

DOROTA ANETA LUPA

Samodzielny Zakład Entomologii Stosowanej SGGW
Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa
lupa@alpha.sggw.waw.pl

ZNACZENIE MELANIN W ŻYCIU OWADÓW

Jedną z najbardziej interesujących cech owadów jest ich barwa. Powstaje ona w wyniku syntezy barwnika w pokryciu ciała na drodze wielu skomplikowanych przemian biochemicznych, dzięki czemu uzyskujemy ubarwienie chemiczne lub pigmentowe. Barwy pigmentowe mogą być bardzo jaskrawe i najczęściej spotykane — matowe (SZWANWICZ 1956). Za ich powstawanie odpowiedzialny jest proces melanizacji, który towarzyszy również takim zjawiskom, jak zranienia (LAI-FOOK 1966), inkapsu-

lacja (powstawanie kapsułów melaninowych wokół obcego ciała) (ASO i współaut. 1995) i nodulacja (tworzenie guzków) (GLIŃSKI i JAROSZ 1997). Natomiast obserwowana silna melanizacja po śmierci owada jest prawdopodobnie wynikiem przyspieszenia reakcji biochemicznych w jego ciele, które biorą udział w syntezie melaniny (BANASIK i IGNATOWICZ 1997), pigmentu odpowiedzialnego za powstawanie szerokiej gamy kolorów charakteryzujących poszczególne części ciała owada (LAI-FOOK 1966).

UDZIAŁ MELANIN W POWSTAWANIU BARW PIGMENTOWYCH

Melaniny biorą udział w wielu procesach biochemicznych i fizjologicznych. Są nierozdzielnie wplątane w metabolizm owada we wszystkich jego stadiach rozwojowych i, dla przykładu, efektem tego mogą być czerwone i brązowe barwniki oczu owadów (ommochromy) — jest to pochodna kinureniny, będąca produktem utleniania aminokwasu — tryptofanu. Takie barwniki, jak brązowe insektorubiny lub ommochromy są zgromadzone w postaci ziarenek w komórkach epidermy. Zielone pigmenty owadów (insektowerdyny) są zwykle mieszaninami niebieskiej biliwerdyny (prawdopodobnie powstałej w wyniku rozpadu hemoglobiny lub cytochromu) i pewnych żółtych barwników karotenowych. Czarny pigment natomiast, to nierozpuszczalny barwnik występujący u owadów, a powstający w obecności tlenu pod wpływem działania utleniającego enzymu na bezbarwny prekursor aromatyczny zwany chromogenem. Tak więc barwy pigmentowe różnią się między sobą jakością barwnika i jego rozmieszczeniem. Niektóre barwniki są rozpuszczalne w hemolimfie lub w kropelkach tłuszczu (lipochromy), wiele innych pojawia się jako wtręty w epidermie lub innych tkankach, albo na skrzydłach między warstwami łusek (WIGGLESWORTH 1966).

W związku z tym, rodzaje barw można podzielić na cztery grupy. Jeżeli pigment znajduje się w oskórku wówczas mamy do czynienia z barwami oskórkowymi, które są bardzo trwałe. Jeżeli pigment gromadzi się w naskórku, a oskórek jest przeźroczysty, powstaje ubarwienie naskórkowe (hypodermalne), które jest nietrwałe, gdyż po śmierci owada komórki naskórka ulegają rozpadowi. Gdy pokrycie ciała jest przeźroczyste, a barwę nadają wnętrzości mówimy o ubarwieniu podnaskórkowym (subhypodermalnym). Oprócz tego istnieją jeszcze barwy nadoskórkowe (suprakutikularne) zaobserwowane u niektórych ważek, gdzie z chwilą osiągnięcia dojrzałości płciowej pojawia się na oskórku delikatny, ścierający się puszek (SZWANWICZ 1956).

Na ubarwienie wielu owadów, zwłaszcza jego części melaninowych, mają wpływ takie czynniki jak temperatura, oświetlenie, wilgotność. Zmiany temperatury w momencie przepoczwarczenia lub nieco wcześniej mogą powodować nawet powstanie nowej formy gatunku, gdyż działając podwyższoną temperaturą na przykład na pokrzywnika — *Vanessa urticae*, uzyskuje się jego południową formę *Vanessa ichtusa*. Innym przykładem jest owadziarka

(*Habrobracon*), u której wahania temperatury zwiększają stopień pigmentacji jej ciała. Natomiast u pluskwiaka (*Perillus* sp.) w niskiej temperaturze powiększają się ilości złożeń melaniny i karotenu, podczas gdy w wysokiej temperaturze powstają osobniki białe. Zaobserwowano również, że oprzędy niektórych pawicowatych (Saturnidae) i barczatkowatych (Lasiocampidae) są ciemne, jeśli powstają w powie-

trzu o znacznej wilgotności, natomiast gdy wilgotność jest niewielka zwiększa się ilość jasnych oprzędów. Bardzo często mamy do czynienia z zależnością barwy od podłoża, na przykład poczwarka bielinka kapustnika (*Pieris brassicae*) jest szara na szarym podłożu, a zielona na liściu (SZWANWICZ 1956; KOCH i współaut. 1984, 1990).

REGULACJA HORMONALNA W POWSTAWANIU BARW

Warto nadmienić, że proces powstawania barw odbywa się pod kontrolą hormonów znajdujących się pod nadzorem mózgu (HIRUMA i RADDIFORD 1993).

Jak powszechnie wiadomo, kutikula wielu owadów zawiera czarny pigment — melaninę. Proces inicjujący odkładanie się melaniny w nowo powstającej kutikuli przebiega pod wpływem hormonów (RADDIFORD 1985). W pierwszej fazie tego procesu mózg odpowiedzialny jest za nagromadzenie bodźców, które inicjują syntezę czerwonego hormonu koloryzującego (ang. MRCH, melanization and reddish coloration hormone) ze zwoju podprzelykowego i kompleksu *corpora cardiaca-corpora allata*. Ten peptydowy hormon przedostaje się do hemolimfy krótko przed ostatnią wylinką larwalną (OGURA 1975) i powoduje nie tylko melanizację naskórka, ale także syntezę ommochromów w epidermie przy współudziale hormonu juvenilnego (HIRUMA i RADDIFORD 1985).

Końcowe etapy linienia imaginalnego (zrzucanie starej kutikuli poczwarkowej) są również pod kontrolą hormonalną. W procesie tym bierze udział hormon wylinkowy i bursykon. Ten ostatni kontroluje syntezę związków prowadzących do ciemnienia i twardnienia nowej kutikuli. U *Manduca sexta* bursykon jest uwalniany z komórek neurosekrecyjnych znajdujących się w zwojach odwłokowych za pośrednictwem układu perysympatycznego. Hormon ten pojawia się w hemolimfie postaci dorosłego owada natychmiast po wyjściu z poczwarki pozwalając w sposób pośredni na całkowite rozprostowanie się skrzydeł. Po tym okresie następuje ciemnienie skrzydeł i całego ciała oraz twardnienie kutikuli. Na podstawie badań przeprowadzonych na *Periplaneta* i *Pieris* wydaje się, że bursykon zwiększa przepuszczalność hemocytów i komórek epidermy w stosunku do tyrozyny. Pod wpływem tego hormonu zmienia się również przepuszczalność komórek epidermy w stosunku do DOPA-aminy, która następnie jest

w nich przemieniana na *N*-acetylo-DOPA-aminę i w ten sposób następuje zmiana zabarwienia nowej kutikuli (CYMBOROWSKI 1984). Dokładniej proces ten zostanie opisany w dalszej części tego artykułu. Można jedynie nadmienić, że DOPA dekarboksylaza (DDC) jest jednym z pierwszych opisanych owadzych enzymów, którego synteza okazała się przebiegać pod kontrolą hormonalną. U much, aktywność DDC wzrasta w czasie przepoczwarczenia, co pociąga za sobą wzrost ekdysteroidu. W innym przypadku aktywność DDC wzrasta tylko podczas lub po linieniu, natomiast podczas embriogenezy, linień larwalnych i linienia poczwarka-osobnik dorosły pik ekdysteroidu maleje (TRUMAN i współaut. 1983, HIRUMA i RADDIFORD 1993).

Warto jeszcze omówić pokrótce mechanizm uwalniania neurohormonów do hemolimfy. Komórki neurosekrecyjne, które produkują różne rodzaje neurohormonów występują w mózgu zarówno larw, poczwarek, jak i u postaci dorosłych. Cechą charakterystyczną dla wszystkich badanych dotychczas owadów wydają się być cztery główne grupy tych komórek występujące w *protocerebrum*. Dwie z nich znajdują się w części środkowej mózgu (*pars intercerebralis*) oraz dwie po bokach (komórki lateralne). Komórki neurosekrecyjne zostały również znalezione w innych częściach układu nerwowego, chociażby w płatach wzrokowych mózgu, zwoju frontalnym (tu: *Manduca sexta*), czy też w zwoju podprzelykowym, jednak tutaj ich funkcja jest ciągle niejasna (CYMBOROWSKI 1984).

Neurohormon produkowany w komórkach nerwowych ośrodka neurosekrecyjnego spływa wypustkami tych komórek do zbiorników hormonu, zwanych narządami neurohemalnymi, metamerycznie rozmieszczonych wzdłuż całego łańcuszka nerwowego owadów, skąd zostaje uwolniony pod wpływem określonych bodźców i od tego momentu może spełniać typowe dla siebie funkcje regulacyjne (CYMBOROWSKI 1984, RAJSKI 1994).

MELANINY

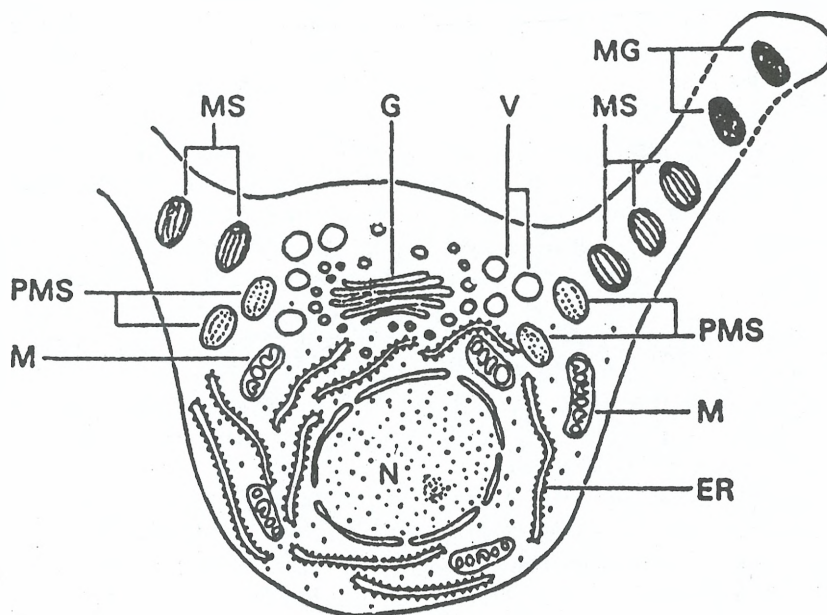
Jak wspomniano powyżej najważniejszą grupę pigmentów stanowią melaniny. Melanina jest bezpostaciowym polimerem syntetyzowanym w procesie kopolimeryzacji różnych pośrednich form, które powstały podczas utleniania związków o-difenolowych przy udziale enzymów (ASO i współaut. 1995). Jest ona odpowiedzialna za powstawanie barw od czarnej, poprzez brunatną aż, do ochrowożółtej (SZWANWICZ 1956). Enzymy biorące udział w wytwarzaniu melaniny są rozproszone w hemolimfie (ASO i współaut. 1990) i innych tkankach owadów. Aktywność melanin wzrasta szczególnie podczas przepoczwarczenia, kiedy to często tworzy się większość czarnego barwnika. Jego synteza przebiega pod kontrolą enzymów, które determinują powstawanie melaniny i działają na rozmaite związki to jest tyrozinę (hydroksyfenyloalanina), DOPA i inne polifenole (WIGGLESWORTH 1966).

CYTOLOGIA MELANIN

Melaniny występują w wyspecjalizowanych komórkach nazywanych melanocytami (MUR-

RAY i współaut. 1994). Struktura melanocytów nie jest jednolita, za to występuje na różnych etapach rozwoju owada. Melanocyty zawierają wyspecjalizowane organelle (Ryc. 1), zwane pre-melanosomami, w których następują ważne zmiany strukturalne i chemiczne, mające miejsce podczas melanizacji, oraz melanosomy i ziarenka melaniny. Przemiany te są kontrolowane również przez fizyczne i chemiczne czynniki to jest temperaturę, pH, potencjał redoks i inhibitory enzymu (NICOLAUS 1968).

Melaniny można sklasyfikować na zwierzęce eumelaniny i feomelaniny oraz roślinne — alomelaniny. Eumelaniny są pigmentami powstałymi z tyrozyny, a zarazem makrocząsteczkami syntetyzowanymi w wyniku kopolimeryzacji różnych prekursorów, na przykład 5,6-indolochinonu i prawdopodobnie wolnych rodników. Znajdowane są najczęściej we włosach, skórze i piórach (NICOLAUS 1968). Sądzi się, że powstający polimer eumelaniny wychwytuje wolne rodniki i ulega częściowemu rozpadowi pod wpływem nadtlenu wodoru, wytwarzanego podczas samorzutnego procesu utleniania. Feomelaniny i eumelaniny wchodzą w kom-



Ryc. 1. Diagram melanocytu, ukazujący ziarenka melaniny w różnych stadiach rozwoju.

Poliptydy (ostatecznie tyrozinaza) są syntetyzowane w małych ziarenkach (przypuszczalnie w cząsteczkach rybonukleoprotein), następnie są przemieszczane, być może wzdłuż retikulum endoplazmatycznego (ER), do struktur aparatu Golgiego (G), i tam zagęszczane w pro-tyrozinazę, której drugo i trzeciorzędowe struktury dają początek tyrozinazie. W strukturach aparatu Golgiego, pro-tyrozinaza jest rozdzielana na małe jednostki, gdzie każda z nich zostaje otoczona przez rozwijające się membrany (V). W obrębie każdej otoczki cząsteczki pro-tyrozinazy zostają uszeregowane według określonego wzoru. Kiedy to nastąpi powstają tzw. pre-melanosomy (PMS). Pro-tyrozinaza aktywuje się, to jest staje się tyrozinazą, rozpoczyna się synteza melaniny i powstają cząsteczki zwane melanosomami (MS). Gdy melanina stopniowo kumuluje się w cytoplazmie, melanosom przekształca się w bezkształtne cząstki jednolitej gęstości to jest ziarenka melaniny (MG), w których nie obserwuje się aktywności tyrozinazy (według NICOLAUSA 1968, zmienione).

pleks z białkami macierzy melanosomalnej wytwarzając melanoproteinę (MURRAY i współaut. 1994). Feomelaniny odpowiedzialne są za pigment dający zabarwienie od brązowego do żółtego i są biologicznie i cytologicznie porównywalne z czarną eumelaniną. Tyrozyna i cysteina są prekursorami feomelanin (NICOLAUS 1968). Reakcję początkową katalizuje monoooksygenaza monofenolowa (inaczej tyrozynaza) (HIRUMA i współaut. 1993), enzym zależny od miedzi. Reakcja katalizowana przez ten enzym często ulega zaburzeniom dając początek albinizmowi (MURRAY i współaut. 1994). Poszczególne etapy reakcji pomiędzy chinonami pochodzącymi od tyrozyny i cysteiny oraz enzymy, które kontrolują syntezę feomelanin nie są jeszcze poznane (NICOLAUS 1968).

W syntezie allomelanin pośrednikami są również chinony, ale chemicznie różnią się one od melanin pochodzących od tyrozyny. Wiele allomelanin, w procesie degradacji, daje początek katecholom, co sugeruje, że *o*-difenol odgrywa tę samą rolę w syntezie allomelanin co DOPA w powstawaniu eumelanin (NICOLAUS 1968).

BIOSYNTeza MELANIN

Melaniny mają złożony skład chemiczny. Zawartość węgla w melaninach wynosi 48,9–60,0%, wodoru 3,0–7,6%, azotu 8–13%. Siarka i żelazo występują tylko w niektórych melaninach (WIGGLESWORTH 1966).

Substancją wyjściową syntezy melanin jest tyrozyna, czyli kwas oksyfenyloamidopropionowy: $C_6H_4OH-CH_2-CH-NH_2-COOH$ i różniący się od niego obecnością jednej grupy hydroksylowej kwas dwuoksyfenyloamidopropionowy, często nazywany w skrócie „DOPA” (SZWANWICZ 1956).

Wyróżnia się trzy główne etapy powstawania melaniny: 1) hydroksylacja tyrozyny do 3-(3,4-dihydroksyfenylo)alaniny (DOPA) (ASO i współaut. 1995) — czerwony pigment (NICOLAUS 1968); 2) przemiana DOPA do DOPA chinono iminy (DQI, dopachrom) (ASO i współaut. 1995) — odbarwienie czerwonego pigmentu (NICOLAUS 1968); 3) przemiana DQI do 5,6-dihydroksyindolu (DHI) (ASO i współaut. 1995) — utlenianie bezbarwnej substancji do melaniny (NICOLAUS 1968). Tyrozynaza i difenoloksydaza są kluczowymi enzymami w etapie (1) i (2). Proteinowy czynnik chinono iminy (QICF), przekształcający DOPA chinono iminę (DQI), katalizuje reakcję w etapie 3 (ASO i współaut. 1995) na zmianie L-dopachromu (L-DOPA chinono imina) do dihydroksyindolu i przyspiesza powstawanie melanochromy w obecności tyrozynazy (Ryc. 2).

ASO i współaut. (1995) domyślają się, że u owadów narażonych na inwazję obcych ciał, QICF razem z fenoloksydazą doprowadza do szybkiej melanizacji wokół ksenobiotyku w hemolimfie i szybko likwiduje stworzone niebezpieczeństwo w naskórku. Poziom aktywności QICF zależy od stadium rozwojowego owada, i może odgrywać ważną rolę w naprawianiu zranień lub w procesie twardnienia, kiedy QICF występujący w hemolimfie jest włączony w proces melanizacji (ASO i współaut. 1990).

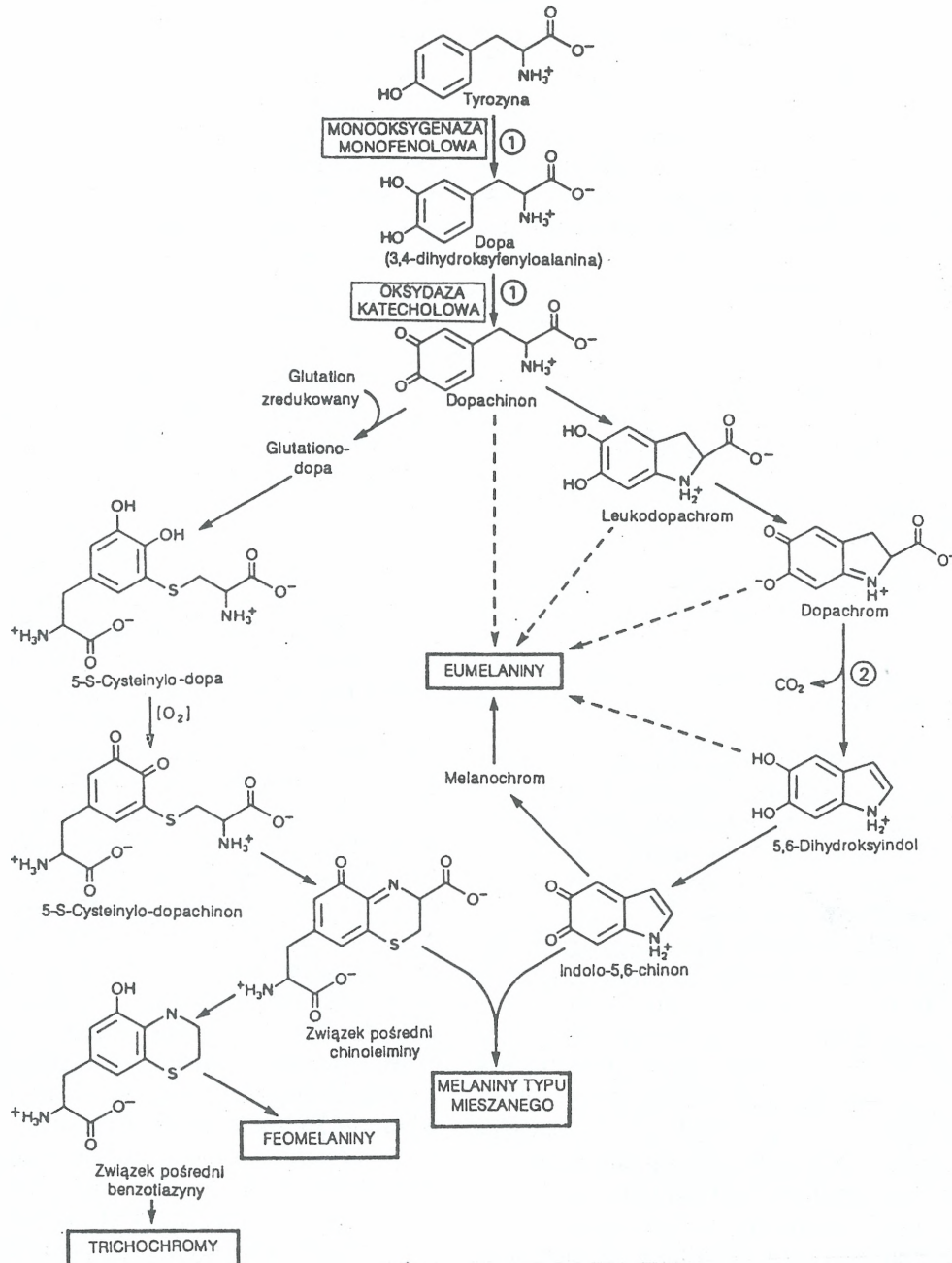
Utlennianie polifenoli jest katalizowane przez enzymy znane jako oksydazy polifenolowe. W zależności od substratu w reakcji mogą to być tyrozynaza, oksydaza polifenolowa, kompleks fenolazy, system fenolazy, oksydaza katecholowa i oksydaza DOPA. Tyrozynaza katalizuje utlenianie mono- i *o*-difenoli (tak zwane aktywności krezolazy i katecholazy), podczas gdy oksydaza polifenolowa katalizuje utlenianie *o*-difenoli (NICOLAUS 1968).

Fenoloksydaza może istnieć i być łatwo zlokalizowana u wszystkich owadów. Enzym ten odgrywa ważną rolę w melanizacji ich naskórka i w naprawach oskórka przez wytworzenie niezbędnych pigmentów poprzez zamianę aromatycznych chinonów i ich produktów do melaniny (MANSOUR i FRANZ 1996). Enzymy utleniające tyrozynę do DOPA w wyniku aktywacji redukują takie czynniki jak: *o*-dihydroksyfenol, kwas askorbinowy lub hydrochinon (NICOLAUS 1968).

Enzymatyczne utlenianie DOPA scharakteryzowano trzema fazami chromoforycznymi. Po badaniu spektrofotometrycznym określono dwa maksima, pierwsze przy 305 i 475 m i drugie przy 300 i 540 m oraz całkowitą absorpcję. Wydaje się, że pierwsza faza chromoforyczna odpowiada dopachromowi, (dopachrom powstaje również przy udziale oksydazy polifenolowej), druga chinonowi, a trzecia melaninie (NICOLAUS 1968).

Na bazie pomiarów spektrofotometrycznych zaproponowano następujący schemat melanoogenezy (Ryc. 3).

Melaniny powstają zatem z tyrozyny przy udziale pięciu atomów tlenu i jednej cząsteczki dwutlenku węgla, pochodzącej od tyrozynowej grupy karboksylowej. Doświadczenia wykonane przez CLEMO (1952) wykazały jednak, że tylko połowa dwutlenku węgla pochodzi z grup karboksylowych, a pozostała z innych ośmiu atomów węgla aminokwasów. Stwierdzono również, że utlenianie difenoli takich jak DOPA, 5,6-dihydroksyindol, katechol i 1,8-dihydroksynaftalen daje początek czarnemu pigmentowi, w wyniku czego otrzymuje się chinony z licznymi aktywnymi ośrodkami dla polimeryza-



Ryc. 2. Poznane związki pośrednie i reakcje w biosyntezie eumelanin i feomelanin. Polimery melaniny zawierają zarówno eumelaninę, jak i feomelaninę w zmiennych proporcjach. Strzałki kreskowane wskazują, które związki pośrednie przyczyniają się do syntezy eumelanin. Cyfry w kółkach wskazują na prawdopodobne regulatorowe reakcje szlaku biosyntetycznego (MURRAY i współaut. 1994).

cji. Związki, w których jest ograniczona ilość aktywnych centrów produkują brązowe, czer-

wonawo brązowe i żółtawobrazowe pigmenty, ale nie czarne (NICOLAUS 1968).

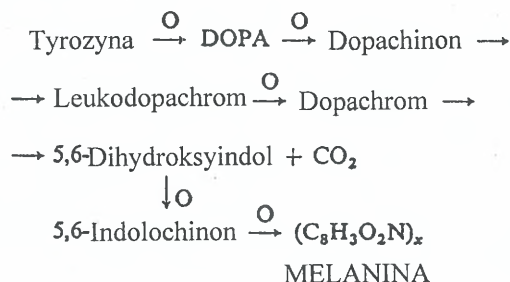
PROCES MELANIZACJI A ZJAWISKA ODPORNOŚCIOWE OWADÓW

Odporność wrodzona istnieje dzięki stałej obecności w hemolimfie zdrowego owada między innymi lizozymu, lektyn, układu oksydazy polifenolowej.

Układ oksydazy polifenolowej (PpO) uczestniczy w wielu funkcjach o podstawowym znaczeniu dla życia owada. Oprócz uczestnictwa w

procesie melanizacji wchodzi również w skład układu odpornościowego, gdyż współuczestniczy w rozpoznawaniu immunologicznym. Układ ten odpowiedzialny jest również za melanizację otoczek i guzków, melanizację humoralną, gojenie ran, a także stymuluje fagocytozę i inkapsulację, gdy do organizmu owada dostanie się

obce ciało (GLIŃSKI i JAROSZ 1997). Inkapsulacja ma miejsce, gdy zbyt duży rozmiar obcego ciała sprawia, że fagocytoza jest niemożliwa. W procesie inkapsulacji hemocyty (głównie granulocyty) wydzielają do hemolimfy „substancje rozpoznawcze”, które aktywują plazmatocyty. Te natomiast otaczają ciało obce, spłaszczają się, tworząc trójwarstwową otoczkę. Oczywiście procesowi temu towarzyszy melanizacja (GLIŃSKI i JAROSZ 1997).



Ryc. 3. Schemat melanogenezy Raper-Masona (według NICOLAUSA 1968).

Jako przykład może posłużyć miniarka przestrzenka (*A. frontella*), europejski szkodnik zawleczony do Stanów Zjednoczonych i Kanady w latach 60. (HARCOURT i współaut. 1987). Zalamanie się populacji miniarki przestrzenki (*A. frontella*), nastąpiło po wprowadzeniu europejskiej błonkówki z gatunku *Dacnusa dryas*. Parazytoid ten był jedną z wielu odmian importowanych z Francji i Danii przeciw *A. frontella*. Jednak introdukcja parazytoida spowodowała jedynie spadek liczebności szkodnika, ale nie całkowite jego wyginięcie (GUPPY i współaut. 1988). Okazało się, że przeżycie szkodnika jest możliwe dzięki reakcji obronnej gospodarza na jaja i pierwsze stadium larwalne *D. dryas*, poprzez utworzenie otoczki melaninowej wokół intruza. Kapsuła, która powstała, po pewnym czasie kurczyła się i silnie melanizowała, co doprowadzało do wysuszenia martwego ciała parazytoida (MELOCHE i GUPPY 1990).

Otoczki melaninowe powstają również wokół żywych larw parazytoida. Jednak w wielu

przypadkach parazytoid miał zdolność uwalniania się z nich wykonując silne ruchy, tym bardziej, gdy otoczka była niekompletna. Przypuszcza się, że śmierć okapsułowanego parazytoida jest rezultatem uduszenia lub zagłodzenia go, szczególnie, gdy transport substancji odżywczych jest niemożliwy. To sugeruje, że różnice osmotyczne pomiędzy kapsułą, a hemolimfą prowadzą do śmierci parazytoida (MELOCHE i GUPPY 1990). Wyżej opisany proces występuje również w przypadku immunologicznej odpowiedzi niedara (*Phenacoccus manihoti*), broniącego się w ten sposób przed inwazją jaj i larw parazytoida *Epidinocarsis lopezi* (SULLIVAN i NEUENSCHWANDER 1988, GIORDANENGO i NENON 1990).

Okazało się również, że położenie jaj parazytoida w ciele gospodarza może wpływać na szybkość jego reakcji obronnych. I tak na przykład u kłowacza (*Pimpla instigator*), mola barciaka (*Galleria mellonella*), bielinka kapustnika (*Pieris brassicae*) więcej kapsuł melaninowych powstawało wówczas, gdy jaja znajdowały się w środkowej części ciała gospodarza, co powodowało szybszy przepływ hemolimfy, czyli skuteczniejsze działanie hemocytów. U wełnowca cytrusowego (*Planococcus citri*) jaja parazytoida, *Leptomastix dactylopii*, rozmieszczone były w różnych częściach ciała, lecz kapsuł melaninowych nie znaleziono. Stwierdzono, że *L. dactylopii* mógł zabezpieczać się przed okapsułowaniem warstwą substancji, produkowanej przez wyspecjalizowane komórki jego ciała, które otaczały jajo (GIORDANENGO i NENON 1990).

Warto również nadmienić, że jeżeli w ciele gospodarza znajdzie się kilka larw tego samego lub różnych gatunków parazytoidów, a szansę rozwoju ma tylko jedna z nich lub nieliczne, to rozpoczyna się między nimi walka o przeżycie. U martwych larw zaobserwowano bowiem ślady melanizacji w różnych częściach ciała, które spowodowane były odpowiedzią immunologiczną na zranienia po odbytej walce (SCHMID-HEMPEL 1996).

PROCES TWARDNIENIA A MELANIZACJA

Ponieważ melaniny występują w kutikuli, istnieją zatem zależności pomiędzy ich ilością a budową oskórka. Mianowicie, najtwardsze części sklerytów są zabarwione najsilniej. U prostoskrzydłych żuwaczki zabarwione są na kolor ochrowożółty, podczas gdy twarde zęby są czarne. Chrząszcz po wyjściu z poczwarki jest biały i miękki, ale wkrótce pokrycie jego ciała twardnieje i ciemnieje. U osowatych [(*Vespa*) osa,

(*Polistes*) klecanka], duże złoża melaniny występują nad miejscami przyczepu mięśni i nad złogami ciała tłuszczowego (SZWANWICZ 1956).

Z reguły trudno jest oddzielić powstawanie melaniny w kutikuli od bardzo zbliżonego i równocześnie przebiegającego procesu sklerotyzacji u owadów, któremu zwykle towarzyszy linienie, czyli zrzucanie starej kutikuli i wytworzenie nowej, o większych rozmiarach. Po linie-

niu nowa kutikula jest miękka i niemal bezbarwna. W ciągu 1–2 godzin po zrzućeniu starej kutikuli nowa twardnieje i ciemnieje (WIGGLESWORTH 1966).

Zabarwienie, którego intensywność wzrasta podczas procesu twardnienia, jest najprawdopodobniej spowodowane reakcjami pomiędzy chinonami (NICOLAUS 1968, HIRUMA i współaut. 1993).

Sam proces twardnienia polega na przekształcaniu się składników białkowych w egzokutikuli w rogową substancję zwaną sklerotyną

(NICOLAUS 1968), którą opisuje się jako białko „impregnowane”, czyli artropodynę. Powstaje ono pod działaniem chinonów, które tworzą się w kutikuli w wyniku utleniania rozmaitych dwufenoli. Chinony reagują z wolnymi grupami aminowymi w sąsiednich łańcuchach białkowych i wiążą je silnie ze sobą, przekształcając miękka, biała, rozciągliwą substancję w twardy materiał rogowy, którego barwa waha się od bursztynowej do ciemnobrunatnej (WIGGLESWORTH 1966).

WPLYW PROMIENIOWANIA JONIZUJĄCEGO NA PROCES MELANIZACJI I JEGO PRAKTYCZNE ZASTOSOWANIE

Proces melanizacji może ulec zaburzeniu pod wpływem różnych czynników stresogennych. Jednym z nich jest promieniowanie jonizujące.

Niskie dawki promieniowania jonizującego polecane są jako działanie kwarantannowe dla licznych owoców, warzyw, ciętych kwiatów, ziarna i innych produktów (BRUDITT 1992, MOY 1988). Służby kwarantannowe muszą być pewne, że zabieg kwarantanny został poprawnie wykonany, a znajdujące się w produktach żywe owady i roztocze nie stanowią zagrożenia. Potrzebne są więc testy, za pomocą których można stwierdzić, że szkodniki zostały napromieniowane dawką, która wywołuje u nich przynajmniej sterylność płciową (BRUDITT 1992).

Proces melanizacji może być wykorzystywany w wyżej wymienionym działaniu w celu identyfikacji naświetlonych szkodników (BANASIK i IGNATOWICZ 1997). Ostatnio NATION i współaut. (1995) pisali o wpływie naświetlania promienia-

mi gamma na proces melanizacji i aktywność fenoloksydazy w larwach *Anastrepha suspensa* (Loew). Sugerowano, że promieniowanie jonizujące hamuje produkcję jednego lub kilku enzymów odpowiedzialnych za melanizację. Zwykle larwy po śmierci stają się ciemne, podczas gdy te napromieniowane były znacznie jaśniejsze (IGNATOWICZ 1995).

IGNATOWICZ i współaut. (1993) pisali o redukcji melanizacji w larwach trojszyka ulca (*Tribolium confusum*) po ich śmierci, jako wyniku działania promieniowania. Redukcja następowała już w pierwszym tygodniu po naświetleniu, a całkowita inhibicja obserwowana była w drugim tygodniu (IGNATOWICZ i BANASIK-SOŁGAŁA 1997). Prowadzi się jednak nadal badania nad wykorzystaniem procesu melanizacji jako metody identyfikującej napromieniowane szkodniki, a także poszukuje innych alternatywnych rozwiązań w tym samym celu.

THE SIGNIFICANCE OF MELANINS IN INSECTS LIFE

Summary

Melanins take part in multiple life processes of insects. These processes are responsible for the a rise of colours, take part in immunological responses and are inseparably connected with the process of sclerotisation of insects cuticle. Tyrosine is a precursor of melanin synthesis, and

is oxidized by enzymes of polyphenol oxidation. The process of melanization can be disrupted, e.g. by treatment with ionizing radiation, and this can be taking advantage of in preparing tests for identification of irradiated insect pests.

LITERATURA

- ASO Y., NAKASHIMA K., YAMASAKI N., 1990. Changes in the activity of DOPA quinone imine conversion factor during the development of *Bombyx mori*. Insect Biochem. 20, 685–689.
- ASO Y., YAMAMOTO K., YOSHINAGA T., YAMAMOTO H., YAMAGAMI T., 1995. Partial purification and characterization of DOPA quinone imine conversion factor from larval hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*. Biosci. Biotech. Biochem., 59, 277–281.
- BANASIK K., IGNATOWICZ S., 1997. Melanization process in irradiated larvae of stored product moths. Pol. Pismo Entomol. 125–134.
- BRUDITT A. K. Jr., 1992. Effectiveness of irradiation as quarantine treatment against various fruit fly species. [W:] Use of Irradiation as a Quarantine Treatment of Food and Agricultural Commodities. IAEA, Vienna, str. 1–220.
- CLEMO G. R., 1952. Chemistry of melanin. Rev. Chim. Acad. Rp. Populare Roumaine 7, 763.

- CYMBOROWSKI B., 1984. Układ endokrylny. Hormonalna regulacja wzrostu i metamorfozy owadów. [W:] *Endokrynologia Owadów*. Warszawa PWN, str. 30–56; 103–129.
- GIORDANENGO P., NENON J.P., 1990. *Melanization and encapsulation of eggs and larvae of Epidinocarsis lopezi by its host Phenacoccus manihoti; effects of superparasitism and egg laying patterns*. Entomol. Exp. Appl. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers 56, 155–163.
- GLIŃSKI Z., JAROSZ J., 1997. Odporność wrodzona (naturalna). [W:] *Zjawiska odporności przeciwzakaznej u bezkręgowców*. Wyd. Uniw. Marii Curie-Skłodowskiej. Lublin, str. 25–44.
- GUPPY J. C., MELOCHE F., HARCOURT D. G., 1988. *Seasonal development, behavior and host synchrony of Dacnusa dryas (Nixon) (Hymenoptera: Braconidae), parasitizing alfalfa bloth leafminer, Agromyza frontella (Rondani) (Diptera: Agromyzidae)*. Can Entomol. 120, 145–152.
- HARCOURT D. G., GUPPY J. C., DROLET J., McNEIL J. N., 1987. *Population dynamics of the alfalfa bloth leafminer, Agromyza frontella (Diptera: Agromyzidae), in eastern Ontario: analysis of numerical change during the colonization phase*. Environ. Entomol. 16, 145–153.
- HIRUMA K., RADDIFORD L. M., 1985. *Hormonal regulation of dopa decarboxylase during a larval molt*. Dev. Biol. 110, 509–513.
- HIRUMA K., RADDIFORD L. M., 1993. *Molecular mechanisms of cuticular melanization in the tobacco hornworm, Manduca sexta (L.) (Lepidoptera: Sphingidae)*. Int. Insect Morphol. Embryol. 22, 103–117.
- IGNATOWICZ S., BANASIK-SOLGAŁA K., 1997. *Reduced melanization after death in larvae of the khapra beetle, Trogoderma granarium, as a result of the irradiation treatment*. Nukleonika 42, 801–812.
- IGNATOWICZ S., 1995. *Zwalczanie szkodników metodą wypuszczania sterylnych owadów. Zastosowanie promieniowania jonizującego w rolnictwie* 38, 35–41.
- IGNATOWICZ S., ZAEDEE I.H., RAHMAN R., BHUYA A. D., 1993. *Mat. XXXIII Sesji Nauk. Inst. Ochr. Rośl.* 2, 313.
- KOCH P. B., D., 1984. *Vergleichende Untersuchung der Farbmuster und der Farbanpassung von Nymphalidenpuppen (Lepidoptera)*. Zool. Beitr. N. F. 28, 369–401.
- KOCH P. B., STARNECKER G., BÖCKMANN D., 1990. *Interspecific effects of the pupal melanization reducing factor on pupal colouration in different Lepidopteran families*. J. Insect Physiol. 36, 159–164.
- LAI-FOOK J., 1966. *The repair of wounds in the integument of insects*. J. Insect Physiol. 12, 195–226.
- MANSOUR M., FRANZ G., 1996. *Effect of gamma irradiation on phenoloxidase activity in Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) larvae*. J. Econ. Entomol. 89, 695–699.
- MELOCHE F., GUPPY J. C., 1990. *Encapsulation of eggs and larvae of Dacnusa dryas (Hymenoptera: Braconidae) by the Alfalfa Bloth Leafminer (Diptera: Agromyzidae) and its importance in host-parasite coexistence*. Environ. Entomol. 19, 423–427.
- MOY J. H., 1988. *Irradiation as substitute to chemical fumigation of food*. [W:] *Practical Application of Food Irradiation in Asia and the Pacific*, IAEA-TECDOC. 452, 17–33.
- MURRAY R. K., GRANNER D. K., MAYES P. A., RODWELL V. W., 1994. *Synteza melanin*. [W:] *Biochemia Harpera*. Wyd. Lekarskie PZWL. Warszawa, str. 393–395.
- NICOLAUS R. A., 1968. *Melanins*. [W:] *Chemistry of Natural Product*, LEDERER E., (red. HERMANN 115). Boulevard Saint-Germain, Paris VI, str. 9–104.
- NATION J.L., SMITTLE B.J., MILNE K., 1995. *Radiation induced changes in melanization and phenoloxidase in Caribbean fruit fly larvae (Diptera: Tephritidae) as the basis for a simple test of irradiation*. Ann. Entomol. Soc. Amer. 88, 201–205.
- OGURA N., 1975. *Hormonal control of larval coloration in the armyworm, Leucania separata*. J. Insect Physiol. 21, 559–576.
- RAJSKI A., 1994. *Organologia, Aparat wydzielania wewnętrzne*. [W:] *Zoologia T. 1., Cz. ogólna*, Warszawa PWN, str. 319–321.
- RADDIFORD L. M., 1995. *Hormone actin at a cellular level*. [W:] *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. KERKUT G.A., GILBERT L. I. (red). Pergamon Press, Oxford, t. 8, str. 37–84.
- SCHMID-HEMPEL R., SCHMID-HEMPEL P., 1996. *Larval development of two parasitic flies (Conopidae) in the common host Bombus pascuorum*. Ecological Entomology. 21, 63–70.
- SULLIVAN D. J., NEUENSCHWANDER P., 1988. *Melanization of eggs and larvae of the parasitoid, Epidinocarsis lopezi (De-Santis) (Hymenoptera: Encyrtidae), by the cassava mealybug, Phenacoccus manihoti Matile-Ferrero (Homoptera: Pseudococcidae)*. Can. Ent. 120, 63–71.
- SZWANWICZ B., 1956. *Ubarwienie. Znaczenie ubarwienia dla owadów*. [W:] *Entomologia Ogólna*, str. 442–502.
- TRUMAN J. W., ROUNTREE D. B., REISS S. E., SCHWARTZ L. M., 1983. *Ecdysteroids regulate the release and action of eclosion hormone in the tobacco hornworm, Manduca sexta*. J. Insect Physiol. 29, 895–900.
- WIGGLESWORTH V. B., 1966. *Insect Physiology*. London, str. 12–119.