

Тийу ХАНСЕН

УДК 595.7—11

СОДЕРЖАНИЕ ГЛИЦЕРИНА И ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ У ХОЛОДОСТОЙКИХ НАСЕКОМЫХ

Большинство насекомых зимует в состоянии переохлаждения. Это состояние они переносят в течение длительного времени, но при замерзании тканей сразу погибают. Эти насекомые называются холодоустойчивыми. Некоторые насекомые обладают способностью выдерживать замерзание жидкостей тела в течение длительного времени, т. е. их зимовка может происходить и в замерзшем состоянии. Такие насекомые называются морозостойкими.

При изучении роли глицерина в холодоустойчивости насекомых основное внимание до сих пор обращали на морозостойкие виды (Salt, 1957, 1958, 1959; Takehara, Asahina, 1960). Это вполне понятно, поскольку глицерин впервые был идентифицирован в морозостойких куколках *Hyalophora cecropia* L. (Wyatt, Kalf, 1958). Большое значение имела работа Л. Сёмме (Sømme, 1964), в которой он сообщил о нахождении глицерина у восьми видов насекомых, зимующих в состоянии переохлаждения. К настоящему времени изучено около тридцати видов холодоустойчивых насекомых. Большинство из них глицерина во время зимовки не содержали, а в некоторых количество глицерина было очень высоким. Например, личинки *Dendroctonus monticolae* Hopkins содержали 23,4, личинки *Rhabdophaga globosa* Felt. даже 32,4% глицерина (Sømme, 1964). В зимующих насекомых обнаружены также другие многоатомные спирты — сорбит (Sømme, 1967) и маннит (Sømme, 1969). К сожалению, данные о холодоустойчивости многих исследованных насекомых отсутствуют. Поэтому наша цель была провести сравнительное изучение холодоустойчивости и содержания глицерина и других многоатомных спиртов у многих видов холодоустойчивых насекомых, зимующих в разной стадии развития и различающихся по местам зимовок.

Материал и методика

Объектами исследования служили 52 вида чешуекрылых, жесткокрылых, перепончатокрылых и двукрылых, зимующих в состоянии переохлаждения (список насекомых см. в таблице). Стадия и место зимовки даны по нашим наблюдениям. Материал собран в Эстонской ССР в Тартуском, Пылваском и Валгаском районах, гусеницы *Petrova resinella* L. — в Харьюском районе. Личинки *Anthaxia quadripunctata* L., *Rhagium inquisitor* L., *Tetropium castaneum* L., *Polygraphus polygraphus* L., *Crypturgus cinereus* Hb. и *Medetera signaticornis* Loew.,

Максимальное содержание глицерина и других многоатомных спиртов у некоторых зимующих холодостойких насекомых и их точки переохлаждения

Вид	Стадия зимовки	Место зимовки	Глицерин, % $M \pm m$	СМД, % $M \pm m$	ТП, °C $M \pm m$	Время определения (месяц)
1	2	3	4	5	6	7
<i>Coleoptera</i>						
<i>Anthaxia quadripunctata</i> L.	л	Под корой	26,10±0,03	0,00±0,00	-39,7±2,4	II
<i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say.	и	В почве	0,02±0,00	0,00±0,00	-7	XI
<i>Rhagium inquisitor</i> L.	л	В пнях	15,72±0,38	0,00±0,00	-34,7±0,9	II
<i>Tetropium castaneum</i> L.	л	Под корой	10,20±0,67	0,00±0,00	-16,8±2,1	II
<i>Ips typographus</i> L.	и	В подстилке	1,21±0,03	0,00±0,00	-25,0±0,8	III
<i>Polygraphus polygraphus</i> L.	л	Под корой	20,85±0,78	0,00±0,00	-39,0±0,4	I
<i>Crypturgus cinereus</i> Hb.	л	Под корой	12,30±0,62	0,00±0,00	-40,0±0,5	I
<i>Lepidoptera</i>						
<i>Pieris brassicae</i> L.	к	На стенах	0,00±0,00	0,83±0,03	-26,4±0,1	XII
<i>Pieris rapae</i> L.	к	На траве	0,00±0,00	0,79±0,00	-25,9±0,2	XII
<i>Harpia furcula</i> Cl.	к	На ветках близко к земле	4,62±0,10	0,00±0,00		II
<i>Harpia hermelina</i> Goeze.	к	На ветках близко к земле	4,81±0,07	0,00±0,00	-17,9±0,2	II
<i>Cerura vinula</i> L.	к	На ветках близко к земле	2,44±0,39	0,00±0,00	-20,7±0,8	II
<i>Notodonta dromedarius</i> L.	к	В почве, в подстилке	0,00±0,00	0,00±0,00	-16,5±0,2	XII
<i>Notodonta ziczac</i> L.	к	В почве	0,00±0,00	0,07±0,02	-21,6±0,4	I
<i>Lophopteryx camelina</i> L.	к	В почве, в подстилке	0,00±0,00	0,00±0,00	-19,0±0,4	XII
<i>Pterostoma palpinum</i> L.	к	В почве, в подстилке	0,00±0,00	0,00±0,00	-15,9±0,2	XII
<i>Phalera bucephala</i> L.	к	В почве	0,00±0,00	0,28±0,02	-19,1±0,3	II
<i>Clostera curtula</i> L.	к	В опавших листьях	5,53±0,05	0,00±0,00	-18,8±0,4	II
<i>Clostera pigra</i> Hfn.	к	В опавших листьях	6,23±0,31	0,00±0,00	-18,1±0,2	XI
<i>Sphinx ligustri</i> L.	к	В почве	0,00±0,00	0,18±0,02	-19,2±0,1	I
<i>Smerinthus ocellatus</i> L.	к	В почве	0,00±0,00	0,16±0,01	-19,2±0,1	II
<i>Laothoe populi</i> L.	к	В почве	0,00±0,00	0,12±0,00	-19	I
<i>Pergesa elpenor</i> L.	к	В почве	0,00±0,00	0,21±0,02	-23,1±0,2	I
<i>Drepana falcataria</i> L.	к	В опавших листьях	2,16±0,03	0,00±0,00	-23,8±0,2	I
<i>Drepana curvatula</i> Bkh.	к	В опавших листьях	5,46±0,08	0,00±0,00	-23,7±0,1	XI
<i>Drepana lacertinaria</i> L.	к	В опавших листьях	4,96±0,24	0,00±0,00	-24,4±0,8	II
<i>Eudia pavonia</i> L.	к	На ветках близко к земле	0,81±0,03	0,00±0,00	-25	III
<i>Dasychira pudibunda</i> L.	к	В опавших листьях	5,12±0,16	0,00±0,00	-17,2±0,2	XII
<i>Diarsia mendica</i> F.	л	В подстилке	0,00±0,00	0,00±0,00		XII
<i>Mamestra brassicae</i> L.	к	В почве	0,00±0,00	0,11±0,00	-22,5±0,2	I
<i>Mamestra persicariae</i> L.	к	В почве	0,95±0,02	0,00±0,00	-24,6±0,1	XII
<i>Mamestra contigua</i> Schiff.	к	В почве	0,00±0,00	0,00±0,00	-18	XII
<i>Orthosia gothica</i> L.	к	В почве	0,00±0,00	0,00±0,00		II

1	2	3	4	5	6	7
<i>Cucullia umbratica</i> L.	к	В почве	0,00±0,00	0,00±0,00		XII
<i>Apatele megacephala</i> Schiff.	к	В пнях	11,19±0,02	0,00±0,00	-32,2±0,4	XII
<i>Apatele aceris</i> L.	к	В опавших листьях	6,88±0,19	0,00±0,00	-32,2±0,4	XII
<i>Apatele leporina</i> L.	к	В пнях	10,03±0,10	0,00±0,00	-32,1±0,3	I
<i>Apatele cuspidata</i> Hb.	к	В пнях	11,66±0,09	0,00±0,00	-30,5±0,2	I
<i>Apatele tridens</i> Schiff.	к	В пнях	17,80±0,00	0,00±0,00	-34,4±0,3	II
<i>Apatele psi</i> L.	к	В пнях	12,30±0,19	0,00±0,00	-34,2±0,9	I
<i>Apatele auricoma</i> Schiff.	к	В опавших листьях	8,97±0,30	0,00±0,00	-32,2±0,2	XII
<i>Apatele rumicis</i> L.	к	В опавших листьях	7,39±0,10	0,00±0,00	-30,4±0,3	I
<i>Bena phagana</i> L.	к	На опавших ветках	2,78±0,03	0,00±0,00	-21,6±0,8	XII
<i>Colocasia coryli</i> L.	к	В подстилке	0,00±0,00	0,00±0,00	-23,5±0,4	II
<i>Catocala fraxini</i> L.	я	В кронах деревьев	0,00±0,00	0,98±0,10	-38,6±0,1*	II
<i>Catocala nupta</i> L.	я	В кронах деревьев	7,44±0,40	0,00±0,00	-36	XII
<i>Petrova resinella</i> L.	л ₂	В кронах деревьев	28,50±0,49	0,00±0,00	-48,5±0,6	XI
„	л ₄	В кронах деревьев	30,10±0,40	0,00±0,00	-46,5±0,3	I
<i>Mesographe forficatalis</i> L.	пр	В почве	0,00±0,00	0,24±0,00	-20,7±0,4	I
<i>Hymenoptera</i>						
<i>Formica aquilonia</i> Yarr.	и	В почве	0,00±0,00	2,23±0,05		XII
<i>Myrmica rubra</i> L.	и	В почве	0,00±0,00	0,00±0,00		X
<i>Diprion pini</i> L.	л	В подстилке	0,04±0,00	0,00±0,00		I
<i>Diptera</i>						
<i>Medetera signaticornis</i> Loew.	л	Под корой	10,61±0,8	0,00±0,00	-39,4±0,5*	II

СМД — сорбит, маннит, дульцит; ТП — точка переохлаждения; я — яйцо; л — личинка; пр — предкуколка; к — куколка; и — имаго; * — точка переохлаждения по данным Э. Меривээ (Merivee, 1978).

жуки *Ips typographus* L., гусеницы *Petrova resinella* L. и муравьи *Formica aquilonia* Yarr. и *Myrmica rubra* L. отобраны непосредственно перед анализом в природе. Самки остальных видов были выловлены в г. Тарту при помощи световых ловушек. Гусеницы выращены в стеклянных банках с соблюдением условий, близких к природным. Часть материала собрана в виде гусениц в природе. Зимовка проходила в природных условиях.

Качественный состав многоатомных спиртов определен хроматографически на бумаге (Hansen, 1973). Так как сорбит, маннит и дульцит на хроматограммах не разделялись, то считаем целесообразным говорить о присутствии группы, состоящей из сорбита, маннита и дульцита, а не о присутствии этих веществ в отдельности (Веймер, Хансен, 1970). Количественные анализы проведены по методу Ренкопена (Renkopen, 1962). Содержание глицерина и других многоатомных спиртов выражено в процентах к сырому весу. Точка переохлаждения измерялась термоэлектрически при помощи термодулы медь—константан. Скорость охлаждения для объектов весом 1—10 мг равнялась 1° в минуту, для более крупных насекомых — 0,2—0,5° в минуту.

Результаты и их обсуждение

Максимальное содержание глицерина и других многоатомных спиртов у зимующих холодостойких насекомых, а также соответствующие точки переохлаждения приведены в таблице, откуда видно, что накопление названных веществ происходило на разных стадиях зимовки (яйцо, личинка, предкуколка, куколка, имаго). Насекомые, содержащие глицерин, встречались в отрядах чешуекрылых (*Lepidoptera*), жесткокрылых (*Coleoptera*), перепончатокрылых (*Hymenoptera*) и двукрылых (*Diptera*). По литературным данным, глицерин определен еще у представителей отряда равнокрылых (*Homoptera*) (Sømme, 1964, 1969). Группа сорбита, маннита и дульцита обнаружена у чешуекрылых (*Lepidoptera*) и перепончатокрылых (*Hymenoptera*). В литературе имеются сведения о накоплении этих веществ и у насекомых из отряда равнокрылых (*Homoptera*) (Sømme, 1969).

Наши анализы показали, что отсутствие глицерина во время зимовки характерно для насекомых, зимующих в почве. У многих из них обнаружено небольшое содержание (0,1—0,3%) соединений группы сорбита, маннита и дульцита, а у некоторых насекомых не установлено ни одного из изученных многоатомных спиртов (таблица). Точки переохлаждения у этих видов находились в пределах —16...—25°C. Температура почвы в зимние месяцы держалась около нуля. Минимальная температура почвы в течение 15 лет в Тарту на глубине 25 см достигала —10,1°, а на глубине 50 см — —4,3°. Таким образом, насекомые, зимующие в почве, хорошо защищены от морозов, и их способность к переохлаждению вполне достаточна для успешной перезимовки и без глицерина.

Значительное количество глицерина (2—9%) установлено в насекомых, зимующих на поверхности почвы, т. е. на опавших ветках или под опавшими листьями. Точка переохлаждения этих насекомых была разной, достигая у некоторых видов даже —32°. Эти насекомые зимуют под снежным покровом, но в бесснежные холодные зимы находятся в условиях низких отрицательных температур. Сюда относятся такие виды чешуекрылых, как *Apatele aceris* L., *Apatele auricoma* Schiff. и *Apatele rumicis* L., у которых содержание глицерина в зимующих куколках составляло 6,9—9,0%, а точки переохлаждения достигали —30,4...—32,2° (таблица).

Еще более высокая концентрация глицерина (10—18%) обнаружена у насекомых, зимующих в пнях. Их точка переохлаждения находилась в пределах —30...—34°. Например, у куколок *Apatele tridens* Schiff., содержащих 17,8% глицерина, точка переохлаждения была —34,4°.

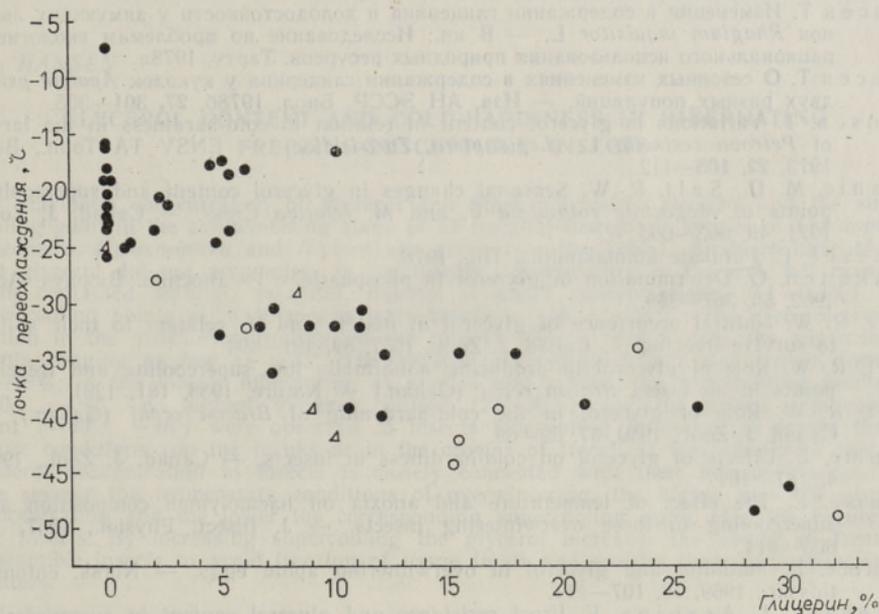
Самые высокие концентрации глицерина (20—30%) и самые низкие точки переохлаждения (—40...—48°) зарегистрированы у видов, зимующих в особенно суровых температурных условиях, на стволах и в кронах деревьев. Из изученных нами видов, наибольшее содержание глицерина определено у соснового побеговьяна *Petrova resinella*, который зимует в кроне сосен в стадии гусеницы второго (нечетные годы) и четвертого (четные годы) возраста. Содержание глицерина в гусеницах второго возраста было 28,5% и в гусеницах четвертого возраста — 30,1%. Соответствующие точки переохлаждения (—48,5 и —46,5°) были также самыми низкими по сравнению с таковыми у других изученных объектов. Высокое содержание глицерина (26,1%) и очень низ-

* Eesti NSV agrokliimaatiline teatmik. Tln. ERK, 1962 (Hüdrometeoroloogia Teenistuse Peavalitsus NSVL MN juures. ENSV Hüdrometeoroloogia Teenistuse Valitsuse Tallinna Hüdrometeoroloogia Observatoorium).

кая точка переохлаждения ($-39,7^{\circ}$) обнаружены и у личинок *Anthaxia quadripunctata*.

Из приведенного следует, что количество глицерина в насекомых в значительной мере связано с их местами зимовок. Чем суровее температурные условия перезимовки, тем выше содержание глицерина в насекомых. По литературным данным, высокая концентрация глицерина отмечена именно у насекомых, зимующих в суровых условиях (Sømme, 1964).

Полученные данные хорошо согласуются с результатами исследований по влиянию разных температур среды на содержание глицерина у насекомых. Экспериментально установлено, что при низкой температуре среды в холодостойких насекомых накапливается значительное количество глицерина (Sømme, 1964; Хансен, 1971, 1976, 1978a). Известно также, что куколки *Apatele psi* L. якутской популяции содержат на 4,0—6,7% больше глицерина и имеют более низкую точку переохлаждения, чем местные (Хансен, 1978б), так как климатические условия в Якутии гораздо суровее, чем в Эстонии.



Зависимость между максимальным содержанием глицерина и соответствующими точками переохлаждения у холодостойких насекомых. Каждой точке соответствует новый вид. Δ — литературные данные (Salt, 1957; Sømme, 1964, 1969; Kronic, Salt, 1971; Веймер, 1974). \circ — содержание глицерина, % от суммы вода глицерин.

На рисунке иллюстрируется зависимость между максимальной концентрацией глицерина и соответствующей точкой переохлаждения у разных холодостойких насекомых. Видно, что в общих чертах имеет место следующая закономерность: чем выше концентрация глицерина в насекомых, тем ниже является их точка переохлаждения. В пределах одного вида зависимость между точкой переохлаждения и содержанием глицерина в насекомых оказалась линейной, но обнаруживаются также видовые различия (Хансен, 1971).

Таким образом, накопление глицерина в насекомых имеет приспособительный характер. У холодостойких насекомых значение глицерина состоит в том, что он увеличивает способность к переохлаждению, предотвращает замерзание жидкостей ткани и тем самым позволяет насекомым легче переносить суровый зимний период.

ЛИТЕРАТУРА

- Веймер С. Содержание глицерина в зимующих личинках *Apanteles glomeratus* L. в связи с их холодостойкостью. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1974, **23**, 254—257.
- Веймер С., Хансен Т. Об идентификации многоатомных спиртов и свободных аминокислот у некоторых видов чешуекрылых. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1970, **19**, 47—51.
- Хансен Т. Исследование содержания многоатомных спиртов в зимующих стадиях насекомых в связи с их холодостойкостью. — В кн.: Холодостойкость насекомых и клещей. Мат. симпозиума, Тарту, 1971, 137—142.
- Хансен Т. Холодостойкость короеда *Polygraphus polygraphus* L. — Тез. докладов научн. практ. конф. «Пути внедрения прогрессивных методов защиты растений в сельскохозяйственное производство» 28—30 июня 1976 г. Вредители сельскохозяйственных культур и леса. Рига, 1976, 129—131.
- Хансен Т. Изменения в содержании глицерина и холодостойкости у зимующих личинок *Rhagium inquisitor* L. — В кн.: Исследование по проблемам экологии и рационального использования природных ресурсов. Тарту, 1978а.
- Хансен Т. О сезонных изменениях в содержании глицерина у куколок *Apatele psi* L. двух разных популяций. — Изв. АН ЭССР. Биол. 1978б, **27**, 301—305.
- Hansen, T. Variations in glycerol content in relation to cold-hardiness in the larvae of *Petrova resinella* L. (Lepidoptera, Tartriciidae). — ENSV TA Toim., Biol., 1973, **22**, 105—112.
- Krunic, M. D., Salt, R. W. Seasonal changes in glycerol content and supercooling points of *Megachile rotundata* F. and *M. relativa* Cress. — Canad. J. Zool., 1971, **49**, 663—666.
- Merivee, E. Putukate külmakindlus. Tln., 1978.
- Renkonen, O. Determination of glycerol in phosphatides. — Biochim. Biophys. Acta, 1962, **56**, 367—369.
- Salt, R. W. Natural occurrence of glycerol in insects and its relation to their ability to survive freezing. — Canad. J. Zool., 1957, **89**, 491—494.
- Salt, R. W. Role of glycerol in producing abnormally low supercooling and freezing points in an insect *Bracon cephi* (Gahan.) — Nature, 1958, **181**, 1281.
- Salt, R. W. Role of glycerol in the cold-hardening of *Bracon cephi* (Gahan.). — Canad. J. Zool., 1959, **37**, 59—69.
- Somme, L. Effects of glycerol on cold-hardiness in insects. — Canad. J. Zool., 1964, **42**, 87—101.
- Somme, L. The effect of temperature and anoxia on haemolymph composition and supercooling in three overwintering insects. — J. Insect. Physiol., 1967, **13**, 805—814.
- Somme, L. Mannitol and glycerol in overwintering aphid eggs. — Norsk. entomol. tidsskr., 1969, **16**, 107—111.
- Takehara, I., Asahina, E. Frost resistance and glycerol content in overwintering insects. (In Japanese; English summary.) — Low Temp. Sci. Ser. B, 1960, **18**, 57—65.
- Wyatt, G. R., Kalil, G. F. Organic components of insect hemolymph. — Proc. 10th Internat. Congr. Entomol., 1956. Montreal, 1958, **2**, 333.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
18/1 1979

Tiiu HANSEN

ALLAJAHTUMISSEISUNDIS TALVITUVATE PUTUKATE GLÜTSEERIINISISALDUS JA KÜLMAKINDLUS

Artiklis on esitatud andmeid 52 putukaliigi (seltsidest *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Hymenoptera*, *Diptera*) kohta. Analüüsid näitasid, et mullas talvituvatel putukatel glütseriini ei tekkinud, kuid paljudel neist esines väikeses koguses (0,1—0,3%) sorbitooli, mannitooli ja dulcitolooli. Allajahtumispunkt oli neil liikidel vahemikus $-16 \dots -25^{\circ}\text{C}$. Maa-pinnal talvituvate putukate glütseriinisaldus oli 2—9%, allajahtumispunkt ulatus kuni -32° -ni. Veelgi suurem glütseriinisaldus, 10—18%, oli putukatel, kes talvitusid kändudes. Allajahtumispunkt asus neil vahemikus $-30 \dots -34^{\circ}$. Kõige kõrgemat glütseriinisaldust ja kõige madalamat allajahtumispunkti (vastavalt 20—30% ja $-40 \dots -48^{\circ}$) täheldati eriti karmides temperatuuritingimustes (puutüvel, -võras) talvituvatel liikidel. Võib järeldada, et putukate glütseriinisaldus on tihedalt seotud nende talvitumispaigaga: mida karmimates tingimustes putukad talvituvad, seda kõrgem on nende glütseriinisaldus ja seda madalam allajahtumispunkt. Suurendades putukate allajahtumisvõimet, aitab glütseriin vältida koevedelike külmumist ja võimaldab karmi talve üle elada.

Tiiu HANSEN

GLYCEROL CONTENT AND COLD-HARDINESS IN HIBERNATING FREEZING-SUSCEPTIBLE INSECTS

The maximum concentration of glycerol and other polyhydric alcohols and the supercooling point in the overwintering stage of 52 freezing-susceptible species of *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Hymenoptera* and *Diptera* are given (see the Table). Analyses have shown that glycerol did not accumulate in the insects overwintering in the soil, but many of them contained sorbitol, mannitol, dulcitol in small concentrations (0.1—0.3%). The supercooling points of those species were between $-16 \dots -25^{\circ}\text{C}$. The glycerol concentration in the insects hibernating on the ground surface was 2—9%, the supercooling points ranging as low as -32° . The glycerol concentration was still higher, forming 10—18%, in the insects hibernating in stumps and having the supercooling points at $-30 \dots -34^{\circ}$. The highest glycerol content (20—30%) and the lowest supercooling point ($-40 \dots -48^{\circ}$) were observed in insects hibernating in extremely severe temperature conditions (on the trunks or in the crowns of trees). It was concluded that the glycerol concentration in insects is closely connected with their hibernation quarters. The severer the temperature conditions of overwintering, the higher was the glycerol concentration and the lower the corresponding supercooling point (see the Figure) in the insects. By increasing supercooling the glycerol increases the ability of freezing-susceptible insects to avoid freezing of tissue fluids and enables them to survive severe winters.