

О НАЛИЧИИ ПОЛОВОГО ФЕРОМОНА У ИКСОДОВОГО КЛЕЩА NYALOMMA ASIATICUM (IXODIDAE)

С. А. Леонович

Зоологический институт АН СССР, Ленинград

В различных поведенческих опытах показано наличие летучего привлекающего фактора, выделяемого питающимися самками клещей, аттрактивного для питающихся самцов и оцениваемого как половой феромон. Самки начинают выделять феромон по достижении в процессе питания веса 0.07 г. Голодные клещи привлекающих факторов не выделяют и не реагируют на феромон питающихся самок. При заклеивке выводных отверстий протоков фовеальных желез аттрактивность самок исчезает и полностью восстанавливается при удалении воска с fovea. Фовеальные железы, таким образом, являются наиболее вероятными источниками полового феромона, подобно тому, как это имеет место у клещей рода *Dermacentor* (Sonenshine а. о., 1977).

Начиная с момента обнаружения феромонов у иксодойдных клещей (Berger а. о., 1971; Gladney а. о., 1971, 1974; Leahy а. о., 1973, и др. последующие работы), поток публикаций, посвященных изучению этого явления, возрастает, что объясняется потенциальными возможностями использования феромонов для контроля численности клещей — переносчиков опасных заболеваний.¹ Вместе с тем эта сложная проблема находится пока на этапе становления, поэтому исследования большего числа родов и видов в данном отношении совершенно необходимы. Предлагаемая работа посвящена выявлению связей феромонного характера у представителя не изученного в указанном аспекте рода *Nyalomma* — *N. asiaticum* P. Sch. et E. Schl.

К настоящему времени для ряда видов амблиоммин достоверно показано наличие полового феромона (феромонов), вырабатываемого самками в процессе питания и привлекающего только питающихся самцов (Berger а. о., 1971; Sonenshine а. о., 1974; Chow а. о., 1972, и др. работы). Эти сведения охватывают представителей 4 родов амблиоммин: *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Boophilus* и *Rhipicephalus*. Для некоторых видов указанный феромон идентифицирован как 2-6-дихлорфенол (Berger, 1972; Chow а. о., 1975; Sonenshine а. о., 1976) или же как смесь фенольных производных — фенола, паракрезол и салицилальдегида (Wood а. о., 1975). Продуцирование полового феромона у клещей *Dermacentor variabilis* и *D. andersoni* связывается с особыми фовеальными железами, выводные отверстия протоков которых открываются в так называемые фовеальные ямки (fovea dorsales), расположенные на идиосоме клещей (Sonenshine а. о., 1974, 1977). Кроме того, для двух видов *Amblyomma* показано наличие феромона скопления, вырабатываемого самцами в процессе питания и обеспечивающего привлечение голодных особей обоего пола и нимф к питающимся самцам, причем действие этого феромона, в отличие от полового, строго видоспе-

¹ Основные сведения по феромонам иксодойд можно найти в краткой сводке, составленной Леоновичем (1979).

цифично (Gladney а. о., 1974; Rechav а. о., 1977а, и др. работы тех же авторов). У *A. hebraeum* самки вообще не способны начать питание на прокормителе в отсутствие прикрепившихся питающихся самцов (Rechav, 1978b).

Какие-либо сведения о феромонных связях у представителей рода *Hyalomma* в литературе отсутствуют. Правда, 2—6-дихлорфенол был выделен из самок *H. truncatum*, но никаких опытов по привлечению на это вещество проведено не было (Wood а. о., 1975). Поэтому представлялось интересным исследовать поведенческие реакции клещей *H. asiaticum* в плане возможного выявления феромонных связей, а также проверить роль фовеальных желез в продуцировании полового феромона у клещей указанного вида.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовались голодные и питавшиеся самки и самцы клещей из лабораторной культуры, все в возрасте 13 мес. Кормление проводилось на кроliках, самцы и самки питались отдельно. После снятия с кроliков клещи взвешивались. Всего в опытах было использовано 94 питавшихся клеща (58 самок и 36 самцов), часть из них питалась 6 суток, часть — 18 суток, а также 80 голодных клещей (40 самок и 40 самцов). В каждой из повторностей проведенных экспериментов число клещей в опыте составляло 10, 20 или 30 особей (в разных опытах), число повторностей каждого опыта — 5 и более.

Мы применили следующие основные поведенческие методы: 1) исследование в ольфактометре; 2) реакции в чашках Петри по методу Лихи с соавт. (Leahy а. о., 1973); 3) непосредственные наблюдения за поведением клещей в чашках Петри при помещении в последние того или иного тестового объекта. Температура в ходе опытов составляла 20—23° С, влажность и освещенность не измерялись.

Изготовленный ольфактометр включал системы подачи и очистки воздуха, а также основную камеру, в которую помещались испытуемые животные. Воздух подавался аквариумным микрокомпрессором в воздушный резервуар, снабженный кранами, позволявшими регулировать поток, затем проходил через фильтры с активированным углем и разделялся надвое. Контроль за точностью разделения потока осуществлялся визуально, при прохождении воздуха через колбы с водой. Одинаковая длина и диаметр стеклянных трубочек, по которым проходил воздух, и одинаковый уровень жидкости в колбах позволяли легко уравнивать потоки при помощи кранов, наблюдая медленно выходящие из опущенных в колбы трубочек пузырьки воздуха. Потоки воздуха уменьшались до такой степени, чтобы создавать лишь легкое избыточное давление в камере ольфактометра. Плексигласовая камера прямоугольного основания 22×10×4 см была разделена на 3 отсека перегородками, позволявшими клещам свободно перемещаться по всей камере: по дну или по прозрачной съемной крышке. В центральный отсек через вклеенную в крышку трубку вводились испытуемые клещи, в два крайних отсека помещались невысокие стеклянные бюксы диаметром 4 см, затянутые плотным газом. В один из бюксов помещались клещи, реакция на которых исследовалась, другой (контрольный) оставался пустым. Предварительное изучение распределения голодных клещей обоего пола в ольфактометре с пустыми бюксами показало, что оно близко к равномерному, при повторностях не менее 5. Строго над центром камеры был закреплен источник света. В ольфактометре изучались реакции: голодных самцов и самок на питавшихся и голодных самцов и самок; питавшихся самцов и самок на голодных и питавшихся самцов и самок.

Реакции в чашках Петри проводились следующим образом: каждая чашка диаметром 9 см разделялась на 4 сектора (линии наносились тушью на дно снаружи чашки). В каждый сектор помещался кружок

фильтровальной бумаги диаметром 1.5 см. Один из кружков обрабатывался испытуемым агентом, остальные оставались чистыми. По привлечению клещей к опытному кружку судили о реакции на данный агент. Предварительные опыты показали распределение голодных клещей близкое к нормальному при использовании только чистых кружков. Этим методом изучались реакции питавшихся самцов на гомогенат питавшихся самок и на секрет их дермальных желез.

Наблюдения за поведением клещей в чашке Петри проводились с целью уточнения источника феромона по методу Зоненшайна с соавт. (Sonenshine a. o., 1974). При этом тот или иной участок тела аттрактивной самки залеплялся пчелиным воском, который, в отличие от других доступных автору клеев и лаков, практически не создавал отпугивающего эффекта и легко удалялся с кутикулы при необходимости. О наличии привлекающего фактора судили по наползанию самцов на самку (см. ниже).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Голодные особи обоего пола совершенно не привлекательны ни друг для друга, ни для питавшихся самцов и самок. Во всех вариантах ольфактометрических исследований реакций на голодных самцов и самок все разновидности испытуемых клещей не демонстрировали достоверных различий в распределении по камере ольфактометра.

Способность самцов и самок хиаломм к разделению питания, хорошо известная и ранее, косвенно подтверждает отсутствие у них феромона скопления, по крайней мере в столь крайне выраженной форме, как это имеет место у некоторых амблиомм, когда самки не способны к питанию в отсутствие самцов (Rechav, 1978b). Исследование реакций на самцов, питавшихся 6 и 18 суток, показало, что голодные клещи обоего пола, равно как и питавшиеся самцы распределяются в ольфактометре идентично распределению в отсутствие стимула. Интересной представляется обнаруженная реакция питавшихся самцов друг на друга: помещенные в ольфактометр или чашку Петри, они сразу же образуют клубок, наползая друг на друга и сцепляясь, и этот клубок сохраняется примерно от 3 до 8 мин. Особенно ярко указанная реакция проявляется при легком нагревании самцов под лампой. Постепенно при комнатной температуре клубок разваливается и клещи расползаются. Однако при благоприятной температуре клубок сохраняется долго (40 и более минут). Голодные клещи обоего пола, а также питавшиеся самки подобной реакции не обнаруживали.

В опытах с привлечением к питавшимся самкам мы обнаружили действие привлекающего фактора, оцениваемого как половой феромон (табл. 1). Однако здесь целесообразно сделать одно замечание. Во всех

Т а б л и ц а 1
Распределение клещей *H. asiaticum* в ольфактометре
при реакции на 20 питавшихся самок

	Отсек с бюксом с питавшимися самками	Центральный отсек (место впуска клещей)	Контрольный отсек (с пустым бюксом)
Питавшиеся самцы (6 суток)	19.2±0.5 ¹	0.6±0.4	0.2±0.2
Голодные самцы	5.2±0.5 ²	8.8±1.8	6.0±1.4
Голодные самки	7.2±0.6 ²	6.4±0.8	6.4±1.2

П р и м е ч а н и е. ¹ Все на бюксе с самками, ² ни одного на бюксе с самками. Число клещей в каждой из повторностей — 20, число повторностей для каждой серии опытов — 5. Вес самок от 0.17 до 1.4 г.

работах, посвященных выявлению феромонных связей у амблиоммин, питавшиеся самки разделяются по срокам питания, и именно в зависимость

от этих сроков ставится продуцирование феромона. Вместе с тем самки насыщаются более менее равномерно лишь в первые дни питания, а затем начинают сильно различаться по весу и размерам. Так, в наших опытах на 18-й день питания из 28 самок примерно половину составляли особи весом порядка 0.5—0.8 г, а общее соотношение весов колебалось в пределах 0.05—1.4 г. Продуцирование привлекающего фактора зависело именно от веса, иными словами: от определенного физиологического состояния, достигнутого самкой в процессе питания. Самки продуцировали привлекающий фактор лишь при условии, что их вес превышал 0.07 г, вне зависимости от того, 6 или 18 суток данная самка находилась на кролике в присосавшемся состоянии. Поэтому, на наш взгляд, целесообразнее разделять самок на группы именно по весу, а не по дням питания (5, 6, 7 и т. д. до 14 суток), как это делается до сих пор (Sonenshine а. о., 1974, и др. работы).

Реакция питавшихся самцов на аттрактивных самок в чашке Петри заключалась в том, что уже через 3—5 мин после посадки самки практически все самцы наползали на нее (табл. 2). При заклейте идиосомы или гнатосомы реакция самцов не менялась, в то время как при заклейте фовеальных ямок почти совсем исчезала (имелись лишь случайные контакты в единичных случаях) и полностью восстанавливалась после удаления воска (табл. 2). Интересно, что реакция исчезала и восстанавливалась.

Т а б л и ц а 2

Реакции активных (питание 6 суток) самцов на самок веса 0.5—0.8 г в чашке Петри при заклейте фовеальных ямок воском

Контроль (нормальные самки)	Заклейка идиосомы, кроме фовеальных ямок	Заклейка гнатосомы	Заклейка фовеальных ямок	Удаление воска с фовеальных ямок
9.4±0.2	9.0±0.3	9.4±0.2	0.4±0.2	8.6±0.8

Пр и м е ч а н и е. Число самцов в каждом опыте — 10, число повторностей каждого эксперимента — 6.

при многократном нанесении и последующем удалении воска с fovea у одной и той же самки.

Опыты в разделенной на сектора чашке Петри показали отсутствие привлекательности секрета дермальных желез питавшихся самок. Секрет, выступавший на поверхность кутикулы самок при надавливании, собирался на диски фильтровальной бумаги.

Не удалось нам также показать привлекающее действие гомогенатов аттрактивных самок для активных (питавшихся) самцов. Это, по нашему мнению, может быть связано с быстрым улетучиванием привлекающего фактора после гибели самок, а оставшихся следов феромона, видимо, недостаточно для привлечения самцов. Выраженная реакция на гомогенаты аттрактивных самок показана лишь при использовании нескольких тысяч клещей (Berger а. о., 1971, и др. работы), в то время как в наших работах использовалось не более десятка особей. В то же время на единственную, но живую самку, помещенную в чашку Петри в непрозрачной капсуле, проницаемой для запахов, самцы реагируют быстро, активно наползая на капсулу.

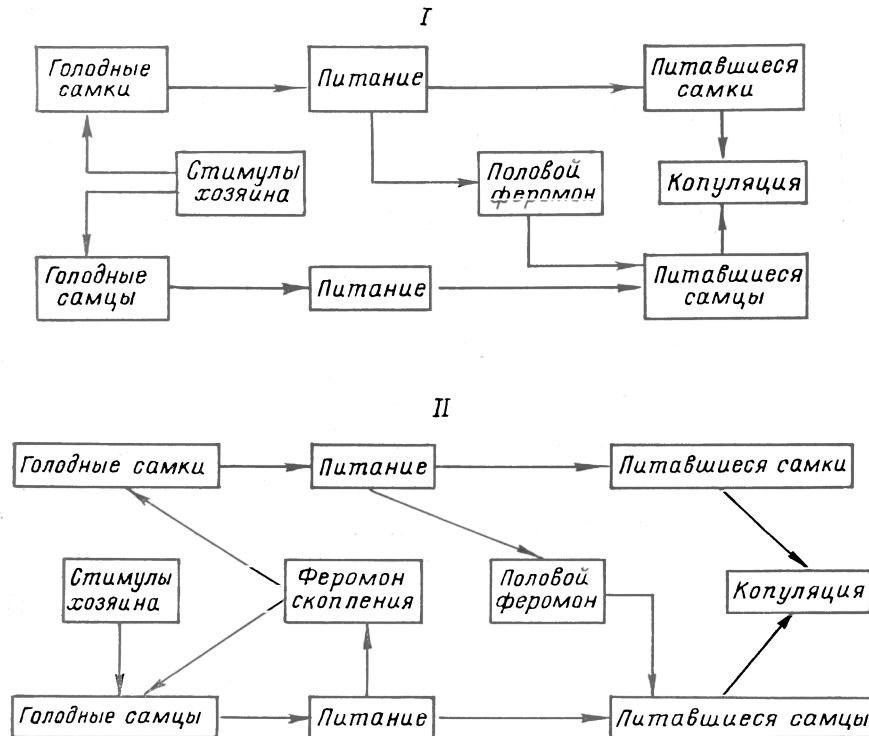
Способность самок к выделению полового феромона, равно как и способность питавшихся самцов к реакции на феромон, сохранялись вплоть до 20-го дня после снятия с кролика.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные показали, что представитель хиаломм, одного из молодых в эволюционном отношении родов амблиоммин, так же как и представители некоторых других изученных родов подсемейства, характе-

ризуется выработкой на определенной стадии питания вещества (веществ) феромонной природы, действующего как половой феромон-аттрактант, причем и способность самцов к реакции на феромон возникает также лишь в процессе кровососания.

Давно известно, что способность самцов и самок амблиоммин к спариванию находится в тесной зависимости от степени насыщения, т. е. в конечном итоге от процессов спермато- и овогенеза, которые у клещей-амблиоммин завершаются лишь в процессе кровососания (Балашов, 1967). Очевидным является предположение о существовании каких-либо факторов, сигнализирующих о готовности (или потенциальной готовности)



Два типа участия феромонов в поведении изученных видов клещей-амблиоммин (объяснения в тексте).

самки к спариванию в условиях наибольшей вероятности дальнейшего успешного оплодотворения и развития яиц. Таким сигналом и служит, видимо, вырабатываемый самками половой феромон, продуцирование которого также тесно скоррелировано с кровососанием. Реакционная способность самцов на феромон, также возникающая лишь после некоторого насыщения, может быть связана с перестройкой каких-либо физиологических механизмов в центральной нервной системе, хотя прямые свидетельства этому пока отсутствуют. Впрочем, для самок некоторых видов определенные морфогистологические перестройки в ганглии в процессе питания известны (Иоффе, 1977).

Анализируя полученные нами данные, а также материалы других исследователей, можно прийти к выводу о существовании двух типов феромонных систем в пределах подсемейства *Amblyomminae*, по крайней мере обнаруженных к настоящему моменту. Один из этих типов более распространен и типичен, видимо, и для изучавшихся нами *H. asiaticum*. В этом случае (см. рисунок, I) голодные самцы и самки способны к раздельному независимому питанию на хозяине, выбор места для кровососания осуществляется лишь за счет реакции на те или иные стимулы самого прокормителя. Самки, прикрепившись к последнему, остаются неподвиж-

ными вплоть до конца кровососания. При этом по достижении определенного уровня насыщения они начинают выработку сигнального фактора (полового феромона), который вызывает открепление питавшихся самцов, прикрепление вблизи самок и копуляцию. Подобная реакция подробно прослежена у некоторых *Rhipicephalus* (Leahy a. o., 1976), а способность хиаломм к раздельному питанию в соотношении с полученными в данном исследовании материалами, служит косвенным свидетельством о наличии механизма, подобного описанному, и у представителей *Hyalomma*. Дополнительным фактором, обеспечивающим увеличение вероятности копуляции, служит задержка развития неоплодотворенных самок и их длительное пребывание на хозяине в таком состоянии (Балашов, 1967). Выработка феромона при этом не блокируется, что и обеспечивает нахождение самцами таких недопитавшихся самок. При этом следует учитывать и то, что клещи определенного вида предпочитают питаться на определенных участках тела прокормителя (Rechav, 1978b). Подобное участие феромонов в поведении амблиоммин можно выявить при анализе работ, относящихся к большему числу изученных видов.

Ко второму типу феромонных связей можно отнести таковые двух видов *Amblyomma*: *A. hebraeum* и *A. maculatum*. Основное отличие от первого здесь заключается в присутствии феромонов скопления, вырабатываемых самцами в процессе питания (Rechav a. o., 1977a, 1977b; Rechav, 1978a, 1978b; Gladney a. o., 1974, и др.). Интересно, что для *A. maculatum* достоверно показано и наличие полового феромона, обладающего действием, подобным описанному (Berger a. o., 1971). К сожалению, у *A. hebraeum* половые феромоны не исследовались, что, впрочем, не служит доказательством их отсутствия. У *A. maculatum* присутствуют как те, так и другие, а ряд особенностей поведения клещей обоих видов указывает на его однотипность (Berger a. o., 1971; Gladney a. o., 1974). В подобном случае самки не способны питаться на хозяине в отсутствие питающихся самцов (Rechav, 1978b). Таким образом, сигналом к прикреплению самок служит феромон скопления, выделяемый самцами (см. рисунок, II), строго видоспецифичный. В дальнейшем же, видимо, действие феромонной системы реализуется вышеописанным для *H. asiaticum* способом (см. рисунок, II). Некоторое преимущество такого типа феромонных связей заключается в том, что практически для всех самок гарантируется оплодотворение. Половой феромон в данном случае, видимо, служит лишь сигналом о готовности самки к спариванию.

Л и т е р а т у р а

- Балашов Ю. С. Кровососущие клещи (Ixodoidea) — переносчики болезней человека и животных. Л., Наука, 1967. 349 с.
- Иоффе И. Д. Увеличение объема нервного аппарата у самок *Dermacentor pictus* (Acarina, Ixodidae) на стадии питания. — Зоол. журн., 1977, т. 56, вып. 10, с. 1479—1485.
- Леонovich С. А. Феромоны иксодойдных клещей (Ixodoidea). — Паразитология, 1979, т. 13, вып. 6, с. 565—571.
- Berger R. S. 2,6-Dichlorophenol, sex pheromone of the Lone Star tick. — Science, 1972, vol. 17, p. 704—705.
- Chow Y. S., F. M. Lin, C. T. Peng, P. S. Cheng. Isolation of lipid and sex pheromone of hard ticks. — Bull. Inst. Zool. Acad. Sinica, 1972, vol. 11, p. 1—8.
- Chow Y. S., C. B. Wang, L. C. Lin. Identification of a sex pheromone of the female brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1975, vol. 68, p. 485—488.
- Gladney W. J. Mate-seeking by female *Amblyomma maculatum* (Acarina: Ixodidae) on a bovine. — Nature (Lond.), 1971, vol. 232, p. 401—402.
- Gladney W. J., R. R. Grabbe, S. E. Ernst, D. D. Oehler. The Gulf Coast tick: evidence of a pheromone produced by males. — J. Med. Entomol., 1974, vol. 11, N 3, p. 303—306.
- Leahy M. G., R. VandeHey, R. G. Galun. Assembly pheromone(s) in the soft tick *Argas persicus* (Oken). — Nature (Lond.), 1973, vol. 246, p. 515—517.
- Leahy M. G., R. Galun, R. E. Purnell, R. C. Payne. Attraction of male *Rhipicephalus appendiculatus* ticks to females in relation to feeding. — Vet. Parasitol. (Netherlands), 1976, vol. 1, p. 249—256.

- Rechav Y. Lack of daily rhythm in the release of assembly pheromones by the tick *Amblyomma hebraeum* (Koch.). — *Experientia*, 1978a, vol. 34, N 4, p. 478—479.
- Rechav Y. Specificity in assembly pheromones of the ticks *Amblyomma hebraeum* (Acarina: Ixodidae). — *J. Med. Entomol.*, 1978b, vol. 15, N 1, p. 81—83.
- Rechav Y., H. Parolis, G. B. Whitehead, M. M. Knight. Evidence for an assembly pheromone(s) produced by the males of the bont tick, *Amblyomma hebraeum* (Acarina: Ixodidae). — *J. Med. Entomol.*, 1977a, vol. 14, N 1, p. 71—78.
- Rechav Y., S. Terry, M. Knight, R. H. M. Cross. Chemoreceptor organs used in detection of pheromone(s) of the tick *Amblyomma hebraeum* (Acarina: Ixodidae). — *J. Med. Entomol.*, 1977b, vol. 14, N 4, p. 395—400.
- Sonenshine D. E., R. M. Silverstein, E. C. Layton, P. J. Homsher. Evidence for the existence of a sex pheromone in 2 species of ixodid ticks (Metastigmata: Ixodidae). — *J. Med. Entomol.*, 1974, vol. 11, N 3, p. 307—315.
- Sonenshine D. E., R. M. Silverstein, E. C. Plummer, J. R. West, (Bro.) T. McCullough. 2,6-dichlorophenol, the sex pheromone of the Rocky Mountain wood tick, *Dermacentor andersoni* Stiles and the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Say) — *J. Chem. Ecol.*, 1976, vol. 2, N 2, p. 201—209.
- Sonenshine D. E., R. M. Silverstein, L. A. Collins, M. Saunders, C. Flynt, P. J. Homsher. Foveal glands, source of sex pheromone production in the ixodid tick *Dermacentor andersoni* Stiles. — *J. Chem. Ecol.*, 1977, vol. 3, N 6, p. 695—706.
- Wood W. F., Sister M. G. Leahy, R. Galun, G. D. Prestwich, J. Meinwald, R. E. Purnell, R. C. Payne. Phenols as pheromones of ixodid ticks: a general phenomenon. — *J. Chem. Ecol.*, 1975, vol. 1, N 4, p. 501—509.

ON OCCURRENCE OF A SEX PHEROMONE IN THE IXODID TICK *HYALOMMA ASIATICUM* (IXODIDAE)

S. A. Leonovich

SUMMARY

Different behavioural experiments, including olfactometer investigations, have made it possible to show a presence of volatile substance, produced by fed females of *H. asiaticum*, attractive for fed males and appreciated to be a sex pheromone. Females begin to produce the pheromone after reaching the weight of 0,07 g during feeding. Hungry ticks produce no attractive substances and do not respond to the fed females' pheromone. Sticking of external openings of foveal glands brings to disappearance of attractiveness, but the latter being fully restored after removal of wax from fovea. Foveal glands so are the most possible source of pheromone production in the way it was shown in *Dermacentor* ticks (Sonenshine a. o., 1977).

As a result of analysis of the data obtained to nowadays the author supposes that two types of pheromone systems (shown in the Tables of the text) are present in the limits of the Amblyomminae subfamily.
