

TIIU HANSEN, A. KUUSIK

**MÄNNI-VAIGUMÄHKURI (*PETROVA RESINELLA* L.)  
(*LEPIDOPTERA, TORTRICIDAE*) VIIMASES KASVUJÄRGUS  
DIAPAUSEERIVATE RÖÖVIKUTE KÜLMAKINDLUSE SÕLTUVUS  
HEMOLÜMFI GLÜTSERIINISALDUSEST**

Läbikülmumist mittetaluvate putukate külmakindlus sõltub hemolümfis allajahtumisvõimest (Salt, 1961). Peale selle sõltuvad putukate allajahtumispunktid, seega ka nende allajahtuvus, mõningaist eksogeenseist tegureist, eeskätt miinustemperatuuridest ja nende toimeajast (nn. ajafaktorist), sest nii allajahtumisaja pikenedes kui ka temperatuuri languse kiirenedes suurenevad jää kristallisatsioonituumade tekkevõimalused hemolümfis (Salt, 1958b, 1966a, b, c).

Mida pikemat aega putukat jahutada, seda kõrgem allajahtumispunkt saadakse, s. o. seda kõrgema keskkonnatemperatuuri juures putukas külmub. Konstantsetes miinustemperatuurides suureneb külmunud isendite arv võrdeliselt eksponeerimisajaga (Ушатинская, 1949, 1957; Пантюхов, 1958 jt.).

R. W. Salti (1966a) järgi tõusis lehevaablase *Cephus cinctus* Nort. vastse allajahtumispunkt allajahtumisaja kahekordistamisel  $0,24^{\circ}$  võrra, kui konstantset keskkonnatemperatuuri tõsteti  $0,53^{\circ}$  võrra, kahekordistus vastsete külmumiseks vajalik aeg. Tehti kindlaks, et aja ja külmumistemperatuuri vastastikune sõltuvus on logaritmiline. Need tulemused saadi katseobjektide muutumatu allajahtuvuse juures.

Eespool öeldust järeldub, et eksponeerimisaja kriitilist temperatuuri eraldab putuka allajahtumispunktist mingi temperatuurintervall. Talvise suremuse prognoosimise seisukohalt pakub huvi paaritunnise kuni ühe ööpäevase kriitilise temperatuuri (subletaalne piirkond) ja keskmise allajahtumispunkti vaheline diferents. Kui see on teada, siis on võimalik liigi talvist külmataluvust hinnata juba allajahtumispunktist lähtudes.

Allpool esitatakse andmeid männi-vaigumähkuri röövikute külmataluvuse kohta konstantsetes miinustemperatuurides, kusjuures tähelepanu pööratakse ka sellele, kui võrd külmumiseks vajalik aeg sõltub allajahtuvusest. Hemolümfis glütseriinisisalduse analüüsi tulemused pärinevad erineva allajahtuvusega seeriastelt, nimelt 1) sügava diapausi seisundis olevailt ja 2) diapausist väljunud röövikuil.

Katsematerjal koguti Rae raba (Harju raj.) noortest männikultuuridest. Talvituvad röövikud säilitati välistemperatuurides; vaigupahkadest võeti nad välja vahetult enne külmutamist.

Püsivad miinustemperatuurid kuni  $-32^{\circ}\text{C}$  saadi külmutuskapi «OKA» hästi isoleeritud ning kontakttermomeetriga reguleeritava agregaadil, temperatuurid kuni  $-42^{\circ}$  — külmutuskapi külmkambri põh-



jale asetatud pooljuht-mikrokülmutus (TOC-2M), veelgi madalamad temperatuurid saadi süsihappelumega Dewari anumad, kusjuures aeg-ajalt reguleeriti objekti ja süsihappelume vahelist kaugust. Kõikumise lubatud piiriks loeti allpool  $-32^{\circ}$  asuvate temperatuuride puhul  $\pm 0,5$ , kõrgemate temperatuuride puhul  $\pm 0,3^{\circ}$ .

Lühiajaliste, kuni kolmetunniste ekspositsioonide puhul asetati külmutatavad röövikud viiekaupa takistustermomeetritele ning külmumismoment jäädvustati termogrammidega isekirjutava vahelduvvoolupotentsiomeetri (MCP1-08) lindile. Pikemaajaliste külmutamiste puhul isekirjutajat ei kasutatud ja objekti seisundit kontrolliti visuaalselt (külmunud röövikud on teistest märgatavalt heledamad). Ühe isendiga katsetati vaid üks kord, ka sel juhul, kui ta ära ei külmunud.

Külmakindluse kriteeriumiks konstantsetes miinustemperatuurides võeti «kriitiline aeg», s. o. ekspositsiooni kestus, mille vältel külmus 50% katseeria isendeist. Püsivat miinustemperatuuri, mille toimel külmus 50% katseobjektidest, nimetatakse vastava ekspositsiooni «kriitiliseks temperatuuriks». Viimast võib vaadelda ka alumise subletaalse lävena.

Glütseriinisaldus määrati kvantitatiivselt Renkoneni (1962) poolt kirjeldatud kolorimeetrilisel meetodil. Kuna see meetod määrab ka teisi mitmealuselisi alkohole, siis eraldati glütseriin algul kromatograafiliselt. Kui kromatogrammid näitasid, et männi-vaigumähkuri röövikuis esineb mitmealuselitest alkoholidest ainult glütseriin, siis loobuti edaspidi kromatograafilisest eraldamisest.

Kromatogrammid voolutati lahustis *n*-butanool—äädikhape—vesi (4:1:2). Pärast kuivatamist ilmutati nad 5%-se  $\text{AgNO}_3$  ja 25%-se  $\text{NH}_4\text{OH}$  segus (9:1). Glütseriin ilmus tumepruuni laiguna helepruunil foonil.

Röövikud valmistati analüüsideks ette Salti (1959) poolt kirjeldatud meetodil. Glütseriini kontsentratsioonid on antud protsentides 10-isendiliste seeriade toorkaalust.

Esimesed külmutusseeriad tehti jaanuari teisel poolel, s. o. röövikute külmakindluse maksimumi ajal (allajahtumispunkti kõikumine  $16. I$  oli  $-46,3 \dots -53,0^{\circ}$ ;  $M = -47,7 \pm 0,34^{\circ}$ ;  $s = 1,38$ ). Tulemused on esitatud tabelis, kus temperatuuride ja eksponeerimisaegade vahel võib märgata ligikaudset lineaarset sõltuvust. Kogu katseeria talus temperatuuri  $-36 \dots -38^{\circ}$  14 tunni vältel, temperatuurile  $-28 \dots -30^{\circ}$  pidas kogu seeria vastu vähemalt 30 päeva (katse vältus).

Järgmised külmutused toimusid diapauseeriva toatemperatuuris väljunud isenditega aprillis, vahetult enne eelnuku staadiumi (allajahtumispunkt  $-20 \dots -25^{\circ}$ ;  $M = -23,6 \pm 0,52^{\circ}$ ;  $s = 1,8$ ). Selles arenemisstaadiumis oli  $-21,0 \pm 0,3^{\circ}$  juures kriitiliseks ajaks 320 minutit (korduseerias 350 min.).

Vähemalt 24 tunni vältel (katse kestus) talus kogu seeria temperatuuri  $-16 \dots -17^{\circ}$ . Kõikide nende katseeriade suuruseks oli 30 isendit.

Ülaltoodud andmeist võime välja lugeda, et maksimaalse allajahtuvuse perioodil oli kriitilise aja kahekordistamiseks vaja (konstantset) temperatuuri tõsta ca  $1^{\circ}$  võrra.

Männi-vaigumähkuri röövikute vastavate ekspositsioonide kriitilisi temperatuure ei ole võimalik allajahtumispunktist lähtudes katseandmete ekstrapoleerimise teel ette määrata, kui miinustemperatuuride toimeajad

**Männi-vaigumähkuri (*Petrova resinella*) diapauseerivate röövikute kriitiline külmumisaeg püsivates subletaalsetes temperatuurides jaanuari teisel poolel 30-isendiliste külmutusseeriade puhul**

Ekspositsiooni temperatuur, $^{\circ}\text{C}$ ( $\pm 0,5^{\circ}$ )	Külmumise kriitiline aeg min.
$-46,0^{\circ}$	2,8
$-45,0^{\circ}$	7,2
$-44,0^{\circ}$	16,5
$-43,0^{\circ}$	28,2
$-42,0^{\circ}$	55,0
$-41,0^{\circ}$	132,0



ületavad 1—2 kuud, sest selle aja vältel muutub röövikute allajahtuvus ning tekib nihe ka allajahtumispunkti ja temale vastava kriitilise temperatuuri vahel.

Arvestades katseaasta talviseid õhutemperatuuri miinimume meie vabariigis, mis enamasti ei langenud alla  $-35^{\circ}$ , ning nende kestust, samuti katsetes saadud kriitilisi aegu sellistel temperatuuridel, ei esinenud käesoleval aastal külmast tingitud suremust vaigumähkuri populatsioonis. Vaevalt saab aga rääkida vaigumähkuri absoluutsest külmaresistentsusest meie tingimustes, sest vaatamata tema tähelepanuväärsele allajahtuvusele ei ületa kriitilised ajad  $-41^{\circ}$ -se keskkonnatemperatuuri puhul paari tundi. Selliste temperatuuride esinemine maapinnalähedastes õhukihtides pole meil haruldane. Noortel mändidel aga võivad vaigupahad paikneda kogu võra ulatuses, ka maapinna läheduses.

Männi-vaigumähkuri röövikute allajahtumispunkti sügistalvine dünaamika näitab, et allajahtuvus kaitseb teda ka äkiliste sügiskülmade vastu. Kiired temperatuuri langused talve alguses  $-20 \dots -25^{\circ}$ -ni ei saa talle ohtlikud olla, sest röövikud saavutavad  $-40^{\circ}$ -se allajahtumispunkti eelneva aklimatsioonita subletaalsele lävele lähenevates temperatuurides. Märksa väiksema külmakindlusega männi-virvemähkurile (*Rhyacionia buolana* Den.—Schiffm.) aga, kelle röövikute allajahtumispunkt kõigub Greeni (1962) järgi  $-20 \dots -22^{\circ}$  piires, mõjuvad järsud õhutemperatuuri langused letaalselt, kui röövikud polnud eelnevalt läbi teinud aklimatsiooni (Крышев, 1959).

Üheks oluliseks putukate külmakindlust tõstvaks teguriks on glütseriin (Chino, 1957, 1958; Salt, 1957, 1959; Sømme, 1963, 1965; jt.). Märgitakse glütseriinisalduse tõusu hemolümfis diapausi süvenedes ning kadumist diapausi lõppedes (Takehara, 1966; Takehara, Asahina, 1961). Allajahtumispunkti ja glütseriini kontsentratsiooni korreleerumist on märgitud ka lehevaablase *Bracon cephi* Nort. talvituvatel vastsetel (Salt, 1958a) ning embrüonaalse diapausiga toominga-võrgendikoil *Hyponomeuta evonymellus* L. (Sømme, 1965). Glütseriin aga pole ainsaks külmakindlust suurendavaks ühendiks ning mõnel juhul ei ole rohke glütseriinisaldusega kaasnenud märkimisväärset külmakindlust (Takehara, Asahina, 1960).

Männi-vaigumähkuri röövikuil aga osutus glütseriin hemolümfi allajahtuvust suurendavaks ühendiks. Välistemperatuuris hoitud röövikute keskmine glütseriini kontsentratsioon oli 28. veebruaril  $22,3 \pm 0,25\%$ , kusjuures füsioloogiliselt adekvaatse seeria allajahtumispunkt oli  $-47,0 \pm 0,40^{\circ}$ . Koos glütseriinisalduse vähenemisega märtsis (20. III  $19,6 \pm 0,13\%$ ) tõusis ka allajahtumispunkt (29. III  $= -38,3 \pm 0,78^{\circ}$ ). Rööbiti allajahtumispunkti individuaalse varieeruvusega kevadisel aktiivsuseperioodil suurenes ka glütseriinisalduse individuaalne varieerumine, kajastades suuri erinevusi röövikute füsioloogilises seisundis, mis on tingitud nende erinevast reaktiivumistasemest. Välistingimustes oli ligi 50% röövikuist 8. aprilliks juba diapausist väljunud ning omandanud kulgemisvõime. Need röövikud sisaldasid glütseriini 0,16—1,16% ( $M = 0,42 \pm 0,08\%$ ). Sellistel väljas hoitud isendeil, kes esimeste liigutusreaktsioonide taastamiseks vajasid 8...20 tundi toatemperatuuris ( $18 \dots 20^{\circ}$ ) viibimist, oli glütseriini kontsentratsioon seevastu 10,7...20,1% ( $M = 14,7 \pm 1,17\%$ ). Viimati mainitud isendeil kadus toatemperatuuris kogu glütseriin 48-tunnise ekspositsiooni järel, ehkki füsioloogiliselt adekvaatse seeria allajahtumispunkt jäi  $-20 \dots -24^{\circ}$  piiresse. Ilmneb, et männi-vaigumähkuri röövikuil tagab glütseriin hemolümfi hea allajahtuvuse ja sellest tulenevalt ka suure külmakindluse vaid diapausi ajal. Diapausi lõpetanud isendeil garanteerib biokeemiline mehhanism hemolümfi allajahtuvuse ( $-20 \dots -24^{\circ}$ ) glütseriini abita.



Kuna katsealusel liigil nihked allajahtuvuses seostuvad glütseriini kontsentratsiooniga, tuleb viimast pidada ka selle erinevuse füsioloogiliseks aluseks, mis ilmneb ajafaktori toimes allajahtumispunkti olulise muutuse korral.

## KIRJANDUS

- Chino H., 1957. Conversion of glycogen to sorbitol and glycerol in the diapause egg of the *Bombyx* silkworm. *Nature* **180** : 606—607.
- Chino H., 1958. Carbohydrate metabolism in the diapause egg of the silkworm, *Bombyx mori*. II. Conversion of glycogen into sorbitol and glycerol during diapause. *J. Insect Physiol.* **2** : 1—12.
- Green G. W., 1962. Low winter temperature and the European pine shoot moth *Rhyacionia buoliana* (Schiff.) in Ontario. *Canad. Entomologist* **94** (3) : 314—336.
- Renkonen O., 1962. Determination of glycerol in phosphatides. *Biochim. Biophys. Acta* **56** : 367—369.
- Salt S. W., 1957. Natural occurrence of glycerol in insects and its relation to their ability to survive freezing. *Canad. Entomologist* **89** : 491—494.
- Salt R. W., 1958a. Role of glycerol in producing abnormally low supercooling and freezing points in an insect *Bracon cephi* (Gahan). *Nature* **181** : 1281.
- Salt R. W., 1958b. Application of nucleation theory to the freezing of supercooled insects. *J. Insect Physiol.* **2** (3) : 178—189.
- Salt R. W., 1959. Role of glycerol in the cold-hardiness of *Bracon cephi* (Gahan). *Canad. J. Zool.* **37** : 59—69.
- Salt R. W., 1961. Principles of insect cold-hardiness. *Ann. Rev. Entomologist* **6** : 55—74.
- Salt R. W., 1966a. Effect on cooling rate on the freezing temperatures of supercooled insects. *Canad. J. Zool.* **44** : 655—659.
- Salt R. W., 1966b. Relation between time of freezing and temperature in supercooled larvae of *Cephus cinctus* Nort. *Canad. J. Zool.* **44** : 947—952.
- Salt R. W., 1966c. Factors influencing nucleation in supercooled insects. *Canad. J. Zool.* **44** : 117—133.
- Sømme L., 1963. Effects of glycerol on cold-hardiness in insects. *Canad. J. Zool.* **42** : 87—101.
- Sømme L., 1965. Further observations on glycerol and cold-hardiness in insects. *Canad. J. Zool.* **43** : 765—770.
- Takehara I., 1966. Natural occurrence of glycerol in the slug caterpillar. *Monema flavescens*. *Contribs Inst. Low Temperat. Sci. Ser. B* **14** : 1—34.
- Takehara I., Asahina G., 1960. Frost resistance and glycerol content in overwintering insects. *Contribs Inst. Low Temperat. Sci. Ser. B* **18** : 57—65.
- Takehara I., Asahina F., 1961. Glycerol in a slug caterpillar. I Glycerol formation, diapause and frostresistance in insects reared at various graded temperatures. *Contribs Inst. Low Temperat. Sci. Ser. B* **19** : 29—36.
- Крушев Л. Т., 1959. Массовое вымерзание соснового побеговьяна в Белоруссии. *Научн. докл. высших школ, Лесинженерное дело* **2** : 64—68.
- Пантюхов Г. А., 1958. Холодостойкость личинок заболонника струйчатого (*Scolytus multistriatus* Marsh.). *Зоол. ж.* **37** (9) : 1339—1344.
- Ушатинская Р. С., 1949. Направление некоторых процессов, протекающих в теле насекомых при низкой температуре. *Докл. АН СССР* **68** : 1101—1104.
- Ушатинская Р. С., 1957. Основы холодостойкости насекомых. М.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia  
Zooloogia ja Botaanika Instituut

Saabus toimetusse  
8. V 1969

ТИИУ ХАНСЕН, А. КУУЗИК

О ХОЛОДОСТОЙКОСТИ ГУСЕНИЦ СОСНОВОГО СМОЛЯНОГО ПОБЕГОВЬЮНА  
*PETROVA RESINELLA L. (LEPIDOPTERA, TORTRICIDAE),*  
ДИАПАУЗИРУЮЩИХ В ПОСЛЕДНЕМ ВОЗРАСТЕ,  
В СВЯЗИ С СОДЕРЖАНИЕМ ГЛИЦЕРИНА В ГЕМОЛИМФЕ

Резюме

Для определения зимней холодостойкости гусениц проводилось их замораживание в константных сублетальных температурах. При экспозициях до 3 ч сроки замерзания записывались на термограммах самопишущего автоматического потенциометра (МСР1-08), используя нестандартные термометры сопротивления.



В период наивысшей способности переохлаждения, когда точка переохлаждения (ТП) колеблется от  $-46,3^{\circ}$  до  $53,0^{\circ}\text{C}$  (средняя ТП  $-47,7 \pm 0,34^{\circ}$ ), критическое время при  $-44^{\circ}$  равняется 16,5 мин, при  $-43^{\circ}$  — 28 мин, при  $-42^{\circ}$  — 55 мин, при  $-41^{\circ}$  — 132 мин. В течение 30 суток 100% особей выдержали температуру  $-29^{\circ}$ .

Исключительно хорошая способность зимующих гусениц к переохлаждению не обеспечивает их абсолютной резистентности к низким зимним температурам в данных условиях.

С целью выяснения физиологии переохлаждения были проведены анализы по определению концентрации глицерина в гемолимфе гусениц. Во время глубокой диапаузы в конце февраля содержание глицерина составляло 22,3% сырого веса гусениц (ТП адекватной серии  $-47,0^{\circ}$ ). Концентрация глицерина к концу марта снизилась до 19,6% (ТП адекватной серии  $-38,3^{\circ}$ ).

У реактивирующихся, хотя и не активных гусениц, которые были взяты из условий внешней температуры 5/IV, содержалось 14,7% глицерина, исчез глицерин полностью после 48-часового нахождения в комнатной температуре, несмотря на то, что средние ТП адекватной серии гусениц не поднялись выше  $-20^{\circ}$ .

Вывод: в период критических зимних температур глицерин играет важную роль как агент, понижающий ТП гусениц, однако довольно низкие ТП (от  $-20$  до  $-25^{\circ}$ ) сохраняются весной даже без участия глицерина.

Институт зоологии и ботаники  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
8/V 1969

TIIT HANSEN, A. KUUSIK

ON THE COLD-HARDINESS OF LARVAE OF *PETROVA RESINELLA* L.  
(LEPIDOPTERA, *TORTRICIDAE*) DIAPAUSING IN THE LAST INSTAR  
IN DEPENDENCE ON THE GLYCEROL CONTENT IN THE HAEMOLYMPH

Summary

To establish the cold-hardiness of the larvae, a series (N=30) of freezing experiments were carried out at constant subzero temperatures. In the period of the maximum ability to supercool (the mean supercooling point  $-47.7 \pm 0.34^{\circ}$ ), 50 per cent of the larvae froze when exposed to a temperature of  $-44^{\circ}$  for 16.5 min; at  $-43^{\circ}$  — in 28 min.; at  $-42^{\circ}$  — in 55 min.; and at  $-41^{\circ}$  — in 132 min. All specimens of experimental series exposed at  $-29^{\circ}$  withstood that temperature for 30 days at least.

The exceptionally good ability to supercool, however, does not ensure absolute frost-resistance of the moth in our conditions.

To account for the physiological mechanism of supercooling, analyses of the glycerol concentration in the larvae were carried out. During intense diapause at the end of February, the glycerol content of the larvae was 22.3% of fresh weight, while the mean supercooling point of the respective series was  $-47.0^{\circ}\text{C}$ . By the end of March, the glycerol concentration of the larvae had dropped to 19.6%, and their mean supercooling point had risen to  $-38.3^{\circ}\text{C}$ .

The non-active larvae that had been brought in from outdoors at the beginning of April contained on an average 14.7% of glycerol which, however, was lost completely after storage at room temperature for 48 hours, though their mean supercooling point did not rise above  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Thus it is evident that glycerol plays an important part as an agent which increases the ability of the larvae of *Petrova resinella* to supercool, above all, in periods of critical frosts.

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

Received  
May 8, 1969