

УДК 591.5(595.792)

© С. Г. Карпова

РОЛЬ ВНУТРЕННИХ И ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ СИНХРОННОГО ВЫЛЕТА *TRICHOGRAMMA EMBRYOPHAGUM* *HARTIG* И *T. PRINCIPIUM* SUG. ET SOR. (HYMENOPTERA, TRICHOGRAMMATIDAE)

[S. G. KARPOVA. ROLE OF ENDOGENOUS AND EXOGENOUS FACTORS IN THE REGULATION OF SYNCHRONOUS EMERGENCE OF *TRICHOGRAMMA EMBRYOPHAGUM* HARTIG AND *T. PRINCIPIUM* SUG. ET SOR. (HYMENOPTERA, TRICHOGRAMMATIDAE)]

Многочисленные виды паразитоидов-яйцеедов рода *Trichogramma* Westw. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) широко используются в биологической защите растений. При лабораторном и промышленном разведении трихограммы часто возникает необходимость получить максимальное количество одновозрастных имаго в определенное время суток. Во-первых, это связано с оптимизацией применения паразитоидов: массовый выпуск насекомых необходимо проводить только при благоприятных погодных условиях, в противном случае эффективность заражения яиц вредителя может существенно снизиться (Forsse et al., 1992). Во-вторых, в ряде лабораторных исследований используются группы строго одновозрастных особей. Для разработки методов, позволяющих приурочить массовое отрождение (вылет) трихограммы из яиц хозяина к определенному времени суток, ускорить или задержать его, необходимо изучение закономерностей регуляции суточного ритма вылета.

Исследованию суточной динамики вылета трихограмм посвящено значительное количество работ. Отмечено, что у большинства исследованных видов рода *Trichogramma*, в том числе у *T. embryophagum* Hartig и *T. principium* Sug. et Sor., взрослые насекомые появляются из яиц хозяина очень синхронно в первые часы после включения света (Forsse, Smith, 1991; Forsse et al., 1992; Dahiya et al., 1993; Corrigan et al., 1995; Pompanon et al., 1995; Zaslavski et al., 1995; Резник и др., 1998). Динамика отрождения паразитоидов существенно зависит от световых и температурных условий. Четкий ритм вылета трихограмм наблюдается как при фотопериоде на фоне постоянной температуры, так и при терморитме на фоне постоянной освещенности (Зиновьева и др., 1996; Zaslavski et al., 1995; Резник и др., 1998). При сочетании фото- и термопериодов динамика вылета зависит от положения термофазы в свето-темновом цикле (Зиновьева и др., 1996). Существенное значение имеет также средняя температура в опыте. Так, например, у *T. embryophagum* и *T. principium* при более низких температурах снижается четкость ритма (Karпова, Reznik, 2003).

Известно, что в регуляции любого суточного ритма принимают участие как внутренние, так и внешние факторы (Чернышев, 1984; Saunders, 2002). С одной стороны, наблюдаемый ритм контролируется циркадианными осцилляторами («биологическими часами»), генерирующими спонтан-

ные колебания с периодом около 24 ч, а с другой — на него воздействуют внешние факторы. Изменения освещенности и температуры выполняют функцию «датчиков времени», синхронизируя ход биологических часов с суточными циклами во внешней среде, а также могут прямо влиять на уровень активности животных, стимулируя или подавляя ее.

Свойства врожденных ритмических процессов хорошо изучены на примере суточных ритмов вылета или отрождения имаго насекомых из куколок, классической моделью служит *Drosophila melanogaster* (Pittendrigh, 1966; Питтендрай, 1984; Saunders, 2002). Считается, что в течение суток существует эндогенно обусловленный период, когда вылет «разрешен» (так называемые «ворота вылупления», Pittendrigh, 1966), а в остальное время он заблокирован.

На основе данных представлений рядом авторов, наблюдавших четкий ритм вылета трихограмм, было высказано мнение, что данный процесс также находится под жестким эндогенным контролем (Rounbehler, Ellington, 1973; Forsse, Smith, 1991). Эти предположения, однако, не были подтверждены экспериментально. Напротив, более подробные исследования свидетельствуют, что в контроле ритма большое значение имеют непосредственные реакции насекомых на внешние факторы. Так, например, для 3 видов трихограмм было показано, что включение света или повышение температуры вызывает вылет определенной доли особей из яиц хозяина, причем данную реакцию можно наблюдать практически в любой момент 24-часового цикла (Заславский и др., 1999; Karpova, Reznik, 2002).

Таким образом, механизмы контроля суточного ритма вылета трихограмм остаются недостаточно изученными, что затрудняет разработку методов его регуляции.

Целью настоящей работы было изучение взаимодействия эндогенных ритмических процессов и внешних факторов в регуляции суточного ритма вылета у *T. embryophagum* и *T. principium*.

Были поставлены следующие задачи: 1) изучить влияние различных световых режимов на суточный ритм вылета; 2) экспериментально доказать наличие эндогенного ритма; 3) определить, в какой степени суточная динамика вылета может модифицироваться при однократном изменении световых или температурных условий.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В экспериментах были использованы 2 линии трихограммы: партогенетическая линия *T. embryophagum* Hartig¹ из Московской обл. и обоеполая линия *T. principium* Sugonjaev et Sorokina из Чимкентской обл. (Казахстан). Бессамцовая форма *T. embryophagum* распространена в России (на восток Забайкалья включительно), Эстонии, Литве, Латвии, Белоруссии, Украине, Молдавии, Казахстане, Западной и Средней Европе (Сорокина, 2001). *T. principium* встречается в Туркмении, Узбекистане, Южном Казахстане, а также в Украине и Болгарии (Сорокина, 2001), она обладает значительной толерантностью к повышенной температуре (до 30°) и низкой влажности по сравнению с большинством европейских видов трихограмм (Адашкевич, Умарова, 1985).

Обе линии на протяжении более 10 лет поддерживались в лабораторных условиях (20 или 25°, длина дня 18 ч) на яйцах зерновой моли *Sitotroga cerealella* Oliv. (Gelechiidae).

Для заражения яйца зерновой моли наклеивали на картонные карточки размером 2 × 2 см (на каждой располагали около 500 яиц) и оставляли в сосуде с самками трихограммы на 24 ч, после чего карточки раскладывали по пробиркам и помещали в экспериментальные условия. Развитие особей лабораторных линий проходило в термостатированных боксах с ав-

¹ Некоторые авторы рассматривают бессамцовую форму *T. embryophagum* Hartig как самостоятельный вид *T. telengai* Sorokina (Сорокина, 1987).

томатически регулируемой длиной светового дня (конструктор камер — Г. М. Шкарлат). Освещенность в камерах создавалась люминесцентными лампами и составляла 50 лк.

Регистрацию суточной динамики вылета начинали на следующие сутки после появления первых трихограмм из яиц хозяина. Особей, вылетевших к моменту выключения света, одновременно удаляли из пробирок. В большинстве экспериментов учет имаго начинался с момента включения света в данном опыте, при этом подсчитывали всех имаго, вылетевших в темноте. В дальнейшем учеты проводили каждые 2 ч. Долю особей, вылетевших в течение каждого 2-часового интервала, вычисляли в процентах от общего количества имаго. Продолжительность опытов составляла от 24 до 170 ч в различных вариантах. Отсчет времени производился с момента выключения света.

Каждый опыт проводили не менее чем в 3 повторностях, в каждой повторности отродилось не менее 100 особей. В случае отсутствия достоверных различий между отдельными повторностями результаты при анализе суммировались.

Были проведены 3 серии экспериментов.

1. ВЛИЯНИЕ СВЕТОВОГО РЕЖИМА НА СУТОЧНЫЙ РИТМ ВЫЛЕТА

Развитие особей проходило при постоянной температуре 20° и различных вариантах фотопериода С : Т = 12 : 12, 16 : 8 или 20 : 4 (здесь и далее сокращение С : Т обозначает количество часов света и темноты в 24-часовом цикле). Учеты проводили при тех же условиях в течение 2—3 сут во время фотофазы.

2. РИТМ В УСЛОВИЯХ ИЗОЛЯЦИИ ОТ ВНЕШНИХ ДАТЧИКОВ ВРЕМЕНИ

В данных опытах изучали способность трихограмм проявлять ритм отрождения в отсутствие внешних сигналов времени. Развитие особей проходило при постоянной температуре 20° и фотопериоде С : Т = 12 : 12. В первые сутки учетов яйца зерновой моли, зараженные трихограммами, помещали в постоянную темноту (в обычное время выключения света) или в условия круглосуточного слабого освещения 7 лк (в обычное время включения света) и регистрировали последующую динамику вылета трихограмм в течение 5 сут при постоянной температуре 20°. В экспериментах с темнотой учеты вели при слабом красном свете.

3. ВЛИЯНИЕ ОДНОКРАТНЫХ СВЕТОВЫХ И/ИЛИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ СТИМУЛОВ НА СИНХРОННОСТЬ ВЫЛЕТА

Развитие особей до начала эксперимента проходило при постоянной температуре 20° и фотопериоде С : Т = 12 : 12.

В день, когда начинался вылет трихограмм (18—19-й день после заражения), свет выключали в обычное время и через разные промежутки времени (от 2 до 24 ч, интервал — 2 ч) исследовали реакцию на следующие стимулы: А) включение света (50 лк), Б) кратковременный нагрев (2 ч при 30°) или В) одновременное включение света и 2-часовой нагрев. Интенсивность реакции оценивали по доле особей, вылетевших в течение 2 ч после начала стимуляции, в процентах от общего количества особей, отродившихся во время учетов. В вариантах с коротким периодом темноты (менее 12 ч) учеты прекращали через 24 ч после выключения света, в вариантах с более длинной «ночью» — через 36 ч после выключения света. При такой длительности экспериментов в каждом из вариантов опыта во время учетов наблюдался только один выраженный пик вылета трихограмм, что позволяло проводить корректное сравнение вариантов.

После включения света пробирки оставались при круглосуточном освещении (в вариантах Б свет в опыте включали после окончания температурного импульса). Изменение температуры осуществляли путем переноса пробирок в камеры с различной температурой.

Учет вылетевших имаго начинался с момента включения света в данном опыте, при этом подсчитывали всех имаго, вылетевших в темноте. Однако в опыте, где пробирки нагревали до включения света, первый учет проводили при слабом красном свете за 2 ч до окончания периода темноты. Затем материал переносили в камеру с температурой 30°, оставляли на 2 ч, после чего включали свет, подсчитывали количество вылетевших имаго и возвращали в камеру с температурой 20°.

Таким образом исследовали реакцию особей на однократное воздействие света и/или повышения температуры в разное время 24-часового цикла.

Для определения достоверности различий процентов особей, вылетевших за определенный временной интервал, использовали критерий Фишера с ϕ -преобразованием (Ивантер, Коросов, 1992). Для сравнения распределения особей по времени вылета применяли критерий Крускала—Уоллиса и Колмогорова—Смирнова, расчеты проводили с помощью программы «Statgrafics».

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. ВЛИЯНИЕ СВЕТОВОГО РЕЖИМА НА СУТОЧНЫЙ РИТМ ВЫЛЕТА

Во всех вариантах фотопериодических условий при 20° оба вида проявляли четкий суточный ритм вылета (рис. 1). Большинство имаго вылетало в течение 4 ч после включения света, в период темноты и в конце фотофазы появлялись лишь единичные особи. Таким образом, положение пика вылета было связано со временем «рассвета».

При фотопериоде С : Т = 12 : 12 *T. embryophagum* и *T. principium* не различались по суточной динамике вылета ($p > 0.05$, критерии Колмогорова—Смирнова и Крускала—Уоллиса). В вариантах с более длительным световым днем (16 и 20 ч) *T. principium* проявляли такой же четкий ритм, как и при режиме С : Т = 12 : 12, массовый вылет наблюдался в течение первых 4 ч фотофазы, в остальное время суток отрождалось не более 15 % имаго. Напротив, у *T. embryophagum* при более длинных фотофазах снижалась доля особей, вылетающих в начале светового дня, вследствие чего ритм становился менее четким. Межвидовые различия в вариантах с длиной дня 16 и 20 ч были достоверными ($p < 0.001$, критерии Колмогорова—Смирнова и Крускала—Уоллиса).

2. РИТМ В УСЛОВИЯХ ИЗОЛЯЦИИ ОТ ВНЕШНИХ ДАТЧИКОВ ВРЕМЕНИ

У обоих видов на следующие сутки после помещения особей в постоянную темноту массовый лёт начинался позже, чем при фотопериоде С : Т = 12 : 12. Максимум отрождения был отмечен через 16—18 ч после начала темноты (рис. 2), в то время как при фотопериоде он приходился на 14 ч (рис. 1, С : Т = 12 : 12). В течение последующих 2 сут наблюдалось закономерное повторение пиков массового вылета трихограмм. При этом максимумы вылета *T. embryophagum* были отмечены в 18 ч, у *T. principium* пики были менее четкими, но медиана вылета (на интервале времени от 2 до 24 ч) также приходилась на 18 ч. На 4-е и 5-е сут отрождение трихограмм из яиц протекало уже относительно равномерно, без выраженной ритмичности.

Для выявления цикличности в изучаемом процессе был проведен автокорреляционный анализ (Ивантер, Коросов, 1992). Представленные на рис. 3 коэффициенты автокорреляции позволяют говорить о циклическом характере динамики вылета *T. embryophagum* в темноте. При смещении временного ряда на 24 ч коэффициент достигал максимального положительного значения ($p < 0.05$), т. е. период ритма соответствовал 24 ч. При анализе данных по вылету *T. principium* также было отмечено повышение автокорреляционной функции при сдвиге ряда на 22 и 24 ч (рис. 3), но значения коэффициента не были достоверными при $p = 0.05$.

В экспериментах с круглосуточным освещением было отмечено подавление вылета в течение первых суток опыта (рис. 4). В последующие 4 сут *T. embryophagum* вылетали ритмично, время пиков массового отрождения

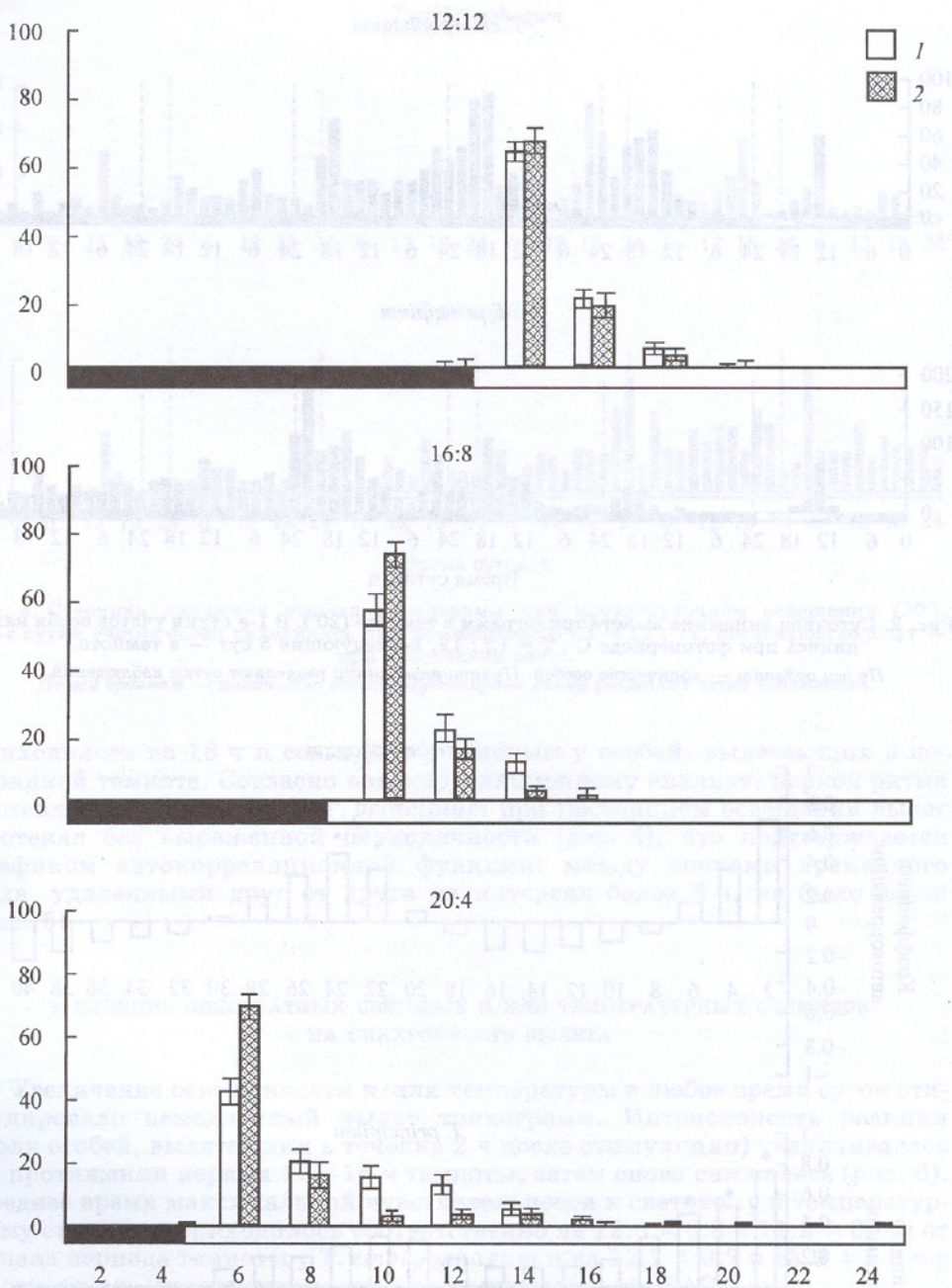
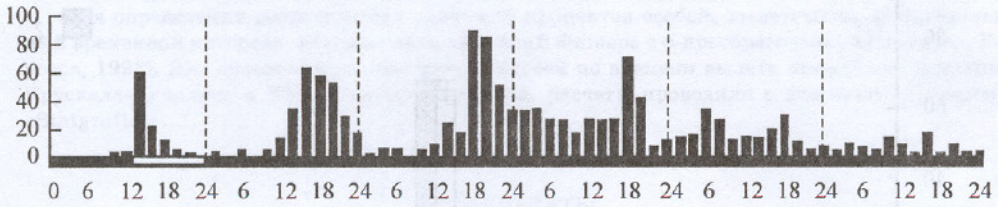


Рис. 1. Суточная динамика вылета трихограмм при различных вариантах фотопериода и постоянной температуре 20°.

1 — *Trichogramma embryophagum* Hartig, 2 — *T. principium* Sug. et Sor. По оси абсцисс — время (часы от включения света), по оси ординат — доля вылетевших особей (%). 12 : 12, 16 : 8, 20 : 4 — варианты фотопериода, период темноты обозначен черным цветом. Планки погрешностей отображают доверительные интервалы (при $p = 0.05$).

T. embryophagum



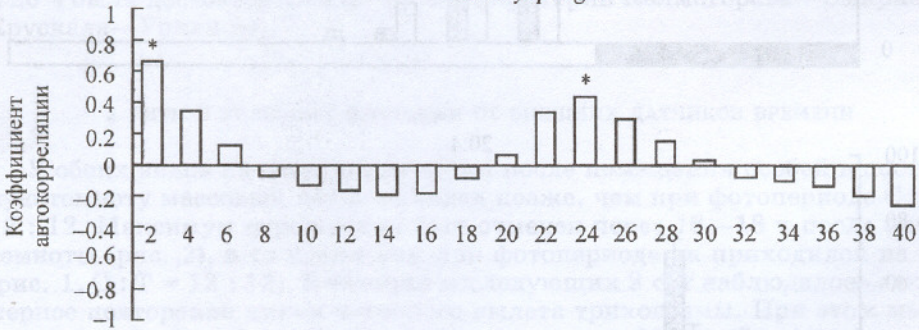
T. principium



Рис. 2. Суточная динамика вылета трихограмм в темноте (20°). В 1-е сутки учеты особи находились при фотопериоде С : Т = 12 : 12, последующие 5 сут — в темноте.

По оси ординат — количество особей. Пунктирные линии разделяют сутки наблюдений.

T. embryophagum



T. principium

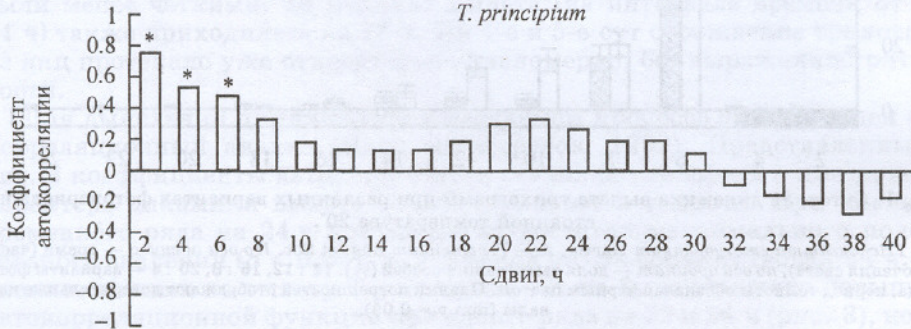
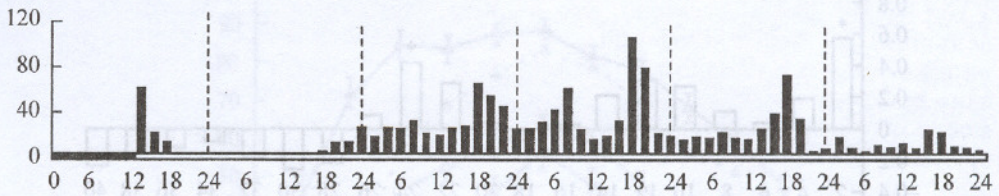


Рис. 3. Автокорреляционная функция динамики вылета трихограмм в условиях постоянной темноты. Представлена зависимость коэффициента корреляции от величины сдвига временного ряда.

По оси ординат — коэффициент автокорреляции. * — коэффициент достоверен при $p = 0.05$.

T. embryophagum



T. principium



Рис. 4. Суточная динамика вылета трихограмм при круглосуточном освещении (20°). В 1-е сутки учеты особи находились при фотопериоде С : Т = 12 : 12, последующие 5 сут — при постоянном свете.

По оси ординат — количество особей. Пунктирные линии разделяют сутки наблюдений.

приходилось на 18 ч и совпадало с таковым у особей, вылетающих в постоянной темноте. Согласно автокорреляционному анализу, период ритма составлял 24 ч (рис. 5). У *T. principium* при постоянном освещении вылет протекал без выраженной периодичности (рис. 4), что подтверждается графиком автокорреляционной функции: между точками временного ряда, удаленными друг от друга на интервал более 8 ч, не было связи (рис. 5).

3. ВЛИЯНИЕ ОДНОКРАТНЫХ СВЕТОВЫХ И/ИЛИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ СТИМУЛОВ НА СИНХРОННОСТЬ ВЫЛЕТА

Увеличение освещенности и/или температуры в любое время суток стимулировало немедленный вылет трихограмм. Интенсивность реакции (доля особей, вылетевших в течение 2 ч после стимуляции) увеличивалась на протяжении первых 12—14 ч темноты, затем снова снижалась (рис. 6). Среднее время максимальной чувствительности к световому и температурному стимулам приходилось соответственно на 12.6 ± 0.8 и 11.2 ± 0.8 ч от начала периода темноты у *T. embryophagum* и на 12.7 ± 0.7 и 13.0 ± 1.0 ч у *T. principium* (усреднение между повторностями, $\pm SEM$).

У *T. embryophagum* включение света стимулировало вылет сильнее, чем повышение температуры в то же самое время суток. *T. principium*, напротив, более интенсивно реагировали на температурный стимул, по крайней мере в экспериментах с продолжительностью периода темноты менее 16 ч. Последний вид в целом отличался большей синхронностью вылета. Например, в интервале с 10 до 18 ч включение света или повышение температуры вызывало немедленный вылет большинства (более 75 %) особей *T. principium*. Между тем у *T. embryophagum* эффект от воздействия стимулов в любое время суток не превышал 65 %.

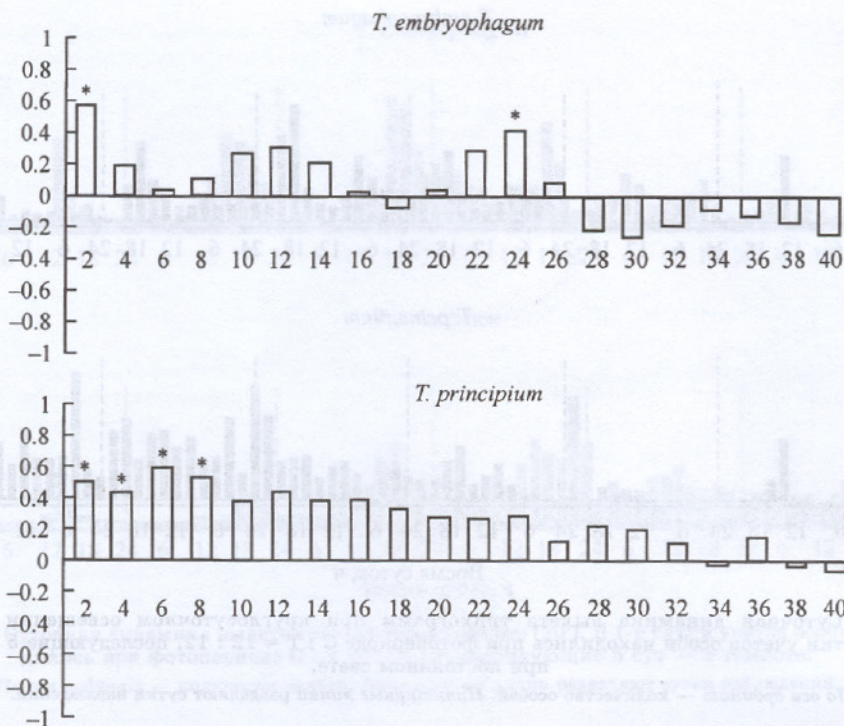


Рис. 5. Автокорреляционная функция динамики вылета трихограмм в условиях постоянного освещения. Представлена зависимость коэффициента корреляции от величины сдвига временного ряда.

По оси ординат — коэффициент корреляции. * — коэффициент достоверен при $p = 0.05$.

Одновременное включение света и повышение температуры (рис. 6, В, эксперимент) вызывали значительно более сильную реакцию, чем каждый из факторов в отдельности. Для того чтобы проверить, является ли усиление реакции результатом простой суммации влияний 2 стимулов, были проведены дополнительные расчеты. Для каждой временной точки вычисляли сумму долей особей, вылетающих в течение 2 ч после повышения температуры в темноте и после включения света при постоянной температуре по стандартной формуле сложения процентов: $P(t + c) = P(t) + P(c) (100 - P(t))/100$, где $P(t)$ — процентная доля особей, вылетевших при подъеме температуры; $P(c)$ — процентная доля особей, вылетевших при включении света; $P(t + c)$ — процентная доля особей, вылет которой ожидается при одновременном независимом действии этих факторов.

Результаты представлены на рис. 6 (пунктирная линия). Данные убедительно свидетельствуют о том, что совместное действие включения света и подъема температуры производит гораздо более значительный эффект, чем можно было ожидать при независимом одновременном действии этих факторов. Очевидно, мы имеем дело со сверхаддитивным эффектом, который особенно ярко выражен в течение первых 10 ч от начала периода темноты.

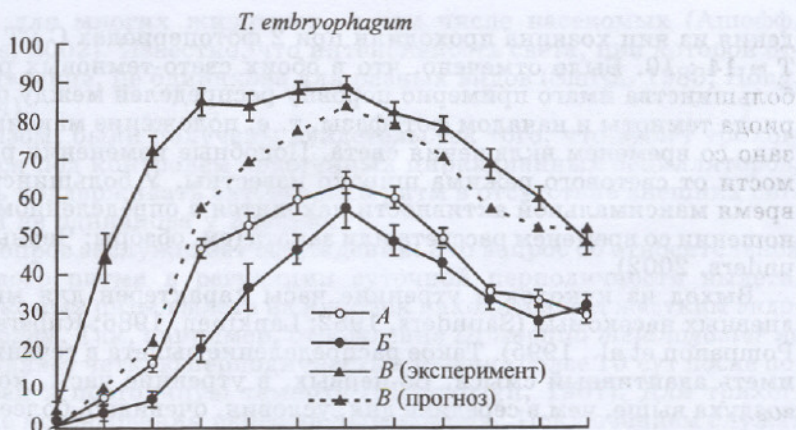


Рис. 6. Суточные изменения чувствительности трихограмм к световому и/или температурно-му стимулу.

A — реакция на включение света (50 лк); B — реакция на подъем температуры в темноте (от 20 до 30°); B (эксперимент) — реакция на одновременное включение света и подъем температуры, экспериментальные данные; B (прогноз) — теоретический расчет реакции на одновременное действие 2 стимулов при допущении их независимого влияния. Планки погрешностей отображают доверительные интервалы (при $p = 0.05$). По оси абсцисс — время начала стимуляции, часы от выключения света; по оси ординат — доля особей, вылетевших в течение 2 ч после начала стимуляции (%).

ОБСУЖДЕНИЕ

1. СИНХРОНИЗАЦИЯ РИТМА ФОТОПЕРИОДОМ

Одна из характерных особенностей биологического ритма — способность подстраиваться к циклам внешних факторов. Это свойство позволяет насекомым приурочить периоды покоя или активности ко времени суток с наиболее благоприятными условиями.

Результаты показали, что ритм вылета *T. embryophagum* и *T. principium* в лабораторных условиях изменяется по фазе в соответствии со свето-темновыми условиями, при которых проходило развитие особей. Так, при сокращении продолжительности «ночи» пик вылета смещался на более ранние часы (рис. 1). Сходную зависимость пика вылета от фотопериода отмечали ранее при исследовании вылета *Trichogramma semifumatum* Perkins (Rounbehler, Ellington, 1973), когда развитие особей и регистрация отраж-

дения из яиц хозяина проходили при 2 фотопериодах $C : T = 10 : 14$ и $C : T = 14 : 10$. Было отмечено, что в обоих свето-темновых режимах вылет большинства имаго примерно поровну распределен между окончанием периода темноты и началом фотофазы, т. е. положение максимума было связано со временем включения света. Подобные изменения ритма в зависимости от светового режима широко известны. У большинства насекомых время максимальной активности находится в определенном фазовом соотношении со временем рассвета или заката (см. обзоры: Чернышев, 1984; Saunders, 2002).

Выход из куколок в утренние часы характерен для многих типично дневных насекомых (Saunders, 1982; Lankinen, 1986; Ruberson et al., 1988; Pomranon et al., 1995). Такое распределение вылета в течение суток может иметь адаптивный смысл. Во-первых, в утренние часы, когда влажность воздуха выше, чем в середине дня, условия, очевидно, более благоприятны для выхода молодых насекомых из куколки, поскольку потеря влаги через незатвердевшую кутикулу имаго очень высока (Lankinen, 1986). Во-вторых, вылет в начале светового дня позволяет паразитоидам немедленно начинать репродуктивную активность, таким образом снижая риск гибели до момента откладки яиц (Pomranon et al., 1995).

Особый интерес представляют межвидовые различия, обнаруженные в ритме вылета при фотопериодах $C : T = 16 : 8$ и $C : T = 20 : 4$. В частности, у *T. principium* четкий пик вылета после включения света наблюдался при всех вариантах фотопериода, в то время как у *T. embryophagum* синхронность отрождения снижалась при увеличении фотофазы (рис. 1).

Зависимость четкости суточных ритмов от продолжительности светового дня была отмечена ранее для других видов насекомых. Известно, что у синей мясной мухи максимальная амплитуда локомоторного ритма достигается при продолжительности фотофазы 16 ч (Зотов и др., 1990), а у дрозодилы наиболее синхронный ритм выхода из куколок отмечается при 12-часовом световом дне (Чернышев, 1984). Сравнительный анализ влияния продолжительности фотофазы на ритм у близких видов ранее не проводился. Вопрос о возможных причинах межвидовых различий остается открытым и требует дальнейших экспериментальных исследований.

2. ПРОЯВЛЕНИЕ ЭНДОГЕННОГО РИТМА ПРИ ОТСУТСТВИИ ВНЕШНИХ СИГНАЛОВ ВРЕМЕНИ

Проявление циркадианного ритма в условиях изоляции от периодических изменений внешних факторов — света и температуры — свидетельствует о его эндогенной природе (Чернышев, 1984; Saunders, 2002). Отмеченное в наших исследованиях сохранение ритмичности отрождения трихограмм обоих видов в постоянной темноте (рис. 2) таким образом подтверждает существование эндогенного циркадианного ритма, который контролирует вылет.

Выраженность ритма в темноте была разной у *T. embryophagum* и *T. principium*: повторяющиеся пики массового вылета у последнего вида были менее четкими, «размытыми», в результате чего автокорреляционный анализ данных подтвердил наличие ритма у *T. embryophagum*, но не дал достоверных доказательств периодичности вылета *T. principium* (рис. 3).

Исследуемые виды отличались также по способности проявлять ритм отрождения после помещения в условия круглосуточного освещения: имаго *T. embryophagum* продолжали вылетать с околосуточной периодичностью, в то время как у *T. principium* вылет становился аритмичным (рис. 4). Исчезновение ритмичности под действием постоянного света неоднократно

было описано для многих животных, в том числе насекомых (Ашофф, 1984; Saunders, 2002). Известно, что интенсивность света, при которой отмечается это явление, не одинакова для разных видов (Smith, 1983; Hong, Saunders, 1994).

Таким образом, были получены свидетельства того, что вылет трихограмм находится под контролем эндогенных циркадианных осцилляторов, но способность поддерживать автономный ритм в отсутствие внешних сигналов времени не одинакова у 2 видов.

Еще один вопрос заслуживает обсуждения. Это вопрос об относительной роли эндогенного ритма в регуляции суточной периодичности вылета. У многих насекомых ритм вылета из куколок находится под жестким эндогенным контролем. Так, например, отрождение *Drosophila melanogaster* из пупариев проявляет четкую периодичность в течение более 10 сут после помещения особей в постоянную темноту (Pittendrigh, 1967). Для трихограмм подобные исследования ранее не проводились. Исключением служат данные о ритмичности вылета *T. evanescens* в темноте (Dahiya et al., 1993). Однако авторы представили данные только 2 сут учетов, поэтому установить, сохранялась ли ритмичность более длительное время, нельзя. В наших экспериментах периодичность вылета в темноте наблюдалась не более 3 сут, после чего ритм исчезал. Это означает, что роль эндогенного контроля вылета у *T. embryophagum* и *T. principium* относительно невелика по сравнению с большинством других изученных видов насекомых.

3. РОЛЬ НЕПОСРЕДСТВЕННЫХ РЕАКЦИЙ НА ИЗМЕНЕНИЯ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ В СУТОЧНОМ РИТМЕ ВЫЛЕТА

В нескольких сериях экспериментов изучали способность ритма вылета, синхронизированного фотопериодом С : Т = 12 : 12, модифицироваться при неожиданном изменении внешних условий. Для этого использовали однократные изменения освещенности и/или температуры в различное время суток. Оказалось, что ритм у обоих видов достаточно пластичен, поскольку трихограммы способны непосредственно реагировать на изменения внешних факторов в любое время суток. Значительная роль «быстрых» реакций трихограмм на световые и температурные стимулы была отмечена ранее для *Trichogramma pintoi* и *Trichogramma* sp. (Заславский и др., 1999), а также для *T. embryophagum* (Karpova, Reznik, 2002). В данном исследовании впервые был проведен сравнительный анализ влияния светового и температурного стимулов на вылет трихограмм 2 близких видов.

Результаты нашего исследования показали, что интенсивность реакции на прямое действие сигнальных стимулов (включение света и/или подъем температуры) определяется рядом факторов.

Прежде всего эффект влияния сигнала зависит от времени его воздействия. Сразу после выключения света в опыте особи малочувствительны к воздействию стимулов, интенсивность реакции постепенно возрастает к моменту обычного времени выключения света (12 ч), затем снова идет на спад (рис. 6). В наших предыдущих исследованиях (Karpova, Reznik, 2002) на примере *T. embryophagum* были получены экспериментальные доказательства того, что суточные изменения реактивности (в частности, по отношению к световому фактору) контролируются эндогенными ритмическими процессами.

Зависимость реакции на свет от времени суток отмечалась ранее и другими исследователями на примере суточных ритмов подвижности или вылета из куколок некоторых насекомых (Зотов, 1983; Germ, Tomioka, 1998; Morris, Takeda, 1994). Очевидно, суточные изменения чувствительности к

внешним факторам имеют важное адаптивное значение, поскольку предотвращают нежелательные реакции на случайные изменения внешних факторов в «неподходящее» для активности время (Чернышев, 1984).

Интенсивность реакции зависит также от характеристик экзогенного стимула. Сравнительный анализ данных по вылету *T. embryophagum* и *T. principium* показал, что виды различаются по относительной чувствительности к световому и температурному факторам. Из рис. 6 видно, что у *T. embryophagum* включение света (50 лк) вызывает более сильную реакцию, чем повышение температуры (от 20 до 30°) в то же время суток. Противоположная тенденция была отмечена для *T. principium*.

Различие 2 видов по степени чувствительности к повышению температуры в опыте может быть связано с климатическими условиями их обитания в природе.

В континентальном климате, где встречается *T. principium*, увеличение освещенности в утренние часы происходит быстро и практически синхронно с повышением температуры. В этих условиях нагрев оказывается достаточно информативным сигналом начала светового дня. Кроме того, в жарком сухом климате высокая температура часто скоррелирована с низкой влажностью, такое сочетание условий может быть губительным для столь мелких насекомых, как трихограммы, поскольку сопряжено с быстрой потерей воды. Так, например, экспериментально было показано, что при высокой температуре (33°) и низкой влажности воздуха (30—35 %) самки *T. principium* погибают в первые сутки, не отложив яиц (Сорокина, 1978). Способность немедленно реагировать на нагрев, очевидно, обеспечивает быстрый и синхронный вылет большинства особей в течение короткого периода времени на рассвете, когда влажность относительно высокая и температура еще не достигает пессимальных значений. Тем самым ограничивается вылет в дневные часы, когда высока вероятность гибели молодых насекомых от перегрева и потери влаги.

Напротив, в умеренном климате, где была собрана линия *T. embryophagum*, воздух на рассвете прогревается медленнее, и повышение температуры может значительно запаздывать по сравнению с увеличением освещенности, поэтому эффективным сигналом для начала вылета может быть повышение освещенности, не сопряженное с нагревом. Чувствительность трихограмм к световому стимулу, очевидно, связана с особенностями суточной динамики активности этих насекомых. Согласно полевым наблюдениям за поведением трихограмм разных видов в умеренной зоне (Щепетильникова, 1962; Колмакова, 1978), паразитоиды начинают поиск хозяина в утренние часы, как только воздух прогреется до 12—13°. Период репродуктивной активности у них ограничен довольно коротким интервалом времени, поскольку подвижность самок снижается после вечернего падения температуры, а также часто подавляется в жаркие часы в середине дня. Для таких короткоживущих насекомых, как трихограммы, подобное «предупреждающее поведение», т. е. выход из яиц хозяина на рассвете еще до повышения температуры, по-видимому, имеет большое значение, поскольку создает весьма эффективное распределение событий онтогенеза во времени: молодые имаго успевают окрепнуть и могут начать активность сразу же по наступлении благоприятных условий.

Особый интерес представляет собой эффект совместного действия 2 сигнальных факторов. Реакция на световой стимул значительно усиливалась, если включение света совпадало с повышением температуры от 20 до 30°. Эффект, вызываемый одновременным влиянием факторов, можно считать сверхаддитивным, поскольку он не сводился к простой сумме эффектов каждого из стимулов, а значительно превышал ее (рис. 6). Это свидетельствует о том, что свет и повышение температуры стимулировали

вылет имаго из яйца хозяина не независимо друг от друга, напротив, их действие на каком-то этапе реакции интегрировалось. Наши выводы согласуются с современными представлениями о том, что у насекомых, по-видимому, свет и температура влияют на работу циркадианных осцилляторов как единый сигнальный фактор (Ikeda, Tomioka, 1993, Moore, Rankin, 1993; Sidote et al., 1998; Tomioka et al., 1998).

4. ОТНОСИТЕЛЬНАЯ РОЛЬ ВНУТРЕННИХ И ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ РИТМА ВЫЛЕТА

Полученные данные свидетельствуют о том, что синхронный вылет имаго *T. embryophagum* и *T. principium* в начале светового дня представляет собой реакцию по типу «спускового крючка». Трихограммы обладают врожденным ритмом, который изменяет готовность особей вылететь из яиц в ответ на увеличение освещенности или температуры. Эндогенный ритм настраивается фотопериодом таким образом, что максимальная чувствительность приходится на момент «рассвета». В это время суток такие сигналы, как включение света или нагрев, вызывают массовый синхронный вылет.

Отметим, что никаких четко определенных во времени периодов, «запрещающих» и «разрешающих» вылет, предполагаемых для других видов (Saunders, 2002), выявить не удалось. Напротив, наблюдения свидетельствуют о том, что циркадианные осцилляторы контролируют процесс не жестко, они лишь задают плавные изменения потенциальной готовности особей к вылету. Такой способ «гибкого» эндогенного контроля описан для ритмов индивидуальной активности насекомых (Чернышев, 1984; Зотов, 2001), но применительно к суточным ритмам вылета имаго его экспериментальные доказательства приводятся впервые.

Характерные особенности регуляции суточного ритма вылета трихограмм — значительная роль экзогенных эффектов (непосредственных реакций на изменение внешних условий) и относительно слабое влияние эндогенных циркадианных процессов по сравнению с большинством других исследованных видов насекомых (см. обзор: Saunders, 2002). Высокая чувствительность паразитоидов к изменениям освещенности и температуры в течение суток, очевидно, имеет адаптивное значение. Во-первых, быстрая реакция на свет и повышение температуры приводят к очень синхронному вылету особей в начале светового дня. Преимущество появления трихограмм из яиц хозяина на рассвете уже обсуждалось в данной работе и предыдущих исследованиях (Forsse et al., 1992; Dahiya et al., 1993; Pompanon et al., 1995; Karpova, Reznik, 2002). Во-вторых, значительная пластичность суточной динамики вылета и чувствительность к повышению освещенности и температуры, очевидно, позволяют паразитоидам вылетать сразу же, как только условия становятся благоприятными, и начинать поиск хозяина. Такая максимально эффективная организация событий онтогенеза во времени имеет большое значение для трихограмм, учитывая короткий период жизни этих насекомых (Pompanon et al., 1995).

Знание закономерностей регуляции суточного ритма вылета может быть использовано при подборе режимов массового разведения трихограммы. Так, для получения максимально синхронного вылета *T. embryophagum* целесообразно поддерживать 12-часовой световой день, а при разведении *T. principium* следует использовать фотопериод С : Т = 16 : 8. Непосредственно в день вылета время массового отрождения имаго можно регулировать путем опережающего или запаздывающего (по сравнению с обычным) включения света. Наибольшего эффекта следует ожидать, если включение

света будет сопровождаться повышением температуры. Согласно полученным нами данным, можно определить период, когда подобная стимуляция вызывает массовый вылет большинства особей (в течение 2 ч после включения света вылетает более 75 % трихограмм). При 20° этот период занимает от 6 до 16 ч после выключения света для *T. embryophagum* и от 2 до 22 ч после выключения света для *T. principium* (рис. 6). Наибольший эффект наблюдается через 12 ч после выключения света, в этот период в ответ на одновременное увеличение освещенности и температуры вылетает 90.2 и 95.9 % особей *T. embryophagum* и *T. principium* соответственно.

ВЫВОДЫ

1. В лабораторных условиях (20°, длина светового дня 12, 16 или 20 ч) массовый вылет *T. embryophagum* и *T. principium* происходит в первые 4 ч фотофазы. Выявлены межвидовые различия по степени синхронности вылета в разных фотопериодических режимах.

2. Получены доказательства того, что время вылета контролируется врожденными ритмическими процессами. Однако значение эндогенного контроля в регуляции ритма у исследуемых видов относительно невелико по сравнению с большинством других насекомых. Время массового вылета не является жестко фиксированным, поскольку изменения внешних факторов (включение света и/или повышение температуры) могут вызвать дружное отрождение трихограмм практически в любое время суток. Тем не менее пластичность динамики вылета в определенной степени ограничена, поскольку чувствительность к внешним стимулам контролируется эндогенным ритмом.

3. Выявлены межвидовые различия по относительной чувствительности трихограмм к воздействию светового и температурного стимулов.

4. Установлено, что свет и повышение температуры стимулируют вылет имаго из яйца хозяина не независимо друг от друга, их действие интегрируется на определенном этапе реакции. Синергизм действия факторов необходимо учитывать при разработке методов регуляции и синхронизации вылета трихограмм.

Автор выражает глубокую благодарность С. Я. Резнику за постоянную помощь и консультации, а также искреннюю признательность Г. М. Шкарлату, О. И. Спириной и Т. Я. Умаровой, обеспечившим возможность проведения экспериментальной части исследования.

Работа поддержана грантом программы ОБН РАН «Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Адашкевич Б. П., Умарова Т. М. Особенности развития *Trichogramma principium* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) в лабораторных условиях // Зоол. журн. 1985. Т. 64, вып. 9. С. 1413—1417.
- Ашофф Ю. Обзор биологических ритмов // Биологические ритмы. Т. 1. М.: Мир, 1984. С. 12—21.
- Заславский В. А., Зиновьева К. Б., Умарова Т. Я., Резник С. Я. Взаимодействие циркадианного ритма, синхронизированного фото- и термопериодом и прямого действия света и температуры в определении динамики отрождения имаго двух видов трихограммы // Энтомол. обозр. 1999. Т. 78, вып. 1. С. 3—14.
- Зиновьева К. Б., Резник С. Я., Заславский В. А., Умарова Т. Я. Действие фотопериода и терморитма на суточный ритм отрождения имаго наездников *Alysia manducator* (Hymenoptera, Braconidae) и *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) // Зоол. журн. 1996. Т. 75, вып. 10. С. 1496—1504.

- Зотов В. А. Экзогенные и эндогенные компоненты суточного ритма активности семиточечной коровки *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera, Coccinellidae) // Зоол. журн. 1983. Т. 62, вып. 11. С. 1654—1662.
- Зотов В. А. Циркадианный ритм активности насекомых: хронобиологический и экологический аспекты. Автореф. ... докт. биол. наук. М.: Ойкос, 2001. 46 с.
- Зотов В. А., Гроссе В.-Р., Трэгер В. Влияние фотопериода на суточный ритм активности *Calliphora vicina* (Diptera, Calliphoridae) // Зоол. журн. 1990. Т. 69, вып. 8. С. 147—149.
- Ивантер Э. В., Коросов А. В. Основы биометрии. Петрозаводск: Изд-во ПГУ, 1992. 168 с.
- Колмакова В. Д. Сравнительная оценка этологии плодоярочных видов трихограммы // Применение трихограммы в защите сельскохозяйственных растений. Кишинев, 1978. С. 28—29.
- Питтендрай К. Циркадианные системы — общая перспектива // Биологические ритмы. Т. 1. М.: Мир, 1984. С. 22—53.
- Резник С. Я., Зиновьева К. Б., Умарова Т. Я., Заславский В. А. Зависимость ритма вылета имаго от фото- и термопериода у видов рода *Trichogramma* Westw. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) // Энтомол. обозр. 1998. Т. 77, вып. 1. С. 17—25.
- Сорокина А. П. Новые данные по систематике и биологии рода *Trichogramma* (Hymenoptera, Chalcidoidea) // Зоол. журн. 1978. Т. 57, вып. 9. С. 1142—1145.
- Сорокина А. П. Биологическое и морфологическое обоснование видовой самостоятельности *Trichogramma telengai* sp. n. (Hymenoptera, Trichogrammatidae) // Энтомол. обозр. 1987. Т. 66, вып. 1. С. 32—46.
- Сорокина А. П. Оценка перспективных видов рода *Trichogramma* в защите растений. СПб.: Изд-во ВИЗР, 2001. 44 с.
- Чернышев В. В. Суточные ритмы активности насекомых. М.: Изд-во МГУ, 1984. 216 с.
- Щепетильникова В. А. Внутривидовые формы *Trichogramma evenescens* Westw. и факторы, определяющие их эффективность // Биологический метод борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур. М.: Изд-во сельхозох. лит.-ры, 1962. С. 39—67.
- Corrigan J. E., Laing J. E., Zubricky J. S. Effects of parasitoid to host ratio and time of day of parasitism on development and emergence of *Trichogramma minutum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) parasitizing eggs of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) // Ann. Ent. Soc. Amer. 1995. Vol. 88. P. 773—780.
- Dahiya A. S., Tshernyshev W. B., Afonina V. M. Diurnal rhythm of emergence from pupae in parasitic wasp // J. Interdiscipl. Cycle Res. 1993. Vol. 24. P. 162—170.
- Forsse E., Smith S. M. Flight behaviour in *Trichogramma minutum* // Colloques de l'INRA. 1991. Vol. 56. P. 65—66.
- Forsse E., Smith S. M., Bourchier R. S. Flight initiation in the egg parasitoid *Trichogramma minutum*: effects of ambient temperature, mates, food, and host eggs // Ent. Exp. Appl. 1992. Vol. 62. P. 147—154.
- Germ M., Tomioka K. Circadian period modulation and masking effects induced by repetitive light pulses in locomotor rhythms of the cricket, *Gryllus bimaculatus* // Zool. Sci. 1998. Vol. 15. P. 309—316.
- Hong S.-F., Saunders D. S. Effects of constant light on the rhythm of adult locomotor rhythmicity in the blow fly, *Calliphora vicina* // Physiol. Ent. 1994. Vol. 19. P. 319—324.
- Ikeda M., Tomioka K. Temperature dependency of the circadian locomotor rhythm in the cricket *Gryllus bimaculatus* // Zool. Sci. 1993. Vol. 10. P. 597—604.
- Karpova S. G., Reznik S. Ya. Interaction of exogenous factors (light and temperature) in their influence on the daily pattern of adult eclosion in *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) // Eur. J. Ent. 2002. Vol. 99, N 4. P. 427—436.
- Karpova S. G., Reznik S. Ya. Temperature dependency of the daily pattern of adult eclosion in two *Trichogramma* species (Hymenoptera, Trichogrammatidae) // Proc. Zool. Inst. RAS. 2003. Vol. 299. P. 61—68.
- Lankinen P. Geographical variation in circadian eclosion rhythm and photoperiodic adult diapause in *Drosophila littoralis* // J. Comp. Physiol. (A). 1986. Vol. 159. P. 123—142.
- Moore D., Rankin M. A. Light and temperature entrainment of a locomotor rhythm in honeybees // Physiol. Ent. 1993. Vol. 18. P. 271—278.
- Morris M. C., Takeda S. The adult eclosion rhythm in *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae): Endogenous and exogenous light effects // Biol. Rhythm Res. 1994. Vol. 25. P. 464—476.
- Pittendrigh C. S. The circadian oscillation in *Drosophila pseudoobscura* pupae: a model for the photoperiodic clock // Z. Pflanzenphysiol. 1966. Vol. 54. P. 275—307.
- Pittendrigh C. S. Circadian systems I. The driving oscillation and its assay in *Drosophila pseudoobscura* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1967. Vol. 58. P. 1762—1767.
- Pompanon F., Fouillet P., Bouletreau M. Emergence rhythms and protandry in relation to daily patterns of locomotor activity in *Trichogramma* species // Evolutionary Ecology. 1995. Vol. 9, N 5. P. 467—477.
- Rounbehler M. D., Ellington J. J. Some biological effects of selected light regimes on *Trichogramma semifumatum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) // Ann. Ent. Soc. Amer. 1973. Vol. 66. P. 6—10.

- Ruberson J. R., Tauber M. J., Tauber C. A. Reproductive biology of two biotypes of *Edovum puttleri*, a parasitoid of Colorado potato beetles eggs // Ent. Exp. Appl. 1988. Vol. 46. P. 211—219.
- Saunders D. S. Insect clocks. 3rd English edition. Amsterdam, Boston, London: Elsevier, 2002. 560 p.
- Smith P. H. Circadian control of spontaneous flight activity in the blowfly, *Lucilia cuprina* // Physiol. Ent. 1983. Vol. 8. P. 73—82.
- Tomiooka K., Sakamoto M., Harui Y., Matsumoto N. Light and temperature cooperate to regulate the circadian locomotor rhythm of wild type and period mutants of *Drosophila melanogaster* // J. Insect Physiol. 1998. Vol. 44. P. 587—596.
- Zaslavski V. A., Zinovjeva K. B., Reznik S. Ya., Umarova T. Ya. Effect of the photoperiod and thermoperiod on the eclosion rhythm in *Trichogramma evanescens* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) // Ent. Exp. Appl. 1995. Vol. 74. P. 99—104.

Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург.

Поступила 21 VII 2004.

SUMMARY

The interaction of exogenous and endogenous factors in their influence on the daily rhythm of adult eclosion was studied in two laboratory strains of egg parasitoids, *Trichogramma embryophagum* and *T. principium*. Under constant temperature of 20° and different photoperiods (photophase of 12, 16 or 20 h) both species exhibited the distinct rhythm, most of adults eclosed within 4 first hours after light-on. The fraction of individuals emerging during this period depended on photoperiod, the extent was different in two species. Experiments with non-periodic regimes (constant darkness or constant light, 20°) have showed that the rhythm is based on the endogenous circadian oscillations, which could be synchronized with an external photoperiod. However, the time of emergence was not rigidly «pre-programmed» and could be considerably modified by direct influence of light and temperature. Light-on and/or a temperature step-up (from 20 up to 30°) induced eclosion in a certain percentage of individuals practically at any time of the 24-h-long cycle. The magnitude of a response, measured as a fraction of adults eclosing within 2 h after the stimulation, changed daily under the control of circadian oscillation. Thus, the plasticity of eclosion daily dynamics was limited to a certain extent, due to endogenous rhythm of responsiveness to the stimuli. The interspecies differences were revealed in the relative responsiveness to light-on and temperature step-up. When light and temperature stimuli were applied simultaneously, they caused synergistic effect which exceeded the simple sum of their separate impacts. The results suggest a considerable role of exogenous factors in the control of eclosion rhythm in *Trichogramma* species and can be used in the development of possible methods for regulation and synchronization of emergence in these parasitoids.