

<https://doi.org/10.3176/biol.1984.1.03>

УДК 595.7-11

Тийу ХАНСЕН

ХОЛОДОСТОЙКОСТЬ И ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ СРЕДЫ НА СОДЕРЖАНИЕ ГЛИЦЕРИНА В ДИАПАУЗИРУЮЩИХ КУКОЛКАХ *APATELE AURICOMA* SCHIFF.

Физиологическое состояние зимующих насекомых находится в зависимости от абиотических факторов внешней среды, прежде всего температуры и влажности. В связи с изменившимися фотопериодизмом и температурой среды начинается торможение гормональной и нейросекреторной деятельности и активности ферментов тканевого метаболизма. В результате изменяется тип метаболизма. Во время диапаузы ведущими в обмене веществ становятся процессы гликолиза (Ушатинская, 1958, 1966; Тихонравова, 1974). При этом резко повышается общая устойчивость насекомых к неблагоприятным условиям внешней среды, в частности к холоду. Это связано с низким уровнем метаболизма, а также с включением специфических холодозащитных реакций, таких как накопление моносахаридов и глицерина в тканях насекомых. Установлено, что существенную роль в накоплении глицерина в насекомых играет отрицательная температура. Но в диапаузирующих насекомых глицерин накапливается как при отрицательной, так и при положительной температуре. Например, повышение содержания глицерина отмечалось в куколках *Hyalophora cecropia* L. при 6 и 25° С (Wyatt, Meyer, 1959), в яйцах *Pterocomma smithia* Monell при -5, 0, 5 и 20° (Sømme, 1964), в куколках *Papilio machaon* Felder при -5, 0, 10 и 20° (Asahina, 1966). Существует мнение, что диапаузирующим насекомым характерно увеличение содержания глицерина и сохранение достигнутого уровня независимо от температуры (Sømme, 1964, 1965), но, с другой стороны, известны диапаузирующие насекомые, в которых глицерин при 20° совсем не накапливается (Takehara, 1966; Хансен, 1982).

Причиной формирования куколочной диапаузы является недостаток активационного гормона, вызывающего инактивацию проторакальных желез и прекращение выделения экдизона. При околонулевых температурах активность нейросекреторных клеток мозга восстанавливается (холодовая реактивация) и с наступлением благоприятных условий развитие насекомых продолжается.

Целью настоящей работы было изучение сезонных изменений содержания глицерина в диапаузирующих куколках буровато-серой стрельчатки *Apatele auricoma* Schiff., выяснение особенности влияния температуры среды на метаболизм глицерина, а также определение холодоустойчивости куколок.

Материал и методика

Буровато-серая стрельчатка *A. auricoma* зимует в стадии куколки. Окукливание происходит в сухих листьях на поверхности почвы. Таким образом, куколки обычно зимуют под снежным покровом, но в мало-

снежные зимы они находятся в условиях суровых температур. Гусеницы *A. auricoma* были собраны в Тартуском, Пылваском и Валгаском районах с березы и ивы и выращивались в литровых стеклянных банках с соблюдением условий, близких к природным. Куколки перезимовали в природных условиях.

Состояние покоя куколок *A. auricoma* начиналось осенью довольно рано (в сентябре). В природных условиях куколки реактивируются в течение 3—4 месяцев. Интенсивность дыхания диапаузирующих куколок удерживалась на низком уровне — $42 \dots 86 \text{ мм}^3 \text{ O}_2/\text{г} \cdot \text{ч}$ (измерена аппаратом Варбурга при 20°). На основании этих данных диапаузу куколок можно считать глубокой.

Полиолы идентифицировали при помощи хроматографии на бумаге (Hansen, 1973), количественные анализы проводили по методу Ренконена (Renkonen, 1962). Из полиолов присутствовал в куколках только глицерин. Содержание глицерина выражено в процентах к сырому весу.

Хорошим показателем холодостойкости насекомых является точка переохлаждения, которую измеряли термoeлектрическим методом при помощи термопары медь-константан со скоростью охлаждения $0,5 \text{ град/мин}$.

Результаты и их обсуждение

Сезонная динамика содержания глицерина и точки переохлаждения. Изменение содержания глицерина и точки переохлаждения в течение зимовки куколок буровато-серой стрелчатки *A. auricoma* показаны на рисунке. Образование глицерина начиналось через три недели после окукливания. Аналогичная отсрочка (от двух недель до месяца) в синтезе глицерина отмечена и у других диапаузирующих насекомых (Takehaga, 1966; Хансен, 1978, 1982). Быстрое накопление глицерина в куколках *A. auricoma* наблюдалось в октябре—ноябре. Максимум (9,0%) достигался к началу декабря. Уже с конца декабря количество глицерина в куколках стало постепенно понижаться, и полностью он исчез к середине мая. Холодостойкость куколок также изменялась сезонно. Самую низкую точку переохлаждения у куколок ($-32,2^\circ$) определяли в середине декабря, т. е. при максимальной концентрации глицерина. Способность к переохлаждению возрастала в осенне-зимний период на $6,5^\circ$. Сезонные изменения точки переохлаждения вполне соответствуют изменениям содержания глицерина (рисунок). Можно сделать вывод, что повышение холодостойкости куколок буровато-серой стрелчатки *A. auricoma* в осенне-зимний период обусловлено накоплением в них глицерина.

Влияние температуры среды на содержание глицерина. Неоднократно отмечалось, что низкая температура среды играет значительную роль в накоплении глицерина, подчеркивалось приспособительное значение его накопления. Известно, что в некоторых диапаузирующих насекомых глицерин накапливается и при комнатной температуре ($20\text{—}25^\circ$) (Wyatt, Meyer, 1959; Asahina, 1966). Чтобы определить, какое количество глицерина в диапаузирующих куколках *A. auricoma* накапливается без участия низкой температуры, следует в первую очередь устранить влияние акклимации. Для этого куколок содержали при комнатной температуре (20°) в чашках Петри и в разные сроки определяли количество глицерина. Выяснилось, что в куколках *A. auricoma* при комнатной температуре глицерин накапливался гораздо медленнее и максимальная концентрация была в 4 раза ниже, чем в природных условиях (таблица). После достижения максимальной концентрации содержание глицерина начало падать, но гораздо раньше, чем в природных условиях. При перенесении куколок в усло-

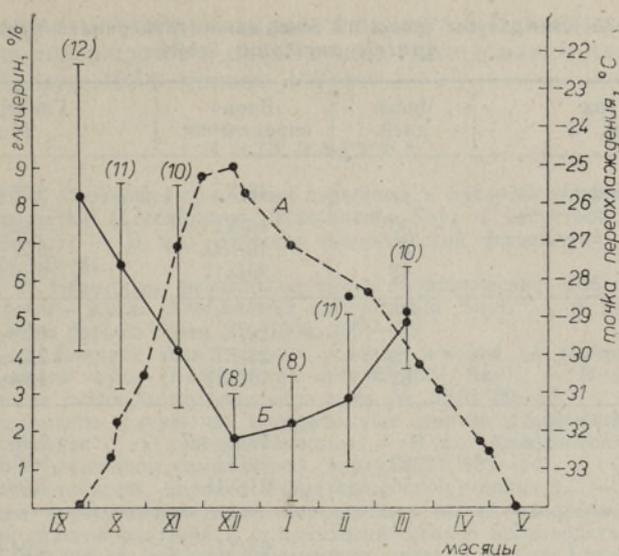


Рис. Сезонные изменения содержания глицерина (А) и точки переохлаждения (Б) диапаузирующих куколок *Apatele auricoma* Schiff. Цифры в скобках обозначают число изученных особей.

вия отрицательной температуры содержание глицерина в них значительно повышалось, но уже не достигало максимального (таблица). Опыты подтвердили существенную роль низкой температуры в накоплении глицерина в куколках *A. auricoma*.

Установлено, что насекомые, зимующие в состоянии неглубокого покоя, в течение всего периода зимовки могут ресинтезировать глицерин, т. е. при создании температуры 20° содержание глицерина быстро понижается и снова повышается под влиянием отрицательной температуры среды (Dubach, и др., 1959; Хансен, 1971, 1976). Чтобы выяснить, насколько способны насекомые с глубокой диапаузой ресинтезировать глицерин в течение всего периода зимовки, провели опыты с куколками *A. auricoma*. В разное время в течение зимовки куколок переносили из природных условий в комнатную температуру (20°), а затем снова в условия низкой температуры, соответственно определяли изменение содержания глицерина.

Как видно из таблицы, содержание глицерина диапаузирующих куколок, перенесенных в комнатную температуру в октябре, повышалось в течение одного месяца более чем два раза. Но скорость накопления глицерина при 20° оказалась более низкой, чем в природных условиях. Дальнейшее содержание куколок при температуре -5 и -12° способствовало росту количества глицерина, но ко времени максимальной концентрации глицерина в природных условиях содержание глицерина составляло только 74% максимума.

Уменьшение содержания глицерина при 20° наблюдалось только в куколках, перенесенных из природных в комнатную температуру после достижения максимальной концентрации глицерина. К этому времени завершалась и холодовая реактивация, и перенесение куколок в благоприятные условия способствовало их развитию. Чем ближе к весне, т. е. чем дальше от периода реактивации, тем быстрее уменьшалось содержание глицерина при комнатной температуре. В куколках, перенесенных в условия 20° в конце ноября, глицерин исчез через два месяца, в январе — через месяц, а в марте — даже в течение одной

Влияние температуры среды на содержание глицерина в куколках
Apatele auricoma Schiff.

Температура содержания, °С	Число дней	Время определения	Глицерин, % M±m
Природные условия		16/X	2,25±0,07
20	30	16/XI	4,62±0,11
-5	33	19/XII	5,27±0,09
-12	43	29/XII	6,70±0,00
20		29/X	0,38±0,04
20	25	23/XI	2,24±0,51
20	51	19/XII	1,24±0,12
20		29/X	0,38±0,04
-5	32	30/XI	5,97±0,19
-5	56	24/XII	5,00±0,10
20		23/XI	2,24±0,51
-5	30	24/XII	5,66±0,10
Природные условия		30/XI	8,87±0,01
20	28	28/XII	4,63±0,15
20	64	2/II	0,25±0,01
-5	38	4/II	1,98±0,04
Природные условия		18/I	6,95±0,12
20	34	21/II	0,00±0,00
-5	36	29/III	0,00±0,00
Природные условия		24/III	3,70±0,00
20	8	1/IV	0,02±0,00
-5	27	28/IV	0,00±0,00

недели (таблица). При восстановлении отрицательной температуры во второй половине зимовки ресинтеза глицерина в куколках не наблюдалось. После холодной реактивации содержание глицерина в куколках уменьшалось даже при -5° (таблица), но медленнее, чем при комнатной температуре. Уменьшение содержания глицерина при температуре 0 и -5° наблюдалось и в яйцах *Pterocomma smithia* Monell и *Alsophila pometaria* Harris (Sømme, 1964).

Наши данные позволяют сделать вывод, что значительное повышение холодостойкости куколок буровато-серой стрельчатки *A. auricoma* в осенне-зимний период обусловлено накоплением в них большого количества глицерина. Но влияние температуры среды на содержание глицерина у диапаузирующих куколок *A. auricoma* в течение зимовки различно и главным образом зависит от хода диапаузы и холодной реактивации. Перед реактивацией в тканях диапаузирующих куколок *A. auricoma* существуют условия, способствующие увеличению содержания глицерина независимо от температуры среды, а после реактивации — условия, способствующие уменьшению содержания глицерина. Скорость накопления или же исчезновения глицерина определяется температурой среды. Полученные результаты хорошо согласуются с данными предыдущих исследований, проведенных с куколками клеиновой стрельчатки *Apatele aceris* L. (Хансен, 1982). Вероятно, глицерин накапливается при комнатной температуре только в тех диапаузи-

рующих насекомых, которые и реактивируются при комнатной температуре. Это подтверждают и предыдущие исследования насекомых других видов (Hansen, 1973; Хансен, 1978).

ЛИТЕРАТУРА

- Тихонравова Н. М. Соотношение и смена аэробноза и анаэробноза в онтогенезе колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) и капустной белянки (*Pieris brassicae* L.). — В кн.: Вопросы экологической физиологии беспозвоночных. М., 1974, 45—81.
- Ушатинская Р. С. Некоторые физиологические и биохимические особенности диапаузы колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say). — В кн.: Колорадский жук и меры борьбы с ним. М., 1958, 150—185.
- Ушатинская Р. С. Влияние экологических условий зимовки на тканевый метаболизм колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say). — В кн.: Экология и физиология диапаузы колорадского жука. М., 1966, 69—98.
- Хансен Т. Исследование содержания многоатомных спиртов в зимующих стадиях насекомых в связи с их холодостойкостью. — В кн.: Холодостойкость насекомых и клещей (материалы симпозиума). Тарту, 1971, 137—142.
- Хансен Т. Холодостойкость короледа *Polygraphus polygraphus* L. — В кн.: Тезисы докладов научно-практической конференции «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. О сезонных изменениях в содержании глицерина у куколок *Apatele psi* L. двух разных популяций. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1978, 27, 301—305.
- Хансен Т. Влияние температуры среды на содержание глицерина и глюкозы в диапаузирующих куколках кленовой стрелчатки. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1982, 31, 180—187.
- Asahina, E. Freezing and frost resistance in insects. — In: Cryobiology, 1966, 451—486.
- Dubach, P., Pratt, D., Smith, F., Stewart, C. M. Possible role of glycerol in the winter-hardiness of insects. — Nature, 1959, 184, 288—289.
- Hansen, T. Variations in glycerol content in relation to cold-hardiness in the larvae of *Petrova resinella* L. (Lepidoptera, Tortricidae). — ENSV TA Toim. Biol., 1973, 22, 105—112.
- Renkonen, O. Determination of glycerol in phosphatides. — Biochim. Biophys. Acta, 1962, 56, 367—369.
- Somme, L. Effects of glycerol on cold-hardiness in insects. — Canad. J. Zool., 1964, 42, 87—101.
- Somme, L. Further observations on glycerol and cold-hardiness in insects. — Canad. J. Zool., 1965, 43, 765—770.
- Takehara, J. Natural occurrence of glycerol in the slug caterpillar, *Monema flavescens*. — Contribs. Inst. Low Temperat. Sci. Ser. B, 1966, 14, 1—34.
- Wyatt, G. R., Meyer, W. L. The chemistry of insect hemolymph. III. Glycerol. — J. Gen. Physiol., 1959, 42, 5, 1005—1011.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
3/II 1983

Tiiu HANSEN

PÕOSA-NOOLÖLASE DIAPAUSIS NUKKUDE KÜLMAKINDLUS JA KESKKONNA TEMPERAATUURI MÕJU NENDE GLÜTSEROOLISALDUSELE

Uuriti sesoonseid muutusi põosa-noolöölase *Apatele auricoma* Schiff. nukkude glütseroolisalduses ja allajahtumisvõimes. Viimane suurenes sügistalvel 6,5° võrra ja oli tingitud glütseroolisalduse tõusust. Madalaim allajahtumipunkt, -32,2°, määrati glütseroolisalduse maksimumi (9%) ajal.

Oktoobris väljast toasooja toodud nukkudel tõusis glütseroolisaldus ühe kuu jooksul üle kahe korra. Kui nukud toodi tuppa pärast reaktivatsiooni, glütseroolihulk neis vähenes. Glütserooli resünteesi miinustemperatuuril kevadtalvel ei täheldatud.

On järeldatud, et keskkonna temperatuuri mõju põosa-noolöölase nukkude glütseroolisaldusele on talvitumise vältel erinev ning sõltub peamiselt diapausi kulust ja reaktivatsioonist.

COLD-HARDINESS AND EFFECT OF ENVIRONMENTAL TEMPERATURE
ON THE GLYCEROL CONTENT IN THE DIAPAUSING PUPAE
OF *APATELE AURICOMA* SCHIFF.

Seasonal changes in the glycerol content and supercooling points in the diapausing pupae of *A. auricoma* have been studied (Figure). The increase of cold-hardiness by 6.5° in the late autumn period is due to the accumulation of 9% glycerol in the pupae.

The changes in the glycerol content of the pupae which were first kept in outdoor conditions, then transferred to 20°C and finally again to low temperature of -5 and -12° are presented in the Table. In the pupae transferred to 20° in October the glycerol content increased more than twice during one month. Beginning from December when the glycerol content in outdoor conditions reached the highest level, it decreased in the pupae transferred to 20°. In the pupae transferred to 20° in December, glycerol disappeared in two months, in those transferred in January — in a month, and in March even in the course of a week. After the cold reactivation, the capacity for glycerol formation sharply decreased. In spring the disappearance of glycerol proved to be irreversible. It was concluded that before the reactivation there occurred conditions favouring an increase of the glycerol content in the tissues of diapausing insects, but after reactivation there arose conditions favouring the decrease of glycerol in insects.

In the diapausing pupae kept constantly at the temperature of 20°, the glycerol content increased more slowly and the maximum was 4 times lower than in outdoor conditions (Table). It is supposed that the accumulation of glycerol at the temperature of 20° probably occurs only in those diapausing insects which also reactivate at that temperature.