

MARTA ANNA POLAŃSKA, MAGDALENA BARTNICKA ŁYŻWA

Zakład Fizjologii Zwierząt,
Instytut Biologii Funkcjonalnej i Ekologii
Wydział Biologii
Uniwersytet Warszawski
Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
E-mail: ma.polanska@uw.edu.pl

DIAPAUZA U OWADÓW, FENOMEN UMOŻLIWIAJĄCY PRZETRWANIE TRUDNYCH WARUNKÓW ŚRODOWISKA

WSTĘP

Okolotoroczna zmienność warunków środowiskowych w bardzo dużym stopniu wpływa na całe ekosystemy. Sezonowe, znaczące zmiany fotoperiodu (czyli długości fazy jasnej w ciągu doby), wahania temperatury, jak również dostępności pokarmu czy wody, to czynniki, które mogą być krytyczne dla przeżycia wielu gatunków (GAO i współaut. 2015). Przetrwanie niekorzystnych warunków środowiska występujących cyklicznie w ciągu roku, jest wielkim wyzwaniem dla owadów, które jednak doskonale potrafią sobie poradzić. Wytworzyły one wiele różnych mechanizmów adaptacyjnych, określanych jako stan uśpienia/snu (ang. dormancy), które dzieli się na wyciszenie (ang. quiescence), pojawiające się w odpowiedzi na określone warunki środowiskowe, ale bez zaangażowania wewnętrznych procesów regulacyjnych, oraz znacznie bardziej złożone (pod względem mechanizmu fizjologicznego) zjawisko diapauzy, szeroko rozpowszechnione wśród owadów, pozwalające im przetrwać surowe zimy, sezony suszy i inne krytyczne warunki (DENLINGER 2000, 2022). Diapauza zapewnia też synchronizację rozwoju i rozmnażania do zmian, jakie panują (i następują) w środowisku. To z kolei pozwala na realizację procesów życiowych w okresie najbardziej korzystnym dla osobników (SAUNDERS 1992, SINGTRIPOP i współaut. 2000). A sukces rozrodczy, jak wiadomo, zapewnia ciągłość trwania gatunku i pozwala maksymalizować wykorzystanie dóbr, które oferuje zajmowane środowisko. Termin diapauza został po raz pierwszy

zastosowany przez niemieckiego entomologa WHEELERA (1893), który w ten sposób określił stan zatrzymania zimą, w stadium jaja, rozwoju pasikonika *Conocephalus ensiferum* (Orthoptera) (ŚLUSARCZYK 1998). Później określenie to zostało rozszerzone na inne stadia rozwojowe owadów i zdefiniowane jako „okresowe wstrzymanie rozwoju ontogenetycznego” (HENNEGUY 1903). Diapauza jest precyzyjnie kontrolowanym zahamowaniem rozwoju, w odpowiedzi na warunki niekorzystne, często przewidywanym skutki i dzięki temu poprzedzającym ich wystąpienie (DENLINGER 2002), co znacząco zwiększa szanse owadów na przetrwanie. Jest to zespół procesów fizjologicznych prowadzących do zatrzymania rozwoju, a także procesów rozrodczych. Charakteryzuje się spadkiem zawartości wody w tkankach, niskim poziomem metabolizmu i aktywności oddechowej (CHIPPENDALE 1988). Innym wskaźnikiem diapauzy jest obniżenie lub wzrost ekspresji określonych genów i, co za tym idzie, poziomu syntezy określonych białek (szczegóły w artykule) (GODLEWSKI i współaut. 2001, DENLINGER 2002). W tym stanie fizjologicznym owady są bardzo odporne na niskie i wysokie temperatury, wysychanie i substancje toksyczne (DENLINGER 1985, BELL i współaut. 1994, SAUNDERS 2000).

DIAPAUZA FAKULTATYWNA I OBLIGATORYJNA

U niektórych gatunków diapauza jest jednym z etapów ontogenezy, realizowanym niezależnie od warunków panujących w środowisku. Ten typ diapauzy jest zaprogramowany

genetycznie i określany jako tzw. diapauza obligatoryjna (CYMBOROWSKI 1984, DENLINGER 2002). Występuje przede wszystkim u gatunków, które w ciągu roku mają tylko jedno pokolenie przystępujące do rozrodu. Przykładem jest ćma, brudnica nieparka (*Lymantria dispar*). U tego gatunku całkowicie uformowane larwy, po zakończonej embriogenezie, diapauzują wewnątrz jaja, aż do następnego sezonu wegetacyjnego (DENLINGER 2000).

Znacznie częściej diapauza jest indukowana przede wszystkim przez długość dnia i niską temperaturę, tzw. tokeny środowiskowe. Ten typ diapauzy, zależny od wystąpienia krytycznego czynnika, określany jest mianem diapauzy fakultatywnej. Szeroko zakrojone badania z ostatniego półwiecza przyniosły kompleksowy przegląd regulatorów środowiskowych (DANKS 1987, ZASLAVSKI 1988), które indukują i kończą ten typ diapauzy (DENLINGER 1985). Co bardzo ważne, każdy z tych czynników, będąc bodźcem, stanowi sygnał, który pozwala owadom „przewidzieć” z dużym wyprzedzeniem nadejście niekorzystnych warunków (realizacja tej funkcji życiowej odbywa się według mechanizmu klasycznego sprzężenia zwrotnego wczesnego, znanego też jako mechanizm przewidujący). W strefie umiarkowanej, najczęściej skracające się dni późnego lata sygnalizują nadejście zimy, która jest okresem trudnym do przetrwania. Zima jest zatem przewidywana na długo przed nadejściem niskich temperatur, co umożliwienie owadom zgromadzenie dodatkowych rezerw energii i znalezienie bezpiecznego miejsca do przezimowania. Wprowadzenie diapauzy do cyklu życia wymaga mechanizmów monitorowania sygnałów środowiskowych i przechowywania tych informacji do momentu osiągnięcia odpowiedniego etapu w ontogenezie, aby na ich podstawie doprowadzić do spowolnienia lub zatrzymania rozwoju, utrzymania metabolizmu na niskim poziomie i ostatecznie zakończenia stanu uśpienia, aby owad mógł wznowić rozwój lub przystąpić do rozrodu.

Ciekawym przykładem jest kornik drukarz (*Ips typographus*) (Coleoptera), uznawany za jeden z najbardziej niszczycielskich gatunków w lasach zdominowanych przez świerk pospolity. Potencjał tego chrząszcza do tworzenia wielu pokoleń w ciągu roku (czyli tzw. multiwołtyzm) jest jedną z głównych cech, które sprawiają, że stanowi on tak poważne zagrożenie dla drzewostanu. Kornik diapauzuje, co umożliwia dostosowanie jego cyklu życiowego do sezonowych zmian środowiskowych, charakterystycznych dla klimatu umiarkowanego i kontynentalnego. Diapauza u tego chrząszcza występuje w stadium imago i charakteryzuje się zatrzymaniem procesów reprodukcyjnych, co wydłuża czas trwania pojedyn-

czego pokolenia, a także wpływa na liczbę pokoleń w ciągu roku. Co ciekawe, u kornika występuje także diapauza fakultatywna, indukowana skracającym się dniem (w okresie jesiennym). Proces ten zachodzi niezależnie od długości diapauzy obligatoryjnej. Badania wykazały bowiem występowanie różnic osobniczych w populacjach tego chrząszcza – odmiennych fenotypów pod względem strategii rozwojowej i jej korelacji z diapauzą. Osobniki diapauzujące obligatoryjnie są jednopokoleniowe, podczas gdy diapauzujące fakultatywnie mogą wydawać w jednym sezonie więcej pokoleń. Wynika z tego, że fenotyp diapauzy ma związek z przebiegiem ontogenezy u przedstawicieli tego gatunku (SCHEBECK i współaut. 2022). Scharakteryzowanie powyższych zależności było bardzo ważne dla zrozumienia biologii kornika drukarza, co ma też znaczenie przy planowaniu działań celujących w kontrolę liczebności tego gatunku w lasach użytkowych.

FAZY DIAPAUZY

Diapauza owadów to dynamiczny proces, na który składa się kilka następujących po sobie etapów nazywanych fazami diapauzy. Ich podział i nazewnictwo nie są w literaturze jednoznacznie ustalone. Poniżej omawiamy etapy diapauzy, wyróżnione przez Vladimira KOŠTALA (2006) z Instytutu Entomologii w Czeskich Budziejowicach.

PREDIAPAUZA – FAZA POPRZEDZAJĄCA DIAPAUZĘ

Diapauza jest zwykle poprzedzona okresem przygotowawczym, w czasie którego owad gromadzi rezerwy energetyczne takie jak: lipidy, białka i węglowodany. Proces ten indukowany jest przez czynniki środowiska, a konkretnie zmiany temperatury, fotoperiodu, wilgotności, dostępności pokarmu. Te mają miejsce na początku zimy w strefie klimatów umiarkowanego i okołobiegunowego lub pory suchej w strefie klimatów podzwrotnikowego i zwrotnikowego. Przebieg prediapauzy można podzielić na kilka etapów.

Etap indukcji (wywołania) zachodzi na specyficznym dla danego gatunku etapie ontogenezy, w okresie wrażliwości, gdy sygnały docierające z otoczenia osiągną określony poziom, prowadząc do „przełączenia” rozwoju na „tryb” charakterystyczny dla diapauzy.

Etap przygotowawczy występuje, gdy indukcja i rozpoczęcie diapauzy są oddzielone od siebie okresem regularnego wzrostu owada. Jest to czas, w którym zmiany na poziomie fizjologicznym i behawioralnym pozwalają osobnikowi przygotować się do późniejszego wejścia w diapauzę. Zachodzące w tym okresie zmiany to m.in. rozpoczęcie gromadzenia re-

zerw pokarmowych, specyficzny behavior, związany z poszukiwaniem miejsca do przetrwania i zwolnienie tempa rozwoju.

DIAPAUZA

Inicjacja to etap, w którym ustaje morfogeneza, po czym następuje obniżenie poziomu metabolizmu. Osobniki, które na tym etapie pozostają w ruchu, mogą nadal żerować, budując rezerwy energetyczne i poszukując odpowiedniego, bezpiecznego mikrosiedliska. Jest to okres fizjologicznego przygotowania do niekorzystnego okresu (KOŚTAŁ 2006, GILL i współaut. 2017).

Etap utrzymania. W tym okresie endogenne zahamowanie rozwoju utrzymuje się nawet wtedy, gdy następuje poprawa warunków środowiskowych – jeśli natężenie charakteryzujących je parametrów osiąga wartości optymalne dla gatunku. Tempo metabolizmu pozostaje na stałym, niskim poziomie.

Etap terminacji (zakończenia) diapauzy to okres, gdy zmiany warunków środowiskowych stymulują wznowienie wstrzymanych czynności fizjologicznych, podwyższenie poziomu tych, które są hamowane, a to wszystko przy znaczącej redukcji wpływu na metabolizm owadów procesów warunkujących utrzymanie diapauzy. Terminacja jest więc odpowiedzią organizmu na zmianę warunków środowiska w kierunku korzystnym dla wznowienia i zakończenia rozwoju. Przerwanie diapauzy warunkuje jeden lub więcej czynników abiotycznych takich jak: zmieniający się fotoperiod czyli długość fazy jasnej w ciągu doby, temperatura lub wilgotność (DAMOS i SAVOPOULOU-SOULTANI 2010). Pod koniec tego etapu, jeśli warunki są sprzyjające, owad wznowia rozwój lub, jeśli warunki nadal nie są optymalne, pozostaje w fizjologicznym stanie gotowości do natychmiastowego rozpoczęcia dalszego rozwoju.

POST-DIAPAUZA

Etap post-diapauzy *de facto* jest zbliżony do stanu fizjologicznego, z jakim spotkamy się w sytuacji, gdy owad kończy diapauzę (zakończenie), ale warunki środowiskowe nadal są dalekie od optymalnych, niemniej wystarczające do wznowienia rozwoju. Na tym etapie, u kończących diapauzę owadów dochodzi do podwyższenia tempa metabolizmu, które może trwać długo, gdy warunki otoczenia stopniowo i wolno zmieniają się na korzystne, ale bywa też szybkie, gdy parametry czynników środowiskowych optymalizują się skokowo i w znacznym tempie. Tym, co wyróżnia etap post-diapauzy od jej wcześniejszych etapów jest nieodwracalność procesów fizjologicznych, które zostały zapoczątkowane czy reaktywowane. Ponowne wejście w diapauzę właściwie nie jest możliwe, bo musiałoby wiązać się z realizacją

etapów przygotowujących organizm do diapauzy. A na to zwykle nie pozwalają zasoby energetyczne, które zostały utracone właśnie w tym procesie (który jest skończony). Po diapauzie może dojść do zahamowania czy spowolnienia rozwoju i zmniejszenia tempa metabolizmu, z tym, że zjawiska te indukowane są czynnikami egzogennymi (np. spadkiem temperatury, co z kolei powoduje zmniejszenie intensywności żerowania) i nie jest to zaprogramowany etap ontogenezy. Ponadto, takie uśpienie może mieć miejsce tuż po zakończeniu etapu post-diapauzy. Wtedy jednoznaczne ustalenie czy owad zakończył diapauzę jest trudne, a wręcz niemożliwe, jeśli stosujemy jako narzędzie badawcze obserwacje lub metody stosowane w fizjologii. Odpowiedź można uzyskać dzięki analizie ekspresji markerów molekularnych, charakterystycznych dla wznowionego rozwoju.

DIAPAUZA A WYCISZENIE

Stan spoczynku to ogólny termin określający każdy stan polegający na zahamowaniu rozwoju, któremu zwykle towarzyszy spowolnienie metabolizmu, będący adaptacją do życia w określonym środowisku. Diapauza i wyciszenie stanowią dwa odmienne typy uśpienia u owadów, różniące się mechanizmem, a także rodzajem bodźców, które je indukują. Powszechnie owady muszą zmierzyć się z dwoma głównymi rodzajami stresu środowiskowego. Pierwsza kategoria obejmuje nieprzewidywalne, nieregularne i tymczasowo działające na organizm czynniki: np. wysokie lub niskie temperatury, czasowe niedobory lub braki pokarmu i suszę (która może wystąpić znienacka). W takim przypadku przetrwanie zależy od natychmiastowej reakcji organizmu, którą może być wyciszenie lub zmiana siedliska realizowana zwykle poprzez migrację. Druga kategoria obejmuje regularnie występujące, sezonowe zmiany temperatury, wilgotności, dostępu do pożywienia, pojawiania się naturalnych wrogów (np. pasożytów) i konkurencji na zajmowanym obszarze. Taki rodzaj stresu jest formą przewidywalnej presji, występującej według określonego wzoru. Owady wykształciły zdolność do przewidywania zmian tych czynników (tzw. tokeny). Na tej podstawie dokonują transformacji, tj. modulują procesy życiowe na poziomie fizjologicznym i behawioralnym, przygotowując organizm do warunków, z którymi wkrótce przyjdzie się im zmierzyć. Doskonałym przykładem takiej transformacji stanu fizjologicznego jest wejście właśnie w stan diapauzy (GILL i współaut 2017).

Diapauza różni się od wyciszenia, ale w wielu przypadkach rozróżnienie tych dwóch zjawisk może być trudne. Wyciszenie jest po-

wszechną, sezonową (fenologiczną) adaptacją życiową występującą w cyklu życiowym owadów. W odróżnieniu od diapauzy, jest wywołwane i przerywane bezpośrednio przez warunki panujące w otoczeniu, np. gdy temperatura otoczenia najpierw raptownie spada, a potem wzrasta. Czynniki zewnętrzne indukują i kończą stan wyciszenia, wpływając na tempo metabolizmu, co skutkuje spowolnieniem lub znaczącym zahamowaniem rozwoju. Jednopolikoleniowe gatunki owadów wchodzi w stan wyciszenia zazwyczaj tylko w jednym, określonym momencie cyklu życiowego, który zbiega się z nadejściem zimy. Z drugiej strony, u gatunków wielopokoleniowych (np. u plukowatych, żyjących w Nowej Zelandii) owad ma możliwość przetrwania w stanie wyciszenia na każdym etapie rozwoju.

Diapauza z kolei jest definiowana jako stan, który:

- jest specyficzną adaptacją, służącą do przetrwania trudnych warunków środowiskowych; utrzymuje się przez minimalny czas, niezależnie od zmian natężenia czynników określających warunki panujące w miejscu bytowania;

- najczęściej indukowany jest długością dnia (fotoperiodyzm);

- zwykle występuje tylko na jednym, specyficznym dla danego gatunku etapie rozwoju.

Indukcja diapauzy nie jest bezpośrednią odpowiedzią na niekorzystne warunki środowiska. Można ją określić jako proces „wyciekający”, czyli taki, który rozpoczyna się przed okresem niekorzystnych warunków, a decyzja o nim jest podejmowana, gdy warunki otoczenia wciąż są korzystne dla wzrostu i rozwoju. Powyższe cechy wskazują, że diapauza owadów jest regulowana przez zegar biologiczny, którego wrażliwość na fotoperiodyzm panujący w otoczeniu, daje możliwość przewidywania zmiany parametrów środowiskowych, mających u podłoża cykle geofizyczne, a więc niezależne od chwilowych wahań natężenia bodźców, np. wilgotności, czy temperatury, bo zależnych od obrotu Ziemi wokół jej osi i obiegu wokół Słońca. Do powyższego można dodać, iż diapauza jest procesem znajdującym się pod złożoną kontrolą układu wewnątrzwydzielniczego (endokrynnego), podczas gdy stan wyciszenia wynika z bezpośredniego wpływu na tempo metabolizmu chwilowych i trudnych do przewidzenia zmian w środowisku (ROBERTS 1978, GILL i współaut. 2017).

HORMONALNA REGULACJA WZROSTU I ROZWOJU OWADÓW

Diapauza jest zjawiskiem bardzo precyzyjnie kontrolowanym na drodze neurohormonalnej. Informacja o zmianie warunków środo-

wiska przekazywana jest na drodze nerwowej do mózgu, który z kolei przekazuje sygnał do innych elementów układu endokrynnego. Aby zrozumieć, w jaki sposób kontrolowane jest zjawisko diapauzy, warto zapoznać się z mechanizmami hormonalnej regulacji rozwoju owadów. W procesy te zaangażowane są peptydy oraz dwie grupy hormonów rozpuszczalnych w tłuszczach: ekdysteroidy (GRZELAK 1994) i hormony juwenilne (MICHALIK 1991). Ekdysteroidy to związki powstające z cholesterolu, którego owady nie syntetyzują *de novo* i muszą przyjmować z pokarmem (GRZELAK 1994). Owady mięsożerne otrzymują w diecie gotowe prekursorsy (cholesterol i jego pochodne), które w szlaku metabolicznym ekdysteroidogenezy zmieniane są w szereg form hormonów, różniących się aktywnością. Fito-sterole, przyjmowane przez owady roślinożerne, przekształcane są natomiast w cholesterol pod wpływem reduktazy desmosterolowej (CIUFO i współaut. 2011, TAKESHIMA i współaut. 2019). Synteza ekdysteroidów zachodzi w gruczołach prorakalnych (PG), zwanych też gruczołami przedplecza lub przedtułowia, zlokalizowanych symetrycznie po obu stronach w przedniej części ciała. Są to gruczoły złożone z kilkudziesięciu lub kilkuset komórek, które zanikają przed metamorfozą – przekształceniem się stadium młodocianego w formę imago. Syntezę ekdysteroidów przez PG stymuluje hormon prorakotropowy (PTTH). Jest to neuropeptyd, powstający w komórkach neurosekrecyjnych mózgu. Magazynowany jest w połączeniach z mózgiem narządach neurohemalnych, pełniących funkcje magazynu neuropeptydów – ciałach sercowatych (łac. *corpora cardiaca*, cc) i ciałach przyległych (łac. *corpora allata*, ca), skąd uwalniany jest do hemolimfy, docierając ostatecznie do gruczołów prorakalnych (KLOWDEN 2002). Ekdysteroidy to grupa związków, z których najlepiej poznany jest ekdyzon (alfa-ekdyzon; E) oraz powstający z niego wskutek hydroksylacji, najbardziej aktywny 20-hydroksyekdyzon (beta-ekdyzon; 20-HE) – z zastrzeżeniem, że informację tę należy traktować jako daleko idące uogólnienie, gdyż u różnych gatunków, na różnych etapach ich rozwoju, inne formy ekdysteroidów mogą wykazywać większy potencjał w regulacji procesów fizjologicznych i rozwojowych niż 20-HE. Hormony juwenilne (JHs) to seskwiterpenoidy, produkowane w ca. Są to związki charakterystyczne dla owadów – choć zbliżone do nich pod względem struktury chemicznej (również seskwiterpenoidy) pełnią rolę hormonów u innych liniejących (Ecdysozoa), jak ester metylowy kwasu farnezowego (metylo-farnezoesan), będący hormonem skorupiaków i jednocześnie związkami ulegającym epoksydacji w procesie syntezy hormonów juwenilnych (MICHALIK 1991,

KLOWDEN 2002). Synteza JH także regulowana jest przez neuropeptydy, wytwarzane w komórkach neurosekrecyjnych mózgu: allatotropinę, pobudzającą komórki *ca* do syntezy JH, oraz allatostatynę wykazującą w tym procesie działanie hamujące. Związkami zaangażowanymi w regulację diapauzy są peptydy mózgowe, szczególnie wspomniany PTTH oraz produkowane pod jego wpływem ekdysteroidy, a także hormony juwenilne. Nie ma jednak jednego, uniwersalnego mechanizmu regulacji diapauzy. To, które hormony są zaangażowane w danym przypadku w diapauzę, zależy od gatunku owada i od stadium rozwojowego, w którym ona ma miejsce (DENLINGER 1985, 2002), bo, jak wspomniano powyżej, owad może wejść w diapauzę tylko w jednym momencie ontogenezy, specyficznym dla gatunku, który reprezentuje. Może to mieć miejsce w stadium embrionalnym, larwalnym, poczwarkowym lub formy dorosłej.

DIAPAUZA IMAGINALNA

Diapauza imaginalna występuje u owadów dorosłych. Jest następstwem obniżenia, na skutek zmiany fotoperiodu lub temperatury, syntezy JH III, izoformy hormonu juwenilnego, pełniącej przede wszystkim funkcję gonadotropową. Czynniki te indukują diapauzę poprzez hamowanie aktywności allatotropowej mózgu, czego konsekwencją jest spadek poziomu JH w hemolimfie (SAUNDERS 1992). U samic *Drosophila melanogaster* (Diptera) powoduje to zatrzymanie procesu oogenezy na etapie prewitellogenezy. Mimo że witellogeniny, czyli białka żółtka, są syntezowane i gromadzone w hemolimfie, witellogeneza jest zahamowana – zablokowane jest bowiem wchłanianie tych białek do oocytu (SAUNDERS 1992). U samców natomiast mogą występować zmiany w procesie spermatogenezy, funkcji gruczołów dodatkowych, a także behawioru związanego z kopulacją (PENER 1992).

DIAPAUZA POCZWARKOWA

Diapauza poczwarkowa pojawia się w sytuacji przerwania procesów związanych z różnicowaniem imaginalnym. Spowodowana jest przede wszystkim obniżeniem poziomu ekdysteroidów, głównie 20-HE, w hemolimfie na skutek radykalnego zmniejszenia syntezy i wydzielania PTTH przez mózg. Spadek aktywności protorakotropowej mózgu diapauzujących poczwerek powoduje, że PG nie są stymulowane do syntezy i uwalniania ekdysteroidów, w związku z czym ich poziom w hemolimfie spada (SAUNDERS 2000). Oprócz zahamowania mózgowej funkcji protorakotropowej, stwierdzono także spadek wrażliwości samych PG na PTTH (BOWEN i współaut. 1984, RICHARD i SAUNDERS 1987). Przykładami gatun-

ków diapauzujących w stadium poczwarki są przedstawiciele rzędu Lepidoptera: *Thyrassia penengea* (HE i współaut. 2009) i piętnówka kapustnica (*Mamestra brassicae*) (KIMURA i MASAKI 1993), u których kluczowym czynnikiem indukującym diapauzę jest fotoperiod, czy słonecznica orężówka (*Helicoverpa armigera*), gatunek, u którego na indukcję diapauzy wpływa zarówno fotoperiod, jak i temperatura otoczenia (CHEN i współaut. 2014).

DIAPAUZA LARWALNA

Diapauza larwalna jest zjawiskiem szeroko rozpowszechnionym wśród wielu rzędów owadów: m. in. motyli (Lepidoptera), chrząszczy (Coleoptera) czy muchówek (Diptera) (GILL i współaut. 2017). Charakteryzuje się zmniejszeniem zawartości wody w organizmie, nagromadzeniem rezerw tłuszczowych, zahamowaniem lub znacznym ograniczeniem aktywności pokarmowej oraz zatrzymaniem rozwoju. Ten typ diapauzy dotyczy jednego, konkretnego dla danego gatunku, stadium larwalnego (NIJHOUT 1994). U motyli występuje na wszystkich etapach rozwoju larwalnego, począwszy od pierwszego stadium, zamkniętego w osłonce jajowej, aż po ostatnie stadium larwalne, w którym diapauza występuje najczęściej (SAUNDERS 2000). Gatunki z rzędu Lepidoptera były i są najczęściej badane w kontekście regulacji diapauzy. Pomimo tego, że analizy przeprowadzono na zwierzętach blisko ze sobą spokrewnionych, nie udało się ustalić uniwersalnego modelu regulacji hormonalnej tego zjawiska. Podobnie jak opisana wcześniej diapauza poczwarkowa, diapauza larwalna zależy od poziomu PTTH i ekdysteroidów (u Lepidoptera głównie 20-HE) w hemolimfie. W czasie jej trwania, JH w hemolimfie może być utrzymywany na relatywnie wysokim poziomie. Tak jest w przypadku diapauzy larw dwóch gatunków motyli: *Chilo suppressalis* (YAGI i FUKAYA 1974) i *Diatrea grandiosella* (YIN i CHIPPENDALE 1979), u których mózg na drodze nerwowej stymuluje *ca* do syntezy JH, indukującego, a następnie utrzymującego stan diapauzy. Dopiero obniżenie poziomu JH umożliwia wznowienie procesów związanych z rozwojem i metamorfozą. Natomiast podanie owadom hormonu juwenilnego (a więc pochodzenia egzogenego) przedłuża czas trwania diapauzy. W zupełnie inny sposób regulowana jest diapauza larwalna *Ostrinia nubilalis*. U tego motyla bezpośrednią przyczyną diapauzy jest zahamowanie aktywności gruczołów protorakalnych na skutek braku stymulacji przez PTTH, co w konsekwencji prowadzi do spadku syntezy ekdysteroidów i zahamowania rozwoju (GELMAN i współaut. 1992). Brak stymulacji PG spowodowany jest zahamowaniem uwalniania PTTH z komórek neurosekrecyjnych mózgu

oraz spadkiem wrażliwości gruczołów protorakalnych na tropowe działanie tego hormonu (GELMAN i współaut. 1992). Podobny mechanizm działa u mola woskowego, zwanego też barciakiem większym (*Galleria mellonella*) (Lepidoptera). Jest to gatunek motyla żyjącego w ulu, a więc w stałej ciemności. Czynnikiem stymulującym diapauzę u tego gatunku jest temperatura, obniżona z optymalnej dla rozwoju, wynoszącej 30°, do 18°C (tzw. temperatura suboptymalna). Osobniki w ostatnim, VII stadium larwalnym są wrażliwe na ten spadek temperatury, który powoduje wstrzymanie ich rozwoju (nie przechodzą metamorfozy) i indukuje diapauzę, która charakteryzuje się niskim poziomem ekdysteroidów w hemolimfie (CASSIER i CYMBOROWSKI 1993, MIKOŁAJCZYK i CYMBOROWSKI 1993). Jak wykazano, niewielka ilość ekdysteroidów w płynach ciała u diapauzujących larw *G. mellonella*, jest konsekwencją hamowania lub utrzymującego się na bardzo niskim poziomie uwalniania PTTH z mózgu, a z drugiej strony, spadku wrażliwości gruczołów protorakalnych na ten peptyd. Stwierdzono, że hamowanie (czy wręcz blokowanie) aktywności wydzielniczej PG odbywa się na drodze nerwowej, ponieważ przecięcie *nervus cervicalis*, czyli nerwu łączącego mózg z gruczołami protorakalnymi, powoduje u larw diapauzujących wzrost stężenia ekdysteroidów w hemolimfie i przerwanie diapauzy (MUSZYŃSKA-PYTEL i współaut. 1993). Informacja o spadku temperatury przekazywana jest z obwodowych termoreceptorów poprzez nerwowy łańcuszek brzuszny do mózgu, który następnie na drodze nerwowej, poprzez zwój podprzełykowy (ang. subesophageal ganglion, SOG) i parzysty *nervus cervicalis* hamuje PG. Jednocześnie wysoki poziom JH i inne czynniki regulujące PG zawarte w hemolimfie (np. czynniki szoku cieplnego, ang. heat shock factors, HSFs) hamują uwalnianie PTTH z mózgu i obniżają wrażliwość tropową PG (MUSZYŃSKA-PYTEL i współaut. 1993). W warunkach naturalnych, gdy temperatura otoczenia wzrasta, diapauza mola woskowego zostaje przerwana, larwy wznawiają rozwój przechodząc metamorfozę i cykl życiowy się zamyka. Ponieważ jest to diapauza fakultatywna, przy braku sygnału środowiskowego, jakim jest obniżona temperatura, cykl życiowy nie ulega zatrzymaniu.

DIAPAUZA EMBRIONALNA

Ten typ diapauzy różni się od występującej w innych stadiach rozwojowych, ponieważ czynnikiem regulującym jest hormon diapauzy (ang. diapause hormon, DH), 24-aminokwasowy neuropeptyd, syntetyzowany i wydzielany przez komórki neurosekrecyjne SOG. Najlepiej poznano regulację diapauzy embrionalnej u *Bombyx mori* (Lepidoptera), czyli u jedwab-

nika morwowego. Czynnikiem determinującym diapauzę u tego gatunku są: wysoka temperatura i długi fotoperiod. Dojrzałe samice, które w czasie rozwoju embrionalnego i na początku rozwoju larwalnego przebywały w takich warunkach (warunki panujące latem), „zaprogramowane” są do składania jaj diapauzujących (czyli zimowych). Z kolei niska temperatura i krótki fotoperiod (warunki panujące wczesną wiosną), w czasie rozwoju embrionalnego warunkują składanie przez samice jaj niediapauzujących (czyli letnich). Stwierdzono, że jest to związane z działaniem hormonu diapauzy, którego synteza i wydzielanie przez SOG stymulowane jest wspomnianym długim fotoperiodem i wysoką temperaturą. Stwierdzono także, że obecność DH w jajnikach tych samic jest czynnikiem hamującym rozwój embrionalny w składanych jajach (DENLINGER 1985, 2002). Hormon ten promuje diapauzę poprzez stymulację aktywności trehalazy w rozwijających się jajnikach (SU i współaut. 1994, ŚULA i współaut. 1995). Iniekcja DH szybko podnosi poziom mRNA trehalazy, a wynikający z tego wzrost aktywności tego enzymu skutkuje wysokim poziomem glikogenu w dojrzałych jajach. Glikogen jest następnie wykorzystywany do syntezy glicerolu, sorbitolu i innych polioli, które nie występują w jajach niediapauzujących (DENLINGER 2002). Ten typ diapauzy jest szeroko rozpowszechniony szczególnie wśród komarów (Diptera, *Culicidae*) (MITCHELL 1989). Inny mechanizm reprezentuje brudnica nieparka, która wchodzi w diapauzę embrionalną jako w pełni ukształtowana larwa wewnątrz jaja i wylęga się bezpośrednio po wyjściu z diapauzy (BELL i współaut. 1994), więc jest to *de facto* diapauza larwalna.

REGULACJA HORMONALNA TERMINACJI DIAPAUZY

Pierwotnie sądzono, iż zasadnicze znaczenie w podtrzymywaniu diapauzy pełni hormon juwenilny (JH), którego wysoki poziom miał blokować oś mózg-gruczoły protorakalne. Wobec braku wytwarzanego przez mózg PTTH, gruczoły protorakalne nie produkowałyby ekdysteroidów odpowiedzialnych bezpośrednio za zakończenie diapauzy i wznowienie rozwoju. Wykazano jednak, że nie jest to jedyny sposób, w jaki JH może wpływać na wznowienie rozwoju po diapauzie. Larwom *Omphisa fuscidentalis* (Lepidoptera) po usunięciu mózgu podawano analog hormonu juwenilnego (JHA), co stymulowało PG do produkcji ekdysteroidów i prowadziło do zakończenia diapauzy (SINGTRIPOP i współaut. 2000). Znaczenie PTTH, JH i ekdysteroidów dla zakończenia diapauzy różni się w zależności od gatunku i etapu ontogenezy, w którym owad podejmuje diapauzę. Naj-

nowsze badania wydają się jednak zgodnie wskazywać na zmianę wrażliwości tkanek na poszczególne hormony jeszcze podczas diapauzy, jako istotnego czynnika umożliwiającego osobnikom wznowienie rozwoju (LU i współaut. 2013, XIAO i współaut. 2013). Już w połowie zimy owady są zwykle gotowe do rozwoju według wzoru, który będzie realizowany po nadejściu korzystnych warunków wiosną. U wielu gatunków istotny wydaje się być minimalny czas ekspozycji na zimno, po którym osobniki mogą wznowić rozwój. Jednak, jak dotąd, niewiele wiadomo o procesach fizjologicznych, które prowadzą do stopniowego uwrażliwienia struktur (komórek i tkanek) i mechanizmów regulatorowych w organizmie owada, wpływających na zmiany natężenia czynników ze środowiska, powodujących zakończenie diapauzy (GILL i współaut. 2017).

CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA DIAPAUZĘ

Indukcja diapauzy zależy od czasu trwania poszczególnych faz fotoperiodycznych, czyli długości dnia i nocy. W czasie trwania diapauzy owady polegają na fotoperiodzie przez określony czas, ale zmienna temperatura oraz inne czynniki modyfikują jej przebieg (TAUBER i TAUBER 1976). Fotoperiod, który indukuje odpowiedź u 50% populacji, nazywany jest fotoperiodem krytycznym. Według BECKA (1980) istnieją dwie krzywe odpowiedzi – dla typu dnia długiego i typu dnia krótkiego. W pierwszym przypadku owady rosną, rozwijają się i rozmnażają, gdy dzień jest długi, i wchodzi w diapauzę, gdy dzień ulega skróceniu. Drugi, mniej powszechny typ odpowiedzi, polega na zmianie aktywności pod wpływem wydłużającego się dnia i występuje przede wszystkim u owadów estywujących (pojęcie określające diapauzę letnią) (MASAKI 1980). Przykładowo, dla *Meleoma signoretti* (Neuroptera) dzień trwający 15–16 godzin indukuje diapauzę, a 12–14 godzin powoduje jej zakończenie (TAUBER i współaut. 1984).

Drugim ważnym czynnikiem regulującym diapauzę jest temperatura otoczenia. Może ona wpływać na owady w różnoraki sposób: jako główny czynnik indukujący diapauzę, jako czynnik modyfikujący w różnym stopniu reakcję owadów na zmieniający się fotoperiod, jako czynnik podtrzymujący diapauzę, bodziec powodujący zakończenie diapauzy lub główny czynnik regulujący tempo wzrostu po zakończeniu diapauzy. Niskie temperatury indukują diapauzę zimową, określaną mianem hibernacji (GILL i współaut. 2017). Pośród licznych adaptacji fizjologicznych i behawioralnych, pomagających owadom tolerować ekstremalnie niskie temperatury są: odporność na zamrażanie poprzez obniżenie temperatury ciała do

poziomu poniżej temperatury zamrażania płynów ustrojowych oraz tolerancja na zamrażanie, umożliwiająca przeżycie pomimo zamrożenia płynów ustrojowych. Z kolei wysoka temperatura u niektórych owadów może wpłynąć na wywołanie estywacji (LIU i współaut. 2016). Temperatura w oczywisty sposób reguluje tempo i przebieg diapauzy, jednak nie jest sygnałem specyficznym, koniecznym do jej zakończenia. Istnieją badania wskazujące na zintegrowane efekty fotoperiodu z temperaturą wywołującą diapauzę (BECK 1980). U niektórych owadów temperatura znacząco wpływa na krytyczny fotoperiod. Na przykład ćma *Acronycta rumicis* jest owadem diapauzującym przy krótkim dniu, dla którego krytyczny fotoperiod wydłuża się o 1,5 h przy każdorazowym spadku temperatury hodowli o 5°C. Wydłużenie się fazy jasnej jest więc konieczne, aby powstrzymać diapauzę przy niższych temperaturach (DANILEVSKII 1965).

Zarówno w przypadku hibernacji, jak i estywacji, owady mogą przechodzić okresy stresu wodnego, gdyż zarówno niskie, jak i wysokie temperatury wiążą się z niedoborem wody dostępnej do picia. W takich przypadkach uruchamiane mogą być dwa mechanizmy: odporność na przesuszenie lub tolerancja na utratę wody. Odporność ta wynika z obniżenia poziomu metabolizmu, zawartości wody, wysokiej akumulacji tłuszczu (w okresie diapauzy) i zwiększonego wydzielania wosków na powierzchnię ciała; jest charakterystyczna w szczególności dla gatunków pustynnych. Przykładem może być *Margarodes vitiumis* (Hemiptera), której otorbiona i pokryta woskiem nimfa może przetrwać ponad 10 lat w suchych warunkach (FERRIS 1919). Wysoką tolerancją na utratę wody podczas estywacji charakteryzują się jaja konika polnego (*Austroicetes crutiae*) (Orthoptera), które jednocześnie wykazują pewną odporność na przesuszenie. Z kolei samice chrząszcza *Acanthoscelides obtectus* są przykładem owadów, które musiały rozwinąć strategię ochrony przed zbyt wysokim poziomem wilgotności. Pojawiające się na obszarach ich występowania powódzie stanowią zagrożenie dla potomstwa, dlatego owady te opóźniają składanie jaj do momentu przejścia pory deszczowej, i okres mokry, trwający od kwietnia do listopada, spędzają w stanie diapauzy reprodukcyjnej, ukryte w zwisających z roślin zwiniętych, martwych liściach (HODEK i współaut. 1981).

Czynnikami wpływającymi na występowanie u owadów diapauzy są także warunki żerowania i poziom zagęszczenia populacji. Możliwość zdobycia pożywienia jest istotnym sezonowym wskaźnikiem dla owadów. Przykładowo, dojrzałość rośliny żywicielskiej wywołuje stan estywacji u australijskiego gatunku sko-

czogonka, podskoczka zielonego (*Sminthurus viridis*) (Collembola). Dostępność pożywienia może również modyfikować reakcję owada na zmieniający się fotoperiod (ANDREWARTHA 1952). Na koniec warto wspomnieć o istniejącym wpływie zagęszczenia populacji na występowanie diapauzy. Przykładem może być omacnica spichrzanka (*Plodia interpunctella*) (Lepidoptera), która wytworzyła podwójny mechanizm indukcji diapauzy: zależny od poziomu zagęszczenia, który pozwala uniknąć śmierci spowodowanej nadmiernym nagromadzeniem osobników, oraz niezależny od poziomu zagęszczenia, który pozwala uniknąć śmierci spowodowanej niekorzystnymi, sezonowymi zmianami warunków środowiskowych (TSUJI 1966).

ZMIANY SEZONOWE – MIGRACJE I POLIFENIZM

Przemieszczanie się owadów z miejsca reprodukcji do miejsca, gdzie przechodzą w stan uśpienia, nazywane jest sezonową migracją, stymulowaną diapauzą. W zależności od gatunku zasięg migracji waha się od kilku centymetrów do tysięcy kilometrów. Zachowania te występują w odpowiedzi na tokeny środowiskowe i wiążą się ze zmianami na poziomie fizjologii i behawioru (DINGLE 1978, RANKIN 1978). Typowym przykładem owada migrującego na bardzo duże odległości, sięgające tysięcy kilometrów jest motyl monarch wędrowny (*Danaus plexippus*), który przemieszcza się na znaczącym obszarze Stanów Zjednoczonych i południowej Kanady (URQUHART i URQUHART 1979). Większość osobników w trakcie migracji jest w stanie diapauzy reprodukcyjnej. Samice w tym czasie mają jajniki z komórkami linii płciowej ograniczonymi zaledwie do strefy germarium (strefy, gdzie lokalizują się przede wszystkim komórki macierzyste dla oogoniów) i charakteryzują się zmniejszoną wrażliwością na bodźce stymulujące do rozrodu (HERMAN 1973).

U kilku gatunków odnotowano migrację krótkiego zasięgu, w przypadku której owady przenoszą się z miejsc rozrodu do miejsc ukrycia. Przykładem są dorosłe osobniki stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata*) (Coleoptera), które porzucają miejsca żerowania i przemieszczają się na obrzeża pól, gdzie zimują zagrzebane w glebie na głębokości do 25 cm. W tym okresie ruch chrząszczy kierowany jest na zasadzie geotaksji dodatniej i negatywnej fototaksji (DE WILDE 1954).

Diapauza u owadów niesie ze sobą również zdolność do zmiany ubarwienia i zmian morfologicznych, dzięki którym osobnik zyskuje zdolność do unikania wykrycia przez inne zwierzęta oraz ochronę przed czynnikami środowiskowymi (GILL i współaut. 2017). Zmiany

te określane są mianem polifenizmu, który można podzielić na sezonowy i niesezonowy. Ten pierwszy występuje w odpowiedzi na przewidywalne, powtarzające się zmiany w środowisku. W tym rodzaju odpowiedzi występują zmiany twardości skorupki składanych jaj, ciasno utkane kokony larw diapauzujących, wzmożone wydzielanie wosku przez nabłonek kutikularny poczwarek czy zmiany w rozmiarze skrzydeł i koloru kutikuli u osobników dorosłych. Larwy ćmy brzoskwińowej (*Carpocapsa niponensis*), przygotowując się do wejścia w diapauzę przędą twarde, zwarte i kulisty kokon, różniący się od grubych, eliptycznych kokonów larw niediapauzujących (TOSHIMA i współaut. 1961). Oznacza to, że konstrukcja kulistych kokonów jest specjalnym przystosowaniem do diapauzy. Podobnie małe kokony, tkane przed wejściem w diapauzę przez larwy szkodnika drzew iglastych, motyla z rodziny zwójkowatych *Choristoneura* sp., różnią się od kokonów przedzonych przez niediapauzujące larwy tego rodzaju (HARVEY 1957). Z kolei niesezonowy polifenizm wywoływany jest przez nagłe, nieprzewidywalne zmiany środowiskowe. Nie występuje tutaj przerwa we wzroście ani rozmnażaniu, a owady nie wchodzą w diapauzę. Typowym przykładem tego rodzaju polifenizmu jest brazowe lub zielone zabarwienie poczwarek motyla z rodziny paziowatych, *Papilio polyxenes* (WEST i współaut. 1972). Podobne zjawisko występuje u dwóch gatunków mszyc (Hemiptera): zdobniczki jaworowej (*Drepanosiphum platanoides*) i zdobniczki lipowej (*Eucallipterus tilliae*), które wykazują silną melanizację kutikuli, pojawiającą się na skutek działania wysokiej temperatury, przegęszczenia i ograniczenia dostępności pokarmu (KID 1979).

GENETYCZNA KONTROLA DIAPAUZY

Wyciszenie wielu genów w czasie diapauzy jest związane ze znaczącym spowolnieniem rozwoju (aż do jego zatrzymania w danym, tj. diapauzującym stadium), a także zmianą poziomu metabolizmu (tj. jego obniżeniem), włączając w to metabolizm podstawowy. U diapauzujących larw *Choristoneura fumifera* (Lepidoptera) do takich należą geny szlaku fosforylacji oksydacyjnej (FENG i współaut. 1998). Innym efektem obniżenia ekspresji genów jest niska aktywność enzymów w jelicie środkowym u diapauzujących obligatoryjnie larw brudnicy nieparki (LEE i współaut. 1998). U diapauzujących poczwarek *Sarcophaga crassipalpis* (Diptera) obniżeniu ulega, wysoka przed i po tym okresie, ekspresja genu kodującego białko szoku cieplnego o masie 90 kDa (HSP90). Ekspresja *hsp90* wydaje się być kontrolowana przez 20-hydroksyekdyzon (THOMAS i LENGYEL 1986) – jest podwyższona, gdy hormon ten jest obecny

i obniżona, gdy jego poziom w hemolimfie jest bardzo niski. Postuluje się, że białko HSP90 wiąże się z heterodimerem tworzonym przez receptor ekdyteroidowy (ER) i białko ultraspracle (USP), i podczas niezahamowanego rozwoju jest konieczne dla prawidłowego funkcjonowania tego kompleksu ER:USP (ARBEITMAN i HOGNESS 2000).

Kluczowe procesy, takie jak cykl komórkowy, także mogą być regulowane przez wyłączenie ekspresji genów regulatorowych. U *S. crassipalpis* wyciszony jest gen jądrowego antygeny komórek proliferujących (*pcna*), który wykazuje się dużym potencjałem jako regulator cyklu komórkowego. Wyciszony jest na początku diapauzy i pozostaje na poziomie niewykrywalnym, aż do jej zakończenia (TAMMARELLO i DENLINGER 1998). Podczas diapauzy komórki mózgu tej muchówki pozostają zatrzymane w fazie G0/G1 cyklu komórkowego, czyli w fazie spoczynku. Chociaż diapauza nie wpływa na wzory ekspresji genów regulatorów cyklu, takich jak: *cyklina E*, *p21* i *p53*, ekspresja *pcna* jest znacznie obniżona, co sugeruje, że właśnie ten czynnik pełni kluczową rolę w blokowaniu cyklu komórkowego podczas diapauzy.

U brudnicy nieparki aktywność większości enzymów jelitowych spada podczas diapauzy, z jednym wyjątkiem. Aktywność alkalicznej fosfatazy gwałtownie wzrasta na początku diapauzy i pozostaje wysoka przez cały czas jej trwania (LEE i współaut. 1998). Znanych jest kilka izoform tego enzymu, ale tylko jedna z nich jest formą dominującą u osobników diapauzujących, a jej obfitość w jelitach podczas diapauzy sugeruje, że odgrywa ona w tym okresie szczególną rolę, chociaż jej funkcja jest ciągle tematem debaty.

Geny specyficzne dla diapauzy są znacznie rzadsze i szacuje się, że stanowią około 4% puli genowej. Pierwszym genem wyizolowanym u *S. crassipalpis* był gen kodujący białko z grupy białek szoku cieplnego, małe białko HSP, o masie 23 kDa (YOCUM i współaut. 1998). U owadów niediapauzujących jego transkrypt pojawiał się w odpowiedzi na działanie stresowych czynników środowiska, jak wysoka czy niska temperatura. U tych osobników wysoka była także ekspresja innych białek szoku cieplnego, HSP70 i wspomnianego wcześniej HSP90. U diapauzujących poczwerek *S. crassipalpis* *hsp90* jest wyciszony, podczas gdy wzrasta ekspresja *hsp23* i *hsp70*, co może dowodzić ich krioprotekcyjnej funkcji w utrzymaniu integralności kluczowych enzymów metabolicznych lub białek strukturalnych. Geny specyficznie ekspresjonowane w czasie diapauzy podzielone zostały na geny wczesnej i późnej diapauzy.

GENY WCZESNEJ DIAPAUZY

Geny wczesnej diapauzy stanowią podkategorię, która ulega ekspresji w początkowej fazie diapauzy i zwykle nie jest obserwowana w jej końcowych etapach. Czas ich aktywności transkrypcyjnej może być bardzo różny – niektóre są aktywne krótko, a ekspresja innych może być zachowana (choć na niskim poziomie) w późniejszych etapach diapauzy. Geny wczesnej diapauzy są interesujące z dwóch powodów: mogą kodować czynniki zaangażowane w proces hamowania rozwoju, a spadek ich ekspresji może wskazywać na przejście do kolejnej, późnej fazy diapauzy. Jednym z genów wczesnej diapauzy jest *pScD41*. Jego transkrypt wyizolowano z mózgow diapauzujących poczwerek *S. crassipalpis* (FLANNAGAN i współaut. 1998) i jest aktywny transkrypcyjnie tylko w pierwszym miesiącu diapauzy. Później mRNA tego genu nie jest wykrywana (DENLINGER 2002). Wyniki sekwencjonowania sugerują, że jest to retrotranspozon. Jego rola u diapauzujących owadów nie została, jak dotąd, rozstrzygnięta. Innym genem wczesnej diapauzy, opisanym u jedwabnika morwowego, jest *samui* (MORIBE i współaut. 2001). Do zakończenia diapauzy embrionalnej u tego gatunku potrzebny jest dwumiesięczny (nie krótszy) okres ekspozycji jaj na temperaturę ok. 5°C. Ekspresja *samui* rozpoczyna się w ciągu kilku pierwszych dni przebywania jaj w takiej temperaturze, utrzymuje się na wysokim poziomie około 30. dni, a następnie spada. Białko kodowane przez ten gen zawiera domenę BAG i jest prawdopodobnie zaangażowane w aktywację jednego z późnych genów diapauzy, genu dehydrogenazy sorbitolu (*sdh*). Jego produkt, enzym SDH, przeprowadza konwersję sorbitolu do glikogenu, rezerwy energetycznej dla zarodka, niezbędnej do zakończenia procesu embriogenezy (YAGINUMA i współaut. 1990).

GENY PÓŹNEJ DIAPAUZY

Geny ulegające ekspresji w późnej diapauzie są zaangażowane w procesy związane z jej zakończeniem i wznowieniem rozwoju. Należy do nich omawiany wcześniej gen kodujący czynnik USP, który tworzy heterodimer z receptorem ECR (DENLINGER 2002). Na wczesnych etapach diapauzy u poczwarki *S. crassipalpis* ekspresja *usp* jest na niskim poziomie, natomiast wzrasta w późnej diapauzie i zbiega się ze wzrostem wrażliwości tkanek na ekdysterydy, co stanowi etap przygotowawczy do zakończenia diapauzy i wznowienia rozwoju ontogenetycznego. Jednym z najlepiej zbadanych genów późnej diapauzy jest wspomniany wcześniej *sdh* – scharakteryzowany u diapauzujących embrionów jedwabnika morwowego (NIMI i współaut. 1993). Do aktywacji enzymu SDH dochodzi po kilku miesiącach chłodzenia jaj

w 5°C. Enzym umożliwia konwersję sorbitolu w glikogen, który jest następnie wykorzystywany jako źródło energii dla zarodka, także po zakończeniu diapauzy. Aktywacja tego genu jest zatem zaangażowana w mechanizm, który umożliwia zarodkowi przerwanie diapauzy i wznowienie rozwoju osobniczego. Badania wykazały, że w czasie trwania diapauzy aktywne są także procesy związane z odpornością. U dipauzujących larw *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera) stwierdzono wzrost ekspresji genu kodującego defensynę, białka związanego ze zwalczaniem infekcji wywołanych przez drobnoustroje (PALLI i współaut. 2001, DENLINGER 2002). W eksperymencie poziom mRNA defensyny osiąga maksimum około dziesiątego tygodnia w temperaturze 2°C i utrzymuje się dopóki larwy są trzymane w takich warunkach. Po ich przeniesieniu do temperatury 20°C w celu zakończenia diapauzy, stwierdzono spadek ekspresji genu defensyny do niskiego poziomu, w ciągu dwóch kolejnych dni.

Podsumowując, geny diapauzy, zarówno wczesne, jak i późne, mogą być doskonałymi markerami molekularnymi, pozwalającymi na odróżnienie obu tych faz. W biologii eksperymentalnej służą zatem do precyzyjnego określania etapu diapauzy badanego owada.

UDZIAŁ ZEGARA BIOLOGICZNEGO W REGULACJI DIAPAUY

Regulacja fotoperiodyzmu sezonowego jest silnie związana z tzw. oscylatorem molekularnym, regulującym także rytmy okołodobowe owadów (TOUGERON 2019). Zastosowanie metody opartej o interferencję RNA wykazało rolę niektórych genów zegara okołodobowego w kontroli diapauzy *Nasonia vitripennis* (MUKAI i GOTO 2016). U mszycy grochowej (*Acyrtosiphon pisum*) (Hemiptera) wykazano, że geny zaangażowane w generowanie i regulację rytmów okołodobowych, w szczególności *period*, *timeless*, *Clock* i *cycle*, również związane są z mechanizmem fotoperiodycznej kontroli procesu składania diapauzujących jaj, zdolnych do przetrwania trudnych warunków zimowych (CORTÉS i współaut. 2010, RAGLAND i współaut. 2019).

Coraz więcej badań dotyczy różnic w ekspresji genów diapauzy u gatunków owadów, które cechują się bardzo dużym zasięgiem geograficznym – spotykamy je na różnych szerokościach geograficznych (TOUGERON 2019). Przykładem jest *D. melanogaster*, która jako organizm modelowy, jest wykorzystywana do badania molekularnych podstaw diapauzy reprodukcyjnej, w kontekście zależności tego procesu od szerokości geograficznych, na których znajdują się siedliska badanych populacji tego gatunku (SCHMIDT i współaut. 2005).

Podobnie ZHAO i współaut. (2016) wykazali polimorfizm genetyczny i różne profile transkryptomów, wraz ze zmianami ekspresji czynników charakterystycznych dla diapauzy, które zależą od rozmieszczenia geograficznego badanych populacji *D. melanogaster*. Wykonując analizy loci cechy ilościowej (ang. quantitative trait loci analysis, QTL), PAOLUCCI i współaut. (2016) stwierdzili z kolei, że różnice w kontroli diapauzy między populacją błonkówki z gatunku *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera) z Korsyki (Francja) a populacją z Finlandii, obejmowały dwa obszary genomu, w których zlokalizowane są geny zegara biologicznego. Wyniki te potwierdzają hipotezę, że zmiany w regulacji diapauzy stanowią adaptację do lokalnych warunków klimatycznych. Rozwój technologii edycji genomu, np. takiej jak CRISPR-Cas9, dającej nowe możliwości manipulacji molekularnych, w najbliższych latach na pewno zaowocują znacznie szerszą identyfikacją czynników i szlaków fizjologicznych, związanych z regulacją diapauzy.

Nadal słabo poznane są podstawy dziedziczenia diapauzy, a mechanizmy te mogą być kluczem do zrozumienia ewolucji tego zjawiska czy składających się na niego mechanizmów. Na przykład *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera) wykazuje niepełną dominację alleli determinujących cechy odpowiedzi fotoperiodycznej w kontroli indukcji i zakończenia diapauzy – równie słuszną wydaje się hipoteza o addytywnym dziedziczeniu cech warunkujących rozpoczęcie i zakończenie tego stanu. Z kolei utrzymanie diapauzy najprawdopodobniej jest kontrolowane przez zupełnie inny system (zestaw) genów. Przeprowadzono także krzyżówkę osobników linii zwykle diapauzującej, z osobnikami linii, które wcale lub rzadko reagują przystąpieniem do diapauzy pod wpływem tych samych, indukujących ją czynników. Uzyskano potomstwo (pokolenia F1), które wykazuje pośrednią wrażliwość na bodźce powodujące rozpoczęcie i zakończenie diapauzy (XIA i współaut. 2012, TOUGERON 2019). Wynik ten może sugerować, że przynajmniej niektóre z alleli, pewnych genów (bo jak wiadomo mechanizmy diapauzy są tworzone przez wiele białek) determinujących te fenotypy, są kodo-minujące. Niektóre osobniki w populacjach *Allonemobius socius* (Orthoptera) mogą różnić się wrażliwością na sygnały wywołujące lub stymulujące zakończenie diapauzy, i co bardzo ciekawe, dziedziczenie konkretnego fenotypu w tym przypadku, wydaje się zależeć od wieku samic składających jaja, w których zarodki podejmą rozwój lub właśnie przejdą w stan uśpienia (ROFF i BRADFORD 2000). Ciekawym przykładem jest *Diabrotica barberi* (Coleoptera), ważny ekonomicznie owad żerujący na kukurydzy, którego niektóre osobniki charakteryzują

się przedłużoną diapauzą. Uważa się, że jest to adaptacja do zmienności cykli, jakie są wdrażane przy prowadzeniu upraw. FRENCH i współaut. (2014) wykazali, że fenotyp przedłużonej diapauzy jest w dużym stopniu dziedziczony, a w populacji występuje pod tym względem silny polimorfizm.

Rola, jaką modyfikacje epigenetyczne odgrywają w regulacji diapauzy, nie była do tej pory przedmiotem zainteresowania, przede wszystkim dlatego, że słabo poznane jest podłoże genetyczne diapauzy (BEWICK i współaut. 2017). Epigenetyczna regulacja diapauzy owadów może odbywać się poprzez metylację DNA, modyfikacje histonów i interferencję mikroRNA (REYNOLDS 2017). U niektórych gatunków występują pokolenia niewrażliwe na zmiany fotoperiodu i temperatury, u których nie można wywołać diapauzy. Takie hamowanie może być oparte na „liczniku epigenetycznym” i zapobiegać indukcji diapauzy u fenotypu do niej nieprzystosowanego, np. wiosną, gdy warunki środowiskowe są podobne do panujących jesienią (HENRICH i DENLINGER 1982, REZNIK i SAMARTSEV 2015). U *N. vitripennis* (Hymenoptera), gatunku, którego diapauza podlega regulacji matczynej wykazano, że samice eksponowane na krótki fotoperiod miały inny profil metylacji genomu niż samice eksponowane na długi dzień, indukujący diapauzę u ich potomstwa (PEGORARO i współaut. 2016). Nie wiadomo, czy owady, u których nie jest znany bezpośredni wpływ matczynej na diapauzę, wykazują również oznaki metylacji DNA, które mogłyby np. modyfikować ich tolerancję termiczną lub inne cechy związane ze stanem diapauzy (POWELL i BALE 2008, REZNIK i SAMARTSEV 2015). POUPARDIN i współaut. (2015) wykazali hamowanie ekspresji niektórych genów w warunkach krótkiego dnia u muchówki *Chymomyza costata*. Jeden z tych genów, *dpy-30*, kodujący podjednostkę regulacyjną kompleksu metylotransferazy histonowej (ważną dla modyfikacji histonów), może kontrolować przełączenie stanu z kontynuowanego rozwoju na diapauzę (POUPARDIN i współaut. 2015). Z kolei u muchówki *Sarcophaga bullata*, owadziego modelu w badaniach epigenetycznych, odnotowano zasadnicze różnice w regulowaniu produkcji mikroRNA u osobników w stanie diapauzy i niediapauzujących, co wskazuje na możliwość zaadoptowania tego sposobu regulacji do kontroli diapauzy, na różnych etapach jej indukcji, trwania i terminacji (REYNOLDS i współaut. 2017).

KONKLUZJE I PERSPEKTYWY

Diapauza jest powszechnym fenotypem owadów, indukowanym w niesprzyjających porach roku (TAUBER i TAUBER 1976, TAUBER

i współaut. 1986). Jest sterowana centralnie na określonych etapach rozwoju, albo jako odpowiedź na kluczowe bodźce ze środowiska (diapauza fakultatywna) lub jako stały element rozwoju ontogenetycznego (diapauza obligatoryjna). Podtrzymanie diapauzy jest kwestią fizjologicznie dynamiczną (czas jej trwania u przedstawicieli tego samego gatunku także może znacznie się różnić) i zmieniającą się w czasie, w zależności od zewnętrznych czynników środowiskowych. Charakteryzuje się zahamowaniem rozwoju i reprodukcji, czemu często towarzyszy znaczne zwolnienie tempa przemiany materii i zwiększona odporność na czynniki powodujące stres (DENLINGER 2002, KOŚTAŁ 2006, HAHN i DENLINGER 2011).

Oprócz szansy na przeżycie w niekorzystnych okresach, diapauza wydłuża czas trwania pokolenia (DANKS 1987, VAN DER PUTTEN i współaut. 2010). Dlatego poznanie fizjologii i wrażliwości środowiskowej diapauzy jest ważne nie tylko dla zrozumienia sezonowości i mechanizmów regulacji cyklu życiowego owadów, ale może mieć również ważne implikacje dla ograniczania liczebności gatunków zagrażającym uprawom, hodowli zwierząt i będących wektorami czynników chorobotwórczych, ponieważ często wpływa na liczbę ich pokoleń w ciągu roku.

Streszczenie

Aby przetrwać niekorzystne, występujące cyklicznie w ciągu roku warunki środowiska, owady wytworzyły różne mechanizmy adaptacyjne. Jednym z nich jest diapauza, szeroko rozpowszechniona, pozwalająca przetrzymać krytyczny okres oraz zsynchronizować rozwój i procesy rozrodcze do warunków panujących w środowisku. Diapauza może być zjawiskiem obligatoryjnym, występującym w każdym pokoleniu, niezależnie od warunków w jakich żyją owady, lub fakultatywna, pojawiająca się tylko w odpowiedzi na zmiany natężenia określonych czynników. Głównymi induktorami diapauzy są fotoperiod, temperatura, wilgotność, zagęszczenie populacji i związana z tym dostępność pokarmu. Diapauza występuje w specyficznym dla danego gatunku momencie cyklu życiowego – stadium zarodka, larwy, poczwarki lub imago. Zatrzymanie rozwoju i obniżenie tempa metabolizmu u diapauzujących owadów związane jest z wyciszeniem wielu genów. Jednak szacuje się, że około 4% puli genowej stanowią *loci*, specyficzne dla diapauzy, co świadczy o tym, że jest to proces znajdujący się pod złożoną kontrolą molekularną. Zjawisko jest procesem dynamicznym, składającym się z następujących po sobie faz: prediapauzy, poprzedzającej zatrzymanie rozwoju, diapauzy, czyli właściwego okresu uśpienia, i postdiapauzy, okresu spoczynku, poprzedzającego powrót do pełnej aktywności.

LITERATURA

- ANDREWARTHA H. G., 1952. *Diapause in relation to the ecology of insects*. Biol. Rev. 27, 50-107.
 ARBITMAN M. N., HOGNESS D. S., 2000. *Molecular chaperones activate the Drosophila ecdysone receptor, an RXR heterodimer*. Cell 101, 67-77.

- BECK L. C., 1980. *Insect Photoperiodism*. Academic Press, New York, USA.
- BELL R. A., DEMILO A. B., KELLY T. J., 1994. *Disruption of diapause and induction of precocious development and metamorphosis in the gypsy moth with KK-42, a novel anti-JH compound*. [W:] *Insect Neurochemistry and Neurophysiology*. BORKOVEC A. B., LOEB M. J. (red.). CRC Press, Boca Raton, FL, 267-270.
- BEWICK A. J., VOGEL K. J., MOORE A. J., SCHMITZ R. J., 2017. *Evolution of DNA methylation across insects*. *Mol Biol Evol.* 34, 654-665.
- BOWEN M. F., BOLLENBACHER W. E., GILBERT L. I., 1984. *In vitro studies on the brain and prothoracic glands in the pupae diapause of Manduca sexta*. *J. Exp. Biol.* 108, 9-24.
- CASSIER P., CYMBOROWSKI B., 1993. *Physiology of larval diapause in the wax moth, Galleria mellonella: an ultrastructural analysis*. *Comp. Biochem. Physiol.* 105A, 679-687.
- CHEN C., XIA Q., FU S., WU X., XUE F., 2014. *Effect of photoperiod and temperature on the intensity of pupal diapause in the cotton bollworm, Helioverpa armigera (Lepidoptera: Noctuidae)*. *Bull. Entomol. Res.* 104, 12-18.
- CHIPPENDALE G. M., 1988. *Role of proteins in insect diapause*. [W:] *Endocrinological Frontiers in Physiological Insect Ecology*. SEHNAL F., ZABZA A., DENLINGER D. L. (red.). Wrocław Technical University Press, 331-346.
- CIUFO L. F., MURRAY P. A., THOMPSON A., RIGDEN D. J., REES H. H., 2011. *Characterisation of a desmosterol reductase involved in phytosterol dealkylation in the silkworm, Bombyx mori*. *PLoS One* 6, e21316.
- CORTÉS T., ORTIZ-RIVAS B., MARTÍNEZ-TORRES D., 2010. *Identification and characterization of circadian clock genes in the pea aphid Acyrthosiphon pisum*. *Insect Mol. Biol.* 19, 123-139.
- CYMBOROWSKI B., 1984. *Endokrynologia owadów*. PWN, Warszawa.
- DAMOS P. T., SAVOPOULOU-SOULTANI M., 2010. *Synchronized diapause termination of the peach twig borer Anarsia lineatella (Lepidoptera: Gelechiidae): Brownian motion with drift?* *Physiol. Ent.* 35, 64-75.
- DANILEVSKII A. S., 1965. *Photoperiodism and Seasonal Development of Insects*. Oliver and Boyd, London.
- DANKS H. V., 1987. *Insect Dormancy: An Ecological Perspective*. Biol. Survey Can., Ottawa.
- DENLINGER D. L., 1985. *Hormonal control of diapause*. [W:] *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. KERKUT G. A., GILBERT L. I. (red.). Pergamon, Oxford, 353-412.
- DENLINGER D. L., 2000. *Molecular regulation of insect diapause*. [W:] *Cell and Molecular Response to Stress*. STOREY K. B., STOREY J. M. (red.). Elsevier, 259-275.
- DENLINGER D. L., 2002. *Regulation of Diapause*. *Annu. Rev. Entomol.* 47, 93-122.
- DENLINGER D. L., 2022. *Insect diapause*. Cambridge University Press, Cambridge.
- DE WILDE J., 1954. *Aspects of diapause in adult insects*. *Arch. Néerl. Zool.* 10, 375-385.
- DINGLE H., 1978. *Evolution of Insect Migration and Diapause*. Springer-Verlag, New York, USA.
- FENG Q. L., PALLI S. R., LADD T. R., RETNAKARAN A., DAVEY K. G., 1998. *Identification and developmental expression of the mitochondrial phosphate transport protein gene from the spruce budworm, Choristoneura fumiferana*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 28, 791-799.
- FERRIS G. F., 1919. *A remarkable case of longevity in insects (Hem., Horn.)*. *Entomol. News* 30, 27-28.
- FLANNAGAN R. D., TAMMARIELLO S. P., JOPLIN K. H., CIKRA-IRELAND R. A., YOCUM G. D., DENLINGER D. L., 1998. *Diapause-specific gene expression in pupae of the flesh fly Sarcophaga crassipalpis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 5616-5620.
- FRENCH B. W., COATES B. S., SAPPINGTON T. W., 2014. *Inheritance of an extended diapause trait in the Northern corn rootworm, Diabrotica barberi (Coleoptera: Chrysomelidae)*. *J. Appl. Entomol.* 138, 213-221.
- GAO X., JIN C., LLUSIA D., LLUSIA D., LI Y., 2015. *Temperature-induced shifts in hibernation behavior in experimental amphibian populations*. *Sci Rep* 5, 11580.
- GELMAN D. B., THYAGARAJA B. S., KELLY T. J., MASLER E. P., BELL R. A., BORKOVEC A. B., 1992. *Prothoracicotropic hormone levels in brains of the european corn borer, Ostrinia nubilalis: diapause vs the non-diapause state*. *J. Insect Physiol* 38, 383-395.
- GILL H. K., GOYAL G., CHAHIL G., 2017. *Insect diapause: a review*. *J. Agric. Sci. Technol. A* 7, 454-473.
- GODLEWSKI J., KLUDKIEWICZ B., GRZELAK K., CYMBOROWSKI B., 2001. *Expression of larval hemolymph proteins (Lhp) genes and protein synthesis in the fat body of greater wax moth (Galleria mellonella) larvae during diapause*. *J. Insect Physiol.* 47, 759-766.
- GRZELAK K., 1994. *Ekdysteroidy owadzie — biosynteza, metabolizm i funkcje*. *Post. Biochem.* 40, 181-190.
- HAHN D. A., DENLINGER D. L., 2011. *Energetics of insect diapause*. *Annu. Rev. Entomol.* 56, 103-121.
- HARVEY G. T., 1957. *The occurrence and nature of diapause-free development in the spruce budworm, Choristoneura fumiferana (Clem.) (Lepidoptera, Tortricidae)*. *Can. J. Zool.* 35, 549-572.
- HE H.-M., XIAN Z.-H., HUANG F., LIU X.-P., XUE F.-S., 2009. *Photoperiodism of diapause induction in Thyraea penangae (Lepidoptera: Zygaenidae)*. *J. Insect Physiol.* 55, 1003-1008.
- HENNEGUY L. F., 1903. *Insects, Morphology, Reproduction, Embryogeny*. Sciences, Paris.
- HENRICH V. C., DENLINGER D. L., 1982. *A maternal effect that eliminates pupal diapause in progeny of the flesh fly, Sarcophaga bullata*. *J. Insect Physiol.* 28, 881-884.
- HERMAN W. S., 1973. *The endocrine basis of reproduction inactivity in monarch butterflies overwintering in Central California*. *J. Insect Physiol.* 19, 1883-1887.
- HODEK I., BONET A., HODKOVA M., 1981. *Some ecological factors affecting diapause in adults of Acanthoscelides obtectus (Col., Bruchidae) from Mexican mountains*. [W:] *In The Ecology of Bruchids Attacking Legumes (Pulses)*. LABEYRIE V. (red.). Junk, The Hague, 43-55.
- KID N. A. C., 1979. *The control of seasonal changes in the pigmentation of lime aphid nymphs, Eucallipterus tiliacae*. *Entomol. Exp. Appl.* 25, 31-38.
- KIMURA Y., MASAKI S., 1992. *Effect of light period on dark-time measurement for diapause induction in Mamestra brassicae*. *J. Insect Physiol.* 38, 681-686.
- KLOWDEN M. J., 2002. *Physiological Systems in Insects*. Academic Press.

- KOŠTÁL V., 2006. *Eco-physiological phases of insect diapause*. J. Insect Physiol. 52, 113-127.
- LEE K. Y., VALAITIS A. P., DENLINGER D. L., 1998. *Activity of gut alkaline phosphatase, proteases and esterase in relations to diapause of pharate first instar larvae of the gypsy moth, *Lymantria dispar**. Arch. Insect Biochem. Physiol. 37, 197-205.
- LIU Z., XIN Y., ZHANG Y. i współaut., 2016. *Summer diapause induced by high temperatures in the oriental tobacco budworm: ecological adaptation to hot summers*. Sci. Rep. 6, 27443.
- LU M. X., CAO S. S., DU Y. Z. i współaut., 2013. *Diapause, signal and molecular characteristics of overwintering *Chilo suppressalis* (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae)*. Sci. Rep. 3, 3211.
- MASAKI S., 1980. *Summer diapause*. Ann. Rev. Entomol. 25, 1-25.
- MICHALIK J., 1991. *Owadzi hormon juvenilny. Synteza, degradacja oraz oddziaływanie na poziomie komórkowym i tkankowym*. Post. Biochem. 37, 3-4.
- MIKOŁAJCZYK P., CYMBOROWSKI B., 1993. *Lower temperature influences developmental rhythms of the wax moth *Galleria mellonella*: putative role of ecdysteroids*. Comp. Biochem. Physiol. 105A, 57-66.
- MITCHELL C. J., 1989. *Occurrence, biology and physiology of diapause in overwintering mosquitoes*. [W:] *The Arboviruses. Epidemiology and Ecology*. MONATH T. P. (red.). CRC Press, 191-217.
- MORIBE Y., NIIMI T., YAMASHITA O., YAGINUMA T., 2001. *Samui, a novel coldinducible gene, encoding a protein with a BAG-domain similar to silencer of death domains (SODD/BAG-4), isolated from *Bombyx* diapause eggs*. Eur. J. Biochem. 268, 3432-3442.
- MUKAI A., GOTO S. G., 2016. *The clock gene period is essential for the photoperiodic response in the jewel wasp *Nasonia vitripennis* (Hymenoptera: Pteromalidae)*. Appl. Ent. Zool. 51, 185-194.
- MUSZYŃSKA-PYTEL M., TRZCIŃSKA R., AUBRY M., PSZCZÓŁKOWSKI M. A., CYMBOROWSKI B., 1993. *Regulation of prothoracic gland activity in diapausing larvae of the wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera)*. Insect Biochem. Molec. Biol. 23, 33-41.
- NIIMI T., YAMASHITA O., YAGINUMA T., 1993. *A cold-inducible *Bombyx* gene encoding a protein similar to mammalian sorbitol dehydrogenase*. Eur. J. Biochem. 213, 1125-1131.
- NIJHOUT H. F., 1994. *Diapause* [W:] *Insect hormones*. NIJHOUT H. F. (red.). Princeton University Press, Princeton, 160-175.
- PALLI S. R., KOTHAPALLI R., FENG Q., LADD T., PERERA S. C., ZHENG S. C., GOJTAN K., PANG A. S. D., PRIMAVERA M., TOMKINS W., RETNAKARAN A., 2001. *Molecular analysis of overwintering diapause*. [W:] *Circadian Rhythmicity to Seasonality*. DENLINGER D. L., GIEBULTOWICZ J. M., SAUNDERS D. S. (red.). Elsevier Science B.V., Amsterdam, 133-144.
- PAOLUCCI S., SALIS L., VERMEULEN C. J., BEUKEBOOM L. W., VAN DE ZANDE L., 2016. *QTL analysis of the photoperiodic response and clinal distribution of period alleles in *Nasonia vitripennis**. Mol. Ecol. 25, 4805-4817.
- PEGORARO M., BAFNA A., DAVIES N. J., SHUKER D. M., TAUBER E., 2016. *DNA methylation changes induced by long and short photoperiods in *Nasonia**. Genome Res. 26, 203-210.
- PENER M. P., 1992. *Environmental cues, endocrine factors and reproductive diapause in male insects*. Chronobiol. Intern. 9, 102-113.
- POUPARDIN R., SCHÖTTNER K., KORBELOVÁ J., PROVAZNIK J., DOLEŽEL D., PAVLINIC D., BENEŠ V., KOŠTÁL V., 2015. *Early transcriptional events linked to induction of diapause revealed by RNAseq in larvae of drosophilid fly, *Chymomyza costata**. BMC Genomics 21, 720.
- POWELL S. J., BALE J., 2008. *Intergenerational acclimation in aphid overwintering*. Ecol. Entomol. 33, 95-100.
- RAGLAND G. J., ARMBRUSTER P. A., MEUTI M. E., 2019. *Evolutionary and functional genetics of insect diapause: a call for greater integration*. Curr. Opin. Insect Sci. 36, 74-81.
- RANKIN M. A., 1978. *Hormonal control of insect migratory behavior*. [W:] *Evolution of Insect Migration and Diapause*. DINGLE H. (red.). Springer-Verlag, New York, USA, 5-32.
- REYNOLDS J. A., 2017. *Epigenetic influences on diapause*. Adv. Insect Phys. 53, 115-144.
- REYNOLDS J. A., PEYTON J. T., DENLINGER D. L., 2017. *Changes in microRNA abundance may regulate diapause in the flesh fly, *Sarcophaga bullata**. Insect Biochem. Mol. Biol. 84, 1-14.
- REZNIK S. Y., SAMARTSEV K. G., 2015. *Multigenerational maternal inhibition of prepupal diapause in two *Trichogramma* species (Hymenoptera: Trichogrammatidae)*. J. Insect Physiol. 81, 14-20.
- RICHARD D. S., SAUNDERS D. S., 1987. *Prothoracic gland function in diapause and non-diapause *Sarcophaga argyrostoma* and *Calliphora vicina**. J. Insect Physiol. 33, 385-392.
- ROBERTS R. M., 1978. *Seasonal Strategies in Insects*. New Zeal. Entomol. 6, 350-356.
- ROFF D. A., BRADFORD M. J., 2000. *A quantitative genetic analysis of phenotypic plasticity of diapause induction in the cricket *Allonemobius socius**. Heredity 84, 193-200.
- SAUNDERS D. S., 1992. *Insect seasonality: diapause, hormones and photoperiodic clock*. [W:] *Circadian clocks from cell to human*. HIROSHIGE T., HONMA K. (red.). Hokkaido Univ. Press, Sapporo, 21-38.
- SAUNDERS D. S., 2000. *Arthropoda - Insecta: Diapause*. [W:] *Progress in Developmental Endocrinology*. DORN A. (red.). John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 155-194.
- SCHEBECK M., DOBART N., RAGLAND G. J., SCHOPF A., STAUFFER C., 2022. *Facultative and obligate diapause phenotypes in populations of the European spruce bark beetle *Ips typographus**. J. Pest. Sci. 95, 889-899.
- SCHMIDT P. S., MATZKIN L., IPPOLITO M., EANES W. F., 2005. *Geographic variation in diapause incidence, life-history traits, and climatic adaptation in *Drosophila melanogaster**. Evolution 59, 1721-1732.
- SINGTRIPOP T., WANICHACHEEWA S., SAKURAI S., 2000. *Juvenile hormone-mediated termination of larval diapause in the bamboo borer, *Omphisa fuscidentalis**. Insect Biochem. Mol. Biol. 30, 847-854.
- SU Z. H., IKEDA M., SATO Y., SAITO H., IMAI K., ISOBE M., YAMASHITA O., 1994. *Molecular characterization of ovary trehalase of the silkworm, *Bombyx mori* and its transcriptional activation by diapause hormone*. Biochim. Biophys. Acta. 1218, 366-374.
- ŚLUSARCZYK M., 1998. *Diapauza jako strategia przetrwania*. Wiad. Ekol. 44, 279-303.

- ŠULA J., KODRÍK D., SOCHA R., 1995. *Hexameric haemolymph protein related to adult diapause in the red firebug, Pyrrhocoris apterus (L.) (Heteroptera)*. J. Insect Physiol. 41, 793-800.
- TAKESHIMA M., OGIHARA M. H., KATAOKA H., 2019. *Sterol characteristics in silkworm brain and various tissues characterized by precise sterol profiling using LC-MS/MS*. Int. J. Mol. Sci. 20, 4840.
- TAMMARIELLO S. P., DENLINGER D. L., 1998. *G0/G1 cell cycle arrest in the brain of Sarcophaga crassipalpis during pupal diapause and the expression pattern of the cell cycle regulator, proliferating cell nuclear antigen*. Insect Biochem. Mol. Biol. 28, 83-89.
- TAUBER M. J., TAUBER C. A., 1976. *Insect seasonality, diapause maintenance, termination, and postdiapause development*. Ann. Rev. Entomol. 21, 81-107.
- TAUBER M. J., TAUBER C. A., MASAKI S., 1984. *Adaptations to hazardous seasonal conditions, dormancy, migration and polyphenism*. [W:] *Ecological Entomology*. HUFFAKER C. B., RABB R. L. (red.). Wiley-International Press, New York, USA, 149-83.
- TAUBER M. J., TAUBER C. A., MASAKI S., 1986. *Seasonal Adaptations of Insects*. Oxford University Press, New York, USA.
- THOMAS S. R., LENGUEL J. A., 1986. *Ecdysteroid-regulated heat-shock gene expression during Drosophila melanogaster development*. Dev. Biol. 115, 434-438.
- TOSHIMA A., HOMMA K., MASAKI S., 1961. *Factors influencing the seasonal incidence and breaking of diapause in Carposina niponensis Walsingham*. Jap. J. Appl. Entomol. Zool. 5, 260-269.
- TOUGERON K., 2019. *Diapause research in insects: historical review and recent work perspectives*. Entomol. Exp. Appl. 167, 27-36.
- TSUJI H., 1966. *Rice bran extracts effective in terminating diapause in Plodia interpunctella Hübner (Lepidoptera, Pyralidae)*. Appl. Entomol. Zool. 1, 51-59.
- URQUHART F. A., URQUHART N. R., 1979. *Vernal migration of the monarch butterfly (Danaus p. plexippus, Lepidoptera, Danaidae) in North America from the overwintering site in the neo-volcanic plateau of Mexico*. Can. Entomol. 111, 15-18.
- VAN DER PUTTEN W. H., MACEL M., VISSER M. E., 2010. *Predicting species distribution and abundance responses to climate change: why it is essential to include biotic interactions across trophic levels*. Phil. Trans. R. Soc. B 365, 2025-2034.
- WEST W. A., SNELLING W. M., HERBEK T. A., 1972. *Pupal colour dimorphism and its environmental control in Papilio polyxenes asterias Stoll (Lep. Papilionidae)*. J. N. Y. Entomol. Soc. 80, 205-211.
- WHEELER W. M., 1893. *A Contribution to insect embryology*. J. Morphol. 8, 1-161.
- XIA Q.W., CHEN C., TU X.-Y., YANG H.-Z., XUE F.-S., 2012. *Inheritance of photoperiodic induction of larval diapause in the Asian corn borer Ostrinia furnacalis*. Physiol. Entomol. 37, 185-191.
- XIAO H., WU S., CHEN C., XUE F., 2013. *Optimal low temperature and chilling period for both summer and winter diapause development in Pieris melete: based on a similar mechanism*. Plos One 8, e56404.
- YAGI S., FUKAYA M., 1974. *Juvenile hormone as a key factor regulating larval diapause of the rice stem borer Chilo suppressalis (Lepidoptera: Pyralidae)*. Appl. Ent. Zool. 9, 247-255.
- YAGINUMA T., KOBAYASHI M., YAMASHITA O., 1990. *Distinct effects of different low temperatures on the induction of NADsorbitol dehydrogenase activity in diapause eggs of the silkworm, Bombyx mori*. J. Comp. Physiol. 160B, 277-285.
- YIN C. M., CHIPPENDALE G. M., 1979. *Diapause of southwestern corn borer, Diatraea grandiosella: further evidence showing juvenile hormone to be the regulator*. J. Insect Physiol. 25, 513-523.
- YOCUM G. D., JOPLIN K. H., DENLINGER D. L., 1998. *Upregulation of a 23 kDa small heat shock protein transcript during pupal diapause in the flesh fly, Sarcophaga crassipalpis*. Insect Biochem. Mol. Biol. 28, 677-682.
- ZASLAVSKI V. A., 1988. *Insect Development, Photoperiodic and Temperature Control*. Springer-Verlag, Berlin.
- ZHAO X., BERGLAND A. O., BEHRMAN E. L., GREGORY B. D., PETROV D. A., SCHMIDT P. S., 2016. *Global transcriptional profiling of diapause and climatic adaptation in Drosophila melanogaster*. Mol. Biol. Evol. 33, 707-720.

MARTA ANNA POLAŃSKA, MAGDALENA BARTNICKA-ŁYŻWA

*Department of Animal Physiology, Institute of Functional Biology and Ecology, Faculty of Biology, University of Warsaw,
1 Miecznikowa Str., 02-096 Warszawa, E-mail: ma.polanska@uw.edu.pl*

INSECT DIAPAUSE, A PHENOMENON ALLOWING
TO SURVIVE THE UNFAVORABLE ENVIRONMENTAL CONDITIONS

Summary

In order to survive the unfavorable environmental conditions that occur cyclically throughout the year, insects developed various adaptive mechanisms. A perfect example of such a mechanism is diapause, widespread, allowing to survive a critical period and synchronize development and reproductive processes with optimal conditions. Diapause can be obligatory, occurring in every generation, regardless of environmental conditions, or facultative, occurring only in response to specific environmental cues. Factors that induce diapause are photoperiod, temperature, humidity, population density and related food availability. Diapause occurs at a species-specific point in the life cycle – embryo, larva, pupa or imago. The arrest of development and a decrease in the rate of metabolism in diapausing insects is associated with the silencing of many genes, however some of them are upregulated. It is estimated that about 4% of the gene pool are *loci* specific for diapause, which proves an often postulated thesis that it is a process under complex molecular control. Diapause is a dynamic process consisting of successive phases, prediapause, which precedes developmental arrest, truly developed diapause, i.e. the proper period of dormancy, and post-diapause, the period of rest, preceding reassumption of full activity.

Key words: diapause, diapause-controlling genes, estivation, insects, overwintering