

Адаптационные аспекты длительности диапаузы популяций непарного шелкопряда *Lymantria dispar* (L.) разного широтного происхождения

В. И. ПОНОМАРЕВ¹, Г. И. КЛОБУКОВ¹, А. В. ИЛЬИНЫХ², И. М. ДУБОВСКИЙ³

¹ Ботанический сад УрО РАН
620134, Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202а
E-mail: v_i_ponomarev@mail.ru

² Институт систематики и экологии животных СО РАН
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 11

³ Новосибирский государственный аграрный университет
630039, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160
E-mail: dubovskiy2000@yahoo.com

Статья поступила 10.05.2018

После доработки 29.07.2018

Принята к печати 09.08.2018

АННОТАЦИЯ

Проведен анализ влияния суммы эффективных температур (СЭТ), получаемой эмбрионами непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* (L.)) из популяций разного широтного происхождения в летне-осенний период до наступления зимнего, а также кратковременного повышения температуры выше порога развития в период диапаузы и оцепенения на длительность диапаузы и СЭТ отрождения в зависимости от длительности диапаузы и оцепенения. Установлено значительное влияние летне-осенней СЭТ на длительность диапаузы и СЭТ отрождения в зависимости от периода диапаузы и оцепенения. Показано, что кратковременное повышение температуры выше порога развития приводит к пропорциональному снижению СЭТ отрождения при снижении СЭТ ниже 200 град.-дней. При более высокой СЭТ отрождения такое воздействие не влияет на ее величину или приводит к погружению эмбрионов в более глубокий покой. При низкой летне-осенней СЭТ (400–450 град.-дней при пороге 7 °С) отмечена гибель значительной части эмбрионов. При высокой летне-осенней СЭТ (1300–1500 град.-дней) гибели эмбрионов не происходит. На основании полученных результатов сделано предположение, что более длительная диапауза, характерная для южных популяций, обусловлена необходимостью адаптации к временному повышению температуры в этих регионах в зимне-весенний период выше порога возобновления развития эмбрионов, которое может привести к преждевременному отрождению гусениц.

Ключевые слова: *Lymantria dispar* (L.), сумма эффективных температур, диапауза, оцепенение, отрождение.

Непарный шелкопряд *Lymantria dispar* (L.) – один из наиболее широко распространенных видов лесных насекомых-филлофагов, имеющих моновольтинный цикл развития, с облигатной позднеэмбриональной диапаузой. Значительную часть цикла (от 8 до 9 мес.) он

проводит в пассивной, ранне- и позднеэмбриональной стадии внутри яйцевой оболочки. В течение этого периода различают формирование эмбриона, диапаузу, оцепенение, которое наступает в случае, если после прохождения диапаузы низкие температуры сохраняются, и весеннее развитие. Две последние стадии часто объединяют в одну – “постдиапаузу” [Саулич, Волкович, 2004; Košťál, 2006].

Длительность диапаузы существенно различается в зависимости от географического происхождения популяции [Кожанчиков, 1950; Keena, 1996] и имеет тенденцию к снижению у популяций с более суровыми зимами. Так, по данным М. Keena [1996], у сибирских популяций (второе поколение, выращенное в лабораторных условиях на искусственной питательной среде) длительность диапаузы составляет около двух месяцев, у североамериканских (четвертое поколение) – пять месяцев. В более поздней работе М. Keena [2016] на основании анализа климатических характеристик 43 географических популяций, которые выращивали не менее двух генераций в лаборатории перед использованием в исследованиях, пришла к выводу, что более длительная диапауза характерна для популяций, на ареале которых средняя температура марта выше – 2,45 °С. При проведении исследований М. Keena использовала методику Gray et al. [1991], согласно которой для завершения преддиапаузного развития эмбрионов необходимо 756 град.-дней (42 дня при температуре +25 °С, порог +7 °С). Эти исследования указывают на генетическую основу различий в величине диапаузы у популяций разного географического происхождения. Кроме того, данные М. Keena показывают, что длительная диапауза характерна для популяций, расположенных в регионах с высокой вероятностью кратковременного повышения температуры в зимне-весенний период выше порога возобновления развития эмбрионов в яйце.

В то же время на основании 17-летнего мониторинга установлено [Пономарев, 2012], что у одной и той же популяции величина диапаузы изменяется от 1,5 до 5,5 мес. При этом на ее величину влияет сумма эффективных температур (СЭТ), полученная эмбрионами после их формирования. Следователь-

но, величина диапаузы зависит как от генотипа популяции, так и от внешних условий.

Согласно анализу литературы, проведенному В. Л. Мешковой [2009], СЭТ, необходимая для формирования эмбриона и впадения его в диапаузу, составляет, по данным разных авторов, от 260 до 500 град.-дней. Порог возобновления развития гусениц в яйце после окончания диапаузы также значительно различается – от +2,5 до +10,4 °С. Необходимая для весеннего развития СЭТ варьирует от 92 до 282 град.-дней.

Учитывая то, что на существование популяции этого вида на конкретном ареале сильно влияет успешность прохождения особями популяции пассивной стадии, такие существенные различия в СЭТ у разных популяций могут иметь важное значение для адаптационных характеристик популяций.

Ареал непарного шелкопряда в широтном градиенте простирается от 20 до 60° с. ш. [Giese, Schneider, 1979] и летне-осенние СЭТ, получаемые эмбрионами, значительно различаются в разных широтах.

Цель данного исследования – изучение влияния летне-осенней СЭТ на прохождение диапаузы популяциями непарного шелкопряда разного широтного происхождения – западносибирской и зауральской (северная часть ареала), а также нижневолжской (южная часть ареала). Кроме того, проведен анализ СЭТ, необходимой для отрождения гусениц, в зависимости от длительности кратковременного повышения температуры выше порога развития в постдиапаузный период.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили яйцекладки непарного шелкопряда из трех популяций. Нижневолжская популяция (Волгоградская обл. Волго-Ахтубинская пойма, 48°33' с. ш. и 44°47' в. д.), яйцекладки 2012 и 2013 гг., эруптивная фаза вспышки массового размножения. Кормовые породы – дуб черешчатый *Quercus robur* (L.), тополь черный (*Populus nigra* (L.)). Западносибирская популяция (Новосибирская обл., Барабинская лесостепь, Карасукский р-н, 53°73' с. ш. и 78°4' в. д.), яйцекладки 2012 и 2013 гг., эруптивная фаза вспышки массового размножения, кормовые

породы – березы повислая *Betula pendula* (Roth.) и пушистая *B. pubescens* (Ehrh.). Зауральская популяция (Свердловская обл., Каменск-Уральский р-н, 56°26' с. ш. и 61°34' в. д.), кладки 2012 г., кризис вспышки массового размножения и Талицкий р-н (57°00' с. ш. и 63°43' в. д.), яйцекладки 2016 г., эруптивная фаза вспышки массового размножения, кормовые породы – березы повислая и пушистая.

Согласно литературным данным [Ильинский, 1965], для устойчивого существования популяции на конкретном ареале теплообеспеченность вегетационного сезона при пороге 7 °С должна составлять не менее 1300 град.-дней, при этом на полное развитие до имаго приходится 990 (самки), 930 (самцы) град.-дней.

Анализ метеоданных за 10 лет [сайт “Погода и климат”] в областных городах регионов, в которых собраны кладки, показал (табл. 1), что по данным метеостанций Екатеринбурга, Новосибирска и Волгограда ареалы, из которых собраны кладки для экспериментов западносибирской и зауральской популяций, находятся на пределе теплообеспеченности и на развитие эмбрионов в летне-осенний период (исходя из СЭТ, необходимой для развития до имаго) приходится в среднем около 400 град.-дней. У нижеволжской популяции на развитие эмбрионов в летне-осенний период приходится в среднем около 1300 град.-дней.

Согласно данным феромонного мониторинга [Клобуков и др., 2017], проведенного в г. Екатеринбург (восемь лет мониторинга, 2010–2017 гг.) летне-осенняя СЭТ (расчет от медианы лета самцов до устойчивого перехода осенних температур ниже 7 °С) составляла от 290 до 630 град.-дней. В г. Новосибирск (три года мониторинга, 2008–2010 гг.) данная величина при тех же условиях соста-

вила от 300 до 390 град.-дней. В г. Волгоград (пять лет мониторинга, 2010–2014 гг.) – от 1100 до 1580 град.-дней.

Согласно анализу, проведенному М. Кеена [2016], основанному на средней температуре марта, нижеволжская популяция относится к популяциям с длительной, зауральская и западносибирская – с короткой паузой.

Выбор популяций, с кладками из которых проводили эксперименты, кроме широтного происхождения популяции обуславливался еще и фазой динамики плотности как в связи с тем, что на получаемые результаты могли повлиять популяционные характеристики, связанные с фазой, так и с тем, что для экспериментов требовалось очень большое количество кладок, собрать которое в локальном месте можно только во время вспышки. Яйцекладки собирали в период лета самок и откладки яиц, проводили их тщательное перемешивание, во избежание влияния индивидуальных показателей отдельных кладок на получаемые результаты [Кеена, 2016], общую массу яиц разделяли на равные части, упаковывали в бумажные пакеты и помещали в климатическую камеру с режимом +24 °С и влажностью 60 %. Режим освещения – 8 ч – ночь, 16 ч – день. Одна часть яйцекладок получала низкую летне-осеннюю СЭТ от 380 до 440 град.-дней, после чего кладки помещали в холодильник при температуре +2 °С. Другая часть яйцекладок дополнительно получала от 900 до 1100 град.-дней для достижения высокой летне-осенней СЭТ (1300–1500 град.-дней, после чего эту часть яйцекладок также помещали в холодильник при температуре +2 °С. Тесты на отрождение гусениц из яиц начинали проводить через 1,5 мес., раз в две недели. При проведении теста отбирали от 200 до 300 яиц.

Т а б л и ц а 1

Показатели теплообеспеченности вегетационного сезона (град.-дней) и средней температуры марта областных центров регионов, в которых расположены ареалы анализируемых популяций

Регион, город	Теплообеспеченность вегетационного сезона, °С (порог 7 °С)		Средняя температура марта, °С
	Среднее	Min – max	
Свердловская обл., Екатеринбург	1342	1143–1670	–3,8
Новосибирская обл., Новосибирск	1310	1102–1596	–7,6
Волгоградская обл., Волгоград	2254	2119–2595	–0,5

Отбор проводили, отбраковывая неоплодотворенные яйца и в чашках Петри объемом 100 мл помещали в климатическую камеру с режимом +24 °С и влажностью 70 %. Режим освещения – 8 ч – ночь, 16 ч – день. Учет отродившихся гусениц проводили ежедневно.

Учитывая, что на ареалах популяций с длительной диапаузой высока вероятность кратковременного повышения температур выше порога возобновления развития эмбрионов, что может привести к преждевременному отрождению гусениц (до распускания листьев кормовой породы), проведены тесты с имитацией данного явления. При проведении тестов (далее по тексту – тепловой провокации) кладки из исследуемых популяций помещали на несколько суток в климатическую камеру с режимом +24 °С и влажностью 70 %. Режим освещения: 8 ч – ночь, 16 ч – день. После этого яйца возвращали в холодильник и через две недели выставляли на отрождение одновременно с контролем. При проведении тестов на тепловую провокацию кладки из западносибирской (Новоси-

бирская обл. 2012–2013 гг. сбора) и нижевожской (Волгоградская обл. 2013 г. сбора) популяций экспонировали 3 и 5 сут (51 и 85 град.-дней соответственно); кладки зауральской популяции (Талицкий р-н Свердловской обл. 2016 г. сбора) – 4 и 8 сут (68 и 152 град.-дня соответственно). Выбор длительности провокации обуславливался глубиной покоя исследуемых кладок, определенной по предшествующему тепловой провокации представлению их на отрождение.

Возможно, величина летне-осенней СЭТ может влиять на биохимический состав яиц непарного шелкопряда. Поэтому для выяснения этого вопроса у зауральской популяции (Талицкий р-н, 57°00' с. ш. и 63°43' в. д., яйцекладки 2016 г.) проведен анализ белков, жиров и углеводов в эмбрионах с разной летне-осенней СЭТ (400 и 1100 град.-дней) сразу после получения ими заданной суммы эффективных температур. В частности, из каждой исследуемой популяции отбирали случайной выборкой по 100 мг в трех повторностях. Образцы готовили с помощью разрушения на

СЭТ (среднее ± SD, град.-дни) и доля отрождения (%) гусениц

Популяция*	Год сбора кладок	Летне-осенняя СЭТ, град.-дни	Доля вышедших гусениц, %						
			Длительность холодовой реактивации, мес.						
			1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
ЗУ	2012	400	40	87	86	85	83	87	–*
		1260	48	66	77	–	77	63	–
			$\chi^2 = 2,6$ $p > 0,1$	$\chi^2 = 20,3$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 3,3$ $p > 0,05$		$\chi^2 = 1,9$ $p > 0,1$	$\chi^2 = 24,2$ $p < 0,001$	
	2016	400	39	72	89	–	–	–	–
		1300	9	41	81	89	–	95	–
			$\chi^2 = 72,7$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 61,2$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 6,8$ $p < 0,05$				
ЗС	2013	400	–	39	58	56	44	52	57
		1500	32	31	42	41	36	–	42
			$\chi^2 = 3,1$ $p > 0,05$	$\chi^2 = 12,6$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 11,5$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 3,3$ $p > 0,05$		$\chi^2 = 8,4$ $p < 0,05$	
НВ	2012	400	75	90	86	90	84	–	–
		1260	42	62	59	76	–	–	–
			$\chi^2 = 43,4$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 38,5$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 33,5$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 10,9$ $p < 0,001$			
	2013	400	25	76	89	90	90	94	90
		1260	61	84	85	89	73	86	87
			$\chi^2 = 41,5$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 5,2$ $p < 0,05$	$\chi^2 = 2,7$ $p > 0,1$	$\chi^2 = 0,2$ $p > 0,5$	$\chi^2 = 24,8$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 11,2$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 1,2$ $p > 0,2$

П р и м е ч а н и е. Популяции: ЗУ – зауральская, ЗС – западносибирская, НВ – нижевожская; * про и СЭТ отрождения по критерию Манна – Уитни (U) при тестировании одной популяции, одного периода диапаузы

гомогенизаторе FastPrep MP biomedical (ICN) с последующей лиофилизацией гомогената в течение 24 ч. Для определения концентрации углеводов и белков использовали раствор лиофилизата в дистилляте. Определение общей концентрации жирных кислот осуществляли спектрофотометрически при 530 нм по E. Chabrol et al. [1937] с модификациями А. Ильиных с соавт. [Pyinykh et al., 2017], используя лиофилизат, растворенный в концентрированной серной кислоте. Определение общей концентрации углеводов проводили спектрофотометрически при 630 нм по J. Hansen и I. Møller [1975] с модификациями А. Ильиных с соавт. [Pyinykh et al., 2017]. Концентрацию белка в образцах определяли по методу М.М. Бредфорда [Bradford, 1976]. Для построения калибровочной кривой использовали бычий сывороточный альбумин.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Ms Office (Excel) и STATISTICA 10.0. Статистическую значимость различий отрождаемости

гусениц определяли по χ^2 , концентрации белков, жиров и углеводов устанавливали по *t*-критерию Стьюдента. Нормальность распределения отрождения оценивали критерием Шапиро – Уилка. Статистическую значимость различий СЭТ развития для парного сравнения фиксировали по критерию Манна – Уитни, в случае множественного сравнения (оценка влияния провокации) – по критерию Краскела – Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты проведенных экспериментов (табл. 2) показали, что, во-первых, при более высокой летне-осенней СЭТ (1300–1500 град.-дней) выход на максимально возможное отрождение у северной популяции (зауральская) начинается на 0,5–1 мес. позже. У южной (нижневолжской) это явление неустойчиво. Если в тестах с кладками 2012 г. оно имело место, то в тестах с кладками 2013 г. оно не отмечалось. Во-вторых, в за-

Т а б л и ц а 2

разных популяций непарного шелкопряда в зависимости от летне-осенней СЭТ, полученной эмбрионами

СЭТ позднеэмбрионального развития, град.-дни (среднее \pm SD)						
Длительность холодовой реактивации, мес.						
1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5
253 \pm 66	175 \pm 56	131 \pm 22	112 \pm 17	88 \pm 10	95 \pm 12	–
369 \pm 99	221 \pm 111	202 \pm 49	–	133 \pm 32	104 \pm 24	–
<i>U</i> = 920	<i>U</i> = 5290	<i>U</i> = 886		<i>U</i> = 1134	<i>U</i> = 4884	
<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001		<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,05	
304 \pm 151	216 \pm 73	160 \pm 32	–	–	–	–
590 \pm 362	345 \pm 104	231 \pm 54	187 \pm 29	–	155 \pm 22	–
<i>U</i> = 404	<i>U</i> = 3136	<i>U</i> = 5338				
<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001				
–	163 \pm 43	128 \pm 24	124 \pm 22	109 \pm 22	102 \pm 14	94 \pm 12
566 \pm 189	349 \pm 80	265 \pm 56	219 \pm 41	184 \pm 31	–	153 \pm 24
	<i>U</i> = 79	<i>U</i> = 85	<i>U</i> = 147	<i>U</i> = 206		<i>U</i> = 114
	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001		<i>p</i> < 0,001
279 \pm 111	202 \pm 61	146 \pm 41	117 \pm 24	99 \pm 19	–	–
405 \pm 99	274 \pm 63	224 \pm 49	219 \pm 49	–	–	–
<i>U</i> = 1840	<i>U</i> = 3007	<i>U</i> = 1546	<i>U</i> = 301			
<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001			
301 \pm 87	248 \pm 85	196 \pm 73	119 \pm 27	119 \pm 20	116 \pm 17	105 \pm 15
532 \pm 233	350 \pm 88	274 \pm 60	231 \pm 41	197 \pm 34	168 \pm 27	155 \pm 26
<i>U</i> = 435	<i>U</i> = 5140	<i>U</i> = 8838	<i>U</i> = 1432	<i>U</i> = 1028	<i>U</i> = 2149	<i>U</i> = 1764
<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001	<i>p</i> < 0,001

черк – тест не проводили; значимые различия в доле вышедших гусениц, рассчитанные по критерию Пирсона (χ^2) вы и оцепенения, но при разных летне-осенних СЭТ выделены жирным шрифтом.

висимости от летне-осенней СЭТ и длительности периода покоя при низких температурах, включающего в себя холодovou реактивацию диапаузы и оцепенения, у всех протестированных популяций СЭТ отрождения (после выхода выборок яиц на максимально возможное отрождение) значительно различается, варьируя от 90 до 300 град.-дней и сопоставима с данными, полученными для разных популяций [Мешкова, 2009].

При этом при получении высокой летне-осенней СЭТ (1300–1500 град.-дней) СЭТ отрождения всегда больше при сопоставимой длительности холодной реактивации диапаузы и оцепенения, и достигает СЭТ отрождения эмбрионов, получивших низкую летне-осеннюю СЭТ (400 град.-дней) при нахождении в оцепенении на 1,5–2 мес. дольше. Поскольку анализ СЭТ отрождения по критерию Шапиро – Уилка во всех случаях показал, что характер отрождения гусениц не соответствует нормальному распределению, при анализе полученных результатов использованы методы непараметрической статистики: критерий Манна – Уитни для попарного сравнения и критерий Краскела – Уоллиса – для множественного.

Дисперсия отрождения почти всегда, особенно при более длительных сроках диапаузы и оцепенения, в 2–3 раза выше при получении эмбрионами большей летне-осенней СЭТ (см. табл. 2).

Результаты тестов возможного влияния тепловых провокаций на показатели отрождения гусениц, в зависимости от длительности провокации (51 и 85 град.-дней), летне-осенней СЭТ, полученной эмбрионами и длительности холодной реактивации диапаузы и оцепенения представлены в табл. 3.

Тесты с яйцами из западносибирской популяции (кладки 2012 г.) при небольшой летне-осенней СЭТ (450 град.-дней) показали, что СЭТ отрождения снижается пропорционально СЭТ, полученной эмбрионами при тепловой провокации. Однако эта пропорциональность оказалась значительно нарушенной в тесте с яйцами из той же популяции, и с тем же сроком периода покоя при низких положительных температурах, но при получении ими значительно большей летне-осенней СЭТ (1500 град.-дней, кладки 2013 г.). Отмечено небольшое увеличение дисперсии отрождения гусениц.

Тесты с эмбрионами нижневолжской популяции, получивших значительную летне-осеннюю СЭТ (1300 град.-дней, кладки 2013 г.) продемонстрировали, что снижение СЭТ отрождения при тепловой провокации происходит только после снижения СЭТ отрождения контрольных яиц до 200 град.-дней. При более высоких значениях этого показателя отрождения тепловая провокация не только не снижает СЭТ отрождения, но и при небольшом периоде диапаузы и оцепенения отмечено ее увеличение (2 и 2,5 мес. диапаузы и оцепенения).

При этом, если во всех случаях доля отродившихся гусениц в тестах на тепловую провокацию не ниже, а в отдельных случаях выше, чем в контроле, то в варианте нижневолжской популяции (2 мес. диапаузы и оцепенения) (см. табл. 3) отмечено снижение доли отродившихся гусениц, которое могло быть связано как с гибелью эмбрионов, подвергшихся тепловой провокации, так и с их впадением в более глубокую диапаузу.

В связи с этими предположениями с яйцами зауральской популяции (кладки 2016 г.) проведен тест с большей длительностью тепловой провокации (76 и 152 град.-дня) (табл. 4). Анализировали реакцию на тепловую провокацию в двух вариантах – с малой (400 град.-дней) и большой (1100 град.-дней) летне-осенней СЭТ, длительность холодной реактивации диапаузы и оцепенения 2,5 мес. (см. табл. 4). В обоих случаях отмечено снижение отрождения гусениц. Особенно значительным оно оказалось при тепловой провокации 152 град.-дня. Для выяснения причины этого явления проведено дальнейшее последовательное выставление на отрождение кладок, подвергшихся тепловой провокации. Результаты приведены в табл. 4.

Анализ результатов показывает, что при небольшой летне-осенней СЭТ, полученной эмбрионами, длительная тепловая провокация приводит к гибели значительной части эмбрионов (больше 50 %) – отрождение в контроле до воздействия провокации достоверно выше, чем в последующих выставлениях эмбрионов подвергшихся длительной провокации ($\chi^2 = 95,2$; $p < 0,001$) и еще возрастает на момент первого выставления ($\chi^2 = 213,7$; $p < 0,001$), а выжившие впадают в более глубокий покой – сокращение длитель-

Т а б л и ц а 3

СЭТ (среднее \pm SD, град.-дни) и доля отрождения (%) гусениц разных популяций непарного шелкопряда в зависимости от летне-осенней СЭТ, полученной эмбрионами и величины тепловой провокации

Год сбора кладок	Попу- ляция*	Летне-осенняя СЭТ, град.-дни	Длительность холодовой ре- активации, мес.	СЭТ тепловой провокации, град.-дни	<i>N</i> , шт.	Доля вышед- ших гусе- ниц, %	СЭТ развития, град.-дни, среднее \pm SD		
2012	ЗС	450	3,0	0	173	76a**	206 \pm 34a		
				51	154	76a	141 \pm 34b		
				85	150	79a	111 \pm 32c		
					$\chi^2 = 0,6$	$H_{2,368} = 227,1$			
					$df = 2; p > 0,5$	$p < 0,001$			
			3,5	0	147	85a	100 \pm 17a		
				51	147	86a	56 \pm 20b		
				85	152	81a	48 \pm 17c		
					$\chi^2 = 2,4$	$H_{2,365} = 204,5$			
					$df = 2; p > 0,2$	$p < 0,001$			
	2013	ЗС	1500	3,5	0	200	36a	184 \pm 31a	
51					200	47a	164 \pm 46b		
85					200	41a	160 \pm 49b		
				$\chi^2 = 5,5$	$H_{2,246} = 16,6$				
				$df = 2; p > 0,05$	$p < 0,001$				
2013	НВ	1260	2,0	0	300	84a	350 \pm 88a		
				51	150	74a	388 \pm 124b		
				85	150	64b	360 \pm 116a		
					$\chi^2 = 22,6$	$H_{2,461} = 7,8$			
					$df = 2; p < 0,05$	$p < 0,05$			
					2,5	0	300	85a	274 \pm 60a
						51	300	81a	323 \pm 92b
						85	300	81a	303 \pm 85c
					$\chi^2 = 1,6$	$H_{2,741} = 48,9$			
					$df = 2; p > 0,2$	$p < 0,001$			
			3,0	0	300	89a	231 \pm 41a		
				51	300	92a	223 \pm 53a		
				85	300	88a	236 \pm 66a		
					$\chi^2 = 3,2$	$H_{2,787} = 1,2$			
					$df = 2; p > 0,2$	$p > 0,5$			
		3,5	0	200	73a	197 \pm 34a			
			51	200	84b	179 \pm 39b			
			85	200	86b	180 \pm 43b			
				$\chi^2 = 13,0$	$H_{2,484} = 29,2$				
				$df = 2; p < 0,05$	$p < 0,001$				
		4,0	0	200	86a	168 \pm 27a			
			51	200	87a	146 \pm 29b			
			85	200	91a	133 \pm 37c			
				$\chi^2 = 2,8$	$H_{2,527} = 114,0$				
				$df = 2; p < 0,2$	$p < 0,001$				

П р и м е ч а н и е. Под сравниваемыми значениями для выживаемости указан χ^2 Пирсона, а для СЭТ развития – критерий Краскела–Уоллиса (*H*).

*Популяции: ЗС – западносибирская, НВ – нижневолжская.

**Степень достоверности различия средних значений указана разными буквами при $p < 0,05$, при $p < 0,001$ буквы дополнительно выделены жирным шрифтом.

Т а б л и ц а 4

СЭТ (среднее \pm SD, град.-дни) и доля отрождения (%) гусениц непарного шелкопряда зауральской популяции (Талицкий р-н) в зависимости от летне-осенней СЭТ, полученной эмбрионами, величины тепловой провокации, проведенной после двух месяцев диапаузы и длительности холодого оцепенения после провокации (кладки 2016 г.).

Летне-осенняя СЭТ, град.-дни	Длительность содержания в холоде (ДХР* + ДО**), мес.	СЭТ тепловой провокации, град.-дни	N, шт.	Доля вышедших гусениц, %	СЭТ развития, град.-дни, среднее \pm SD
400	2,0	0	300	72a***	216 \pm 73a
	2,5	0	300	89b	160 \pm 32b
	2,5 (2,0 + 0,5)	76	300	65c	194 \pm 134c
	2,5 (2,0 + 0,5)	152	300	44d	129 \pm 99b
				$\chi^2 = 138,9; df = 3$ $p < 0,001$	$H_{3,809} = 215,8$ $p < 0,001$
	3,0	0	–	–	–
	3,0 (2,0 + 1,0)	76	300	83a	182 \pm 70a
	3,0 (2,0 + 1,0)	152	300	39b	196 \pm 105a
				$\chi^2 = 122; df = 1$ $p < 0,001$	$H_{1,366} = 2,1$ $p > 0,1$
	3,5	0	–	–	–
	3,5 (2,0 + 1,5)	76	300	85a	137 \pm 48a
	3,5 (2,0 + 1,5)	152	300	38b	209 \pm 84b
				$\chi^2 = 143,9; df = 1$ $p < 0,001$	$H_{1,369} = 75,6$ $p < 0,001$
	1100	2,0	0	300	59a
2,5		0	300	81b	231 \pm 55b
2,5 (2,0 + 0,5)		76	300	48a	399 \pm 117c
2,5 (2,0 + 0,5)		152	300	18c	344 \pm 167a
				$\chi^2 = 247,8; df = 3$ $p < 0,001$	$H_{3,562} = 131,1$ $p < 0,001$
3,0		0	300	89a	186 \pm 30a
3,0 (2,0 + 1,0)		76	300	74b	234 \pm 81b
3,0 (2,0 + 1,0)		152	300	36c	289 \pm 118c
				$\chi^2 = 200,6; df = 2$ $p < 0,001$	$H_{2,595} = 124,0$ $p < 0,001$
4,0		0	300	95a	155 \pm 23a
4,0 (2,0 + 2,0)		76	300	83b	153 \pm 30a
4,0 (2,0 + 2,0)		152	300	84b	178 \pm 53b
				$\chi^2 = 122,8; df = 2$ $p < 0,001$	$H_{2,785} = 50,7$ $p < 0,001$

*ДХР – длительность холодого реактивации – периода нахождения эмбриона при низких положительных температурах после перехода в диапазирующее состояние и до воздействия тепловой провокации, либо до выставления на отрождения.

**ДО – длительность оцепенения при низких положительных температурах после провокации и до выставления.

*** – степень достоверности различия средних значений указана разными буквами при $p < 0,05$, при $p < 0,001$ буквы дополнительно выделены жирным шрифтом; под сравниваемыми значениями для выживаемости указан χ^2 Пирсона, а для СЭТ развития – критерий Краскела – Уоллиса (H).

ности выхода в последующих выставлениях не происходит по сравнению с вариантами непродолжительной провокации. Напротив, происходит увеличение длительности отрождения последующих выставлений по сравнению с первым ($H_{2,63} = 64,9; p < 0,001$). При большой летне-осенней СЭТ также происходит впадение эмбрионов в более глубокий

покой – через полмесяца после провокации доля вышедших гусениц существенно снижается (особенно в варианте с длительной провокацией) по сравнению с контрольной группой, но их гибели не происходит, и через 2 мес. после провокации доля вышедших очень незначительно, хотя и достоверно ниже, чем в контрольных вариантах. Во всех

Масса яиц, концентрация белков, жиров и сахаров в эмбрионах, получивших разную летне-осеннюю СЭТ. Зауральская популяция (Талицкий р-н Свердловской обл., кладки 2016 г.) (среднее \pm SD)

Летне-осенняя СЭТ, град-дней	Масса яиц, мг	Белки, мг/г	Жиры, мг/г	Сахара, мг/г
400	86,5 \pm 1,35a	10,43 \pm 0,77a	1,36 \pm 0,20a	0,103 \pm 0,005a
1100	84,7 \pm 0,37a	10,87 \pm 0,84a	1,52 \pm 0,13a	0,097 \pm 0,004a

П р и м е ч а н и е. Одинаковыми буквами отмечено отсутствие статистически значимых различий ($p \leq 0,05$).

случаях отмечено значительное увеличение дисперсии отрождения гусениц.

Для выяснения возможных различий в биохимическом составе эмбрионов, в зависимости от величины летне-осенней СЭТ проведен анализ концентрации белков, жиров и сахаров в эмбрионах зауральской популяции (Талицкий р-н Свердловской обл., кладки 2016 г.). Согласно результатам анализа (табл. 5) различий ни по массе яиц, ни по проанализированным показателям не отмечено. Дополнительная (и очень существенная) летне-осенняя СЭТ не влияет на эти показатели эмбрионов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Длительность диапаузы различается у популяций разного широтного происхождения. Как отмечено выше, М. Кеена [2016] на основании анализа климатических характеристик 43 географических популяций пришла к выводу, что более длительная диапауза характерна для популяций, на ареале которых средняя температура марта выше – 2,45 °С.

Для таких ареалов характерны как высокий уровень теплообеспеченности в вегетационный сезон, так и частые весенние оттепели.

Результаты проведенных экспериментов показывают, что вне зависимости от широтного происхождения популяции, установлены значительные различия в прохождении холодовой реактивации диапаузы и оцепенения эмбрионов непарного шелкопряда при получении разной летне-осенней СЭТ.

Эти различия в первую очередь связаны с большей СЭТ и дисперсией отрождения эмбрионов, получивших значительную летне-осеннюю СЭТ. Для северной популяции (зауральская) отмечена более длительная диапауза при получении значительной летне-осенней СЭТ. В то же время у южной популяции

(нижневолжская) это явление неустойчиво. Для западносибирской популяции какие-либо выводы делать сложно, так как в год тестирования у нее наблюдался очень низкий уровень отрождения (менее 60 %) (см. табл. 2).

Воздействие тепловой провокации на эмбрионы в зависимости от длительности холодовой реактивации диапаузы и оцепенения и величины тепловой провокации дало неоднозначные результаты. При воздействии тепловой провокации на эмбрионы, находившиеся при низких температурах длительное время (3 мес. и более) такое воздействие приводит к снижению СЭТ отрождения после наступления устойчивого периода высоких температур. Причем при небольшой летне-осенней СЭТ, полученной эмбрионами это снижение более пропорционально СЭТ, полученной во время провокации, чем при получении значительной летне-осенней СЭТ. При более коротком времени нахождения эмбрионов при низких температурах тепловая провокация приводит к впадению эмбрионов в еще более глубокий покой, причем продолжительность его больше у эмбрионов, получивших значительную летне-осеннюю СЭТ.

На настоящий момент опубликовано большое количество данных, свидетельствующих о том, что протекание диапаузы находится под контролем эндокринной системы, но механизм этого контроля настолько непонятен, что D. R. Grey et al. [2001] в одной из наиболее поздних моделей протекания диапаузы у непарного шелкопряда, вынуждены были предложить гипотетический температурозависимый ингибитор, препятствующий выходу эмбриона из диапаузы.

Согласно модели D. R. Grey et al. [2001] при тепловой провокации концентрация ингибитора должна снижаться и при коротком периоде нахождения в диапаузе и оцепенении,

и при длительном. Полученные результаты не подтверждают наличие такого ингибитора и свидетельствуют о более сложной системе регуляции, чем представляется на данный момент. Учитывая более выраженные эффекты при получении эмбрионами значительной летне-осенней СЭТ, какое-либо направление в поиске возможных причин может дать анализ биохимического состава эмбрионов и их массы в зависимости от величины летне-осенней СЭТ. Тем более, что данные по влиянию величины летне-осенней СЭТ на эти показатели в мировой литературе отсутствуют. Однако каких-либо значимых различий в проанализированных показателях не обнаружено, и вопрос о системе регуляции диапаузы остается открытым.

Но в данном исследовании более интересен не сам механизм, а экологический смысл наблюдаемых явлений.

Как правило, величину СЭТ отрождения лесных насекомых филлофагов весенне-летней фенологической группы, в частности, непарного шелкопряда, анализируют с позиции синхронизации распускания листы кормовой породы и отрождения гусениц [Бенкевич, 1984; van Asch, Visser, 2007; Keena, 2016]. Именно синхронизацию распускания листы с отрождением гусениц и началом их питания связывают с различиями в величине диапаузы и СЭТ отрождения у популяций разного географического происхождения. Причем до такой степени, что считают популяции с более короткой диапаузой и меньшей СЭТ отрождения более конкурентоспособными [Keena, 1996, 2016].

Однако полученные результаты позволяют взглянуть на ситуацию с совершенно другой точки зрения. Не отрицая важности синхронизации отрождения гусениц и фенологии листы кормовой породы для успешности выживания гусениц (по этой теме в мировой литературе очень много данных, начиная с работ Н. М. Эдельман [1953, 1963]), различия в длительности диапаузы и, соответственно, реакции в зависимости от этого фактора на тепловой режим у популяций разного широтного происхождения могут быть связаны с необходимостью нивелировать влияние кратковременного повышения температур выше порога развития в более южных широтах на преждевременное отрождение гусениц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Продолжительная диапауза у южных популяций непарного шелкопряда может обуславливаться необходимостью адаптации к тепловым провокациям, которые могут привести к преждевременному отрождению гусениц. У популяций с длительной диапаузой возврат низких температур после тепловых провокаций консервирует СЭТ отрождения, а в отдельных случаях приводит к уходу эмбрионов в более глубокую диапаузу. Предварительно установлено, что дополнительная летне-осенняя СЭТ не влияет на концентрацию белков, жиров и сахаров в эмбрионах непарного шелкопряда.

Работа выполнена в рамках госзадания Ботанического сада УрО РАН.

Исследование состава белков, жиров и углеводов яйцекладок выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-14-10067). Авторы благодарят сотрудницу Института систематики и экологии животных СО РАН О. В. Поленову за помощь с определением состава яйцекладок.

ЛИТЕРАТУРА

- Бенкевич В. И. Массовые появления непарного шелкопряда в европейской части СССР. М.: Наука, 1984. 142 с.
- Клобуков Г. И., Пономарев В. И., Напалкова В. В. Различие сумм эффективных температур, необходимых для развития непарного шелкопряда *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera, Erebidae, Lymantriinae) в зависимости от широтного происхождения популяции // XV съезд Русского энтомологического общества. Новосибирск, 31 июля – 6 августа 2017 г.: мат-лы съезда. Новосибирск: “Изд-во Гарамонд”, 2017. С. 236–237.
- Кожанчиков И. В. Волнянки (Orgyidae) // Фауна СССР. Насекомые чешуекрылые. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1950. Т. XII. 585 с.
- Мешкова В. Л. Сезонное развитие хвоелистогрызущих насекомых. Харьков: Планета-принт, 2009. 396 с.
- Надзор, учет и прогноз массовых размножений хвое- и листогрызущих насекомых в лесах СССР / под ред. А. И. Ильинского, И. В. Тропина. М.: Лесн. пром-сть, 1965. 525 с.
- Пономарев В. И. Длительность диапаузы у непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae): влияние абиотических и популяционных факторов // Изв. Санкт-Петерб. лесотехн. акад. СПб.: СПбГЛТУ, 2012. Вып. 200. С. 61–72.
- Сайт “Погода и климат”. Метеостанции Волгограда, Екатеринбург и Новосибирска. URL: <http://www.pogodaiklimat.ru>
- Саулич А. Х., Волкович Т. А. Экология фотопериодизма насекомых: СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2004. 276 с.

- Эдельман Н. М. Влияние кормового режима на развитие непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) и тополевых листоедов (*Melasoma populi* L., *M. Tremulae* L.) // Энтомолог. обозр. 1953. XXXIII. С. 36–46.
- Эдельман Н. М. Возрастные изменения физиологического состояния личинок некоторых древоядных насекомых в связи с условиями их питания // Там же. 1963. XLII, вып. 1. С. 11–21.
- Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.
- Chabrol E., Charonnat R. Une nouvelle reaction pour l'étude des lipids // L'eleidemie. Press Med. 1937. Vol. 45. P. 1713–1714.
- Giese R. L., Schneider M. L. Cartographic comparisons of Eurasian gypsy moth distribution (*Lymantria dispar* L. Lepidoptera: Lymantriidae) // Entomol. News. 1979. Vol. 90 (1). P. 1–16.
- Gray D. R., Ravlin F. W., Braine J. A. Diapause in the gypsy moth: A model of inhibition and development // J. Insect Physiol. 2001. Vol. 47 (2). P. 173–184.
- Gray D. R., Logan J. A., Ravlin F. W., Carlson J. A. Towards a model of gypsy moth egg phenology: Using respiration rates of individual eggs to determine temperature-time requirements of pre-diapause development // Environ. Entomol. 1991. Vol. 20. P. 1645–1652.
- Ilyinykh A., Dubovskiy I., Polenogova O., Ponomarev V., Glupov V. Embryonic death as a probable reason for the collapse of population densities in gypsy moth, *Lymantria dispar* (L., 1758) (Lepidoptera: Erebiidae, Lymantriinae) // SHILAP Revta. Lepid. 2017. Vol. 45 (179). P. 457–465.
- Keena M. A. Comparison of the hatch of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) eggs from Russia and the United States after exposure to different temperatures and durations of low temperature // Ann. Entomol. Soc. Am. 1996. Vol. 89. P. 564–572.
- Keena M. A. Inheritance and word variation in thermal requirements for egg hatch in *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Erebiidae) // Environ. Entomol. 2016. Vol. 45 (1). P. 1–10.
- Košťál V. Eco-physiological phases of insect diapause // J. Insect Physiol. 2006. Vol. 52. P. 113–127.
- Hansen J., Møller I. Percolation of starch and soluble carbohydrates from plant tissue for quantitative determination with anthrone // Anal. Biochem. 1975. Vol. 68. P. 87–94.
- Van Asch M., Visser M. E. Phenology of forest caterpillars and their host trees: The importance of synchrony // Annu. Rev. Entomol. 2007. N 52. P. 37–55.

Adaptation Features of Diapause Duration of the Gypsy Moth *Lymantria dispar* (L.) from Populations of Different Latitudinal Origination

V. I. PONOMAREV¹, G. I. KLOBUKOV¹, A. V. ILYINYKH², I. M. DUBOVSKIY³

¹ Russian Academy of Sciences, Ural Branch: Institute Botanic Garden
620144, Ekaterinburg, 8 marta str., 202a
E-mail: v_i_ponomarev@mail.ru

² Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of RAS
630091, Novosibirsk, Frunze str., 11
E-mail: avilyinykh@mail.ru

³ Novosibirsk State Agrarian University
630039, Novosibirsk, Dobrolyubova str., 160
E-mail: dubovskiy2000@yahoo.com

The analysis of influence of the sum of effective temperatures (SET) that gypsy moth embryos receive in midsummer-autumn period until overwintering on diapause duration and SET of eclosion, and the assessment of the effect of short-term temperature rising during dormancy period on eclosion duration and diapause strength have been performed. The effect of the midsummer-autumn SET on diapause duration and on the SET of spring eclosion subject to conditions of diapause and following quiescence was found. We showed that short-term rising of temperatures over the development threshold led to proportional decrease of eclosion duration in case the SET of eclosion was lower than 200 degree days. If the SET of eclosion was higher than 200 degree days, the effect of this exposure had either no effect on the eclosion duration, or led to stronger dormancy. The short-term temperature rising led to increased mortality of the embryos which received low midsummer-autumn SET (about 400–450 degree days with threshold about 7 °C). The embryos that received high midsummer-autumn SET (about 1300–1500 degree days with threshold about 7 °C) showed no increased mortality. Based on these results, we suggest that the populations of south origination have stronger diapause due to the adaptation to the short term casual temperature risings above the embryo development threshold in winter-spring period, that can lead to the untimely eclosion of gypsy moth larvae.

Key words: *Lymantria dispar* (L.), gypsy moth, diapause, quiescence, sum of effective temperatures, eclosion.