

<https://doi.org/10.3176/biol.1980.2.05>

УДК 595.7—11

Тийу ХАНСЕН

СОДЕРЖАНИЕ ГЛИЦЕРИНА И ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ У МОРОЗОСТОЙКИХ НАСЕКОМЫХ*

Холодозащитная роль глицерина была открыта в конце 1940-х годов, и с тех пор он широко используется при сохранении тканей в замерзшем состоянии. С определением глицерина в морозостойких куколках *Hyalophora cecropia* L. в 1956 г. (Wyatt, Kalf, 1958) началось изучение возможной роли его в морозостойкости насекомых. Ученых заинтересовал вопрос, содержат ли морозостойкие виды глицерина больше, чем холодостойкие. Было проанализировано несколько видов насекомых и выяснилось, что содержание глицерина в морозостойких видах относительно невысокое — во многих случаях не более 5%. Однако встречались насекомые и с высоким содержанием глицерина — у гусениц *Laspeyresia strobilella* L. концентрация его достигала 17,3% (Sømme, 1965), у жуков *Pterostichus brevicornis* Kirby — 23% (Baust, Miller, 1970). Морозостойкость всех до сих пор известных морозостойких видов с высоким содержанием глицерина (17—25%) была также высокой (ниже -40°C) (Salt, 1958, 1959; Sømme, 1964, 1965). Но такая же высокая морозостойкость обнаружена у видов, содержащих 2—4% глицерина (Salt, 1957; Takehara, Asahina, 1960; Asahina, 1966). Известны и насекомые, выносящие замерзание тканей, но не имеющие глицерина (Takehara, Asahina, 1960; Sømme, 1964). Связь между содержанием глицерина и морозостойкостью насекомых остается и по настоящее время невыясненной.

Нами определялось максимальное содержание глицерина и других многоатомных спиртов у многих морозостойких насекомых, зимующих в разных стадиях развития, а также их точки переохлаждения и морозостойкость.

Материал и методика

Объектами исследования служили 13 видов насекомых из отрядов чешуекрылых, жесткокрылых и перепончатокрылых. Самки *Lasiocampa quercus* L., *Amathes c-nigrum* L., *Amathes triangulum* Hfn., *Eurois occulta* L. и *Macdunnoughia confusa* Stph. выловлены в г. Тарту (Эстонская ССР) при помощи световых ловушек. Гусеницы выращены в стеклянных банках с соблюдением условий, близких к природным. Гусеницы *Phragmatobia fuliginosa* L., *Arctia caja* L., *Macrothylacia rubi* L. и *Dasychira selenitica* Esp., жуки *Pterostichus aethiops* Panz. и *Phosphuga atrata* L., личинки *Cimbex femorata* L. и *Trichiosoma lucorum* L. собраны в Тартуском и Пылваском районах в основном с мест их зи-

* Морозостойкие насекомые в течение длительного времени выдерживают замерзание жидкостей тела; холодостойкие насекомые в течение длительного времени переносят переохлаждение жидкостей тела, но не их замерзание.

Максимальное содержание глицерина и других многоатомных спиртов у некоторых видов морозостойких насекомых, их точки переохлаждения и морозостойкость

Вид	Стадия зимовки	Место зимовки	Глицерин, %		С.М.Д., %	ТП, °С		Морозостойкость, °С	Месяц определения
			$M \pm m$	$M \pm m$		$M \pm m$	$M \pm m$		
<i>Coleoptera</i>									
<i>Pterostichus aethiops</i> Panz.	и	В пнях	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	-4,6±0,1*	-16*	III	
<i>Phosphuga atrata</i> L.	и	В пнях	2,96±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	-5,7±0,2*	-22*	XII	
<i>Lepidoptera</i>									
<i>Phragmatobia fuliginosa</i> L.	л	В пнях	6,68±0,11	0,00±0,00	0,00±0,00	-6,8±0,3	ниже -30	II	
<i>Arctia caja</i> L.	л	В подстилке	7,03±0,16	0,00±0,00	0,00±0,00	-9,2±0,2*	-78*	XI	
<i>Lasiocampa quercus</i> L.	л	В подстилке	0,18±0,00	0,24±0,01	0,24±0,01	-10*	-12*	XII	
<i>Macrothylacia rubi</i> L.	л	В подстилке	3,68±0,08	0,00±0,00	0,00±0,00	-8,0±0,4	-26	XI	
<i>Dasychira selenitica</i> Esp.	л	В траве	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	-8	-13	X	
<i>Amathes c-nigrum</i> L.	л	В подстилке	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	-8	-13	III	
<i>Amathes triangulum</i> Hfn.	л	В подстилке	1,13±0,09	0,00±0,00	0,00±0,00	-7,5±0,3	-18	XII	
<i>Eurois occulta</i> L.	л	В подстилке	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	-5	-8	X	
<i>Macdunnoughia confusa</i> Stph.	л	В подстилке	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	-14	-12	XII	
<i>Hymenoptera</i>									
<i>Cimbex femorata</i> L.	пр	В подстилке	0,00±0,00	0,18±0,00	0,18±0,00		-16	III	
<i>Trichiosoma lucorum</i> L.	пр	В подстилке	0,95±0,03	0,51±0,01	0,51±0,01		-23	III	

Примечание. С.М.Д. — сорбит, маннит, дульцит; ТП — точка переохлаждения; л — личинка, пр — предкуполка, и — имаго, * — данные Э. Меривэ (Merivee, 1978).

мовки. Зимовка подопытных насекомых проходила в природных условиях. Стадия и место зимовки даны в таблице по нашим наблюдениям.

Качественный состав многоатомных спиртов определяли с помощью хроматографии на бумаге (Веймер, Хансен, 1970; Hansen, 1973). Количественные анализы проводили по методу О. Ренконена (Renkonen, 1962). Содержание многоатомных спиртов выражено в процентах к сырому весу. Точку переохлаждения определяли термоэлектрически с помощью медь-константановых термопар при скорости охлаждения $0,5-1^{\circ}$ в минуту. Показателем морозостойкости насекомых являлась критическая температура при 16-часовой экспозиции, т. е. температура, при которой 50% подопытных насекомых погибло. Константные отрицательные температуры (до -30°) получали с помощью хорошо изолированного агрегата холодильника «Ока», температура которого была отрегулирована контактным термометром.

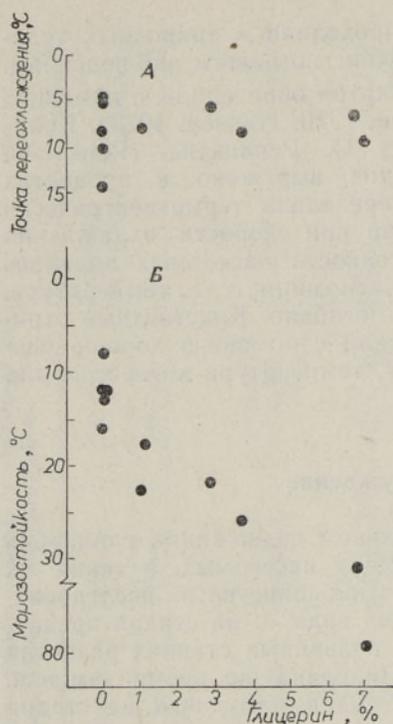
Результаты и их обсуждение

В таблице приведены данные о максимальном содержании глицерина и других многоатомных спиртов в зимующих насекомых, а также их точки переохлаждения и морозостойкость. Большинство из исследованных видов зимовало на стадии личинки, два вида — на стадии предкуколочки и два — на стадии имаго. На всех названных стадиях развития у насекомых наблюдалось накопление глицерина во время зимовки. Хотя изучали холодоустойчивость многих видов, зимующих на стадии куколочки, среди них не обнаружено ни одного, переносящего замерзание жидкостей тела. По литературным данным, морозостойкими оказались куколочки *Antheraea polyphemus* Cram. (Salt, 1957), *Hyalophora cecropia* (Wyatt, Meyer, 1959) и *Papilio machaon* Felder (Asahina, 1966); в них также обнаружен глицерин. О морозостойкости яиц в литературе данные отсутствуют.

Накопление глицерина отмечено нами у представителей разных отрядов — чешуекрылых (*Lepidoptera*), жесткокрылых (*Coleoptera*) и перепончатокрылых (*Hymenoptera*), а по данным литературы, также у насекомых из отряда двукрылых (*Diptera*) (Salt, 1957; Sømme, 1964). Самое высокое содержание глицерина (7%) определено у гусениц *Arctia caja*, которые, по данным Э. Меривэ (1971), выдерживали экспозицию при температуре сухого льда в течение 3 ч. Концентрация глицерина у гусениц *Phragmatobia fuliginosa* составляла 6,7%. Все гусеницы выдерживали 16-часовую экспозицию в условиях $-30,5^{\circ}$, но погибали после 3-часовой экспозиции при температуре сухого льда. У других видов как содержание глицерина, так и их морозостойкость были более низкими. Такие многоатомные спирты, как сорбит, маннит, дульцит идентифицированы только у некоторых насекомых, причем в незначительном количестве (см. таблицу).

У зимующих гусениц таких морозостойких видов, как *Dasychira selenitica*, *Eurois occulta* и *Macdunnoughia confusa*, а также у жуков *Pterostichus aethiops* глицерин и другие многоатомные спирты не обнаружены. Морозостойкость таких насекомых была невысокой (от -8 до -16°), т. е. они выдерживали замерзание жидкостей тела при температуре, только несколько ниже точки переохлаждения (см. таблицу). Такая невысокая морозостойкость характерна и для всех других до сих пор изученных морозостойких насекомых, у которых глицерин во время зимовки не накапливался (Takehara, Asahina, 1960; Sømme, 1964).

Сравнение точек переохлаждения у морозостойких насекомых пока-



Связь между максимальным содержанием глицерина и соответствующими точками переохлаждения (А) и морозостойкостью (Б) у морозостойких насекомых. Точкам на рисунке соответствуют разные виды.

зало, что способность последних к переохлаждению невысока. Точки переохлаждения в большинстве случаев находились в пределах $-4,6 \dots -10^\circ$. Морозостойкость данных видов была различной. По-видимому, если приспособление насекомых происходило в направлении увеличения морозостойкости их, то способность к переохлаждению оставалась совсем неразвитой. Низкая температура среды, по нашим данным и данным Э. Меривэ (Меривэ, 1971; Merivee, 1978), не влияла на точки переохлаждения насекомых, а на увеличение их морозостойкости.

Связь между точкой переохлаждения и содержанием глицерина у морозостойких насекомых, а также между морозостойкостью и содержанием

глицерина иллюстрируется на рисунке, откуда видно, что морозостойкие насекомые с более высокой концентрацией глицерина не отличаются повышенной способностью к переохлаждению, как это было отмечено у холодостойких насекомых (Хансен, 1980). У морозостойких видов при повышении содержания глицерина увеличивается их морозостойкость. Некоторой морозостойкостью характеризуются насекомые и без глицерина. Она обуславливается, вероятно, физиологическими особенностями состояния диапаузы. Однако, чем выше содержание глицерина у насекомых, тем при более низких температурах они выдерживают замерзание жидкостей тела. Это согласуется с результатами опытов Э. Асахина и К. Танно: при инъекции глицерина куколкам *Hyalophora cecropia* их морозостойкость значительно увеличивалась (Asahina, Tanno, 1966). Эти данные указывают на приспособительный характер накопления глицерина в морозостойких насекомых. Кроме того, повышение морозостойкости под влиянием глицерина, по-видимому, может происходить только до определенных пределов. Например, увеличение морозостойкости предкуколок *Monema flavescens* Walker, по данным Э. Асахина и И. Такехара (Asahina, Takehara, 1964), наблюдалось только до концентрации глицерина 2%. Дальнейшее повышение содержания его не оказывало никакого влияния на морозостойкость предкуколок, так как была достигнута очень высокая морозостойкость, видимо, максимальная для этого вида — насекомые выдерживали замерзание жидкостей тела при температуре жидкого воздуха. Не исключено, что у некоторых насекомых наряду с образованием глицерина происходит накопление и других холодозащитных веществ, имеющих важное значение в морозостойкости насекомых.

ЛИТЕРАТУРА

- Веймер С., Хансен Т. Об идентификации многоатомных спиртов и свободных аминокислот у некоторых видов чешуекрылых. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1970, 19, 47—51.
- Меривээ Э. Температурные реакции в холодоустойчивости насекомых. — В кн.: Холодоустойчивость насекомых и клещей. Мат. симпозиума. Тарту, 1971, 84—89.
- Хансен Т. Содержание глицерина и холодоустойчивость у холодоустойчивых насекомых. — Изв. АН ЭССР. Биол., 1980, 29, 25—31.
- Asahina, E. Freezing and frost resistance in insects. — Cryobiology (H. T. Meryman ed.). London, 1966, 451—486.
- Asahina, E., Takehara, I. Supplementary notes on the frost-resistance of the slug, caterpillar, *Monema flavescens*. (In Japanese, English summary.) — Low Temp. Sci. Ser. B., 1964, 22, 79—90.
- Asahina, E., Tanno, K. Freezing resistance in the diapausing pupa of the *Cecropia* silkworm at liquid nitrogen temperature. (In Japanese, English summary). — Low Temp. Sci. Ser. B., 1966, 24, 25—34.
- Baust, J. G., Miller, L. K. Variations in glycerol content and its influence on cold-hardiness in the Alaskan carabid beetle, *Pterostichus brevicornis*. — J. Insect Physiol., 1970, 16, 979—990.
- 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.
- 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. Ent., 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-hardiness 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. Further observations on glycerol and cold-hardiness in insects. — Canad. J. Zool., 1965, 43, 765—770.
- 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., Kalf, G. F. Organic components of insect hemolymph. — Proc. 10th Intern. Congr. Entomol., 1956, Montreal, 1958, 2, 333.
- Wyatt, G. R., Meyer, W. L. The chemistry of insect hemolymph. III. Glycerol. — J. Gen. Physiol., 1959, 42, 1005—1011.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
18/1 1979

Tiiu HANSEN

KÜLMUMIST TALUVATE PUTUKATE GLÜTSEROOLISALDUS JA KÜLMAKINDLUS

On esitatud 13 külmumist taluva liigi (*Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Hymenoptera*) talvitusstaadiumis isendite glütserooli ja teiste mitmealuseliste alkoholide maksimaalne sisaldus, allajahtumispunkt ja külmumistaluvus. Allajahtumispunkt asub enamikul juhtudel $-4,6$ kuni -10°C vahel. Suurema glütseroolisisaldusega putukatel ei täheldatud suuremat allajahtumisvõimet. Erinevused olid uuritud liikide külmumistaluvuses. Kui kohastumine on läinud külmumistaluvuse suunas, ei ole allajahtumisvõime tõenäoliselt üldse arenenud. Teatud külmumistaluvus oli putukatel olemas ka ilma glütseroolita — see on ilmselt tingitud diapausi füsioloogilistest iseärasustest. Kuid mida suurem oli putukate glütseroolisisaldus, seda madalamal temperatuuril talusid nende koed külmutist.

Tiiu HANSEN

GLYCEROL CONTENT AND COLD-HARDINESS IN FREEZING-TOLERANT INSECTS

The maximum concentration of glycerol and other polyhydric alcohols, the supercooling point and freezing tolerance in the overwintering stage of 13 freezing-tolerant species of *Lepidoptera*, *Coleoptera* and *Hymenoptera* are presented (see the Table). In most cases their supercooling point was at $-4.6 \dots -10^\circ$. Insects with a higher glycerol concentration did not possess a greater supercooling ability. Differences were observed in the freezing tolerance of the species studied. Evidently, if the adaptation had brought about an increase in freezing tolerance, the ability to supercool did not develop. The insects possessed a certain freezing tolerance without the presence of glycerol, too: this was evidently due to physiological peculiarities of the diapause. But the higher the glycerol concentration in insects, the lower was the temperature at which they tolerated the freezing of the tissues (see the Figure).