

УДК 595.771

**О ВЫСОКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К КРАТКОВРЕМЕННОМУ
ПРОМЕРЗАНИЮ У ЗИМУЮЩИХ КОМАРОВ
CULEX TERRITANS WALKER
(DIPTERA, CULICIDAE)**

© 2023 г. А. В. Разыграев

Зоологический институт РАН
Университетская наб., 1, С.-Петербург, 199034 Россия
e-mail: a.v.razygraev@gmail.com

Поступила в редакцию 30.03.2023 г.

После доработки 3.06.2023 г.

Принята к публикации 4.06.2023 г.

Установлено, что самки кровососущего комара *Culex territans* Walker, осенью уходящие на зимовку в пещеры, обладают сравнительно высокой устойчивостью к кратковременному промерзанию. В эксперименте после промерзания (20–30 мин при –9...–11 °С) доля выживших среди самок *Cx. territans* значимо выше, чем среди самок *Cx. pipiens/torrentium* из тех же зимовочных убежищ; та же закономерность сохраняется при сравнении долей выживших среди *Cx. territans* и *Cx. pipiens* L. Результаты эксперимента поддерживают гипотезу об адаптированности самок *Cx. territans* к низким температурам.

Ключевые слова: двукрылые, *Culex territans*, температура, промерзание, диапауза, имаго.

DOI: 10.31857/S0367144523020041, **EDN:** DSEGNR

Кровососущие комары умеренных широт разнообразны по своим экофизиологическим характеристикам. Виды и биотипы кровососущих комаров, не относящиеся к синантропным, в холодный период года на определенной стадии жизненного цикла переходят в состояние диапаузы. Для многих видов рода *Aedes* Meigen характерна зимовка на стадии яйца (более точно – эмбриона), дальнейшее развитие которого реактивируется повышением температуры и наличием водной среды после холодного периода (Becker et al., 2010; Denlinger, Armbruster, 2014; Wilkerson et al., 2021). Виды подрода *Culicella* Felt рода *Culiseta* Felt зимуют, как правило, на стадии личинки в воде под слоем льда, иногда на стадии яйца (эмбриона), тогда как виды подрода *Culiseta* Felt из того же рода диапаузируют и проводят зиму преимущественно на стадии имаго (зимуют осемененные самки; самцы погибают до зимы или с наступлением зимы) (Becker et al., 2010). У видов комплекса *Anopheles maculipennis* и видов рода *Culex* L., таких как *Cx. territans* Walker, 1856, *Cx. pipiens* L., 1758 (биотип *pipiens*) и *Cx. torrentium* Martini, 1925, тоже зимуют осемененные самки (Becker et al., 2010; Denlinger, Armbruster, 2014). При этом, очевидно, имаго разных видов и родов, например, *Culiseta*

annulata (Schrank, 1776) и *Cx. pipiens*, различны в требованиях к условиям зимовки (температуре в зимовочном убежище) (Разыграев, 2021, 2022).

При изучении в 2019 г. изменений численности самцов комаров из родов *Culex* и *Culiseta*, ищущих осенью убежища в пещерах во время вечернего похолодания (Разыграев, 2020), в один из вечеров (2.X.2019) в сборах кроме самцов присутствовала также 1 самка *Cx. territans*. Для определения видовой принадлежности комары в контейнере через 2 сут. были обездвижены помещением в морозильную камеру с температурой воздуха $-9...-11$ °C не менее чем на 1 час, после чего при комнатной температуре комаров осматривали под бинокулярной лупой. Из 41 комара (33 самца *Cx. pipiens*, 4 самца *Cx. torrentium*, 2 самца *Cs. annulata*, 1 самец *Anopheles maculipennis* s. l. и 1 самка *Cx. territans*) живыми после размораживания оказались самка *Cx. territans* и несколько самцов *Culex*, причем самка *Cx. territans* из состояния оцепенения вышла первой. Это наблюдение побудило автора проверить, существуют ли среди комаров рода *Culex* межвидовые различия по устойчивости к промерзанию.

Задачей исследования было сравнение по устойчивости к непродолжительному промерзанию при $-9...-11$ °C самок *Cx. territans* и двух других видов рода *Culex*, *Cx. pipiens* и *Cx. torrentium*, готовящихся к зимовке и уходящих в зимовочные убежища.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Уходящие на зимовку самки кровососущих комаров были собраны в Саблинских пещерах (Тосненский р-н Ленинградской обл.) в октябре 2019 г. Целенаправленно проводили поиск и сбор сравнительно немногочисленных *Cx. territans*, ориентируясь на зеленоватую окраску и, как правило, более мелкие размеры комара, а также на более темную окраску спинной стороны брюшка с более контрастными светлыми полосами. При этом в выборку неизбежно попадали гораздо более многочисленные в пещерах *Cx. pipiens*, а также *Cx. torrentium*, таким образом, образуя смешанную выборку из трех видов. Видовую принадлежность обездвиженных комаров определяли по морфологическим признакам после эксперимента.

Комаров транспортировали в лабораторию в пластиковом контейнере объемом 1 л с маленькими отверстиями в стенках для циркуляции воздуха и с влажным ватным диском (перевернутая пластиковая бутылка с крышкой диаметром 38 мм вместо дна; внутрь плотно к крышке помещали ватный диск меньшего диаметра, который периодически увлажняли). Комары не получали никакого питания, в том числе углеводного. Через сутки после отлова и дальнейшего содержания при комнатной температуре контейнер (с сеткой вместо крышки для быстрого проникновения холодного воздуха) переносили в морозильную камеру с температурой $-9...-11$ °C и держали там 30 мин (20 мин – при дополнительном опыте для увеличения числа комаров в выборках). Затем контейнер с комарами извлекали и держали 60 мин при комнатной температуре, подсчитывали погибших комаров и проводили определение их видовой принадлежности. Комаров, оказавшихся живыми и активно передвигавшихся после размораживания, обездвиживали помещением в морозильную камеру с температурой -19 °C на 90 мин, после чего также проводили подсчет особей и определение их видовой принадлежности. С основной порцией комаров (сборы 18.X.2019) эксперимент проведен 19.X.2019 г., с дополнительной (сборы 21.X.2019) – 22.X.2019 г. Общее число комаров, включенных в эксперимент, – 133.

В лаборатории самок *Cx. territans* отделяли от *Cx. pipiens/torrentium* по апикальному расположению светлых перевязей на тергитах брюшка (у *Cx. pipiens/torrentium* светлые перевязи располагаются базально) (Гуцевич и др., 1970; Becker et al., 2010). Самки *Cx. pipiens* и *Cx. torrentium* чрезвычайно сходны морфологически; их разделяли, используя морфометрические характеристики правого крыла, а именно индекс $r_{2,3} / r_3$, рассчитываемый по расстояниям между точками

ветвления и окончаниями ветвей радиальных жилок (Börstler et al., 2014; Разыграев, Шулешко, 2018). Достаточно уверенное разделение *Cx. pipiens* и *Cx. torrentium* по морфометрическому индексу $r_{2/3} / r_3$ возможно, когда индекс $r_{2/3} / r_3$ меньше или равен 0.218 (сильное свидетельство в пользу *Cx. pipiens*) и больше или равен 0.254 (сильное свидетельство в пользу *Cx. torrentium*) при условии, что априорные вероятности обнаружения каждого из двух видов равны 0.5 (Разыграев, 2021). Видовая принадлежность особей *Cx. pipiens/torrentium* со значениями индекса между 0.218 и 0.254 при этом остается неясной (либо *Cx. pipiens*, либо *Cx. torrentium*). Поскольку это означает выпадение некоторых данных из статистической обработки, результаты эксперимента далее обрабатывались как до, так и после разделения *Cx. pipiens/torrentium* на виды и удаления из набора данных особей *Cx. pipiens/torrentium*, не отнесенных к конкретному виду по морфометрии крыла.

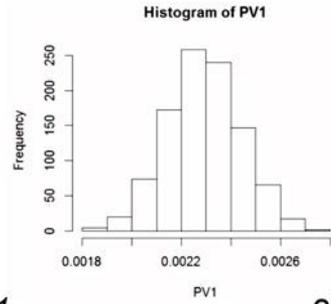
Количество погибших и выживших комаров разных видов сравнивали с использованием программной среды R (версия 4.2.1) (R Core Team, 2022). Для сравнений использовался критерий хи-квадрат, но не в классической форме, а с использованием метода Монте-Карло при моделировании значения p (p -value); выбранное значение для параметра resampling (B) составляло 100 000 (R Documentation, 2023). Поскольку при этом значение p вариабельно, тест хи-квадрат с использованием метода Монте-Карло повторялся 1000 раз для одного и того же набора данных (одной и той же таблицы сопряженности) и оценивались среднее арифметическое для полученного набора значений p и 99%-ный доверительный интервал. Для этого в электронную таблицу Excel записывали вектор для 1000-кратного выполнения указанной версии теста хи-квадрат и извлечения значения p из результата (как показано на рис. 1, 1, с растяжением одной и той же команды на 1000 строк вниз, через запятую и со скобкой вместо запятой в конце) с последующим копированием этого вектора в консоль R и получением списка из 1000 отдельных значений p . Процедура автоматического вычисления этих 1000 значений с момента вставки вектора в консоль R занимает от 2 до 3 минут. Далее для этих 1000 значений p (пример их распределения показан на рис. 1, 2) рассчитывали среднее арифметическое. Доверительный интервал вычисляли, как указано в работе Мехты и Пателя (Mehta, Patel, 2012) (рис. 1, 3). Наряду с критерием хи-квадрат проводили расчет байесовского коэффициента (в частности, для попарных сравнений видов комаров), при этом использовали программный пакет BayesFactor (версия 0.9.12-4.2) (Morey et al., 2014) в онлайн-версии R (<https://rdrr.io/snippets/>).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В эксперименте с первой порцией комаров (19.X.2019) число погибших в результате замораживания при $-9...-11$ °C самок *Cx. territans* и *Cx. pipiens/torrentium* составило 14 и 28 соответственно, а число выживших – 14 и 9. В эксперименте со второй порцией комаров (22.X.2019) среди погибших было 16 особей *Cx. territans* и 25 особей *Cx. pipiens/torrentium*, тогда как среди выживших комаров было 18 *Cx. territans* и 9 *Cx. pipiens/torrentium*. Объединенные результаты представлены в табл. 1; всего при промерзании погибло 30 из 62 особей *Cx. territans* (48 %) и 53 из 71 *Cx. pipiens/torrentium* (75 %). Различия между *Cx. territans* и *Cx. pipiens/torrentium* по частотам погибших и выживших комаров статистически значимы: значение p с 99%-ным доверительным интервалом составили 0.002297 (0.001907–0.002687), коэффициент Байеса в пользу альтернативной гипотезы равен 27.67, т. е. получено сильное свидетельство в поддержку этой гипотезы. Таким образом, промерзание при $-9...-11$ °C длительностью 20–30 мин *Cx. territans* переносит лучше, чем *Cx. pipiens/torrentium*.

Оказалось, что в смеси *Cx. pipiens* и *Cx. torrentium* после исключения не определяемых до вида особей при промерзании погибло 32 из 45 *Cx. pipiens* (71 %) и 9 из 12 *Cx. torrentium* (75 %). При обработке таблицы сопряженности 3×2 (погибшие и выжившие комары среди *Culex territans*, *Cx. pipiens* и *Cx. torrentium*, табл. 2) с использо-

	A	B	C	D	E	F	G
1	PV1<-c(chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
2		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
3		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
4		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
5		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
6		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
7		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
996		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
997		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
998		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
999		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value,					
1000		chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)\$p.value)					
1001							



```

> matrix1<-matrix(c(53,30,18,32),nr=2,
+ dimnames=list(c("Cx.papiens/torrentium","Cx.territans"),
+ c("dead","alive")))
> matrix1
      dead alive
Cx.papiens/torrentium 53 18
Cx.territans          30 32
> PV1<-c(chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)$p.value,
+ chisq.test(matrix1,simulate.p.value = TRUE,B=100000)$p.value)
> MPV1=mean(PV1)
> MPV1
[1] 0.002297197
> lowerBound = MPV1 - 2.576 * sqrt(MPV1 * (1 - MPV1) / 100000)
> upperBound = MPV1 + 2.576 * sqrt(MPV1 * (1 - MPV1) / 100000)
> CI99<-c(lowerBound,upperBound)
> CI99
[1] 0.001907214 0.002687180
> |

```

Рис. 1. Записи для вычисления среднего значения p (p -value) и 99%-ного доверительного интервала при использовании критерия хи-квадрат и моделирования значения p по методу Монте-Карло.

1 – запись в электронную таблицу Excel вектора для 1000-кратного выполнения теста хи-квадрат с моделированием Монте-Карло и извлечения значения p из результата (для последующего копирования этого вектора в консоль R); 2 – распределение величины p – случайной величины при моделировании Монте-Карло; 3 – запись матрицы исходных значений (погибшие и выжившие *Cx. papiens/torrentium* и *Culex territans*) и вычисление среднего значения p и его 99%-ного доверительного интервала с использованием консоли R.

Таблица 1. Число выживших и погибших в результате кратковременного промерзания особей *Culex territans* Walker и смеси *Cx. pipiens* L. и *Cx. torrentium* Martini, включающей не определяемых до вида особей

Вид комара	Состояние комаров после промерзания	
	Погибшие	Выжившие
<i>Culex territans</i>	30	32
<i>Cx. pipiens/torrentium</i>	53	18

Таблица 2. Число погибших и выживших после кратковременного промерзания особей *Culex territans* Walker, *Cx. pipiens* L. и *Cx. torrentium* Martini (особи *Cx. pipiens/torrentium*, не идентифицируемые до вида, исключены из анализа)

Вид комара	Состояние комаров после промерзания	
	Погибшие	Выжившие
<i>Culex territans</i>	30	32
<i>Cx. pipiens</i>	32	13
<i>Cx. torrentium</i>	9	3

ванием критерия хи-квадрат с моделированием значения p по методу Монте-Карло также выявляется различие, хотя и на меньшем уровне значимости: значение p и его 99%-ный доверительный интервал составляют соответственно 0.034980 и 0.033483–0.036476. При попарном сравнении видов комаров у *Cx. territans* обнаруживается более высокая устойчивость к промерзанию, чем у *Cx. pipiens* (коэффициент Байеса в пользу альтернативной гипотезы составил 3.69), а при сравнении *Cx. pipiens* с *Cx. torrentium* подтверждается гипотеза об отсутствии различий (коэффициент Байеса в пользу альтернативной гипотезы составил 0.29 или, что то же самое, 3.45 в пользу нулевой гипотезы, т. е. $1 / 0.29$). При этом имеющиеся данные не позволяют сделать вывод о различиях между *Cx. territans* и *Cx. torrentium* по устойчивости к промерзанию: байесовский коэффициент в пользу альтернативной гипотезы составил 0.82, т. е. близок к единице (неинформативному значению).

Примечательно, что после повторного замораживания комаров (на 90 мин при $-19\text{ }^{\circ}\text{C}$ для определения комаров, выживших при замораживании при $-9\text{...}-11\text{ }^{\circ}\text{C}$) в первой порции вновь оказались выжившие особи – из 14 самок *Cx. territans* 4 подавали признаки жизни (активно двигали ногами), тогда как все 9 особей *Cx. pipiens* и *Cx. torrentium* были полностью обездвижены.

ОБСУЖДЕНИЕ

Culex territans широко распространен в Северном полушарии как в Старом, так и в Новом Свете. В исследовании, проведенном ранее в штате Нью-Джерси, США (Bartlett-Healy et al., 2008), получены данные, из которых следует, что самки *Cx. territans* способны переваривать потребленную кровь хозяев (амфибий) и завершать гонотрофический цикл при $+3.9\text{ }^{\circ}\text{C}$. Этот порог значительно ниже температурного минимума для *Cx. pipiens* ($+10\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Vinogradova, 2000). Исследователи приходят к вы-

воду, что *Cx. territans* адаптирован к тому, чтобы покидать зимовочные убежища при сравнительно низких температурах и питаться на амфибиях, рано выходящих из зимней диапаузы. Очевидно, у самок *Cx. territans* есть специальные физиологические механизмы, позволяющие им проявлять активность при низких температурах (Bartlett-Healy et al., 2008).

Наше исследование прямо указывает на то, что *Cx. territans* обладает сравнительно высокой устойчивостью к промерзанию (выше, чем у *Cx. pipiens*). Физиологические механизмы этой высокой устойчивости еще предстоит изучить. Нами уже получены данные по активности каталазы у самок *Cx. territans*, *Cx. pipiens* и *Cx. torrentium* (статья в процессе подготовки), на основании которых можно предполагать, что этот фермент определяет физиологические различия между *Cx. pipiens* и *Cx. torrentium*, позволяющие *Cx. torrentium* лучше переносить продолжительный зимний период (активность каталазы у *Cx. torrentium* выше, чем у *Cx. pipiens*). Однако в настоящий момент мы предполагаем, что не активность этого фермента определяет различия между *Cx. territans* и *Cx. pipiens* по устойчивости к промерзанию, так как значимой разницы в ней между этими видами не выявлено. Эти виды целесообразно сравнить по другим физиологическим характеристикам, которые могут быть вовлечены в адаптацию насекомых к низким температурам, таким как активация белков теплового шока, синтез и перераспределение актина, увеличение уровня трегалозы, а также активация антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы-2 (Kim et al., 2006; Rinehart et al., 2006; Sim, Denlinger, 2011; Denlinger, Armbruster, 2014).

ВЫВОДЫ

1. Самки *Cx. territans* более устойчивы к кратковременному промерзанию, чем самки *Cx. pipiens* биотипа *pipiens*.
2. По-видимому, самки *Cx. torrentium* по устойчивости к кратковременному промерзанию не отличаются от *Cx. pipiens* (биотип *pipiens*), поэтому могут уступать по этому показателю самкам *Cx. territans*.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность анонимным рецензентам за полезные замечания и предложения о возможном развитии исследования.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа проведена в рамках государственного задания №1021051603202-7.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гуцевич А. В., Мончадский А. С., Штакельберг А. А. 1970. Комары. Семейство Culicidae. Фауна СССР. Насекомые двукрылые. Л.: Наука, 384 с.
- Разыграев А. В. 2020. Численность самцов *Culiseta* и *Culex* (Diptera, Culicidae) в привходовых частях пещер как отражение их различной устойчивости к низкой температуре наружного воздуха. Паразитология **54** (2): 137–144.
<https://doi.org/10.31857/S1234567806020042>
- Разыграев А. В. 2021. Различия в распределении зимующих самок кровососущих комаров из родов *Culex* и *Culiseta* (Diptera, Culicidae) в привходовых частях пещер: связь с разными требованиями к температу-

- ре и влажности воздуха. *Паразитология* **55** (1): 48–62. [Razygraev A. V. 2021. Difference in the distribution of overwintering female mosquitoes of the genera *Culex* and *Culiseta* (Diptera, Culicidae) in near-entrance parts of caves in relation to air temperature and humidity. *Entomological Review* **101** (9): 1293–1303. <https://doi.org/10.1134/S0013873821090074>]
- Разыграев А. В. 2022. Активность каталазы у зимующих комаров *Culex pipiens*, *Culex torrentium* и *Anopheles maculipennis* s. l. (Diptera: Culicidae). *Труды Зоологического института РАН* **326** (4): 294–302. <https://doi.org/10.31610/trudyzin/2022.326.4.294>
- Разыграев А. В., Шулешко Т. М. 2018. Использование фактора Байеса для определения видов *Culex pipiens* и *Culex torrentium* (Diptera: Culicidae) по морфометрическим характеристикам крыла. *Паразитология* **52** (4): 304–314. [Razygraev A. V., Sulesco T. M. 2020. The use of the Bayes factor for identification of *Culex pipiens* and *C. torrentium* (Diptera: Culicidae) based on morphometric wing characters. *Entomological Review* **100** (2): 220–227. <https://doi.org/10.1134/S0013873820020104>]
- Bartlett-Healy K., Crans W., Gaugler R. 2008. Temporal and spatial synchrony of *Culex territans* (Diptera: Culicidae) with their amphibian hosts. *Journal of Medical Entomology* **45** (6): 1031–1038. <https://doi.org/10.1093/jmedent/45.6.1031>
- Becker N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Madon M., Dahl C., Kaiser A. 2010. *Mosquitoes and Their Control*. Second Edition. Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 608 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-92874-4>
- Börstler J., Lühken R., Rudolf M., Steinke S., Melaun C., Becker S., Garms R., Krüger A. 2014. The use of morphometric wing characters to discriminate female *Culex pipiens* and *Culex torrentium*. *Journal of Vector Ecology* **39** (1): 204–212. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2014.12088.x>
- Denlinger D. L., Armbruster P. A. 2014. Mosquito diapause. *Annual Review of Entomology* **59**: 73–93. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011613-162023>
- Kim M., Robich R. M., Rinehart J. P., Denlinger D. L. 2006. Upregulation of two actin genes and redistribution of actin during diapause and cold stress in the northern house mosquito, *Culex pipiens*. *Journal of Insect Physiology* **52** (11–12): 1226–1233. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2006.09.007>
- Mehta C. R., Patel N. R. 2012. *Exact Tests*. Chicago: SPSS Inc, 226 p.
- Morey R. D., Rouder J. N., Jamil T., Urbanek S., Forner K., Ly A. 2014. BayesFactor: computation of Bayes factors for common designs. [Пакет R] URL: <https://cran.r-project.org/src/contrib/Archive/BayesFactor/> (дата обращения: 31 декабря 2021).
- R Core Team. 2022. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. URL: <http://www.r-project.org/> (дата обращения: 23 июля 2022).
- R Documentation [Интернет-документ] 2023. [URL: www.rdocumentation.org/packages/stats/versions/3.6.2/topics/chisq.test] (дата обращения: 8 марта 2023).
- Rinehart J. P., Robich R. M., Denlinger D. L. 2006. Enhanced cold and desiccation tolerance in diapausing adults of *Culex pipiens*, and a role for Hsp70 in response to cold shock but not as a component of the diapause program. *Journal of Medical Entomology* **43** (4): 713–722. <https://doi.org/10.1093/jmedent/43.4.713>
- Sim C., Denlinger D. L. 2011. Catalase and superoxide dismutase-2 enhance survival and protect ovaries during overwintering diapause in the mosquito *Culex pipiens*. *Journal of Insect Physiology* **57** (5): 628–634. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.01.012>
- Vinogradova E. B. 2000. *Culex pipiens pipiens* Mosquitoes: Taxonomy, Distribution, Ecology, Physiology, Genetics, Applied Importance and Control. Sofia–Moscow: Pensoft Publishers, 250 p.
- Wilkerson R. C., Linton Y. M., Strickman D. 2021. *Mosquitoes of the World*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1308 p.

EVIDENCE OF HIGH TOLERANCE TO SHORT-TERM FREEZING
IN OVERWINTERING MOSQUITOES *CULEX TERRITANS* WALKER
(DIPTERA, CULICIDAE)

A. V. Razygraev

Key words: dipterans, *Culex territans*, temperature, freezing, diapause, imago.

SUMMARY

Previously, other authors recognized that *Culex territans* Walker females are active at relatively low temperatures after overwintering and able to complete their first gonotrophic cycle at temperatures close to +4 °C. The present study revealed relatively high tolerance of diapausing *Cx. territans* females, collected from near-entrance parts of caves, to short-term freezing (20–30 min at –9...–11 °C). In experiment, the proportion of alive individuals among *Cx. territans* after short-term freezing was higher than that among *Cx. pipiens/torrentium* collected simultaneously with *Cx. territans* from the same hibernacula. The significant difference is revealed when *Cx. territans* is compared with *Cx. pipiens* L. only, but is not revealed in comparison of *Cx. territans* with *Cx. torrentium* Martini (although the proportions of alive individuals among *Cx. pipiens* and *Cx. torrentium* were similar). Therefore, we obtained the direct support of the hypothesis that female imagines of *Cx. territans* are adapted to low temperatures. Obviously, there are special physiological mechanisms in overwintering *Cx. territans* females underlying their tolerance to short-term freezing.