

А. КУУЗИК

ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ СКОРОСТИ ЗАМЕРЗАНИЯ ОТ СТЕПЕНИ ПЕРЕОХЛАЖДЕНИЯ У ГУСЕНИЦ ПОБЕГОВЬЮНА-СМОЛЕВЩИКА *PETROVA RESINELLA* L. ПРИ ПОМОЩИ АСПИРАЦИОННОГО КРИОСТАТА

Уже П. Бахметьев (Bachmetiev, 1900a, б) пришел к выводу, что гемолимфа насекомого может быть переохлаждена тем сильнее, чем большей является скорость его охлаждения. Следовательно, точка переохлаждения (ТП) зависит от фактора времени и может быть применена в качестве показателя холодостойкости, если известна также скорость охлаждения. По Р. В. Солту (Salt, 1966), удвоение скорости охлаждения снижает ТП у личинок *Cephus cinctus* на 0,24 °С.

Естественно, что при использовании константных отрицательных температур замораживание насекомых также зависит от фактора времени. Имеется множество данных об увеличении процента смертности при константной температуре с удлинением экспозиционного времени. Увеличение числа замороженных особей можно рассматривать как результат постепенного повышения ТП отдельных особей до температуры опыта. Иначе говоря, время замораживания насекомого тем короче, чем ниже экспозиционная температура. Доказано, что чем ниже температура, тем больше вероятность возникновения нуклеационного центра образования льда (Salt, 1958a).

Однако не совсем ясно, как скорость замораживания при константной температуре (воздействие фактора времени) зависит от степени возможного переохлаждения, т. е. от ТП насекомого. Для более подробного исследования этой зависимости использовали гусеницы побеговьюна-смолевщика *Petrova resinella* L., обладающие необычайной способностью к переохлаждению (средняя ТП в конце января — 47,4°). Константная температура в опытах была выше ТП подопытной серии на число градусов, равное 10% ТП. Таким образом были сохранены одинаковые соотношения между ТП и экспозиционной температурой при различных способностях к переохлаждению.

Материал и методика

Гусеницы (II возраст) собраны для опытов после наступления диапаузы — в ноябре 1968 г. — и сохранены при соблюдении внешних температур. Для создания константных температур ниже —32° обычно применяют криогидраты, однако их эвтектические точки не позволяют получить сплавную температурную шкалу. В наших опытах применялся простой способ регуляции температуры в интервале от 0 до —60° при исполь-

зовании углекислого снега и аспирационного криостата, причем колебание заданной температуры не превышало $\pm 0,1^\circ$.

Принцип работы и устройство криостата следующий. Три алюминиевые коробки разных размеров вставлялись одна в другую, при этом пространство между средней и внутренней коробками заполнялось легким пенопластом для создания хорошей теплоизоляции внутренней коробки. Между внешней и средней коробками вставлялись концы двух резиновых шлангов, соединенных между собой. Две внешние коробки закрывались сверху двумя пенопластовыми кольцами, внутренняя коробка — крышкой из толстого бесцветного оргстекла. Резиновый шланг соединялся с водоструйным вакуумным насосом, при помощи которого просасывался воздух через пространство между внешними стенками описываемого криостата. Воздух поступал в коробку через два отверстия, просверленные в пенопластовом кольце.

Описанная криостатная коробка помещалась в сосуд Дьюара над углекислым снегом.

В качестве командного прибора применялся электронный мост (типа МСР1 или ЭМП), имеющий регулирующее устройство. Термометром сопротивления этого моста служила медная лакированная проволока, намотанная вокруг средней коробки криостата. Закрытие и открытие воздушного потока в резиновом шланге производилось при помощи электромагнитного переключателя (ПМЕ), который включался в сеть через релейные контакты электронного моста. Требуемая температура задавалась регулирующим устройством этого моста, на шкале которого нулевое положение было установлено на желаемое место магазина сопротивления, включенным в мостовую схему прибора. Колебательный терморегим между стенками внешних коробок криостата создавал высокое постоянство температуры в изолированной коробке, где замораживались гусеницы.

Температура внутри криостата регистрировалась на диаграммной ленте автоматического потенциометра (ЭПП-09), чувствительность которого была повышена уменьшением сопротивлений R_n и $R_{ш}$ (Голубев, 1964). Показания ЭПП-09 контролировались регулярно микроамперметром М-95.

Счет замороженных гусениц велся через удвоенные сроки от 3,75 мин до 8 ч. Замороженные гусеницы легко отличались от остальных беловатым оттенком, а так как они гибли, то рассматриваются ниже как погибшие.

Результаты

При константной температуре было заморожено три серии гусениц: в наиболее холодостойком состоянии — в конце января, в постдиапаузном активном состоянии — в мае и в промежуточный период — в апреле (см. таблицу).

Данные о зависимости процента погибших гусениц *Petrova resinella* L. от времени экспозиции при различной степени переохлаждения

Серия	Средняя ТП, °С	Размах вариации	Температура экспозиции, °С	b	Стандартное отклонение от b	R	Число замораживаемых гусениц
I	$-47,4 \pm 0,32$	от $-42,3$ до $-49,0$	$-42,7$	72,9	6,50	0,99	100
II	$-33,8 \pm 0,40$	от $-31,8$ до $-36,6$	$-30,4$	36,8	6,95	0,98	100
III	$-22,3 \pm 0,19$	от $-19,8$ до $-24,0$	$-20,1$	13,6	2,03	0,98	100

b — коэффициент регрессии (процент погибших гусениц по логарифму времени экспозиции).

R — коэффициент корреляции.

Интервал между ТП и экспозиционной температурой (10% ТП) был достаточно коротким, чтобы обнаружить увеличение смертности уже за 8-часовой срок. При этом же интервале начальная смертность (через

3,75 мин) была незначительной. Особи, замерзавшие уже до 3,75-минутного воздействия холодом, обнаруживались только в серии опыта с ТП $-22,3^{\circ}$. В остальных случаях увеличение числа замороженных гусениц можно рассматривать как результат постепенного повышения ТП до температуры опыта.

Учитывая, что полная смертность в серии с ТП $-47,4^{\circ}$ (экспозиция при $-42,7^{\circ}$) была достигнута за 1—2 ч, то ТП у наиболее холодостойких особей должна была подняться за этот срок на $6-7^{\circ}$, ибо нижний предел вариаций ТП находился около -49° (таблица). В серии с ТП $-33,8^{\circ}$ полная смертность ожидалась после 32-часовой экспозиции (по экстраполированным данным) и ТП за это время должна была подняться на $6-7^{\circ}$, если учесть нижний предел вариации ТП. Еще медленнее происходило замерзание гусениц в третьей серии (средняя ТП $-22,3^{\circ}$).

Критическое время (смертность 50%) оказывалось тем короче, чем ниже находилась средняя ТП серии: при $-47,4^{\circ}$ — 15 мин, при $-33,8^{\circ}$ — от 60 до 120 мин и при $-22,3^{\circ}$ — 32 ч.

Процент замороженных гусениц при удвоенных сроках экспозиции нанесен на диаграмму (рисунок). Полученные линии регрессии (по уравнению линий регрессии) изображают зависимость процента погибших гусениц от экспозиционного времени. Линейная зависимость между смертностью и логарифмом экспозиционного времени (до 8-часового срока) доказана высокими коэффициентами корреляции (таблица).

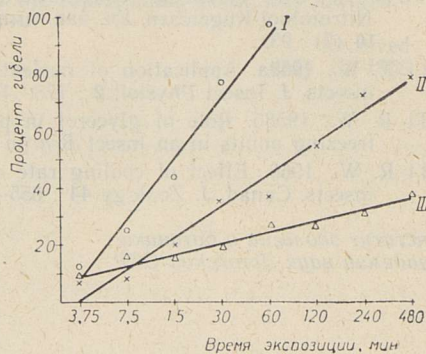
Смертность гусениц увеличивалась с удвоением времени воздействия холодом в первой серии (ТП $-47,4^{\circ}$) на 20%, во второй (ТП $-33,8^{\circ}$) — 10—12% и в третьей (ТП $-22,3^{\circ}$) — 4—6%.

Эти данные показывают, что при низкой ТП замерзание происходит относительно быстрее, чем при высокой. Иначе, при низкой начальной ТП воздействие сублетальных температур ведет к более быстрому повышению ТП, чем при высокой начальной ТП.

Следовательно, гусеницы побеговыюна-смолевщика, зимующие поверх снегового покрова, не обеспечены абсолютной холодостойкостью в данных климатических условиях, несмотря на необычайную способность к переохлаждению, так как замерзают они относительно быстро. Начиная с марта ТП у гусениц постоянно повышается, но так как и температура воздуха повышается, то гусеницы становятся «абсолютно холодостойкими», ибо сопротивляемость внешним температурам начинает превышать реальные потребности.

Учитывая данные опытов, а также факт распространения побеговыюна-смолевщика далеко на севере, где еще более суровые условия перезимовки, можно предположить, что его способность переохлаждаться до -47° приобретена адаптативным путем.

Пока известны лишь немногие виды с ТП ниже -45° (при скорости охлаждения $0,5-2^{\circ}$): личинки *Scolytus multistriatus* (Лозина-Лозинский, 1952; Пантюхов, 1958), *Bracon cephi* (Salt, 19586) и, по нашим данным



Зависимость процента погибших гусениц от экспозиционного времени при различной степени переохлаждения. I — серия опыта с ТП $-47,4^{\circ}$ при экспозиции $-42,7^{\circ}$; II — серия с ТП $-33,8^{\circ}$ при экспозиции $-30,4^{\circ}$; III — серия с ТП $-22,3^{\circ}$ при экспозиции $-20,1^{\circ}$.

(кроме рассматриваемого вида), некоторые другие сосновые побеговыюны, зимующие поверх снегового покрова, а именно: *Rhyacionia pinicolana*, *Rh. pinivorana* и *Blastesthia turionella*.

ЛИТЕРАТУРА

- Голубев А. В., 1964. Измерение и регистрация температуры в грунтах с помощью термоэлементов. М.
- Лозина-Лозинский Л. К., 1952. Жизнеспособность и анабиоз при низких температурах у животных. Изв. Естеств.-научн. ин-та им. П. Ф. Лесгафта **25** : 3—32.
- Пантюхов Г. А., 1958. Холодостойкость личинок заболонника струйчатого (*Scolytus multistriatus* Marsch.). Зоол. ж. **37** (9) : 1339—1344.
- Ушатинская Р. С., 1957. Основы холодостойкости насекомых. М.
- Bachmetiev P. I., 1900a. Die Abhängigkeit des kritischen Punktes bei Insecten von deren Abkühlungsgeschwindigkeit. Z. wiss. Zool. **67** (4) : 529—550.
- Bachmetiev P. I., 1900b. Unterkälterungserscheinungen bei schwimmenden Para-Nitrotoluol-Kügelchen. Уч. зап. импер. Акад. наук VIII, серия по физ.-мат. отд. **10** (7) : 93.
- Salt R. W., 1958a. Application of nucleation theory to the freezing of supercooled insects. J. Insect Physiol. **2** : 178—188.
- Salt R. W., 1958b. Role of glycerol in producing abnormally low supercooling and freezing points in an insect *Bracon cephi* (Gahan). Nature **181** : 1281.
- Salt R. W., 1966. Effect of cooling rate on the freezing temperatures of supercooled insects. Canad. J. Zoology **44** : 655—659.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
3/VII 1969

A. KUUSIK

MÄNNI-VAIGUMÄHKURI (*PETROVA RESINELLA* L.) RÖÖVIKUTE KÜLMUMIS- KIIRUSE SÖLTUVUS NENDE ALLAJAHTUMISVÕIMEST, UURITUNA ASPIRATSIOONKRÜOSTAADI ABIL

Resümee

Männi-vaigumähkuri röövikute suremuse määramiseks konstantsetes subletaalsetes miinustemperatuurides kasutati aspiratsioonkrüostaati, mis võimaldab temperatuuri sujuvalt reguleerida 0 kuni -60°C piires. Soovitud konstantse temperatuuri kõikumine ei ületa seejuures $\pm 0,1^{\circ}$. Külmutati kolm seeriat röövikuid: esimene seeria jaanuari lõpul, keskmine allajahtumispunkt (AJP) $-47,4^{\circ}$, teine märtsis, AJP $-33,8^{\circ}$ ja kolmas mais, AJP $-22,3^{\circ}$. Konstantsete temperatuurid olid vastavalt $-42,7$, $-30,4$ ja $-20,1^{\circ}$. Külmutusaja kahekordistamisel suurenes suremus esimeses seerias 20, teises 10—12 ja kolmandas 4—6%. Kriitilised külmutamisajad olid vastavalt 15, 60—120 minutit ja 32 tundi.

Katsed tõestasid, et mida madalam on röövikute AJP, seda suhteliselt kiiremini nad külmuvad.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Zooloogia ja Botaanika Instituut

Saabus toimetusse
3. VII 1969

A. KUUSIK

STUDIES ON THE RELATION BETWEEN TIME OF FREEZING AND
SUPERCOOLING POINT IN THE LARVAE OF *PETROVA RESINELLA* L.
USING AN ASPIRATION-CRYOSTAT

Summary

Three samples of the third instar larvae (of 100 larvae each) of *Petrova resinella* L. with different mean supercooling point were exposed to constant sublethal temperatures; increase in mortality was recorded for each doubling of the exposure period in the range from 3.75 minutes to 8 hours. The first sample, with the supercooling point of -47.4° , had a 20 per cent increase in mortality, at a constant temperature of -42.7° ; the second sample, with the supercooling point of -33.8° , had an increase in mortality of 10–12 per cent, at a constant temperature of -30.4° ; and the third sample, with the supercooling point of -22.3° , had a 4–6 per cent increase in mortality at a constant temperature of -20.1° .

With relatively equal intervals between the exposure temperatures and supercooling points, the time of freezing was shortened when the supercooling point was lowered.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Zoology and Botany

Received
July 3, 1969