

Лууле МЕТСПАЛУ

ПРЕКРАЩЕНИЕ КУКОЛОЧНОЙ ДИАПАУЗЫ У КАПУСТНОЙ БЕЛЯНКИ ВОЗДЕЙСТВИЕМ ЮВЕНОИДА

Разработка методов гормональной борьбы с вредными насекомыми не мыслима без фундаментальных исследований гормональной регуляции развития насекомых. Важное теоретическое и практическое значение имеет выяснение взаимодействия гормонов и физиологического механизма действия аналогов ювенильного гормона (АЮГ). Много неясного остается еще в гормональном балансе куколочной стадии чешуекрылых. Поскольку причиной диапаузы является блокирование секреции головного мозга или т. н. активационного гормона, который активирует проторакальные железы, то диапаузу можно прекратить введением экзогенного экдизона. Имеется немало данных о том, что диапаузу у куколок можно либо ослабить, либо вообще прекратить экдизоном и экдизоноидами (Williams, 1954, 1958; Hsiao и др., 1969). Подобные опыты проводились с использованием фитоэкдизоноидов (Williams, 1968; Fraenkel и др., 1968 и т. д.). Из литературы известно, что диапаузу *Philosamia cynthia* и *Hyalophora cecropia* можно прекратить имплантацией активных прилежащих тел (*corpora allata*) или путем использования натурального ЮГ. Инъекция цекропного масла всегда прекращала диапаузу (Gilbert и др., 1959). Доказано, что причиной реактивации насекомых не была стимуляция желез головного мозга, выделяющих так наз. активационный гормон, активирующий другие гормональные центры, ибо такой же эффект получен и у обезглавленных особей. ЮГ активирует проторакальные железы непосредственно. Отсутствие его обуславливает дегенерацию проторакальных желез в начальной стадии развития имаго (Gilbert, 1964).

Интересно отметить, что в новых сводках по гормонам насекомых (Novak, 1975) даже не упоминается возможная роль ювенильного гормона как стимулятора проторакальных желез. Следует также отметить, что ювеноидами не удалось прекратить куколочную диапаузу у мясных мух (*Sarcophaga* sp.) (Zdarek и др., 1975; Fraenkel и др., 1968).

Настоящее исследование посвящено изучению возможности прекращения у насекомых диапаузы с помощью АЮГ. Влияние ювеноидов на куколки капустной белянки было выяснено на разных этапах диапаузы их в 1977—1978 гг. Широко используемым критерием оценки глубины диапаузы служит степень подавления дыхания во время перехода от активного развития в состояние покоя. Потребление кислорода у диапаузирующих куколок капустницы уменьшается в 5—6 раз и удерживается на низком уровне в течение всей диапаузы. Учитывая как литературные (Меривэз, 1972), так и наши экспериментальные данные,

порогом между развивающимися и диапаузирующими куколками капустной белянки можно считать примерно $150\text{--}200 \text{ мм}^3\text{O}_2$ на 1 г веса в час. По изменениям уровня дыхания у куколок, обработанных ювеноидами, можно судить о реактивирующем действии препарата.

Методика

Уровень дыхания у куколок был определен с помощью самопишущего электролитического микрореспирометра (Куузик, 1977). Измерялось количество потребляемого кислорода в 1 мм^3 на 1 г сырого веса за час при температуре 20°C ($\text{мм}^3\text{O}_2/\text{г}/\text{ч}$). По окончании опыта все куколки анализировались для определения их состояния (началось ли развитие, степень развития, отклонения в развитии и т. д.). Куколки были обработаны однократно в начале опыта, предварительно определив интенсивность дыхания у них. Обработку проводили двумя способами: контактно, т. е. путем поверхностной обработки, и путем инъекции препарата. В качестве ювеноедов использовались ЮГ-74 (парахлорфенилгераниловый эфир) и микстура Лоу-Виллиамса (дигидрохлорид этилового эфира фарнезиловой кислоты), разбавленные в ацетоне или в подсолнечном масле. Каждую куколку обрабатывали дозой 1 или 2 $\mu\text{л}$ раствора препарата в концентрации $1/5$, $1/10$, $1/50$ и $1/100$. В контроле куколки обрабатывались таким же количеством чистого ацетона или подсолнечного масла.

Результаты и их обсуждение

В первом цикле опытов куколкам капустной белянки для задержания их развития не давали пройти холодовой закладки. У куколок, не прошедших холодовой реактивации, глубокая диапауза продолжается длительное время даже в условиях комнатной температуры. У них особенно четко проявляется влияние искусственной реактивации экзогенным ЮГ. Через месяц после окукливания все куколки (23/XI) находились в глубокой диапаузе, о чем свидетельствовал низкий уровень дыхания ($50\text{--}60 \text{ мм}^3\text{O}_2/\text{г}/\text{ч}$) (рис. 1). У куколок, обработанных АЮГ (ЮГ-74), уровень дыхания поднялся во всех вариантах опыта, но максимальный эффект отмечен в пятом варианте (инъекция 2 $\mu\text{л}$ ЮГ-74; концентрация $1/10$). В этом варианте уровень дыхания у куколок возрос за две недели в 7 раз по сравнению с таковым в контроле. Таким образом, диапауза была резко прервана и биосинтез возобновлен. В ходе гистогенеза имагинальные ткани образовались в течение 13 дней, метаморфоз не проходил до конца и имаго не появлялось. После искусственного отделения экзuvia было обнаружено фатальное имаго. В опытах с куколками *Hyalophora cecropia* (Schneiderman и др., 1958) инъекция экстракта ЮГ вызывала превращение их во вторичную куколку. В этом случае инъекция была сделана непосредственно перед имагинальным

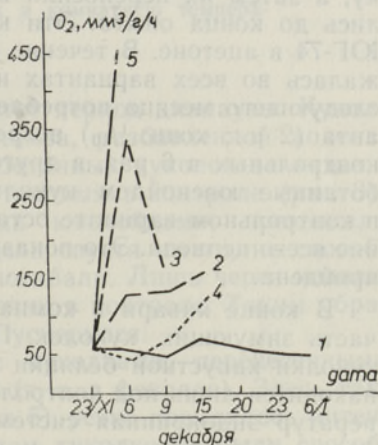


Рис. 1. Дыхание куколок, не прошедших холодовой реактивации.

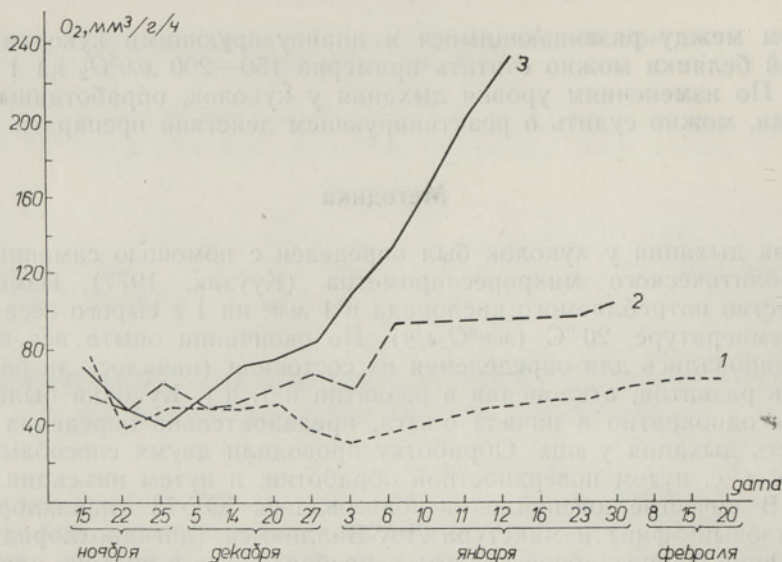


Рис. 2. Дыхание куколок, хранившихся в течение одного месяца после окукления в условиях внешней среды.

развитием куколки, т. е. перед гистогенезом. Таким образом, вместо имагинальных покровов были образованы куколочные покровы.

В наших опытах, где инъекция АЮГ была проведена во время глубокой диапаузы на 30 день после окукления, результаты были иными. Отложены были имагинальные покровы, но экдизис не смог пройти нормально. В третьем варианте (рис. 1), в котором куколкам инъектировали в таком же количестве АЮГ концентрацией $1/100$, интенсивность дыхания возросла в 5 раз. Во втором и четвертом вариантах куколки обрабатывались поверхностно, и уровень дыхания у них повышался в течение 3 недель почти в 2 раза; куколки погибали в течение одного месяца. В контрольном варианте интенсивность дыхания держалась до конца опыта на одинаково низком уровне.

Во втором цикле опытов куколки содержались в течение одного месяца в условиях внешней среды, где они проходили холодную закалку, а затем их переносили в комнатную температуру, где они находились до конца опыта. Эти куколки обрабатывались также ювенойдом ЮГ-74 в ацетоне. В течение одного месяца интенсивность дыхания держалась во всех вариантах на одинаковом уровне (рис. 2). В течение следующего месяца потребление кислорода у куколок четвертого варианта (2 μ л; конц. $1/10$) возросло по сравнению с потреблением его у контрольных в 6 раз, в других вариантах — примерно в 2 раза. Обработанные ювенойдом куколки погибли. Уровень дыхания у куколок в контрольном варианте оставался на одинаково низком уровне в течение всего периода. Это показывает, что в декабре диапауза не была еще пройдена.

В конце января в комнатную температуру переносили следующую часть зимующих куколок. По данным литературы к этому времени куколки капустной белянки уже реактивированы, и развитие насекомых находится лишь под контролем температуры, так как из-за низких температур эндокринная система держится в неактивном состоянии. Мы

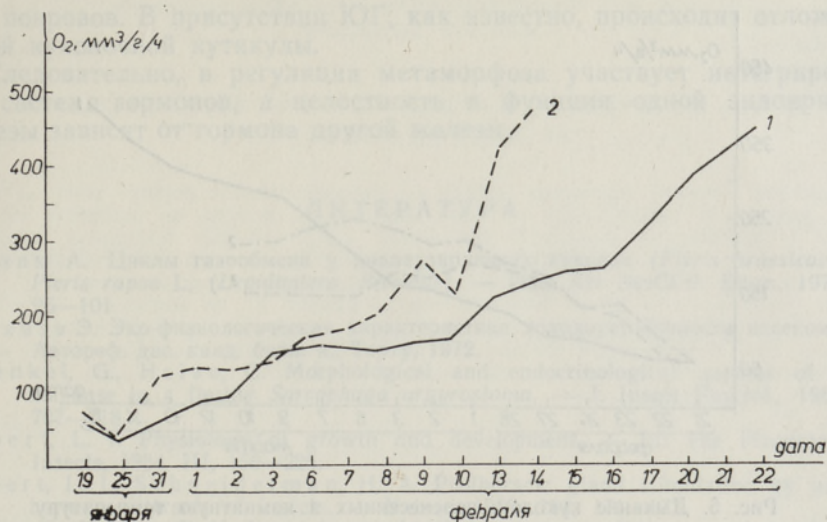


Рис. 3. Дыхание куколок, перенесенных в комнатную температуру в конце января.

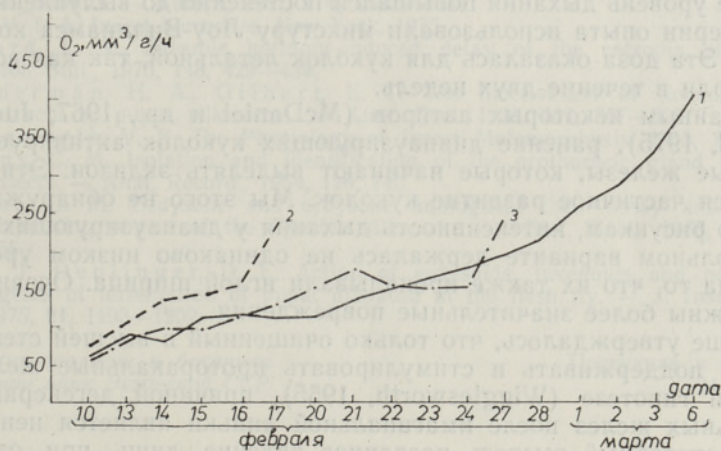


Рис. 4. Дыхание куколок, перенесенных в комнатную температуру в феврале.

изучали влияние ювеноида на куколок в этот период диапаузы. Куколки обрабатывались микстурой Лоу-Виллиамса, разбавленной подсолнечным маслом. Уровень дыхания у обработанных куколок за неделю возрос примерно в 3 раза по сравнению с таковым в контроле (рис. 3). Скорость развития куколок, обработанных ювеноидами, превышала значительно таковую в контроле. Три недели спустя имаго, не способные избавиться от куколочной оболочки, погибли. Лишь через неделю после этого вылуплялись нормальные бабочки в контроле. Таким образом, под действием ювеноидов метаморфоз ускорился.

Аналогичные результаты получены с куколками, перенесенными в комнатную температуру на месяц позже (т. е. в феврале). Здесь также в первые дни после обработки (рис. 4 и 5) резко повысилась интенсивность дыхания. Обработанные ювеноидом куколки не были способ-

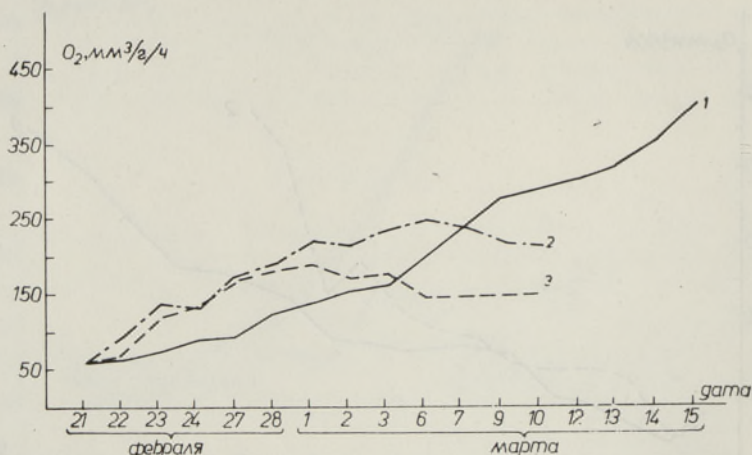


Рис. 5. Дыхание куколок, перенесенных в комнатную температуру в конце февраля.

ны развиваться до конца и погибали, в то время как в контрольном варианте уровень дыхания повышался постепенно до вылупления имаго. В этой серии опыта использовали микстуру Лоу-Виллиамса концентрацией $1/5$. Эта доза оказалась для куколок летальной, так как все куколки вымерли в течение двух недель.

По данным некоторых авторов (McDaniel и др., 1967; Judy, 1972; Riddiford, 1975), ранение диапаузирующих куколок активирует проторакальные железы, которые начинают выделять экдизон. Этим сопровождается частичное развитие куколок. Мы этого не обнаружили. Как видно по рисункам, интенсивность дыхания у диапаузирующих куколок в контрольном варианте держалась на одинаково низком уровне, несмотря на то, что их также прокалывали иглой шприца. Очевидно, для этого нужны более значительные повреждения.

Раньше утверждалось, что только очищенный в высшей степени ЮГ способен поддерживать и стимулировать проторакальные железы. По известной гипотезе (Wigglesworth, 1955), причиной дегенерации проторакальных желез после имагинальной линьки является неизвестный фактор, способный вызвать названное явление лишь при отсутствии ЮГ. Л. И. Джилберт (Gilbert, 1954) предполагал, что этим фактором и является ЮГ. Причиной куколочной диапаузы считается инактивация нейросекреторных клеток мозга, в результате чего проторакальные железы остаются неактивными: в гемолимфе отсутствует экдизон. Искусственным введением экдизона можно прекратить диапаузу (Williams, 1954, 1968; Hsiao и др., 1969). Мозг не играет большой роли в устранении куколочной диапаузы под действием ЮГ. Предполагается, что увеличение проторакотропной активности мозга обусловлено экдизоном из проторакальных желез, активируемых АЮГ. Таким образом, с одной стороны, экдизон препятствует наступлению диапаузы, а с другой, активирует мозг, который выделяет проторакотропный гормон, дополнительно стимулирующий проторакальные железы.

Из наших опытов следует, что ювенойд также способен ослаблять или прекращать диапаузу. Таким образом, ювенойд как функциональный АЮГ стимулирует проторакальные железы перед гистогенезом, вызывая развитие имагинальных тканей. Позже ювенойд, очевидно, исчезает или распадается, о чем свидетельствует отложение имагиналь-

ных покровов. В присутствии ЮГ, как известно, происходит отложение новой куколочной кутикулы.

Следовательно, в регуляции метаморфоза участвует интегрированная система гормонов, а целостность и функция одной эндокринной железы зависят от гормона другой железы.

ЛИТЕРАТУРА

- Куузик А. Циклы газообмена у диапаузирующих куколок (*Pieris brassicae* L. и *Pieris rapae* L. (Lepidoptera, Pieridae). — Изв. АН ЭССР. Биол., 1977, **26**, 96—101.
- Меривээ Э. Эко-физиологическая характеристика холодоустойчивости насекомых. — Автореф. дис. канд. биол. н., Тарту, 1972.
- Fraenkel, G., Hsiao, C. Morphological and endocrinological aspects of pupal diapause in a fleshly *Sarcophaga argyrostoma*. — J. Insect Physiol., 1968, **17**, 707—718.
- Gilbert, L. I. Physiology of growth and development. — In: The Physiology of Insects, 1964, III, 150—225.
- Gilbert, L. I., Schneiderman, H. A. Prothoracic gland stimulation by juvenile hormone extracts of insects. — Nature, 1959, **184**, 171—173.
- Hsiao, C., Hsiao, T. H. Insect hormones: their effects on diapause and development of *Hymenoptera*. — Life Sci., 1969, **8**, 767—774.
- Judy, K. J. Diapause termination and metamorphosis in brainless tobacco hornworms (*Lepidoptera*). — Life Sci., 1972, **11**, 605—611.
- McDaniel, C. N., Berry, S. J. Activation of the prothoracic glands of *Antheraea polyphemus*. — Nature, 1967, **214**, 1032—1034.
- Novak, V. I. A. Insect hormones. New York, 1975.
- Riddiford, L. M. Juvenile hormone-induced delay of the cecropia silkworm. — Biol. Bull., 1975, **148**, 429—439.
- Schneiderman, H. A., Gilbert, L. T. The inactivation of juvenile hormone extracts by pupae silkworms. — Anat. Rec., 1958, **131**, 557—558.
- Wigglesworth, V. B. The Physiology of Insect Metamorphosis. 1955, 1—152.
- Williams, C. M. Isolation and identification of the prothoracic gland hormone of insects. — Anat. Record., 1954, **120**, 743.
- Williams, C. M. Ecdysone and ecdysone analogues: their assay and action on diapausing pupae of the *Cynthia* silkworm. — Biol. Bull., 1968, **134**, 344—355.
- Zdarek, J., Denlinger, D. L. Action of ecdysoids, juvenoids and non-hormonal agents of termination of pupal diapause in the flesh fly. — J. Insect Physiol., 1975, **21**, 1193—1202.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
24/XII 1979

Luule METSPALU

SUURE KAPSALIBLIKA NUKKUDE DIAPAUSI KATKESTAMINE JUVENOIDIDE ABIL

Laboratooriumitingimustes ei hakka suure kapsaliblika *Pieris brassicae* L. diapausis nukud arenema, sest reaktiviseerumiseks peavad nad läbi tegema külmakarastuse madalatel plusstemperatuuridel. Artiklis kirjeldatud katsetes katkestati osa nukkude diapaus külmakarastust andmata, töödeldes neid juveniilhormooni analoogide parakloorfenüülgeranüületri (JH-74) ja Loy-Williamsi mikstuuriga. Nende nukkude areng käivitus, kuid paari nädala pärast faraatvalmikud surid, suutmata vabaneda nukukestast. Teist osa nukke töödeldi juvenoididega pärast külmakarastust. Nende areng oli kontrollgrupi omaga võrreldes kuni kahe nädala võrra kiirem.

Luule METSPALU

ACTION OF JUVENIDS ON TERMINATION OF PUPAL DIAPAUSE
IN *PIERIS BRASSICAE* L.

The juvenile hormone analogues (JHA — parachlorophenyl geranyl ether (JH-74)) and a mixture of Loy-Williams — were dissolved in acetone or sunflower oil and injected or superficially applied to the dorsal region of the diapausing pupae of *Pieris brassicae*. Oxygen consumption was automatically recorded with an electrolytical respirometer. The control insects were treated with corresponding solvents.

The pupal diapause of *P. brassicae* was terminated by an application of juvenile hormone analogues. The pupae underwent some adult development following JHA treatment. The treated pupae reached the pharate adult stage but died within a few days before emergence. Moreover, the application of JHA shortened the duration of the diapause of those pupae who were reactivated.