

**Эволюция стратегий холодоустойчивости насекомых****Evolution of Cold Tolerance Strategies in Insects**

В обзоре рассмотрены гипотезы относительно проблемы эволюции основных стратегий холодоустойчивости насекомых. Описаны современные представления о значении диапаузы в развитии устойчивости насекомых к холоду. Обсуждаются возможные механизмы возникновения основных биохимических компонентов холодоустойчивости: полиолов и сахаров, белков-нуклеаторов и антифризных протеинов.

**Ключевые слова:** холодоустойчивость, насекомые, эволюция.

В огляді розглянуто гіпотези відносно проблеми еволюції основних стратегій холодостійкості комах. Наведено сучасні уявлення щодо значення діапаузи в розвитку стійкості комах до холоду. Обговорюються можливі механізми виникнення головних біохімічних компонентів холодостійкості: поліолів і цукрів, білків-нуклеаторів і антифризних протеїнів.

**Ключові слова:** холодостійкість, комахи, еволюція.

The hypotheses on the problem of evolution of the main strategies of insects cold-hardiness are contemplated in the review. The present-day conceptions on the role of diapause in the development of insects cold-hardiness are described. The possible ways of origin of the main biochemical components of cold-hardiness, polyols and sugars, ice-nucleating and antifreeze proteins, are discussed.

**Key words:** cold-hardiness, insects, evolution.

Насекомые обитают в самых различных условиях и часто испытывают действие таких экстремальных абиотических факторов, как температура и влажность. Насекомые успешно колонизировали практически все среды обитания, кроме морской. Безусловно, исследование основных адаптивных стратегий холодоустойчивости насекомых и их интеграции представляет большой интерес для разных областей биологии. Насекомые из умеренных, полярных и высокогорных ареалов могут выживать в низкотемпературных условиях благодаря приобретенным в процессе эволюции механизмам холодоустойчивости. Всех холодоустойчивых насекомых принято делить на две основные категории в зависимости от способности выживать при кристаллизации жидкостей тела. Даже при существенных вариациях механизмов холодоустойчивости [3, 54, 67] общепринята классификация, согласно которой устойчивость к замерзанию и избегание замерзания представляют собой альтернативные стратегии выживания в холодных климатических условиях [1, 20]. Несмотря на обширную литературу по данной проблеме [8, 9, 31, 47, 64, 72, 82], причины, по которым та или иная стратегия присуща определенному виду или популяции, остаются не выясненными.

Основные биохимические механизмы (накопление сахаров и/или полиолов и антифризных протеи-

Insects inhabit under very different conditions and are frequently subjected to the effect of such extreme abiotic factors as temperature and humidity. Insects successfully colonized all the habitats except marine one. The study of main adaptive strategies of insect cold tolerance and their integration is obviously of great interest for different areas of biology. Insects from temperate, polar and high-mountain areas can survive under low temperatures due to the acquired during evolution mechanisms of cold tolerance. All cold tolerant insects are commonly divided into two main categories depending on the ability to survive at crystallization of body fluids. Even during significant variations of cold tolerance mechanisms [3, 54, 67] there is a traditional classification according to which the resistance to freezing and its avoiding represent alternative survival strategies in cold climate conditions [1, 20]. Despite numerous data on this problem [8, 9, 31, 47, 64, 72, 82] the causes due to which any proposed strategy is inherent to a certain species or population has remained unstudied.

Main biochemical mechanisms (accumulation of sugars and/or polyols and anti-freeze proteins (AFP)) are common for both strategies [9, 83], but their components in the representatives of different strategies perform various functions.

The majority of basic groups of present-day insects appeared in the Permian 250 mln years ago [11]. Their

Институт проблем криобиологии и криомедицины  
НАН Украины, г. Харьков

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:  
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: (+38 057) 373-41-35, факс: (+38 057) 373-30-84, электронная почта:  
lianaisaakovna@rambler.ru

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

\* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 4135, fax: +380 57 373 3084, e-mail: lianaisaakovna@rambler.ru

нов (АФП)) являются общими для обеих стратегий [9, 83], но их компоненты у представителей разных стратегий выполняют различные функции.

Большинство основных групп современных насекомых возникло в Пермии 250 млн лет назад. [11]. Вероятно, их расселение началось в тёплом влажном климате лесов Пангеи, продолжалось в течение Юрского периода и, по-видимому, продолжается и в наши дни в голометаболических порядках насекомых [46]. Поскольку основное разнообразие насекомых обитает во влажных тропиках, логично предположить, что колонизация холодных регионов осуществлялась нерегулярно отдельными таксонами. В Пермии и после него климат был периодически очень сухим, поэтому насекомым угрожало обезвоживание [36]. Многие современные тропические насекомые в подобных условиях входят в диапаузу [30]. Она наступает на различных стадиях онтогенеза у разных видов, хотя существуют определенные филогенетические взаимосвязи. Например, большинство сатурний диапаузирует на стадии куколки [22], а божьих коровок – на стадии имаго [37]. Виды отличаются степенью подавления метаболизма во время диапаузы и ее эндокринологическим контролем. Как правило, личиночная и куколочная диапаузы контролируются низким уровнем экдизона и высоким уровнем ювенильного гормона, а имагинальная диапауза, наоборот – низкими титрами ювенильного гормона [29]. Несмотря на общность регуляторных механизмов, общепринята гипотеза, согласно которой диапауза возникала неоднократно на протяжении эволюции насекомых [24]. Диапаузу считают примитивной стратегией, хотя доказательств этой точки зрения не достаточно [24]. Если древние насекомые уже обладали способностью диапаузировать, то они могли иметь преимущества для выживания в более холодном климате. Насекомые, находящиеся в той или иной форме покоя, как правило, более устойчивы к низким температурам по сравнению с близкими им активными видами [47]. При этом неизбежно подавляется метаболизм, что может быть прямой реакцией на изменение условий окружающей среды, а не результатом гормонального контроля. Существуют ли какие-либо примитивные механизмы холодоустойчивости, которые впоследствии могли бы способствовать колонизации холодных регионов? Являются ли эти механизмы частью феномена диапаузы или развились параллельно ей? Доказано, что некоторые компоненты холодоустойчивости не всегда напрямую связаны с диапаузой, но часто совпадают с ней [60]. Многие исследователи считают способность к переохлаждению некоторых недиапаузирующих насекомых доказательством отсутствия эволюционной связи между диапаузой и холодо-

settlement likely started in a warm climate of Pangea and continued during Jurassic period and also now it is continuing in holometabolic insects [46]. Since the major diversity of insects habitats in humid tropics it is natural to suppose that cold regions were colonized irregularly by different taxons. In the Permian and after it the climate was periodically very dry, therefore the insects were dehydration threatened [36]. Many present-day tropical insects under similar conditions enter diapause [30]. It starts at different ontogenesis stages in various species, though there are certain phylogenetic interactions. For example in the majority of *Saturniidae* the diapause may occur at the pupae stage [22] and in most of lady birds at imago one [37]. The species differ by the extent of metabolism suppression during diapause and its endocrinological control. As a rule, larva and pupa diapauses are controlled with a low level of ecdysone and a high level of juvenile hormone and imago diapause *vice versa* with low titers of juvenile hormone [29]. In spite of the similarity of regulatory mechanism there is common hypothesis according to which a diapause originated not once during evolution of the insects [24]. Diapause is considered as primitive strategy, though the evidence of this point of view is not sufficient [24]. If ancient insects have been already capable of diapausing, they could have the advantages for surviving in colder climate. The insects being in a quiescent state as a rule are more resistant to low temperatures if compared with close to them active species [47]. Herewith the metabolism is inevitably suppressed that may be a direct response to the changes in environment and not the result of hormonal control. Are there any primitive mechanisms of cold resistance, which later could contribute to the colonization of cold regions? Are these mechanisms the part of diapause phenomenon or did they develop in parallel? It has been proved that some cold tolerance components are not always directly related to diapause, but frequently coincide with it [60]. Many researchers consider the capability to supercooling of some non-diapausing insects as the evidence of absent evolutionary relationship between diapause and cold tolerance. For example, non-diapausing pupae *Pieris brassicae* are supercooled down to  $-21^{\circ}\text{C}$  and diapausing ones do down to  $-25^{\circ}\text{C}$ . In some species of insects the ability to supercooling in winter period strengthens with no diapause onset [70]. Cold shock reaction can be not related to diapause as well, virtually it even not always is related to over-wintering and inactive state [48]. The majority of insects of temperate latitudes in winter is sensitive to freezing and accumulate different carbohydrates acting as cryoprotective agents (CPAs). There is the evidence that the same mechanisms are used by them to prevent dehydration [65]. Accumulation of low molecular compounds is necessary for water uptake from atmosphere in collem-

устойчивостью. Например, недиапазирующие куколки *Pieris brassicae* переохлаждаются до  $-21^{\circ}\text{C}$ , а диапазирующие – до  $-25^{\circ}\text{C}$ . У некоторых видов насекомых способность к переохлаждению в зимний период усиливается без наступления диапаузы [70]. Реакция холодового шока также может быть не связана с диапаузой, в сущности она даже не всегда связана с зимовкой и неактивным состоянием [48]. Большинство насекомых умеренных широт зимой чувствительны к замерзанию и накапливают те или иные углеводы, которые играют роль криопротекторов. Существуют доказательства, что этот же механизм они используют для защиты от обезвоживания [65]. Накопление низкомолекулярных соединений необходимо для поглощения влаги из атмосферы у коллембол [6] и для защиты клеток от осмотического стресса при экстремальном обезвоживании [26]. Таким образом, накопление углеводов является “кандидатом” на примитивный механизм холодоустойчивости, а его взаимосвязь с диапаузой требует дальнейшего исследования.

На *Eurosta solidaginis* было показано, что триггером накопления углеводов/криопротекторов является температура [5]. Однако у многих видов для накопления углеводов диапауза необходима. Gehrken U. [33] показал, что у *Ips acuminatus* накопление этиленгликоля зависит от диапаузы. Эта взаимосвязь детально изучена на бабочке *Pieris brassicae*, обитающей в умеренном климате. Концентрация сорбитола в теле и гемолимфе насекомого коррелирует с уровнем индуцируемого диапаузой подавления метаболизма, оцененным по интенсивности обмена фосфора [61] и дыхания [59]. Pullin A.S. и Wolda H. [62] проверили гипотезу о том, что накопление полиолов могло развиваться в результате подавления метаболизма, связанного с тропической диапаузой. Они исследовали жука-плеснеда *Stenotarsus rotundus*, который пребывает в 10-месячной диапаузе на стадии имаго в течение самых влажных или сухих месяцев (с июня по март) [77]. Содержание глицерола в дождливый сезон увеличивается почти в 4 раза, что соответствует периоду подавления метаболизма. В начале засушливого сезона содержание глицерола начинает снижаться. Эти жуки диапазируют, собираясь в большие группы для сохранения в теле воды [82]. Поэтому нет оснований считать, что накопление глицерола связано с угрозой обезвоживания. В данном случае глицерол, возможно, является побочным продуктом подавления метаболизма. Тем не менее эта точка зрения не является общепринятой. Так, Chen C.-P. *et al.* [14] установили, что у тропических мух глицерол накапливается только в ответ на краткую холодовую экспозицию. В то же время уровень полиолов и углеводов

болан [6] and for protection of cells from osmotic stress during extreme dehydration [26]. Thus the accumulation of carbohydrates is a ‘candidate’ for primitive mechanism of cold tolerance, and its relationship with diapause requires the further studies.

It has been shown in *Eurosta solidaginis* that temperature triggers an accumulation of carbohydrates/CPAs [5]. However, in many species a diapause is necessary to accumulate carbohydrates. Gehrken U. [33] has demonstrated that in *Ips acuminatus* the accumulation of ethylene glycol is diapause-dependent. This relationship is studied in details in temperate climate inhabiting *Pieris brassicae* butterfly. Sorbitol concentration in a body and hemolymph of the insect correlates with the level of diapause-induced metabolism suppression, assessed on the intensity of phosphorus exchange [61] and respiration [59]. Pullin A.S. and Wolda H. [62] have tested the hypothesis about the fact that accumulation of polyols could originate as a result of metabolism suppression related to tropical diapause. They studied tropical fungus beetle *Stenotarsus rotundus* being in 10-month-long diapause at imago stage during the most humid or dry months (from June to March) [77]. Glycerol content in rainy season is almost 4 times increased, that corresponds to metabolism suppression period. At the start of droughty season the glycerol content begins to be reduced. These beetles are diapausing in big groups to keep water in a body [82]. Therefore there are no reasons to consider the accumulation of glycerol to be related to dehydration threat. In this case glycerol is likely side product of metabolism suppression. Nevertheless this opinion is not a traditional one. For example, Che C.-P. *et al.* [14] have found that in tropical flies glycerol is accumulated only in response to a short cold exposure. At the same time the level of polyols and carbohydrates in hemolymph of many insects inhabiting in moderate climate is not high enough for a significant reduction of supercooling point (SP) [61]. Actually despite the presence of 0.04 M sorbitol the SP of *P. brassicae* during diapause does not change. Certainly a protective action of low concentrations of polyols and carbohydrates at temperatures above the SP can not be excluded and this may consist in stabilizing the dissolved proteins and lipid bilayer [12, 13, 23, 61].

Diapause-induced metabolism suppression leading to accumulation of low concentrations of carbohydrates initially could be selectively neutral. At first the selection towards the rising concentrations of carbohydrates could occur in response to stress conditions of drought in tropical regions and strengthen later due to their cryoprotective function in cold regions. In Arctic collembolan *Onychiurus arcticus* the polyols function simultaneously as CPAs and anhydroprotectants [38, 39, 81] therefore the insects quite rapidly colonized low temperature habitats and this occurred

в гемолимфе многих насекомых, обитающих в умеренном климате, недостаточно высок для значительного снижения точки переохлаждения (ТПО) [61]. Действительно, несмотря на присутствие 0,04 М сорбитола, ТПО *P. brassicae* во время диапаузы не изменяется. Конечно, нельзя исключить защитную роль низких концентраций полиолов и углеводов при температурах выше ТПО, которая может заключаться в стабилизации растворенных белков и липидного бислоя [12, 13, 23, 61].

Индукцированное диапаузой подавление метаболизма, приводящее к накоплению низких концентраций углеводов, изначально могло быть селективно нейтральным. Отбор в направлении повышения концентраций углеводов вначале мог происходить в ответ на стрессовые условия засухи в тропических регионах, а позднее усилиться из-за их криопротекторной функции в холодных регионах. У арктической коллемболы *Onychiurus arcticus* полиолы функционируют одновременно как крио- и как ангидропротекторы [38, 39, 81], поэтому насекомые относительно быстро колонизировали низкотемпературные места обитания, и это, вероятно, произошло в результате независимых эволюционных событий, что может объяснить использование различных химических соединений в качестве криопротекторов в разных таксонах [60]. Прогрессивные признаки, в частности накопление криопротекторов через активацию ферментов в ответ на понижение температуры при отсутствии диапаузы (например, у арктической гусеницы *Gynaephora groenlandica* [45]), возникли позднее в экстремальных условиях полярных регионов.

Антифризные протеины менее распространены. Bale J.S. и Duman J.G. *et al.* [4, 32] указывали на наличие АФП более чем у 40 видов насекомых, в основном у жуков (*Coleoptera*) в семействах *Chrysomelidae*, *Pythidae*, *Silphidae* и *Carabidae*. Известны единичные сообщения об присутствии АФП у бабочек (*Lepidoptera*), мух (*Diptera*), сетчатокрылых (*Neuroptera*) и клопов (*Hemiptera*). Такая ограниченная несколькими таксонами встречаемость свидетельствует о том, что этот механизм либо узко специализирован, либо эволюционно прогрессивный и новый. Отметим, что АФП идентифицированы у чернотелки *Tenebrio molitor*, для которой характерны умеренная холодоустойчивость и высокая устойчивость к обезвоживанию [35, 50, 58]. Заслуживает внимания гипотеза о происхождении АФП от высокогидрофильных белков, способных удерживать в теле влагу, поглощенную *T. molitor* из атмосферы в засушливые периоды. Как сообщали Patterson J.L. и Duman J.G. [58], для АФП *T. molitor* характерна высокая гидрофильность.

Состав липофорина с нуклеирующей активностью *Tipula trivittata* в целом сходен с составом

apparently as a result of independent evolutionary events, that may explain the use of different chemical compounds as CPAs in various taxons [60]. Progressive signs, in particular the accumulation of CPAs via activation of enzymes in response to temperature lowering in diapause absence (*e. g.* in the Arctic caterpillar *Gynaephora groenlandica* [45]) appeared later in extreme conditions of polar regions.

Anti-freeze proteins are less common. Bale J.S. and Duman J.G. *et al.* [4, 32] pointed to the presence of AFPs more than in 40 insect species, mainly in beetles (*Coleoptera*) in the families *Chrysomelidae*, *Pythidae*, *Silphidae* and *Carabidae*. There are several reports about AFP presence in butterflies (*Lepidoptera*), flies (*Diptera*), lacewings (*Neuroptera*) and bugs (*Hemiptera*). Such an occurrence restricted by several taxons attests to the fact that this mechanism is either highly specialized or evolutionally progressive and new. It should be noted that the AFPs were identified in the yellow mealworm *Tenebrio molitor* for which the moderate cold tolerance and high resistance to dehydration are characteristic [35, 50, 58]. The attention should be paid to hypothesis about the origin of the AFPs from highly hydrophilic proteins capable the retaining in a body the moisture absorbed by *T. molitor* from the atmosphere during drought periods. As Patterson J.L. and Duman J.G. reported [58] the AFP of *T. molitor* is characterized by a high hydrophilicity.

The composition of lipophorin with nucleating activity from *Tipula trivittata* is generally similar to that of other lipoproteids of insects [15, 66]. It is also of globular structure as well as previously described lipoproteids [15, 16, 52, 57]. It is known that the latter fulfils the function of lipophorins. Ice-nucleating protein (INP) of *T. trivittata* in addition to the function of crystallization initiation obviously fulfills the function of lipid transport too [55]. Despite differences in the *T. trivittata* INP and regular lipophorin compositions (lack of phosphoinositol and a higher portion of protein component in them), lipophorins can be considered as 'ancestors' of insect INPs. Lipoproteins from hemolymph of the tobacco hornworm caterpillars *Manduca sexta* and the cockroach imago *Periplaneta* do not have ice-nucleating activity.

As it has been mentioned the cold tolerance is traditionally divided into two alternative strategies: freeze-tolerance and freeze avoidance. Bale J.G. [2, 4] proposed the classification of the insects avoiding freezing as follows: 1) avoiding freezing (the species capable for a deep supercooling and dying only when freezing); 2) chill tolerant (the species with low SP (–20...–30°C) and relatively high cold tolerance, but differing from typical avoiding freezing species by the fact that they partially die at temperatures higher than the SP); 3) chill susceptible (the species which also may be supercooled down to very low temperatures, but they die

других липопротеидов насекомых [15, 66]. Он также имеет глобулярную структуру, как и описанные ранее липопротеиды [15, 16, 52, 57]. Известно, что последние выполняют функцию липофоринов. Возможно, что белок-нуклеатор (БН) *T. trivittata*, помимо функции инициации кристаллизации выполняет и функцию транспорта липидов [55]. Несмотря на отличия в составе БН *T. trivittata* и обычных липофоринов (отсутствие фосфатидилинозитола в составе липофоринов и более высокая удельная доля в них белкового компонента [15, 66]), липофорины можно рассматривать в качестве “предков” БН насекомых. Липопротеиды из гемолимфы личинок табачного бражника *Manduca sexta* и имаго таракана *Periplaneta* нуклеирующей активностью не обладают [55].

Как упоминалось, традиционно холодоустойчивость подразделяют на 2 альтернативные стратегии: устойчивость к замерзанию и избегание замерзания. Vale J.G. [2, 4] предложил избегающих замерзания насекомых классифицировать на 4 категории: 1) избегающие замерзания (виды, которые способны к глубокому переохлаждению и гибнут только при замерзании); 2) “chill tolerant” – виды с низкими ТПО (–20...–30°C) и относительно высокой холодоустойчивостью, но отличающиеся от типичных избегающих замерзания видов тем, что они частично гибнут при температурах выше ТПО; 3) “chill susceptible” – виды, которые также могут переохлаждаться до очень низких температур, однако гибнут даже после кратких экспозиций (минуты или часы) при температурах, значительно превышающих ТПО; 4) “opportunistic survival” (“оппортунистическое” или “конъюнктурное” выживание) – виды, не способные существовать ниже пороговой температуры их развития. Однако с точки зрения эволюции не ясно, являются ли эти категории истинными группами или представляют собой непрерывное изменение одного признака. Кроме того, не исключено, что многие виды могут использовать комбинацию стратегий, а природа их интеграции практически не известна.

Большинство наземных артропод избегают замерзания [9, 79]. Эта стратегия, по-видимому, первична у артропод, поскольку присуща целым таксонам низших членистоногих (рисунок). Устойчивость к замерзанию встречается в разных систематических единицах артропод, в том числе и эволюционно далеких друг от друга, поэтому она, по-видимому, возникла неоднократно в пределах различных таксонов.

Устойчивость к замерзанию более характерна для голометаболических насекомых (и частично – некоторых позвоночных). Vernon P. и Vannier G. [76] считают, что устойчивость к замерзанию более

even after short exposures, minutes or hours, at temperatures considerably exceeding the SP); 4) opportunistic survival (the species not capable to exist below the threshold temperature of their development). However, from the point of view of evolution it is not clear whether these categories are true groups or they represent a continuous change of one character. Moreover, it is could not be excluded that many species may use the combination of strategies, and the origin of this integration is virtually unknown.

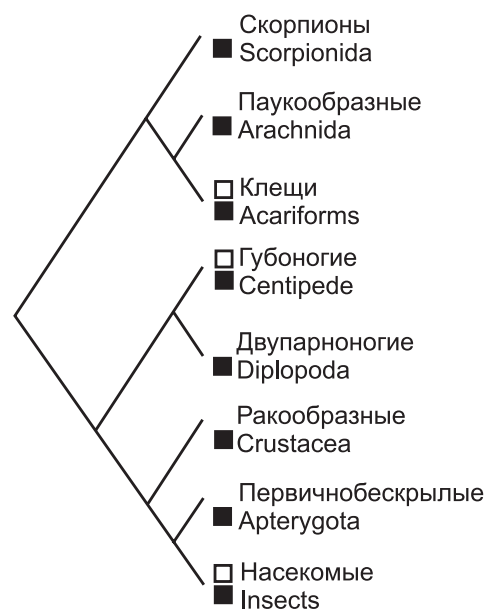
The majority of terrestrial arthropods avoid freezing [9, 79]. This strategy is likely primary in arthropods, since it is inherent to whole taxons of lower arthropods (Figure). Freeze tolerance is found in different systematic units of arthropods, including evolutionally distant, therefore it apparently appeared not once within the limits of different taxons.

Freeze tolerance is more characteristic for holometabolic insects (and partially for some vertebrates). Vernon P. and Valier G. [76] believe that freeze-tolerance is a later character than the ability to supercooling. In addition, phylogenetic and molecular-genetic analysis demonstrates that freeze-tolerance is a convergent character and appeared during evolution independently at least in 6 insect taxons: *Blattaria*, *Orthoptera*, *Coleoptera*, *Hymenoptera*, *Diptera* and *Lepidoptera* [69]. Freeze tolerance is more frequently found in the insects of the Southern hemisphere [1]. Each of arthropod species can have an own evolutionary history due to which cold tolerance appeared [76].

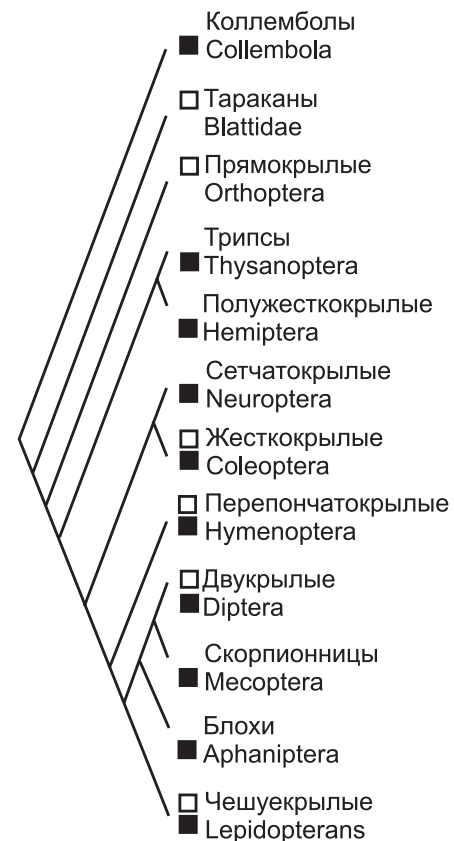
Weather conditions of the Southern hemisphere within a year cycle and even one season are not predictable [7, 19, 63, 68]. Generally oceanic currents contribute to the fact that the habitat conditions in middle latitudes and mountain areas of the Southern hemisphere are milder, but less predictable if compared with the areas on the same latitudes of the Northern hemisphere. Positive temperatures (so the availability of liquid water in winter and in Antarctic regions), favorable for growth and development of organisms may take place in any season [20, 27]. Thus to survive cold season in the Southern hemisphere the ability to endure unpredictable temperature fall at any season and use the advantage of mild winters are necessary rather than only long-term survival at extremely low temperatures. The researchers [1, 43] supposed that oceanic nature of the Southern hemisphere contributed to the development of freeze tolerance due to an increased risk of inoculative freezing in humid habitats (see below nucleation hypothesis 2). The pterygotas of the Southern hemisphere in 85% of cases are freeze-tolerant and those of the Northern one only in 29%. Statistical analysis has shown that the dominating of the freeze-tolerance in the Southern hemisphere is not coincidence. Sinclair B.J. *et al.* [69] associate this with

поздний признак, чем способность к переохлаждению. Кроме того, филогенетический и молекулярно-генетический анализ показывает, что устойчивость к замерзанию является конвергентным признаком и возникла в процессе эволюции независимо, по крайней мере в 6 таксонах насекомых: *Blattaria*, *Orthoptera*, *Coleoptera*, *Hymenoptera*, *Diptera* и *Lepidoptera* [69]. Устойчивость к замерзанию чаще встречается у насекомых Южного полушария [1]. Каждый из видов артропод может иметь собственную историю эволюции, вследствие которой возникла холодоустойчивость [76].

Погодные условия Южного полушария в пределах годового цикла и даже одного сезона непредсказуемы [7, 19, 63, 68]. В целом океанические течения способствуют тому, что условия обитания в средних широтах и высокогорных районах Южного полушария более мягкие, но менее предсказуемые по сравнению с ареалами на аналогичных широтах Северного полушария. Положительные температуры (следовательно, доступность жидкой воды зимой и в антарктических регионах), благоприятные для роста и развития организмов, могут быть в любое время года [20, 27]. Таким образом, для выживания в холодное время года в Южном полушарии необходимо не столько длительное выживание при чрезвычайно низких температурах, а сколько способность переживать непредсказуемые похолодания в любое время года и пользоваться преимуществом мягких зим. Исследователи [1, 43] предположили, что океаническая природа Южного полушария способствует развитию устойчивости к замерзанию из-за повышенного риска инокулятивного замерзания во влажных условиях обитания (см. ниже гипотезу нуклеации 2). Птериготы Южного полушария в 85% случаев устойчивы к замерзанию, а Северного – только 29%. Статистический анализ показал, что доминирование устойчивости к замерзанию в Южном полушарии не случайно. Sinclair V.J. *et al.* [69] связывают это с климатическими особенностями полушарий. В холодных континентальных ареалах Северного полушария устойчивость к замерзанию позволяет организму выживать при очень низких температурах длительное время. Такая устойчивость к замерзанию обычно имеет сезонный характер, насекомые в этих местах обитания устойчивы к замерзанию только зимой. Наоборот, в мягком, но непредсказуемом климате Южного полушария, насекомые обладают нуклеаторами круглый год, что позволяет им переживать резкие похолодания летом и обходиться без сложных механизмов сезонной закалки в мягкие зимние периоды. Оттепели в зимний период создают условия для роста, развития и даже размножения насекомых. Более того, в Южном полушарии обитает очень мало



**A**



**B**

Филогенетическое распределение стратегий холодоустойчивости в таксонах наземных артропод (А) и насекомых (В): ■ – избегание замерзания, □ – устойчивость к замерзанию [69].

Phylogenetic distribution of cold tolerance strategies in taxons of terrestrial arthropods (A) and insects (B): ■ – freeze avoidance; □ – freeze tolerance [69].

диапаузирующих видов [17, 21, 25, 28, 71]. Это означает, что особи должны быстро переходить из холодоустойчивого состояния в активное и выживать при резком окончании оттепели. Это представляется маловероятным для видов, организм которых претерпевает существенную биохимическую перестройку при смене состояний, что характерно для большинства холодоустойчивых насекомых Северного полушария [47, 73, 83]. Оттепели в Северном полушарии приводят к истощению энергоресурсов организма и, в конечном счете, могут привести к летальному исходу [41, 42]. Таким образом, устойчивые к замерзанию виды более приспособлены к очень холодным, но предсказуемым условиям обитания (сезонная устойчивость), а также к часто меняющимся условиям с мягкими зимами (круглогодичная устойчивость в присутствии нуклеаторов кишечника). Очевидно, что устойчивость к замерзанию возникла независимо в обоих полушариях.

Sinclair B.J. [67] разделил устойчивых к замерзанию насекомых на “умеренно” и “сильно” устойчивых в зависимости от их нижней летальной температуры – признак, по-видимому, сильно подверженный давлению отбора [18]. Если пограничной считать температуру  $-15^{\circ}\text{C}$  [1, 67], то все устойчивые к замерзанию виды Южного полушария принадлежат к “умеренно” устойчивым, а 22 из 35 устойчивых к замерзанию видов из Северного полушария – к “сильно” устойчивым.

Факт неоднократного возникновения устойчивости к замерзанию на протяжении эволюции членистоногих свидетельствует о следующих преимуществах этой стратегии.

1. Риск замерзания при длительной экспозиции при субнулевых температурах (гипотеза нуклеации I). Когда насекомые переохлаждаются при субнулевых температурах, вероятность кристаллизации увеличивается пропорционально времени экспозиции [72]. При этом смертность гораздо меньше, если организм способен выживать при замерзании.

2. Риск инокулятивного замерзания при короткой экспозиции при низких температурах (гипотеза нуклеации II). Насекомые, зимующие во влажных условиях, постоянно подвергаются риску инокулятивного замерзания от кристаллов льда окружающей среды через кутикулу [56, 84]. Для многих устойчивых к замерзанию насекомых этот фактор не только перестает быть фактором риска, но является необходимым условием выживания, так как они замерзают при высоких отрицательных температурах только при индукции кристаллообразования посредством инокуляции извне [49]. Большинство насекомых, зимующих в водной среде или влажной почве, действительно устойчивы к замерзанию [34, 40, 47].

climate peculiarities of hemispheres. In cold continental areas of the Northern hemisphere the freeze-tolerance enables an organism to survive at very low temperatures during long time. This resistance to freezing usually is of season character, the insects in these habitats are freeze-tolerant only in winter. And *vice versa*, in mild but unpredictable climate of the Southern hemisphere the insects possess nucleators the year around, allowing them to endure strong temperature falls in summer and use no complicated mechanisms of seasonal hardening during mild winter periods. Thawing periods in winter create the conditions for growing, development and even propagation of insects. Moreover, in the Southern hemisphere too small amount of diapausing species inhabits [17, 21, 25, 28, 71]. This means that the species should rapidly be switched from the state of cold tolerance into active one and survive at abrupt stop of thawing period. This is hardly probable for the species which organism is subjected to significant biochemical rearrangement during switching the states, characteristic for the majority of cold tolerant insects of the Northern hemisphere [47, 73, 83]. The thawing periods in the Northern hemisphere lead to the exhaustion of energy resources of an organism and finally may result in lethality [41, 42]. Thus, freeze tolerant species are more adapted to very cold, but predictable habitat conditions (seasonal tolerance) as well as frequently changing conditions with mild winters (all year tolerance in the presence of intestinal ice nucleators). Freeze tolerance evidently appeared independently in both hemispheres.

Sinclair B.J. [67] divided the freeze-tolerant insects into ‘moderately’ and ‘strongly’ resistant depending on their the lowest lethal temperature (LLT), the character which is strongly subjected to selection pressure [18]. If temperature of  $-15^{\circ}\text{C}$  is considered as a boundary [1, 67], all freeze tolerant species of the Southern hemisphere belong to ‘moderately’ resistant and 22 of 35 of freeze tolerant species of the Northern hemisphere to ‘strongly’ resistant.

The fact of numerous appearance of freeze tolerance during evolution of arthropods testify to this strategy advantages as follows:

1. Risk of freezing during long-term exposure at subzero temperatures (nucleation hypothesis 1). When insects are supercooled at subzero temperatures, crystallization probability increases proportionally to exposure time [72]. Herewith the lethality rate is quite lower if an organism is capable of surviving during freezing.

2. Risk of inoculative freezing during short-term exposure at low temperatures (nucleation hypothesis 2). The insects overwintering in humid conditions are constantly subjected to a risk of inoculative freezing from environmental ice crystals *via* cuticle [56, 84]. For many freeze-tolerant insects this factor not only discontinues to be the risk one but becomes an essential

3. Равновесие давления пара (гипотеза избегания высыхания). Насекомые, которые зимуют в переохлажденном состоянии при субнулевых температурах, неизбежно находятся в условиях дефицита давления пара по отношению к воздуху [26, 51]. Ring R.A. и Danks H.V., а также Worland M.R. и Block W. [65, 78] приводят ряд примеров обезвоживания переохлажденных насекомых в зимний период. У устойчивых к замерзанию насекомых давление пара находится в равновесии со льдом при любой температуре [47, 51], следовательно, такие виды не теряют воду [42]. Существует гипотеза, что тип стратегии холодоустойчивости определяется особенностями водного баланса вида. В связи с этим был проведен сравнительный анализ представителей двух близкородственных семейств жесткокрылых *Cerambycidae* и *Chrysomelidae* [85]. Церамбициды – избегающий замерзания вид с низкими ТПО, а хризомелиды замерзают при высоких температурах и устойчивы к замерзанию. Благодаря низкой проницаемости кутикулы для воды у церамбицид потери воды из-за транскутикулярного испарения минимальны. У хризомелид проницаемость кутикулы гораздо больше, однако при замораживании жидкости их тела находятся в состоянии равновесия между давлением водяных паров и льдом, что предотвращает потерю воды в результате испарения. Разные стратегии холодоустойчивости и различия в уровне потери воды, возможно, детерминированы характером питания насекомых. Церамбициды питаются сухой древесиной с низким содержанием воды, а хризомелиды – листьями с высоким содержанием воды, поэтому первые вынуждены экономить воду, а вторые избавляться от избытка воды путем ее испарения через кутикулу. Принято считать, что стратегии холодоустойчивости беспозвоночных предопределяются их устойчивостью к обезвоживанию [10].

4. Устойчивость к чрезвычайно низким температурам (гипотеза выживания в экстремальных условиях). В субарктических ареалах температура может быть ниже  $-60^{\circ}\text{C}$  [71]. В этом температурном диапазоне риск гомогенной нуклеации чрезвычайно высок, и, хотя некоторые насекомые способны переохлаждаться до таких температур [53], гораздо больше видов приспособились выживать в таких условиях, реализуя стратегию устойчивости к замерзанию [8, 79].

5. Снижение уровня метаболизма (гипотеза сохранения энергии). Обмен веществ не прекращается при субнулевых температурах, и незамерзающие насекомые потребляют энергетические запасы зимой [74]. Irwin J.T. и Lee R.E. Jr. [42] показали, что уровень метаболизма у переохлажденной галловой мухи *Eurosta solidaginis* выше, чем у замерзших при одной и той же температуре

condition for surviving, as they freeze at high negative temperatures only when inducing crystal formation by inoculation externally [49]. The majority of insects wintering in water and humid soil are actually freeze tolerant [34, 40, 47].

3. Balance of vapor pressure (drying avoidance hypothesis). Insects overwintering in a supercooled state at subzero temperatures are inevitably in the conditions of vapor pressure deficit in respect to air [26, 51]. Ring R.A. and Danks H.V. and Worland M.R. and Block W. [65, 78] exemplify some facts of dehydration of supercooled insects in winter. In freeze-tolerant insects the vapor pressure is in a balance with ice at any temperature [47, 51], so, these species do not lose water [42]. There is a hypothesis that cold tolerance strategy type is determined by the water balance peculiarities of the species. In this connection there were comparatively analyzed two closely related families of coleopterans *Cerambycidae* and *Chrysomelidae* [85]. *Cerambycidae* are freeze avoiding species with low SP and *Chrysomelidae* freeze at high temperatures and are freeze tolerant. Due to low permeability of cuticle to water in *Cerambycidae* the water losses because of trans-cuticle evaporation are minimal. In *Chrysomelidae* the permeability of cuticle is much bigger, but during freezing their body liquids are in a balance between the pressure of water vapors and ice, that prevents water loss as a result of evaporation. Different strategies of cold tolerance and distinctions in water loss rate are probably determined by the character of insects feeding. *Cerambycidae* feed with dry wood with a low water content and *Chrysomelidae* feed with the leaves of a high water content, therefore the first ones have to keep water and the second ones should get rid of water surplus by evaporation via cuticle. It is traditionally known that cold tolerance strategies of invertebrates are pre-determined by their resistance to dehydration [10].

4. Resistance to extremely low temperatures (hypothesis of survival in extreme conditions). In sub-Arctic areas the temperature may be below  $-60^{\circ}\text{C}$  [71]. Within this temperature range the risk of homogenous nucleation is quite high and though some insects are capable of supercooling down to these temperatures [53], much more species adapted to survive in these conditions by implementing the freeze tolerance strategy [8, 79].

5. Reduced metabolism level (hypothesis of energy saving). Metabolism does not stop at subzero temperatures and non-freezing insects consume energetic stocks in winter [74]. Irwin J.T. and Lee R.E. Jr. [42] have shown that metabolism level in the supercooled gall fly *Eurosta solidaginis* is higher than in frozen at the same temperature individuals. Exhaustion of energetic reserves led to reduced survival and fertility of *E. solidaginis* [41]. Freeze tolerance is the most ener-



особей. Истощение энергетических резервов приводило к снижению выживаемости и плодовитости *E. solidaginis* [41]. Устойчивость к замерзанию является наиболее энергетически выгодным способом выживания только в том случае, если особь остается замерзшей на протяжении всего холодного сезона. В ареалах с периодическими колебаниями температуры выше и ниже “начальной” ТПО энергетические затраты, связанные с необходимостью повторяющихся циклов замораживания-оттаивания, настолько велики, что для организма предпочтительна стратегия избегания замерзания [4].

На основании вышеизложенного, можно сделать некоторые предположения.

1. Избегающие замерзания виды вынуждены страховать себя от возможных потерь воды, а некоторые особи должны иметь низкие точки переохлаждения независимо от сезона, например, суб-Антарктическая гусеница *Embryonopsis halticella* [44].

2. Избегающие замерзания виды должны обладать способностью к быстрой (в течение нескольких часов) холодовой закалке, причем эта реакция должна быть также быстро обратима. Такая реакция быстрой холодовой закалки была продемонстрирована у нескольких Антарктических микроартропод [80].

3. Холодные, независимо от сезона, непредсказуемые места обитания в Северном полушарии (острова или приграничные континентальные регионы) должны быть населены “умеренно” устойчивыми к замерзанию насекомыми. Например, в сообществе бронзовок в Фонтенбло (Франция) 5 из 7 видов устойчивы к замерзанию [75].

Можно заключить, что в последние годы большинство исследований холодоустойчивости беспозвоночных нацелены на уточнение классификации холодоустойчивых видов, выяснение молекулярных механизмов холодоустойчивости и воспроизведение наиболее вероятных путей развития разных форм холодоустойчивости в процессе эволюции.

## Литература

1. Addo-Bediako A., Chown S.L., Gaston K.J. Thermal tolerance, climatic variability and latitude // Proc. R. Soc. Lond.– 2000.– Vol. B267, N1445.– P. 739–745.
2. Bale J.S. Classes of insect cold hardiness // Func. Ecol.– 1993.– Vol. 7, N6.– P. 751–753.
3. Bale J.S. Insect cold hardiness: a matter of life and death // Eur. J. Entomol.– 1996.– Vol. 93, N3.– P.369–382.
4. Bale J.S. Insects and low temperatures: from molecular biology to distributions and abundance // Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.– 2002.– Vol. 357, N1423.– P. 849–862.
5. Baust J.G. Environmental triggers to cold hardening // Comp. Biochem. Physiol. A.– 1982.– Vol. 73, Issue 4.– P. 563–570.
6. Bayley M., Holmstrup M. Water vapor absorption in arthropods by accumulation of myoinositol and glucose // Science.– 1999.– Vol. 285, N5435.– P. 1909–1911.

getically beneficial way of surviving only in that case when an individual remains frozen during the whole cold season. In the areas with periodic temperature fluctuations higher and lower than ‘initial’ SP the energy consumption related to the need in repeated cycles of freeze-thawing are so high that for an organism the strategy of freeze avoiding is preferable [4].

On the base of above mentioned some conclusions are possible:

1. Freeze avoiding species have to hedge themselves from possible water losses and some individuals must have low supercooling points independently on the season, e.g., sub-Antarctic caterpillar *Embryonopsis halticella* [44].

2. Freeze-avoiding species must have the ability of rapid (during some hours) cold hardening, moreover this reaction should be also quickly reversible. This reaction of rapid cold hardening was demonstrated in some Antarctic microarthropods [80].

3. Cold independently of season and unpredictable habitats in the Northern hemisphere (islands or near-border continental regions) must be inhabited with ‘moderately’ resistant to freezing insects. For instance, in the community of flower chafers in Fontainebleau (France) 5 from 7 species are freeze-tolerant [75].

One may conclude that recently the bulk of researches in cold tolerance of invertebrates has been targeted to elucidation of the classification of cold-resistant species, revealing the molecular mechanisms of cold tolerance and searching the most probable ways of developing different forms of cold resistance during evolution.

## References

1. Addo-Bediako A., Chown S.L., Gaston K.J. Thermal tolerance, climatic variability and latitude // Proc. R. Soc. Lond.– 2000.– Vol. B267, N1445.– P. 739–745.
2. Bale J.S. Classes of insect cold hardiness // Func. Ecol.– 1993.– Vol. 7, N6.– P. 751–753.
3. Bale J.S. Insect cold hardiness: a matter of life and death // Eur. J. Entomol.– 1996.– Vol. 93, N3.– P.369–382.
4. Bale J.S. Insects and low temperatures: from molecular biology to distributions and abundance // Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.– 2002.– Vol. 357, N1423.– P. 849–862.
5. Baust J.G. Environmental triggers to cold hardening // Comp. Biochem. Physiol. A.– 1982.– Vol. 73, Issue 4.– P. 563–570.
6. Bayley M., Holmstrup M. Water vapor absorption in arthropods by accumulation of myoinositol and glucose // Science.– 1999.– Vol. 285, N5435.– P. 1909–1911.
7. Blake B.J. Microclimate and prediction of photosynthesis at Marion Island: M.Sc. Thesis.– Bloemfontein, South Africa, 1996.– 115 p.
8. Block W. Cold hardiness in invertebrate poikilotherms // Comp. Biochem. Physiol.– 1982.– Vol. 73A, N6.– P. 581–593.
9. Block W. To freeze or not to freeze? Invertebrate survival of sub-zero temperatures // Func. Ecol.– 1991.– Vol. 5, N2.– P. 284–290.
10. Block W. Water or ice? – The challenge for invertebrate cold survival // Sci. Prog.– 2003.– Vol. 86, Pt. 1–2.– P. 77–101.

7. *Blake B.J.* Microclimate and prediction of photosynthesis at Marion Island: M.Sc. Thesis.– Bloemfontein, South Africa, 1996.– 115 p.
8. *Block W.* Cold hardiness in invertebrate poikilotherms // *Comp. Biochem. Physiol.*– 1982.– Vol. 73A, N6.– P. 581–593.
9. *Block W.* To freeze or not to freeze? Invertebrate survival of sub-zero temperatures // *Func. Ecol.*– 1991.– Vol. 5, N2.– P. 284–290.
10. *Block W.* Water or ice? – The challenge for invertebrate cold survival // *Sci. Prog.*– 2003.– Vol. 86, Pt. 1–2.– P. 77–101.
11. *Carpenter F.M.* Superclass *Hexapoda*. Treatise on invertebrate paleontology / Ed. by R.L. Kaesler Geological Society of America and University of Kansas, Lawrence, 1992.– Part R, Vol. 3.– 616 p.
12. *Carpenter J.F., Crowe J.H.* The mechanism of cryoprotection of proteins by solutes // *Cryobiology.*– 1988.– Vol. 25, N3.– P. 244–255.
13. *Chen C.-P., Denlinger D.L., Lee R.E. Jr.* Cold shock injury and rapid cold hardening in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis* // *Physiol. Zool.*– 1987.– Vol. 60, N3.– P. 297–304.
14. *Chen C.-P., Lee R.E. Jr., Denlinger D.L.* A comparison of the responses of tropical and temperate flies (*Diptera: Sarcophagidae*) to cold and heat stress // *J. Comp. Physiol. B.*– 1990.– Vol. 160, N5.– P. 543–547.
15. *Chino H.* Lipid transport: Biochemistry of hemolymph lipophorin // *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology.*– 1985.– Vol. 10.– P. 115–135.
16. *Chino H., Kitazawa K.* Diacylglyceride carrying proteins of hemolymph of locusts and some insects // *J. Lipid. Res.*– 1981.– Vol. 22, N 5.– P. 1041–1052.
17. *Chown S.L.* Historical ecology of sub-Antarctic weevils (*Coleoptera: Curculionidae*): patterns and processes on isolated islands // *J. Nat. History.*– 1994.– Vol. 28, Issue 2.– P. 411–433.
18. *Chown S.L.* Physiological variations in insects: hierarchical levels and implications // *J. Ins. Physiol.*– 2001.– Vol. 47, N7.– P. 649–660.
19. *Convey P.* Overwintering strategies of terrestrial invertebrates in Antarctica – the significance of flexibility in extremely seasonal environments // *Eur. J. Entomol.*– 1996.– Vol. 93, N3.– P. 489–505.
20. *Convey P.* How does cold constrain life cycles of terrestrial plants and animals? // *CryoLetters.*– 2000.– Vol. 21, N2.– P. 73–82.
21. *Crafford J.E., Scholtz C.H., Chown S.L.* The insects of sub-Antarctic Marion and Prince Edward Islands // *South Afr. J. Antarctic Res. Monograph Series.*– 1986.– Vol. 16, N1.– P. 42–84.
22. *Crotch W.J.B.* A silkmoth reare's handbook // *Amat. Entomol.*– 1956.– Vol. 12.– P.1–165.
23. *Crowe J.H., Crowe L.M., Carpenter J.F., Wistrom J.F.* Stabilization of dry phospholipid bilayers and proteins by sugars // *Biochem. J.*– 1987.– Vol. 242, N1.– P.1–10.
24. *Danks H.V.* Insect dormancy: an ecological perspective. Biological survey of Canada.– Ottawa, 1987.– 439 p.
25. *Danks H.V.* Life cycles in polar arthropods – flexible or programmed? // *Eur. J. Entomol.*– 1999.– Vol. 96, N2.– P. 83–102.
26. *Danks H.V.* Dehydration in dormant insects // *J. Ins. Physiol.*– 2000.– Vol. 46, N6.– P. 837–852.
27. *Davey M.C., Pickup J., Block W.* Temperature variation and its biological significance in fellfield habitats on a maritime Antarctic island // *Antarctic Sci.*– 1992.– Vol. 4, N4.– P. 383–388.
28. *Davies L.* Long adult life, low reproduction and competition in two sub-Antarctic carabid beetles // *Ecol. Entomol.*– 1987.– Vol. 12, Issue 2.– P. 149–162.
29. *Denlinger D.L.* Hormonal control of diapause // *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* / Ed. by G.A. Kerkut and L.I. Gilbert.– Oxford: Pergamon Press, 1985 – Vol. 8.– P. 353–412.
30. *Denlinger D.L.* Dormancy in tropical insects // *Insect Science and its Application.*– 1986.– Vol. 31.– P. 239–264.
31. *Duman J.G.* Antifreeze and ice nucleator proteins in terrestrial arthropods // *Ann. Rev. Physiol.*– 2001.– Vol. 63.– P. 327–357.
32. *Duman J.G., Bennet V., Sformo T. et al.* Antifreeze proteins in Alaskan insects and spiders // *J. Insect. Physiol.*– 2004.– Vol. 50, N4.– P. 259–266.
33. *Gehrken U.* Physiology of diapause in the adult bark beetle, *Ips acuminatus* Gyll., studied in relation to cold hardiness // *J. Ins. Physiol.*– 1985.– Vol. 31, N12.– P. 909–916.

30. Denlinger D.L. Dormancy in tropical insects // Insect Science and its Application.– 1986.– Vol.31.– P. 239–264.
31. Duman J.G. Antifreeze and ice nucleator proteins in terrestrial arthropods // Ann. Rev. Physiol.– 2001.– Vol. 63.– P. 327–357.
32. Duman J.G., Bennet V., Sformo T. et al. Antifreeze proteins in Alaskan insects and spiders // J. Insect. Physiol.– 2004.– Vol. 50, N4.– P. 259–266.
33. Gehrken U. Physiology of diapause in the adult bark beetle, *Ips acuminatus* Gyll., studied in relation to cold hardiness // J. Ins. Physiol.– 1985.– Vol. 31, N12.– P. 909–916.
34. Gehrken U., Stromme A., Lundheim R., Zachariassen K.E. Inoculative freezing in overwintering tenebrionid beetle, *Bolitophagus reticulatus* Panz. // J. Ins. Physiol.– 1991.– Vol. 37, Issue 9.– P. 683–687.
35. Graham L.A., Liou Y.-C., Walker V.A., Davies P.L. Hyperactive antifreeze from beetles // Nature.– 1997.– Vol. 388, N6644.– P. 727–728.
36. Henning W. Insect Phylogeny.– Chichester: J. Wiley and Sons, 1981.– 514 p.
37. Hodek I. Biology of Coccinellidae.– The Hague: W. Junk, 1973.– 260 p.
38. Holmstrup M., Bayley M., Ramlov H. Supercool or dehydrate? An experimental analysis of overwintering strategies in small permeable arctic invertebrates // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.– 2002.– Vol. 99, N8.– P. 5716–5720.
39. Holmstrup M., Somme L. Dehydration and cold hardiness in the Arctic collembolan *Onychiurus arcticus* Tullberg 1876 // J. Comp. Physiol.– 1998.– Vol. B168, N3.– P. 197–203.
40. Hoshikawa K., Tsutsui H., Honma K., Sakagami S.F. Cold resistance in four species of beetles overwintering in the soil, with notes on the overwintering strategies of some soil insects // Appl. Entomol. Zool.– 1988.– Vol. 23, N3.– P. 273–281.
41. Irwin J.T., Lee R.E. Jr. Mild winter temperatures reduce survival and potential fecundity of the goldenrod gall fly, *Eurosta solidaginis* (Diptera: Tephritidae) // J. Ins. Physiol.– 2000.– Vol. 46, Issue 5.– P. 655–661.
42. Irwin J.T., Lee R.E. Jr. Energy and water conservation in frozen vs. supercooled larvae of the goldenrod gall fly, *Eurosta solidaginis* (Fitch) (Diptera: Tephritidae) // J. Exp. Zool.– 2002.– Vol. 292, N4.– P. 345–350.
43. Klok C.J., Chown S.L. Critical thermal limits, temperature tolerance and water balance of a sub-Antarctic caterpillar, *Pringleophaga marioni* (Lepidoptera: Tineidae) // J. Ins. Physiol.– 1997.– Vol. 43, N7.– P. 685–694.
44. Klok C.J., Chown S.L. Interactions between desiccation resistance, host–plant contact and the thermal biology of a leaf-dwelling sub-Antarctic caterpillar, *Embryonopsis halticella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) // J. Ins. Physiol.– 1998.– Vol. 44, Issue 7–8.– P. 615–628.
45. Kukal O., Duman J.G., Serianni A.S. Cold induced mitochondrial degradation and cryoprotectant synthesis in freeze-tolerant arctic caterpillars // J. Comp. Physiol. B.– 1989.– Vol.158, N6.– P. 661–671.
46. Labandeira C.C., Sepkoski J.J. Jr. Insect diversity in the fossil record // Science.– 1993.– Vol. 261, N5119.– P.310–315.
47. Lee R. E. Jr., Denlinger D.L. Insects at low temperature.– New York: Chapman and Hall, 1991.– 513 p.
48. Lee R. E.Jr, Chen C. P., Denlinger D. L. A rapid cold-hardening process in insects // Science.– 1987.– Vol. 130, N12.– P. 1415–1417.
49. Lee R. E. Jr., Costanzo J.P., Mugnano J.A. Regulation of super-cooling and ice nucleation in insects // Eur. J. Entomol.– 1996.– Vol. 93, N3.– P. 405–418.
50. Liou Y.-C., Tocilj A., Davies P.L., Jia Z. Mimicry of ice structure by surface hydroxyls and water of a  $\beta$ -helix antifreeze protein // Nature.– 2000.– Vol. 406, N6793.– P. 322–324.
51. Lundheim R., Zachariassen K.E. Water balance of overwintering beetles in relation to strategies for cold tolerance // J. Comp. Physiol.– 1993.– Vol. B163, N1.– P. 1–4.
52. Gehrken U., Stromme A., Lundheim R., Zachariassen K.E. Inoculative freezing in overwintering tenebrionid beetle, *Bolitophagus reticulatus* Panz. // J. Ins. Physiol.– 1991.– Vol. 37, Issue 9.– P. 683–687.
53. Graham L.A., Liou Y.-C., Walker V.A., Davies P.L. Hyperactive antifreeze from beetles // Nature.– 1997.– Vol. 388, N6644.– P. 727–728.
54. Henning W. Insect Phylogeny.– Chichester: J. Wiley and Sons, 1981.– 514 p.
55. Hodek I. Biology of Coccinellidae.– The Hague: W. Junk, 1973.– 260 p.
56. Holmstrup M., Bayley M., Ramlov H. Supercool or dehydrate? An experimental analysis of overwintering strategies in small permeable arctic invertebrates // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.– 2002.– Vol. 99, N8.– P. 5716–5720.
57. Holmstrup M., Somme L. Dehydration and cold hardiness in the Arctic collembolan *Onychiurus arcticus* Tullberg 1876 // J. Comp. Physiol.– 1998.– Vol. B168, N3.– P. 197–203.
58. Hoshikawa K., Tsutsui H., Honma K., Sakagami S.F. Cold resistance in four species of beetles overwintering in the soil, with notes on the overwintering strategies of some soil insects // Appl. Entomol. Zool.– 1988.– Vol. 23, N3.– P. 273–281.
59. Irwin J.T., Lee R.E. Jr. Mild winter temperatures reduce survival and potential fecundity of the goldenrod gall fly, *Eurosta solidaginis* (Diptera: Tephritidae) // J. Ins. Physiol.– 2000.– Vol. 46, Issue 5.– P. 655–661.
60. Irwin J.T., Lee R.E. Jr. Energy and water conservation in frozen vs. supercooled larvae of the goldenrod gall fly, *Eurosta solidaginis* (Fitch) (Diptera: Tephritidae) // J. Exp. Zool.– 2002.– Vol. 292, N4.– P. 345–350.
61. Klok C.J., Chown S.L. Critical thermal limits, temperature tolerance and water balance of a sub-Antarctic caterpillar, *Pringleophaga marioni* (Lepidoptera: Tineidae) // J. Ins. Physiol.– 1997.– Vol. 43, N7.– P. 685–694.
62. Klok C.J., Chown S.L. Interactions between desiccation resistance, host–plant contact and the thermal biology of a leaf-dwelling sub-Antarctic caterpillar, *Embryonopsis halticella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) // J. Ins. Physiol.– 1998.– Vol. 44, Issue 7–8.– P. 615–628.
63. Kukal O., Duman J.G., Serianni A.S. Cold induced mitochondrial degradation and cryoprotectant synthesis in freeze-tolerant arctic caterpillars // J. Comp. Physiol. B.– 1989.– Vol.158, N6.– P. 661–671.
64. Labandeira C.C., Sepkoski J.J. Jr. Insect diversity in the fossil record // Science.– 1993.– Vol. 261, N5119.– P.310–315.
65. Lee R. E. Jr., Denlinger D.L. Insects at low temperature.– New York: Chapman and Hall, 1991.– 513 p.
66. Lee R. E.Jr, Chen C. P., Denlinger D. L. A rapid cold-hardening process in insects // Science.– 1987.– Vol. 130, N12.– P. 1415–1417.
67. Lee R. E. Jr., Costanzo J.P., Mugnano J.A. Regulation of super-cooling and ice nucleation in insects // Eur. J. Entomol.– 1996.– Vol. 93, N3.– P. 405–418.
68. Liou Y.-C., Tocilj A., Davies P.L., Jia Z. Mimicry of ice structure by surface hydroxyls and water of a  $\beta$ -helix antifreeze protein // Nature.– 2000.– Vol. 406, N6793.– P. 322–324.
69. Lundheim R., Zachariassen K.E. Water balance of overwintering beetles in relation to strategies for cold tolerance // J. Comp. Physiol.– 1993.– Vol. B163, N1.– P. 1–4.
70. Mackenzie A. P. Non-equilibrium freezing behavior of aqueous systems // Phil. Trans. R. Soc. London.– 1977.– Vol. B278, N1085.– P. 167–189.
71. Miller L.K., Werner R. Extreme supercooling as an overwintering strategy in three species of willow gall insects from interior Alaska // Oikos.– 1987.– Vol. 49, N3.– P. 253–260.
72. Nedved O. Snow White and the Seven Dwarfs: a multivariate approach to classification of cold tolerance // CryoLetters.– 2000.– Vol. 21, N6.– P. 339–348.
73. Neven L., Duman J.G., Low M.G. et al. Purification and characterization of an insect haemolymph lipoprotein ice nucleator: Evidence for the importance of phosphatidylinositol and

52. Mackenzie A. P. Non-equilibrium freezing behavior of aqueous systems // Phil. Trans. R. Soc. London.– 1977.– Vol. B278, N1085.– P. 167–189.
53. Miller L.K., Werner R. Extreme supercooling as an overwintering strategy in three species of willow gall insects from interior Alaska // Oikos.– 1987.– Vol. 49, N3.– P. 253–260.
54. Nedved O. Snow White and the Seven Dwarfs: a multivariate approach to classification of cold tolerance // CryoLetters.– 2000.– Vol. 21, N6.– P. 339–348.
55. Neven L., Duman J.G., Low M.G. et al. Purification and characterization of an insect haemolymph lipoprotein ice nucleator: Evidence for the importance of phosphatidylinositol and apolipoprotein in the ice nucleator activity // J. Comp. Physiol.– 1989.– Vol. 159, N1.– P. 71–82.
56. Olsen T.M., Sass S.J., Li N., Duman J.G. Factors contributing to seasonal increases in inoculative freezing resistance in overwintering fire-colored beetle larvae *Dendroides canadensis* // J. Exp. Biol.– 1998.– Vol. 201, Issue 10.– P. 1585–1594.
57. Pattnaik N.M., Mundall E.C., Trambysti B.G. et al. Isolation and characterization of a larval lipoprotein from the hemolymph of *Manduca sexta* // Comp. Biochem. and Physiol.– 1979.– Vol. 63B, N5.– P. 469–476.
58. Patterson J.L., Duman J.G. The role of the thermal hysteresis factor in *Tenebrio molitor* larvae // J. Exp. Biol.– 1978.– Vol. 74.– P. 37–45.
59. Pullin A.S. Diapause metabolism and changes in carbohydrates related to cryoprotection in *Pieris brassicae* // J. Ins. Physiol.– 1992.– Vol. 38, Issue 5.– P. 319–327.
60. Pullin A.S. Physiological relationship between insect diapause and cold tolerance: Coevolution or coincidence? // Eur. J. Entomol.– 1996.– Vol. 93, N2.– P. 121–129.
61. Pullin A. S., Bale J.S., Fontaine X.L.R. Physiological aspects of diapause and cold tolerance during overwintering in *Pieris brassicae* // Physiol. Entomol.– 1991.– Vol.16, Issue 4.– P. 447–456.
62. Pullin A. S., Wolda H. Glycerol and glucose accumulation during diapause in a tropical beetle // Physiol. Entomol.– 1993.– Vol. 18, Issue 1.– P. 75–78.
63. Ramlov H. Microclimate and variations in haemolymph composition in the freezing-tolerant New Zealand alpine weta *Hemideina maori* Hutton (*Orthoptera: Stenopelmatidae*) // J. Comp. Physiol.– 1999.– Vol. B169, N3.– P. 224–235.
64. Ramlov H. Aspects of natural cold tolerance in ectothermic animals // Human Reproduction.– 2000.– Vol. 15, Suppl. 5.– P. 26–46.
65. Ring R.A., Danks H.V. Desiccation and cryoprotection: overlapping adaptations // CryoLetters.– 1994.– Vol. 15, N3.– P. 181–190.
66. Shapiro J. P., Law J. H., Well M. A. Lipid transport in insects // Ann. Rev. Entomol.– 1988.– Vol. 28, N3.– P. 297–318.
67. Sinclair B.J. Insect cold tolerance: how many kinds of frozen? // Eur. J. Entol.– 1999.– Vol. 96, N2.– P. 157–164.
68. Sinclair B.J. Field ecology of freeze tolerance: interannual variation in cooling rates, freeze-thaw and thermal stress in the microhabitat of the alpine cockroach *Celatoblatta quinque maculata* // Oikos.– 2001.– Vol. 93, N2.– P. 286–293.
69. Sinclair B.J., Addo-Bediako A., Chown S.L. Climatic variability and the evolution of insect freeze tolerance // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.– 2003.– Vol. 78, N2.– P. 181–195.
70. Somme L. Supercooling and winter survival in terrestrial arthropods // Comp. Biochem. Physiol.– 1982.– Vol. 73A, N5.– P. 519–543.
71. Somme L. Invertebrates in hot and cold arid environments.– Berlin: Springer-Verlag, 1995.– 275 p.
72. Somme L. The effect of prolonged exposures at low temperatures in insects // CryoLetters.– 1996.– Vol. 17, N6.– P. 341–346.
73. Somme L. The physiology of cold hardiness in terrestrial arthropods // Eur. J. Entomol.– 1999.– Vol. 96, N1.– P. 1–10.
74. Storey K.B., Storey J.M. Freeze tolerance in animals // Physiol. Rev.– 1988.– Vol. 68, N1.– P. 27–84.
75. Vernon P., Vannier G. Freezing susceptibility and freezing tolerance in Palaearctic *Cetoniidae* (*Coleoptera*) // Can. J. Zool.– 2001.– Vol. 79, N1.– P. 67–74.
76. Vernon P., Vannier G. Evolution of freezing susceptibility and freezing tolerance in terrestrial arthropods // C. R. Biol.– 2002.– Vol. 325, N12.– P. 1185–1190.
77. Wolda H., Denlinger D.L. Diapause in a large aggregation of a tropical beetle // Ecol. Entomol.– 1984.– Vol. 9, Issue 2.– P. 217–230.
78. Worland M.R., Block W. Desiccation stress at sub-zero temperatures in polar terrestrial arthropods // J. Insect Physiol.– 2003.– Vol. 49, N3.– P.193–203.
- apolipoprotein in the ice nucleator activity // J. Comp. Physiol.– 1989.– Vol. 159, N1.– P. 71–82.

75. Vernon P., Vannier G. Freezing susceptibility and freezing tolerance in Palaearctic *Cetoniidae* (Coleoptera) // Can. J. Zool.— 2001.— Vol. 79, N1.— P. 67–74.
76. Vernon P., Vannier G. Evolution of freezing susceptibility and freezing tolerance in terrestrial arthropods // C. R. Biol.— 2002.— Vol. 325, N12.— P. 1185–1190.
77. Wolda H., Denlinger D.L. Diapause in a large aggregation of a tropical beetle // Ecol. Entomol.— 1984.— Vol. 9, Issue 2.— P. 217–230.
78. Worland M.R., Block W. Desiccation stress at sub-zero temperatures in polar terrestrial arthropods // J. Insect Physiol.— 2003.— Vol. 49, N3.— P.193–203.
79. Worland M.R., Block W., Grubor-Lajsic G. Survival of *Heleomyza borealis* (Diptera, *Heleomyzidae*) larvae down to –60C // *Physiol Entomol.*— 2000.— Vol. 25, Issue 1.— P.1–5.
80. Worland M.R., Convey P. Rapid cold hardening in Antarctic microarthropods // *Func. Ecol.*— 2001.— Vol. 15, N4.— P. 515–524.
81. Worland M.R., Grubor-Lajsic G., Montiel P.O. Partial desiccation induced by sub-zero temperatures as a component of the survival strategy of the Arctic collembolan *Onychiurus arcticus* (Tullberg) // *J. Ins. Physiol.*— 1998.— Vol. 44, N3–4.— P. 211–219.
82. Yoder J.A., Denlinger D.L., Wolda H. Aggregation promotes water conservation during diapause in the tropical fungus beetle, *Stenotarsus rotundus* // *Entomol. Exp. Appl.*— 1992.— Vol. 63.— P. 203–205.
83. Zachariassen K.E. Physiology of cold tolerance in insects // *Physiol. Rev.*— 1985.— Vol. 65.— P. 799–832.
84. Zachariassen K.E., Kristiansen E. Ice nucleation and antinucleation in nature // *Cryobiology.*— 2000.— Vol.41, N4.— P. 257–279.
85. Zachariassen K.E., Li N.G., Laugsand A.E. et al. Is the strategy for cold hardiness in insects determined by their water balance? A study on two closely related families of beetles: *Cerambycidae* and *Chrysomelidae* // *J. Comp. Physiol. B.*— 2008.— Vol. 178, N8.— P. 977–984.
79. Worland M.R., Block W., Grubor-Lajsic G. Survival of *Heleomyza borealis* (Diptera, *Heleomyzidae*) larvae down to –60C // *Physiol Entomol.*— 2000.— Vol. 25, Issue 1.— P.1–5.
80. Worland M.R., Convey P. Rapid cold hardening in Antarctic microarthropods // *Func. Ecol.*— 2001.— Vol. 15, N4.— P. 515–524.
81. Worland M.R., Grubor-Lajsic G., Montiel P.O. Partial desiccation induced by sub-zero temperatures as a component of the survival strategy of the Arctic collembolan *Onychiurus arcticus* (Tullberg) // *J. Ins. Physiol.*— 1998.— Vol. 44, N3–4.— P. 211–219.
82. Yoder J.A., Denlinger D.L., Wolda H. Aggregation promotes water conservation during diapause in the tropical fungus beetle, *Stenotarsus rotundus* // *Entomol. Exp. Appl.*— 1992.— Vol. 63.— P. 203–205.
83. Zachariassen K.E. Physiology of cold tolerance in insects // *Physiol. Rev.*— 1985.— Vol. 65.— P. 799–832.
84. Zachariassen K.E., Kristiansen E. Ice nucleation and antinucleation in nature // *Cryobiology.*— 2000.— Vol.41, N4.— P. 257–279.
85. Zachariassen K.E., Li N.G., Laugsand A.E. et al. Is the strategy for cold hardiness in insects determined by their water balance? A study on two closely related families of beetles: *Cerambycidae* and *Chrysomelidae* // *J. Comp. Physiol. B.*— 2008.— Vol. 178, N8.— P. 977–984.

Accepted 20.09.2011

Поступила 20.09.2011  
Рецензент В.В. Рязанцев