

КРИОБИОЛОГИЯ НАСЕКОМЫХ, ОБИТАЮЩИХ В ЭКСТРЕМАЛЬНО ХОЛОДНЫХ РЕГИОНАХ

Н. Г. Ли



*Наталья Геннадьевна Ли,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Института биологических
проблем криолитозоны СО
РАН.*

Насекомые составляют самую обширную группу животных как по численности, так и по их разнообразию в природе. Они обитают на всех континентах, включая Антарктику, и играют важную роль в экосистемах. Как известно, температура и влажность являются изменчивыми факторами окружающей среды, поэтому они в наибольшей степени влияют на распространение живых организмов. Насекомые, будучи пойкилотермными¹ организмами, управляют этими изменениями, благодаря способности поддерживать гомеостаз внутренней среды при постоянно меняющихся условиях их обитания. В этом отношении они представляют наиболее адаптационно пластичную группу животных. Биохимическую основу такой пластичности составляют строительные блоки, комбинация которых формирует ту или иную адаптацию.

Впервые на явление холодоустойчивости насекомых обратил внимание в 1736 г. французский биолог Реомюр, который, используя в своих исследованиях усовершенствованный им термометр, заметил, что некоторые насекомые погибают при отрицательных температурах, а другие способны противостоять деструктивному влиянию внешней среды [1]. Первые обзоры литературы, посвященные проблеме холодоустойчивости насекомых, были сделаны Бахметьевым и Пэйн [2]. В настоящее время исследования низкотемпературной физиологии наземных беспозвоночных составляют заметную область современной криобиологии, и этим вопросам посвящено большое количество работ и монографий [3–5].

Существенный прогресс в понимании механизмов холодоустойчивости насекомых был достигнут на основе интеграционных исследований в области физиологии, биохимии, биофизики и молекулярной биологии [2]. Важным результатом стало создание фундаментальных основ низкотемпературной физиологии насекомых, отсутствие которых остро ощущалось в более ранних исследованиях. Прежде всего были сформулированы принципы двух основных физиологических стратегий холодоустойчивости: морозочувствительность (морозоизбегание) и морозотолерантность. В соответствии с первой стратегией в организме происходит денуклеация, т.е. его очищение от всех нуклеирующих частиц, способных инициировать образование льда. Наряду с этим процессом, продуцирование антифризных белков и мультимоларных концентраций полиолов² приводит к глубокому переохлаждению насекомых, которые не замерзают при температуре -30°C и ниже. В соответствии со второй стратегией насекомые, напротив, продуцируют крупномолекулярные белки, способные осуществлять контролируемое льдообразование в гемолимфе при низких отрицательных температурах. При этом полиолы также играют значительную роль, выполняя функцию криопротекторов [4, 6].

Исследование географической обусловленности той или иной стратегии низкотемпературной адаптации представляет интерес для понимания экологии и эволюции холодоустойчивых организмов. Известно, что в местах с мягким и влажным климатом

¹ Пойкилотермный – эволюционная адаптация вида или (в медицине и физиологии) состояние организма, при котором температура тела живого существа меняется в широких пределах в зависимости от температуры внешней среды.

² Полиолы – химические вещества, относящиеся к группе спиртов, в структуре которых содержится более одной гидроксильной группы.

(например, Дания) обитает много морозоизбегающих насекомых. Описано и значительное количество морозотолерантных насекомых, обитающих в регионах с экстремально холодным климатом (континентальная Аляска, Канада, Центральная Якутия). Несмотря на то, что за последние десятилетия появилась обширная информация о холодовой резистентности насекомых из разных климатических зон, существует дефицит таких сведений по экстремально холодным областям планеты. Поэтому интенсификация исследований в этих сложных в климатическом отношении регионах представляет интерес для выяснения макрофизиологических процессов эволюции холодовых стратегий у насекомых.

Наконец, насекомые, адаптированные к холодным условиям обитания, являются миниатюрной моделью для изучения сложных процессов реактивации жизни после низкотемпературного стресса, которому они подвергаются в природе. Изучение молекулярных процессов, лежащих в основе этого уникального явления, имеет большое теоретическое и прикладное значение в различных областях современной криобиологии. Знания, полученные при изучении принципов и механизмов функционирования молекулярных и тканевых систем, ответственных за сохранность организма при низких температурах, можно использовать для искусственного криоконсервирования таких сложных биологических систем, как организм человека, и в будущем ожидается их применение во многих прикладных областях человеческой деятельности. В этом аспекте детальное изучение существующих в природе физиологических и молекулярных механизмов толерантности к пролонгированному воздействию низких температур является весьма актуальным.

Несмотря на преимущественно холодный климат России, исследования физиологических принципов, лежащих в основе холодоустойчивости насекомых, проводились в немногих лабораториях нашей страны. Среди исследователей, внёсших существенный вклад в развитие данного направления, следует отметить Л. К. Лозино-Лозинского [7], Р. С. Ушатинскую [8], Э. Э. Маривэз [9], Д. И. Берман [5].

Изучение проблем низкотемпературной физиологии насекомых Якутии является продолжением этих исследований [10–13]. Они позволили выявить ряд интересных аспектов. Высказанное более 20 лет назад К. Е. Захариасеном [3] и Дж. Г. Думаном и другими [4] предположение о том, что стратегия морозотолерантности³, вероятно, является предпочтительной для насекомых, освоивших самые холодные области Земли, нашло своё подтверждение в наших исследованиях. На 30 исследованных видах, обитающих в Центральной Якутии, показано, что 93,6% насекомых развивают стратегию морозотолерантности и только 6,4% используют

стратегию морозоизбегания⁴ [10]. Около 6 – 8 тыс. видов насекомых, по-видимому, адаптированы к экстремально холодным климатическим условиям Якутии за счёт развития преимущественно стратегии морозотолерантности. Единственный обнаруженный нами морозоизбегающий вид, Восточно-Сибирский *Rhagium inquisitor* (Coleoptera: Cerambycidae), сохранил способность к глубокому переохлаждению даже в условиях сурового климата Якутии (рис. 1). Данный вид имеет существенно меньшие размеры тела по сравнению с его скандинавским аналогом и в отличие от последнего является редким видом в Якутии [10]. Развивая стратегию морозоизбегания в условиях данного региона, он продуцирует значительное количество глицерола и антифризных белков, характеризующихся высокой гистерезисной активностью [14].



Рис. 1. Восточно-сибирский вид, *Rhagium inquisitor* L., – один из немногих видов жуков, способных к глубокому переохлаждению в зимний период.

Для трёх видов: *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae), *Cossus cossus* (Lepidoptera: Cossidae) и *Acanthocinus aedilis* (Coleoptera: Cerambycidae), – описан факт смены стратегий адаптации при продвижении видов из областей с мягкими климатическими условиями в места экстремально холодного климата (таблица). Как показали сравнительные исследования, в регионах Северной Европы данные виды являются морозоизбегающими, в то время как в Центральной Якутии они разви-

³ Стратегия морозотолерантности: при замерзании внеклеточной жидкости насекомое не погибает благодаря тому, что продуцируемые ими адаптивные льдонуклеирующие агенты инициируют замерзание при субнулевых температурах, тем самым предотвращая деструктивное внутриклеточное льдообразование.

⁴ Стратегия морозоизбегания: насекомые, развивающие данную стратегию, используют механизмы, которые позволяют им находиться в незамёрзшем состоянии вплоть до -30°C и ниже за счёт продукции высоко активных антифризных белков и высоких концентраций полиолов. При замерзании внеклеточной жидкости они погибают.

Данные сравнительного анализа стратегии адаптации некоторых насекомых, обитающих в Центральной Якутии и странах Северной Европы [10]

Вид насекомого	Температура переохлаждения, °С		Наличие глицерола		Стратегия адаптации	
	Якутия	Северная Европа*	Якутия	Северная Европа*	Якутия	Северная Европа*
<i>Cossus cossus</i> L.	-5,05	-17,7	+	–	Морозотолерантность	Морозоизбегание
<i>Acanthocinus aedilis</i> L.	-16,6	-25,0...-30,0*	+	+	То же	То же
<i>Pieris rapae</i> L.	-8,5	-25,8	+	–	–”–	–”–

*Данные Somme L. (1982).

вают стратегию морозотолерантности [11]. Не менее интересным оказалось то, что холодоустойчивый вид *Acanthocinus aedilis*, который в теплой Скандинавии относится к морозоизбегающим насекомым, в Якутии объединил в себе элементы двух фундаментально различных стратегий. Являясь морозотолерантным видом, он сохранил способность к глубокому переохлаждению в зимний период [15]. Такие адаптивные реакции смешанного типа, по-видимому, отражают специфику климатических условий существования определённого биотопа. Возможно также, что существуют и другие причины появления таких механизмов, которые тесно связаны с двумя фундаментальными стратегиями.

Согласно проведённым исследованиям одно из основных преимуществ стратегии морозотолерантности для насекомых заключается в том, что они продуцируют высокомолекулярные полипептиды, обладающие льдонуклеирующими⁵ свойствами. Эти нуклеаторы инициируют льдообразование в организме насекомого в области субнулевых температур до того, как лёд мог бы образоваться во внутриклеточных компартаментах. Как было показано в исследованиях принципов холодоустойчивости якутского вида *Upis cerambyoides*, концентрация и специфическая активность этих полипептидов меняется по сезонам, что влияет на его холодоустойчивый потенциал, который максимален в зимнее время и практически полностью исчезает в летний период [12].

Температурные адаптации тесно связаны с приспособлениями организмов к изменениям влажности окружающей среды. Континентальный климат Якутии, характеризующийся холодными зимами и жарким летом с периодически повторяющимися засушливыми периодами, способствовал развитию у насекомых высокоэффективных водосохраняющих механизмов, сравнимых с таковыми для пустынных жуков Восточной Африки [16]. Результаты, полученные для *Aporia crataegi* (Lepidoptera: Pieridae), *Acanthocinus aedilis*, позволяют расширить представления о взаимосвязи водного баланса и типа стратегии холодовой адаптации, сформулированные Люндхеймом и Захариассеном [17].

Исследования физиолого-биохимических механизмов, ответственных за холодоустойчивость насекомых, позволяют рассматривать их как миниатюрную систему по биосинтезу криопротекторных соединений. Практическое использование этих соединений предполагает стать вполне реальным при условии детального изучения их структуры, свойств и механизмов, посредством которых они осуществляют криопротекцию. Наши результаты изучения криопротекторной эффективности многокомпонентной системы спиртового экстракта высоко холодоустойчивых гусениц *Aporia crataegi* в отношении лимфоцитов крови человека позволяют с оптимизмом смотреть на проблему практического использования знаний в области холодоустойчивости насекомых (рис. 2) [18, 19].

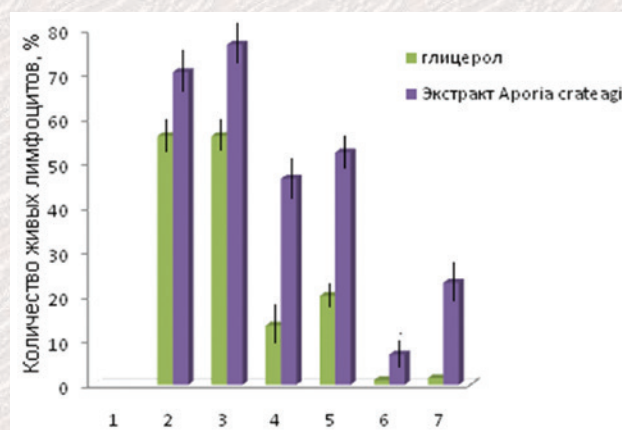


Рис. 2. Количество живых лимфоцитов крови человека (%), замороженных в присутствии экстракта *Aporia crataegi* L. и глицерина (в качестве контроля были взяты лимфоциты до замораживания, количество которых было принято за 100%).

Оба криопротектора взяты в концентрации: 2, 4, 6 – 5%; 3, 5, 7 – 16%. 2 и 3 – I замораживание, 4 и 5 – II, 5 и 6 – III замораживание.

⁵ Льдонуклеирующие белки – крупномолекулярные вещества, катализирующие замерзание внеклеточной жидкости при температурах -7...-12°С; продуцируются в организме морозотолерантных насекомых.

В заключение необходимо отметить, что сегодня криобиология насекомых динамично развивается. Успехи учёных в понимании ключевых факторов холодоустойчивости позволили подняться на новый уровень исследования – молекулярно-генетический. Получены впечатляющие результаты по структуре и свойствам антифризных белков, а также генам, кодирующим эти белки. Изучаются регуляторные механизмы, ответственные за развитие холодоустойчивости. Очевидно, что углубление этих исследований совершенно необходимо для всестороннего понимания фундаментальных принципов и закономерностей консервирования жизни при низких температурах и её последующей реактивации. Результаты подобных исследований могут иметь большое значение для развития человеческой цивилизации в изменяющемся окружающем мире.

Список литературы

1. Somme, L. Cold adaptation in terrestrial invertebrates / L. Somme // *Cold adapted organisms. Ecology, Physiology, Enzymology and Molecular biology* (Margesin R., Schinner F. eds.). – New York : Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1999. – P. 137.
2. Margesin, R. Cold adapted organisms / R. Margesin, F. Schinner. – Germany : Springer, 1999. – 238 p.
3. Zachariassen, K. E. Physiology of cold tolerance in insects / K. E. Zachariassen // *Physiol. Rev.* – 1985. – Vol. 65. – P. 799–832.
4. Duman, J. G. Adaptations of insects to subzero temperature / J. G. Duman, Wu Ding Wen., Xu Lei, Tursman Donald and Olsen Mark T. // *The Quarterly Review of Biology.* – 1991. – Vol. 66. – № 4. – 407 p.
5. Берман, Д. И. Экология животных Северо-Восточной Азии и реконструкция плейстоценовых ландшафтов Берингии : автореферат дис. ... д-ра биол. наук / Д. И. Берман. – М., 2007. – 56 с.
6. Delinger, D. L. Physiology of cold sensitivity / D. L. Delinger, R. E. Lee ; G. J. Hallman, D. L. Delinger (eds.) // *Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management.* – Boulder : Westview Press, 1998. – P. 55–95.
7. Лозино-Лозинский, Л. К. Очерки по криобиологии / Л. К. Лозино-Лозинский. – Л. : Наука, 1972. – 288 с.
8. Ушатинская, Р. С. Основы холодоустойчивости насекомых / Р. С. Ушатинская. – М. : Академия наук СССР, 1957. – 314 с.
9. Маривэз, Э. Э. Холодоустойчивость насекомых / Э. Э. Маривэз. – Таллин : Валгус, 1978. – 188 с.
10. Лу, Н. Г. Стратегия холодовой адаптации у насекомых, обитающих в Центральной Якутии / Н. Г. Лу, А. И. Аверенский // *Биофизика.* – 2007. – Т. 52. – Вып. 4. – С. 747–752.
11. Лу, Н. Г. О пластичности адаптационных процессов холодоустойчивых насекомых / Н. Г. Лу, В. Л. Осаковский // *Известия РАН. Серия биол.* – 2008. – Vol. 35. – № 4. – P. 459–463.
12. Лу, Н. Г. Лёдонуклеирующая активность гемолимфы *Upis ceramboides*, обитающего в Центральной Якутии / Н. Г. Лу // *Проблемы криобиологии.* – 2011. – №1. – С. 34–46.
13. Лу, Н. Г. Некоторые результаты криобиологических исследований в Якутии / Н. Г. Лу // *Наука и техника в Якутии.* – 2003. – № 2 (5). – С. 15–18.
14. Li, N. G. Insects with low supercooling points distributed in the area of the Asian Cold Pole / N. G. Li, V. L. Osakovsky, Y. V. Ermakova // *Cryobiology.* – 2009. – Vol. 59. – № 3. – P. 406–407.
15. Kristiansen, E. The Siberian timberman *Acanthocinus aedilis* : a freeze-tolerant beetle with low supercooling points / E. Kristiansen, N. G. Li, A. I. Averensky, K. E. Zachariassen // *J. Comp. Physiol. B.* – 2009. – № 179. – P. 563–568.
16. Лу, Н. Г. Водный баланс и стратегия адаптации насекомых Центральной Якутии к экстремальным климатическим условиям / Н. Г. Лу, К. Е. Захариассен // *Известия РАН. Серия биол.* – 2006. – № 5. – С. 596–601.
17. Lundheim, R. Water balance of overwintering beetles in relation to strategies for cold tolerance / R. Lundheim, K. Zachariassen // *J. Comparative Physiology B.* – 1993. – Vol. 163. – № 1. – P. 1–4.
18. Лу, Н. Г. Химический состав и криопротекторная активность спиртового экстракта зимних гусениц *Aporia crataegi* L. / Н. Г. Лу, В. Л. Осаковский, С. С. Иванова // *Известия РАН. Серия биол.* – 2003. – № 5. – С. 547–552.
19. Лу, Н. Г. Современные проблемы длительной криоконсервации биологических объектов (тканей, клеток, органов) с сохранением их свойств и функций на основе использования криопротекторных соединений / Н. Г. Лу // *Якутский медицинский журнал.* – 2011. – Т. 21. – № 1. – С. 34–46.

АРХИВ МУДРЫХ МЫСЛЕЙ

Мы хотим предостеречь всех вообще, чтобы они помнили об истинных целях науки и устремлялись к ней не для развлечения и не из соревнования, не для того, чтобы высокомерно смотреть на других, не ради выгод, не ради славы или могущества или тому подобных низших целей, но ради пользы жизни и практики.

Фрэнсис Бэкон