенильно-гормональное действие проявлялось лишь в виде незначительной задержки метаморфоза (табл. 3).

Таблица 3

Индукция ДЛЛ экдистероном 0-дневных гусениц *G. mellonella* L.

Экдистерон (д. в.), мкг	ДЛЛ, %	
	Топикальная обработка	Иньекция
10	60	100
1	30	90
0,1	15	65
0,01	—	32
0,001	—	10
	ИД ₅₀ *=5,6 (2—18)	ИД ₅₀ *=0,03 (0,1—0,01)

* Данные найдены пробитальным анализом. В скобках дан доверительный интервал при $P=0,05$.

Появление ДЛВ введением экдистерона. При поверхностной обработке экдистероном (0,01 мкг и меньше) ДЛВ не обнаруживался. Доза 0,1 мкг вызывала ДЛВ у 15% гусениц, 10 мкг — у 60% (табл. 3). Инъекцией экдистерона (0,01 мкг) была вызвана ДЛЛ у 30—35% особей, с увеличением доз процент ДЛЛ постепенно увеличивался (табл. 4). Для получения ДЛЛ у 90% особей достаточной оказалась доза 1 мкг.

Таблица 4

Задержка метаморфоза в зависимости от дозы малоактивного ювеноида N-3(-метил-5-изопропокси)-2-пентенил-дибутиламина

Ювеноид, мкг/100 мг	ДЛЛ, %	Длительность VII возраста, % от контроля	20 дней после обработки *, %				
			Гусеницы	Пред-куколка	Фарат-куколка	Куколка	Имаго
100	5	—	—	5	20	75	—
10	—	140	—	5	10	85	—
1	—	120	—	—	15	80	—
0,1	—	120	—	—	5	80	15
0,01	—	110	—	—	—	80	20
0,001	—	100	—	—	—	70	30

* (n=20).

При поверхностной обработке 0-дневных гусениц экдистероном (0,01 мкг) ДЛЛ не формировалась, при обработке же АЮГ-80А (в той же дозе) она формировалась у 30% гусениц на 8-й день. Использование смеси ювеноида и экдистерона повысило число особей с ДЛЛ до 60% (табл. 4).

Если АЮГ-80А был введен в 0-день развития гусениц поверхностно (0,01 мкг), экдистероны через два дня, то ДЛЛ получена у 25—30% особей. Ювеноид без экдистерона в названной дозе давал менее чем 5% ДЛЛ.

Индукция ДЛВ охлаждением. Сразу после линьки на VII возраст гусениц переносили в холодильник ($+10 \pm 1^\circ\text{C}$) и оставляли там в течение 48 ч, после этого содержали при 30°C в постоянной темноте. Первые линьки на ДЛВ наблюдались на 3-й день после возобновления питания, к 12-му дню развития ДЛЛ достигала уже 60%. В случае содержания гусениц (после охлаждения) при 20°C в течение десяти дней в условиях постоянной темноты ДЛЛ прошли 40% особей, а при постоянном свете — лишь 10%. Характерно, что головные капсулы после ДЛЛ, вызванные холодом, почти не менялись размером.

Обсуждение результатов

Механизм индукции ДЛЛ тесно связан с процессами метаморфоза и ДЛВ может состояться лишь при определенных гормональных условиях организма. В клеточном цикле существует лишь кратковременный период чувствительности к воздействию ЮГ и АЮГ, что совпадает с делением клеток и синтезом ДНК (Schneiderman, 1971). Если эти процессы в последнем личиночном возрасте происходят в присутствии ЮГ или АЮГ, то эпидермальные клетки программируются на личиночный синтез и развитие, т.е. проявляется эффект ювенилизации. Если же пролиферация эпидермальных клеток происходит без присутствия ЮГ,

то эпидермальные клетки приобретают компетентность к куколочному развитию (Буров, 1983).

Прекращение клеточного деления, что связано с началом выделения новой кутикулы, приводит к полной утрате чувствительности клеток к ЮГ (АЮГ). У гусениц *G. mellonella* эпидерм чувствителен к воздействию ЮГ только к тому времени, когда до синтеза новой кутикулы остается еще 12—24 ч. Клеточное деление у гусениц последнего возраста начинается после завершения трети этого возраста и основным митоз происходит в конце возраста, что и является критическим периодом, когда АЮГ вызывает широкую гамму личиночно-куколочных промежуточных форм. Однако в то время невозможно получить максимального эффекта — перфектного ДЛВ. Различная чувствительность клеток и тканей к АЮГ во время критического периода непременно приводит к нарушениям метаморфоза — в одних тканях происходит личиночный, в других — куколочный синтез (Sehnal, Schneiderman, 1973; Ciemiog и др., 1979).

У большинства видов насекомых пролиферация клеток в некоторых тканях начинается сразу после экдизиса на VII личиночный возраст, и в том случае ювеноидом невозможно индуцировать совершенный ДЛВ. Отклонением от этого правила является *G. mellonella*, у которой клеточное деление начинается только после завершения первой трети возраста, до этого весь эпидермальный регион обладает одинаковой чувствительностью к ЮГ (АЮГ). В случае сохранения в организме ЮГ или его аналога в начальный период VII возраста весь эпидерм сохраняет программу личиночного развития. Обычно у этого вида критическим периодом индукции перфектных ДЛЛ являются первые 54 ч (Slama, 1975; Sehnal, Schneiderman, 1973). По нашим опытам, критический период индукции ДЛВ у *G. mellonella* несколько короче и длится всего 35—40 ч (табл. 1). При индукции ДЛВ межличиночный период сокращается почти вдвое и ДЛЛ наступает уже на 4-й день развития VII возраста. Обработка ювеноидом в 0-день развития VII возраста может давать только альтернативный ответ — ДЛЛ либо происходит, либо нет, промежуточных личиночно-куколочных форм не возникает. Если из-за низкой ЮГ-активности препарата ДЛЛ не появляется, то личиночно-куколочная линька задерживается и совершение метаморфоза требует дополнительного времени в зависимости от дозы и активности АЮГ (Beck, 1971; Abdel-Aal, 1979).

Причиной индукции ДЛЛ является проторакотропный эффект АЮГ — резкое повышение физиологического титра ЮГ (ЮГ + АЮГ) может стимулировать преждевременное выделение гормона линьки, т. е. экдизона (Ciemiog и др., 1979). При нормальном развитии титр экдизона у *G. mellonella* в первые 4 дня VII возраста находится в минимуме, а первый пик экдизона появляется лишь на 5-й день развития (Margoу, Tagпоу, 1978). ЮГ может оказать морфогенетическое воздействие лишь в присутствии гормона линьки, первый пик которого совпадает с периодом перепрограммирования эпидермальных клеток на дальнейший синтез (Hwang-Hsu и др., 1979), т. е. ЮГ определяет реакцию клеток-мишеней к экдизону (Schneiderman, 1971).

Таким образом, необходимым условием для индукции ювеноидами ДЛЛ является преждевременное выделение гормона линьки, вызванное проторакотропным действием АЮГ. Обработкой АЮГ удалось получить ДЛЛ у представителей различных семейств чешуекрылых, однако возникший ДЛВ часто оказывается несовершенным из-за признаков куколочного развития в придатках головы и крыловых имагинальных дисках. Такие особи не были способны заканчивать имагинальное превращение (Sieber, Benz, 1980; Bogus, Cymborowski, 1981; Cymborowski и др., 1982). Двухчасовое охлаждение 0-дневных гусениц

VII возраста при 0 °С ингибировало активность эстераз ЮГ, в результате чего ненормально высокий титр ЮГ в присутствии гормонов линьки привел к ДЛЛ (Reddy и др., 1979; McCaleb, Krishna-Kumaran, 1980).

Суммированное двухдневное действие холода и голодания привели к образованию ДЛВ, для дальнейшего развития потребовался 24—30-часовой период питания (при 30 °С), что, очевидно, необходимо для восстановления активности эстераз ЮГ. Дополнительные линьки, индуцированные у *G. mellonella* условиями среды, имеют сходные черты со стационарными линьками, происходящими во время диапаузы у многих огневок *Pyrallidae*.

Главным физиологическим свойством экдизоидов является их способность искусственно вызывать протетелию и их действием стимулировать развитие эпидермальных клеток, а также индуцировать метаморфоз в диапаузирующих гусеницах и куколках (Slama и др., 1974). Однако в особых случаях экдизоиды оказывают аналогичный ювенилизирующий эффект как и ювеноиды. Обработка экдизоидом гусениц *G. mellonella* VII возраста вызывает полное сохранение личиночных признаков в ходе следующей линьки. Известно также, что инъекция экдизоидом в начале диапаузы *Chilo suppressalis* и *Diatraea grandiosella* вызывает нормальные стационарные линьки, характеризующие диапаузу этих видов (Yin, Chippendale, 1976; Chippendale, 1977; Chippendale, Yin, 1979).

Предполагаемый механизм индукции ДЛВ воздействием экдизоидов похож на механизм формирования ДЛЛ ювеноидами, так как в обоих случаях достигается совместное присутствие гормона линьки и ЮГ в начале VII возраста гусеницы. У 0-дневных гусениц *G. mellonella* последнего возраста в зависимости от дозы и гормональной активности препарата (экдизоида или ювеноида) формируются либо перфектные ДЛЛ, либо не следует морфогенетического ответа, и метаморфоз задерживается. Способность ювеноидов индуцировать ДЛЛ, вероятно, зависит от их персистенции в организме гусеницы и от способности оказывать проторакотропное действие.

Корреляция между введенной дозой АЮГ и процентом ДЛЛ отмечалась у *Ephestia cautella*, *Corcyra cephalonica* и *Tribolium castaneum*, причем сформировавшиеся ДЛЛ оказались перфектными и успешно прошли метаморфоз (Srivastava, Srivastava, 1983). Имеются также некоторые данные о зависимости индукции ДЛЛ от дозы гидропрена у гусениц *G. mellonella*, причем доза 0,01 мкг оказалась для этого недостаточной (Ciemioł и др., 1979).

Результаты настоящей работы не доказывают тесную корреляцию между данными ИД₅₀ по морфогенетическому биотесту и по биотесту индукции ДЛВ. Однако нет сомнения, что препараты с относительно высокой ЮГ-активностью (<0,1 мкг) по биотестам «тенебрию» и «галлерия» вызывали ДЛЛ у 50% гусениц — к таким относились препараты АЮГ-80А и *p*-этилфенил-6,7-эпоксигераниловый эфир (табл. 2). Для предварительной оценки ЮГ-активности большой группы препаратов достаточным оказалось применение одной единственной дозы (0,1 мкг/100 мг). Препараты, не способные индуцировать ДЛЛ даже у 20% особей одной серии, дальнейшего внимания не заслуживали, а с более активными целесообразно проводить обычные биотесты по морфогенетическим нарушениям.

Преимущество описанного нами метода испытания экдизоидов состоит в том, что он позволяет анализировать как ювеноиды, так и экдизоиды одним и тем же тест-объектом.

ЛИТЕРАТУРА

- Буров В. Н. Механизмы гормональной регуляции линьки и метаморфоза. — В кн.: Гормональная регуляция развития насекомых. Л., 1983, 44—63.
- Когерман А., Аммон К., Ранг К., Лээтс К. Синтез АЮГ. 2. Алкилирование замещенных фенолов хлористым геранилдиметилфениламмонием. — Изв. АН ЭССР. Хим., 1979, 28, № 4, 257—260.
- Лээтс К., Шмидт М., Каал Т., Куузик А., Вялимяэ Т. Синтез аналогов ювенильного гормона. 6. Получение и ювенильно-гормональная активность некоторых аминов, алкилированных 1-хлор-3-метил-5-алкокси-2-пентеном. — Изв. АН ЭССР. Хим., 1985, 34, № 3, 176—179.
- Abdel-Aal, Y. A. I. The effect of juvenile hormone analogue on the diapausing larvae of *Sesamia cretica* Led. (Lepidoptera, Noctuidae). — Inst. Pest Control, 1979, 21, N 3, 59—64.
- Beck, S. D. Growth and retrogression in larvae of *Tragoderma glabrum* (Coleoptera, Dermestidae). 2. Factors influencing pupation. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1971, 64, N 4, 946—949.
- Bogus, M. I., *Cymborowski, B.* Chilled *Galleria mellonella* larvae: mechanism of supernumerary moulting. — Physiol. Entomol., 1981, 6, N 4, 343—348.
- Chippendale, G. M. Hormonal regulation of larval diapause. — Ann. Rev. Entomol., 1977, 22, 121—138.
- Chippendale, G. M., Yin, C. M. Larval diapause of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*: further experiments examining its hormonal control. — J. Insect Physiol., 1979, 25, N 1, 53—58.
- Ciemior, K. E., Sehnal, F., Schneiderman, H. A. Moulting, growth and survival of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera, Pyralidae) treated with juvenoids. — Z. angew. Entomol., 1979, 88, N 4, 414—425.
- Cymborowski, B., Bogus, M., Beckage, N. E., Williams, C. M., Riddiford, L. M. Juvenile hormone titres and metabolism during starvation — induced supernumerary larval moulting of the tobacco hornworm, *Manduca sexta* L. — J. Insect Physiol., 1982, 28, N 2, 129—135.
- Hwang-Hsu, K., Reddy, G., Krisna-Kumaran, A. Correlation between juvenile hormone esterase activity, ecdysone titre and cellular reprogramming in *Galleria mellonella*. — J. Insect Physiol., 1979, 25, N 1, 105—111.
- Maroy, P., Tarnoy, K. Moulting hormone during the last instar of *Galleria mellonella* larvae. — J. Insect Physiol., 1978, 24, N 3, 327.
- McCaleb, D. C., Krisna-Kumaran, A. Control of juvenile hormone esterase activity in *Galleria mellonella* larvae. — J. Insect Physiol., 1980, 26, N 1, 171—177.
- Piepho, H. Untersuchungen zur Entwicklungsphysiologie der Insektenmetamorphose über die Puppenhäutung der Wachsmotte *Galleria mellonella*. — Arch. Entwickl. — Mech. Org., 1942, 141, 367—393.
- Reddy, G., Hwang-Hsu, K., Krisna-Kumaran, A. Factors influencing juvenile hormone esterase activity in the wax moth *Galleria mellonella*. — J. Insect Physiol., 1979, 25, N 1, 65—71.
- Schneiderman, H. A. The strategy of controlling insect pests with growth regulators. — Mitteil. Schweizerischen Entomol. Gesellschaft., 1971, 44, N 1—2, 141—149.
- Sehnal, F. Kritisches Studium der Bionomie und Biometrik der in verschiedenen Lebensbedingungen gezüchteten Wachsmotte, *Galleria mellonella* L. — Ztschr. Wissenschaftl. Zool., 1966, 174, 53—83.
- Sehnal, F., Schneiderman, H. A. Action of the corpora allata and of juvenilizing substances on the larval — pupal transformation of *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera). — Acta ent. bohemoslov., 1973, 70, N 5, 289—302.
- Sieber, R., Benz, G. The hormonal regulation of the larval diapause in the codling moth *Laspeyresia pomonella* (Lepidoptera, Tortricidae). — J. Insect Physiol., 1980, 26, N 8, 579—584.
- Slama, K. Some old concepts and new findings on hormonal control of insect morphogenesis. — J. Insect Physiol., 1975, 21, 921—935.
- Slama, K., Romanuk, M., Sorm, F. Insect Hormones and Bioanalogues. Wien—New York, 1974.
- Srivastava, U. S., Srivastava, R. C. Juvenoid — induced supernumerary larval instars certain stored grain insects. — Proc. Indian Acad. Sci. (Animal Sci.), 1983, 92, N 3, 263—276.
- Yin, C. M., Chippendale, G. M. Hormonal control of larval diapause and metamorphosis of the southwestern corn borer *Diatraea grandiosella*. — J. Exp. Biol., 1976, 54, N 2, 303—310.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
29/XII 1985

Институт химии
Академии наук Эстонской ССР

Aare KUUSIK, Luule METSPALU, Külli HIIESAAR,
Tiit KAAL, Oie HALDRE, Evi PIHU, Enok SEIN

VASTSE LISAKASVUJÄRGU ESILEKUTSUMINE VAHALEEDIKUL (*GALLERIA MELLONELLA*) JUVENOIDIDE JA EKDISOIDIDE ABIL NENDE BIOAKTIIVSUSE MÄÄRAMISEKS

Suure vahaleediku (*Galleria mellonella*) viimase (VII) kasvujärgu 3—20 tunni vanuste röövikute mõjutamine juvenoidide ja ekdisteroididega kutsus esile perfektsed lisakestumised (LK) ja lisakasvujärgu, kusjuures LK läbiteinud röövikute protsent sõltus preparaadi hormonaalse aktiivsuse tasemest ja doosist. Katsetatud 7 preparaadist osutusid kõige aktiivsemaks LK indutseerijaks JHA-80A ja p-kloorfenüül-6,7-epoksügeranüüleeter, millised formeerisid LK 50% isendeist 0,05 µg doosiga ($ID_{50}=0,05$). LK induktsiooni järgi oli võimalik suhteliselt kiiresti kindlaks teha kõrge juvenoidse toimega ühendid ($ID_{50}>0,1$).

Ekdisterooniga manustamine andis analoogilisi tulemusi, kusjuures preparaadi süstitimisel oli ID_{50LK} tunduvalt väiksem kui pindmisel manustamisel.

LK indutseerimise eeldatav hormonaalne mehhanism juvenoidide puhul seisneb nende võimes avaldada protorakotroopset toimet, mille tagajärjel protorakaalnäärmed eritavad enneaegselt ekdisooni (kestumishormooni). Ekdisteroidide manustamisel saavutatakse juveniilhormooni ja kestumishormooni üheaegne sisaldus hemolümfis VII kasvujärgu algul, mille tagajärjeks ongi LK.

Aare KUUSIK, Luule METSPALU, Külli HIIESAAR,
Tiit KAAL, Oie HALDRE, Evi PIHU, Enok SEIN

INDUCTION OF SUPERLARVAE OF *GALLERIA MELLONELLA* BY JUVENOIDS AND ECDYSOIDS AS A BASIS FOR THEIR BIOLOGICAL ASSAYS

Galleria mellonella was reared on standard artificial diet at 30°C and in constant darkness. One-day-old last instar larvae were topically treated with diverse doses of seven compounds of different hormonal activity. Each experimental group consisted of 20—25 insects.

The production of perfect supernumerary larval moults (slm) by juvenoid treatment represents the most categorical juvenilizing effect in *G. mellonella*. Induction of slm by juvenoids is accompanied by an acceleration of moulting; however, the low doses of the juvenoid, failing to evoke a morphological effect, cause a prolongation of the last larval instar.

Only the early part (0-day old larvae) of the life of the last larval instar was sensitive to juvenoid action inducing perfect slm. Larval-pupal intermediates were not produced even when larger doses had been given to 0-day-old larvae (at 3—20 hrs). Treatments causing a development of perfect superlarva typically induced precocious moulting which was assumed as a prothoracotropic effect of the juvenoids. The perfect supernumerary instar larvae fed normally show a complete metamorphosis and produce pupae and adults.

The production of perfect supernumerary larvae depends on the dose; and namely it took place when the application of the juvenoid was performed within 3 hrs and 30 hrs. Juvenoids were applied topically in a 1 µl drop of ethanol. In the topical treatment the threshold dose for the production of perfect slm is only 0.001 µg of the juvenoid (JHA-80A) when 20% of 0-day-old larvae show that effect, while 50% of larvae of the same age show slm with 0.05 µg of the juvenoid.

Ecdysterone was injected into the body cavity in 0.5 µl of 10% ethanol water solution in an amount of 5 µg/100 mmg. The injection of ecdysterone produced juvenile hormone-like effects, when the treatments were made just after the last larval ecdysis (at 3—20 hrs). The injection of 0.01 µg ecdysterone yields perfect slm in 30% of cases and 90% with 1 µg. In topical treatment the threshold dose for the production of perfect slm was 0,1 µg, with 15% of 0-day-old larvae showing that effect.