

ЭКСПРЕССИЯ СТРЕССОВЫХ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА HSP70 В ОТВЕТ НА ХОЛОД У МУРАВЬЕВ *MYRMICA* ИЗ РАЗНЫХ ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ

© А. В. Майсов,^{1,*} Ю. И. Подлипаева,² В. Е. Кипятков¹

¹ Кафедра энтомологии С.-Петербургского государственного университета

и ² Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;

* электронный адрес: owlsmay@mail.ru

Экспрессия белков HSP70 индуцируется стрессовыми факторами, в том числе и сублетальным охлаждением, однако роль HSP70 в преодолении последствий холодового стресса неясна. Если она положительна, то степень экспрессии HSP70 может быть выше в популяциях из местностей с более холодным климатом. Методом иммуноблотинга мы исследовали динамику экспрессии HSP70 в ответ на холодовой стресс у двух видов муравьев *Myrmica* (*M. rubra* и *M. ruginodis*) из трех местностей различных широт (50, 60 и 67 °N). Результаты показывают, что у более термофильного вида *M. rubra* экспрессия HSP70 в ответ на холод интенсивнее. Внутри обоих видов не обнаружено однозначной прямой корреляции между теплолюбивостью популяции и интенсивностью и(или) скоростью индукции синтеза белка теплового шока (БТШ70) в ответ на экспериментальный холодовой шок. Так, у *M. rubra* самый быстрый и интенсивный ответ у самой южной, а у *M. ruginodis* — у самой северной популяции из трех исследованных. Однако у *M. rubra* две другие популяции похожи по времени и силе ответа, а у *M. ruginodis* самый слабый и медленный ответ наблюдали у промежуточной популяции. Эти данные указывают на то, что уровень экспрессии HSP70 может играть наиболее значительную роль в адаптации к холоду у *M. ruginodis* самой северной из популяций.

Ключевые слова: белки теплового шока семейства HSP70, стресс, холодоустойчивость, географическая изменчивость, муравьи *Myrmica*.

Живые организмы часто сталкиваются с проблемой переживания стрессовых условий, при которых невозможно их активная жизнедеятельность. На клеточном уровне стресс выражается в биохимических нарушениях, ведущих к снижению эффективности функционирования тканей и органов и как следствие — к потере организмом конкурентоспособности и даже к гибели. Одной из молекулярных систем защиты от таких нарушений считаются белки теплового шока (HSP, heat shock proteins), экспрессию которых индуцируют разнообразные виды стресса и которые позволяют клетке справляться с накоплением денатурированных форм других белков (Feder, Hofmann, 1999; Sørensen et al., 2003).

Хотя роль HSP на молекулярном уровне не вызывает сомнений, их способность защищать от природных стрессовых факторов требует проверки (Feder, Hofmann, 1999). Попытки показать эту способность на муравьях редки, единственный такой пример — исследование роли HSP в преодолении последствий теплового стресса пустынными видами рода *Cataglyphis* (Gehring, Wehner, 1995). В умеренной и бореальной зонах более велика вероятность холодового стресса, но возможная связь его с HSP даже у традиционных модельных организмов (*Drosophila*) не доказана (Hoffmann et al., 2003). Тем не менее выраженная экспрессия HSP после краткого сублетального охлаждения (Burton et al., 1988; Joplin et al., 1990; Denlinger et al., 1991) может указывать на потенциаль-

ную роль этих белков в клеточных репарационных процессах.

Муравьи *Myrmica* в лабораторных условиях без последствий переносят температуру 0 °C в течение 24 ч, но в массе гибнут при 5 °C в течение 1 нед, что говорит о стрессовом характере для них таких температур. В активный период жизни колонии *Myrmica* испытывают такой стресс весной после зимовки, когда они стремятся расположиться в надпочвенных микроучастках, аккумулирующих тепло в дневное время (Brian, Brian, 1951; Brian, 1972), но охлаждающихся ночью. С увеличением широты местности возрастают как сила регуляторного охлаждения в ночное время, так и частота и длительность внезапных похолоданий, зависящих от погодных условий. При этом *Myrmica* могли бы получать преимущество от выработки HSP, что приводило бы к генетически закрепленному увеличению степени их экспрессии с увеличением географической широты обитания их популяций.

В нашей работе мы стремились получить ответ на вопрос о том, дают ли белки HSP вышеуказанное преимущество. Для этого мы сравнили характер экспрессии HSP семейства 70 кДа у двух видов *Myrmica*, изучив для каждого три географические популяции из местностей с разной широтой. Такой подход, использующий природный климатический градиент, дает возможность судить о роли этих белков в адаптации к холодовому стрессу в естественных условиях (Feder, Hofmann, 1999).

Материал и методика

Виды и популяции. Мы исследовали представителей двух обычных палеарктических видов (*M. rubra* и *M. ruginodis*), собранных вблизи трех географических пунктов: Борисовка (50°36' N, 36°01' E), Петергоф (59°53' N, 29°52' E) и Лувеньга (67°09' N, 32°24' E). Во всех случаях сбор проводили под пологом леса, кроме *M. rubra* в Лувеньге, где этот вид обитает только на открытой местности. Определение уровня HSP70 повторяли в 2004 и 2005 гг. на различных колониях.

Сбор и содержание. С помощью эксгаустера из природных колоний отбирали значительные группы (250—300 рабочих особей, 1—2 царицы, личинки и куколки) и в пластиковых пробирках с влажной губкой транспортировали в лабораторию. Группы помещали в закрытые формикарии из прозрачного пластика (Kiryatkov et al., 2005), в своей жилой части обеспечивающие затемнение и высокую относительную влажность, характерную для внутренней среды естественных гнезд этих муравьев, и до экспериментов содержали при 20 °C и суточном фотопериоде 22 ч света и 2 ч темноты. В качестве корма использовали кусочки хорошо смоченного изюма и насекомых из лабораторных культур — тараканов *Nauphoeta cinerea* и мух *Calliphora vicina*. Корм меняли каждые 3 сут.

Экспериментальная процедура. Спустя не менее 1.5 мес содержания колоний в стандартных лабораторных условиях проводили исследование экспрессии HSP70 в ответ на холод на одной колонии из каждого географического пункта. В 2004 г. из колоний случайным образом делали по две выборки, каждая объемом приблизительно по 50 рабочих особей, помещали их в контейнеры с сетчатой крышкой и влажной губкой, контрольную выборку оставляли при комнатных условиях, а экспериментальную подвергали холодному стрессу (длительностью 1 ч при температуре 3 °C). После небольшого периода восстановления после стресса (2 ч при 20 °C) приблизительно в одно время из обеих выборок готовили пробы на анализ. В 2005 г. из каждой колонии делали четыре выборки: контрольную и три экспериментальные для определения послестрессовой динамики количества HSP70; пробы из них готовили через 0 ч (заодно с контрольной), а затем через 3 и 6 ч при 20 °C. Дополнительно в 2005 г. на *M. ruginodis* из популяции Петергофа провели определение уровня HSP70 после теплового стресса (1 ч при 37 °C).

Головные капсулы 40 особей из каждой выборки отделяли и гомогенизировали в 40 мкл экстракционного буфера, содержащего 20 mM Трис-HCl, pH 7.5, 0.1 mM этилендиаминтетрауксусной кислоты (EDTA), 0.5 mM дитиотриетол (DTT) и 0.2 mM фенилметилсульфонил-флуорида (PMSF); до проведения анализа полученные пробы хранили при -20 °C. После размораживания пробы в течение 15 мин центрифугировали при 10 000 g, супернатант отделяли и определяли в нем концентрацию общего белка по методу Лоури и соавторов (Lowry et al., 1951).

Разделение белкового содержимого проб проводили при помощи SDS-электрофореза в 10%-ном ПААГ в Трис-глициновой системе Лэммли (Laemmli, 1970). Для приготовления электрофорезной пробы супернатант смешивали с 4-кратным буфером Лэммли (1 % SDS, 5 % β-меркаптоэтанола и 10 % глицерина) в соотношении 3 : 1. Пробу перемешивали и инкубировали на водяной

бане при 100 °C в течение 3—4 мин. Электрофорез проводили в пластине геля размером 120 × 90 × 0.8 мм в течение 1.5 ч при $I = 10$ —12 мА и 2.5 ч при $I = 20$ —25 мА. Для определения молекулярной массы выявляемых полипептидов использовали маркеры High Range Rainbow Molecular Weight Markers мол. массы 14—220 кДа (Amersham Biosciences, США).

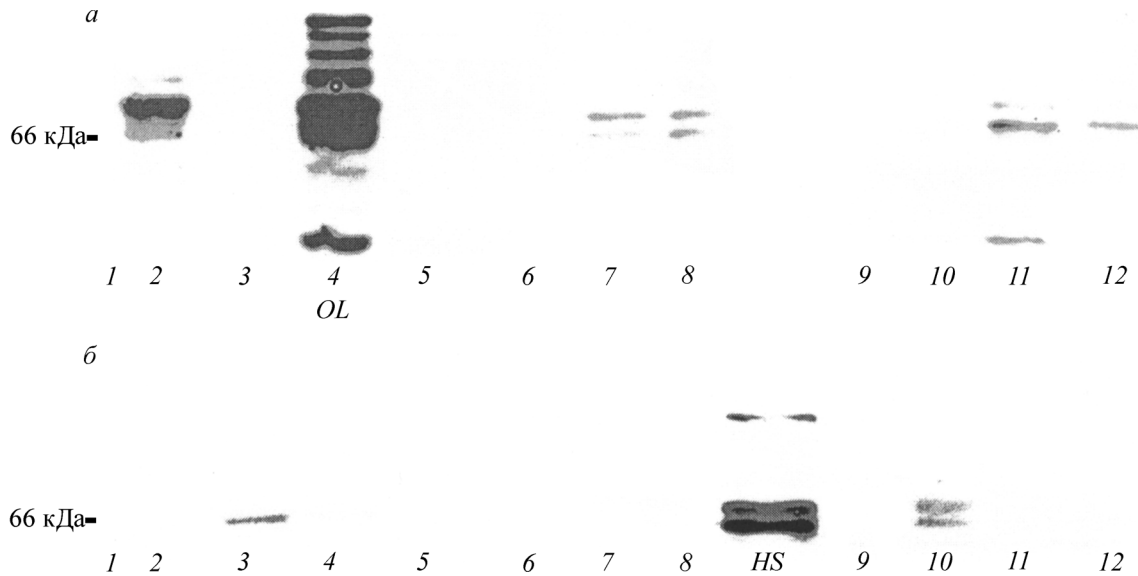
Белки HSP70 выявляли с помощью иммуноблоттинга, после переноса их на нитроцеллюлозную мембрану (Towbin et al., 1979). В 2004 г. мембраны обрабатывали поликлональными кроличьими анти-HSP70 антителами ROM1, полученными в Лаборатории защитных механизмов клетки Института цитологии РАН. В 2005 г. применяли коммерческие моноклональные анти-HSP70 антитела SPA-822 (Stressgen Technologies, Канада). Зоны связывания белков с анти-HSP70 антителами окрашивали при помощи вторичных биотинированных антител, конъюгированных со щелочной фосфатазой (Sigma, США) в результате проведения ферментативной реакции. Степени окрашивания зон в области 70 кДа сравнивали визуально.

Результаты

Содержание HSP70 — как конститутивной формы, так и индуцируемой стрессом — у *M. rubra* оказалось выше, чем у *M. ruginodis* всех трех популяций (см. рисунок). Особенно низким было содержание HSP70 у *M. ruginodis* петергофской популяции: при одинаковых для обоих видов стартовых нагрузках белка на гель (40 мкг) у нее не удалось выявить HSP70. Для успешного выявления HSP70 у всех трех популяций этого вида пришлось увеличить стартовую нагрузку белка в 2 раза (80 мкг). Тепловой стресс у *M. ruginodis* из популяции Петергофа (*дорожка HS* на рисунке, б) вызывал несравнимо более сильную экспрессию HSP70, чем холодовой.

Для *M. rubra* (см. рисунок, а) характерна следующая динамика экспрессии HSP70: сразу после холодового стресса (0 ч) интенсивная экспрессия HSP70 наблюдается у муравьев самой южной из трех представленных популяций (Борисовка; *дорожка 2*), а у промежуточной и северной (Петергоф и Лувеньга), напротив, по сравнению с контролем выявлен некоторый расход HSP70 в данной временной точке (*дорожки 6, 10*). Через 3 ч после воздействия у муравьев южной популяции наблюдается расход HSP70 (*дорожка 3*), а у промежуточной и северной отмечено, напротив, его накопление (*дорожки 7, 11*). Через 6 ч у муравьев всех популяций выявляется зона, соответствующая белку с мол. массой 70 кДа. Чрезмерное окрашивание дорожки из-за перегрузки при нанесении на старт белковой пробы в случае южной популяции затрудняет сравнение, но у промежуточной и северной популяций зоны 70 кДа сходны по интенсивности. По результатам 2004 г., полученным с применением поликлональных некоммерческих кроличьих антител, интенсивность экспрессии HSP70 у *M. rubra* через 2 ч после воздействия была сходна с таковой через 3 ч в экспериментах 2005 г.; были сходны и контрольные варианты этих лет.

Электрофореграммы свидетельствуют о том, что у *M. ruginodis* (см. рисунок, б) южной популяции (Борисовка) заметная выработка HSP70 наблюдается через 3 ч после воздействия (*дорожка 3*), у промежуточной популяции (Петергоф) зона HSP70 едва заметна только через



Динамика экспрессии HSP70 в ответ на краткий холододовый стресс у *Myrmica rubra* (а) и *M. ruginodis* (б) из трех местностей различной широты: Борисовка (50 °N, дорожки 1—4), Петергоф (60 °N, дорожки 5—8 и HS), Лувеньга (67 °N, дорожки 9—12).

Для каждой местности нумерованные дорожки слева направо соответствуют контролю (без стресса) и времени 0, 3 и 6 ч после холододового стресса (1 ч при 3 °C). HS — ответ на тепловой стресс (1 ч при 37 °C) через 3 ч (только для *M. ruginodis*). OL — ошибка (перегрузка) при старте электрофореза. Слева указана позиция молекулярного маркера 66 кДа.

6 ч (дорожка 8), а у северной популяции (Лувеньга) накопление HSP70 выражено сразу после холододового стресса (дорожка 10). Сравнение с результатами 2004 г. было затруднено из-за малой начальной нагрузки белка и слабого ответа у данного вида. Однако, как и в 2005 г. (Kiryatkov et al., 2005b), интенсивность зоны конститутивных HSP70 (в контрольных вариантах) была у северной популяции выше, чем у южной, а интенсивность зоны индуцированных HSP70 (через 2 ч после стресса) была у южной популяции выше, чем у северной.

Обсуждение

Известны два примера изучения роли HSP70 для природных популяций из разных климатических зон, но в связи с тепловым стрессом один из них — у субтропической *Drosophila buzzatii* в градиенте высоты 200—2300 м горной местности на северо-западе Аргентины. Количество индуцируемого тепловым стрессом HSP70 оказалось ниже в популяциях из более низких местностей с более теплым климатом (Sørensen et al., 2001, 2005). Для объяснения этого кажущегося парадокса выдвинута гипотеза, предполагающая, что термальная адаптация популяции ведет к снижению стресса (до некоего предела), вызываемого высокой температурой, и соответственно к меньшим внутриклеточным повреждениям и одновременно меньшей экспрессии HSP70. Эту гипотезу подтверждают исследования космополитической *D. melanogaster*: сравнение стандартной культуры с культурой, происходящей из субэкваториальной Африки (Zatsepina et al., 2001), а также генетический анализ культур из градиента широты вдоль восточного берега Австралии и исследования, в которых отбор на теплоустойчивость воспроизводили в лаборатории (Bettencourt et al., 2002). Это означает, что приспособленность популяции к высокой температуре среды определяется не экспрессией HSP70, а иными механизмами, которые, вероятно,

служат защитой от кратковременного воздействия высоких температур, но не от их длительных или частых периодов (Sørensen et al., 2003). Для имаго *Drosophila*, активно выбирающих термическую среду, сильный тепловой стресс в природе может фактически быть редким явлением (Feder et al., 2000). Естественный отбор может благоприятствовать пониженной экспрессии HSP70, если эти белки дают преимущество только при высоких уровнях теплового стресса, достаточных, чтобы вызвать гибель, но не при стрессах такого характера, при которых отрицательные последствия от экспрессии HSP70 преобладают над положительными (Sørensen et al., 2001; Zatsepina et al., 2001).

Гораздо меньше известно о взаимосвязи HSP70 и холододового стресса. Несмотря на консервативный тип реакции клеток (организмов) на стресс, считается, что существует ее определенная специфичность (Joplin et al., 1990; Denlinger et al., 1991; Sørensen et al., 2003), на что указывает и различие реакций *M. ruginodis* на холододовый и тепловой стрессы в нашей работе. Кроме того, обычно синтез белков HSP70 в ответ на холододовый стресс наблюдали только в постстрессовый период (Denlinger et al., 1991). Наши результаты указывают на то, что интенсивный синтез HSP70 у наиболее северной популяции *M. ruginodis* идет во время холододовой обработки.

Главный итог данного исследования заключается в том, что вопреки исходным предположениям у обоих видов *Myrmica* не обнаружено прямой корреляции между теплолюбивостью исследованной популяции и интенсивностью и(или) скоростью индукции синтеза белка теплового шока (БТШ70) в ответ на экспериментальный холододовый шок. Напротив, географическая изменчивость ответа на охлаждение, выявленная у популяций *M. rubra*, скорее согласуется с существующей в литературе гипотезой об обратной связи ответа на стресс и климатической адаптации (Sørensen et al., 2005), но сформулированной применительно к холододовому стрессу: чем холоднее климат, тем выше приспособленность популя-

ции к холоду и тем меньшим стрессом он для нее является. Причина сходства динамики экспрессии HSP70 у *M. rubra* из Лувеньги и Петергофа может быть в том, что в Лувеньге этот вид поселяется только на открытой, незатененной местности, что, вероятно, компенсирует недостаток инсоляции. В отличие от *M. ruginodis*, распространенных на север до широты 70° (Vepsäläinen et al., 1984), *M. rubra* распространены примерно до Северного полярного круга (Elmes et al., 1999; Groden et al., 2005), а в более южных частях ареала их колонии хотя и поселяются в лесах, но предпочитают участки, расположенные под просветами в лесном пологе, т. е. в термически более благоприятных условиях. Это также согласуется с представлением об уровне HSP70 как о показателе стресса (одинаковое для обоих видов охлаждение является большим стрессом для более термофильного вида).

Сложнее объяснить характер внутривидовой изменчивости ответа, обнаруженный у *M. ruginodis*. Экологические предпочтения этого вида одинаковы во всех представленных популяциях: все они населяют затененные биотопы и, следовательно, обладают большей сравнимостью. Наиболее северная популяция (Лувеньга) этого вида нарушает гипотезу об обратной связи ответа на стресс и климатической адаптации (Sørensen et al., 2005). Кажется маловероятным, что у *M. ruginodis* из популяции Лувеньги более быстрая и интенсивная реакция на действие температуры 3 °С отражает больший стресс от такого охлаждения. Возможно, в данной местности преимущества экспрессии HSP70 для этого вида преобладают над упомянутыми выше отрицательными ее последствиями, и отбор благоприятствует ей. Это может быть, например, если непредсказуемые понижения температуры всегда чрезмерно сильны и температура 3 °С для данной популяции является не только фактором стресса, но и сигналом наступления более сильного похолодания. Разумеется, как явствует из публикаций, посвященных тепловому стрессу, предположение о прямой связи уровня HSP70 в популяции с силой какого-либо стрессового фактора оказывается слишком умозрительным. Тем не менее все исследователи указывают на положительную роль HSP70 при крайних уровнях стресса, когда под угрозой становится жизнь организма. Для окончательного объяснения различий между популяциями *M. ruginodis* по динамике экспрессии HSP70 в ответ на холод необходимы еще и более детальные исследования микроклимата населяемых ими биотопов.

По результатам исследования экспрессии HSP70 в ответ на охлаждение у муравьев *Myrmica* можно сделать следующие выводы. 1. Межвидовые различия указывают на то, что эта реакция отражает силу стресса, вызываемого низкой температурой. Чем термофильнее вид, тем больший стресс он испытывает от охлаждения и тем выше у него экспрессия HSP70. 2. Внутривидовая изменчивость также подтверждает вышеуказанную закономерность: чем теплее климат, в условиях которого существует популяция, тем сильнее стресс, вызываемый охлаждением. Это означает, что повышение уровня экспрессии HSP70 не дает преимущества при адаптации к холодному климату. 3. Исключение из правила составляет северная популяция *M. ruginodis*. Для установления закономерностей синтеза и расхода БТШ70 в ответ на холодовой стресс в этой популяции необходимо более детальное изучение ее температурной среды.

Мы благодарим сотрудников заповедников «Кандакшский» и «Белогорье» за содействие, оказанное при сборе живого материала в Лувеньге и Борисовке, а также сотрудников Лаборатории энтомологии Биологического института СПбГУ А. П. Несина и Н. П. Симоненко за предоставление культур *Calliphora*.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 03-04-48854 и 06-04-49383), государственной поддержке ведущих научных школ (проект НШ-7130.2006.4), а также федеральной программы «Университеты России» (07.01.327).

Список литературы

- Bettencourt B. R., Kim I. Y., Hoffmann A. A., Feder M. E. 2002. Response to natural and laboratory selection at the *Drosophila* HSP70 genes. *Evolution*. 56 : 1796—1801.
- Brian M. V. 1972. Population turnover in wild colonies of the ant *Myrmica ruginodis*. *Ekologia Polska*. 20 : 43—53.
- Brian M. V., Brian A. D. 1951. Insolation and ant population in the west of Scotland. *Trans. R. Entomol. Soc. Lond.* 102 : 303—330.
- Burton V., Mitchell H. K., Young P., Petersen N. S. 1988. Heat shock protection against cold stress of *Drosophila melanogaster*. *Mol. Cell. Biol.* 8 : 3550—3552.
- Denlinger D. L., Joplin K. H., Chen C.-P., Lee R. E. 1991. Cold shock and heat shock. In: *Insects at low temperature*. New York; London: Chapman and Hall. 131—148.
- Elmes G. W., Wardlaw J. C., Nielsen M. G., Kipyatkov V. E., Lopatina E. B., Radchenko A. D., Barr B. 1999. Site latitude influences on respiration rate, fat content, and the ability of worker ants to rear larvae: a comparison of *Myrmica rubra* (Hymenoptera: Formicidae) populations over their European range. *Eur. J. Entomol.* 96 : 117—124.
- Feder M. E., Hofmann G. E. 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response. *Ann. Rev. Physiol.* 61 : 243—282.
- Feder M. E., Roberts S. P., Bordelon A. C. 2000. Molecular thermal telemetry of free-ranging adult *Drosophila melanogaster*. *Oecologia*. 123 : 460—465.
- Gehring W. J., Wehner R. 1995. Heat shock protein synthesis and thermotolerance in *Cataglyphis*, an ant from the Sahara desert. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 92 : 2994—2998.
- Groden E., Drummond F. A., Garnas J., Franceour A. 2005. Distribution of an invasive ant, *Myrmica rubra* (Hymenoptera: Formicidae), in Maine. *J. Econ. Entomol.* 98 : 1774—1784.
- Hoffmann A. A., Sørensen J. G., Loeschcke V. 2003. Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: bringing together quantitative and molecular approaches. *J. Therm. Biol.* 28 : 175—216.
- Joplin K. H., Yocum G. D., Denlinger D. L. 1990. Cold shock elicits expression of heat shock proteins in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *J. Insect Physiol.* 36 : 825—834.
- Kipyatkov V. E., Lopatina E. B., Imamgaliev A. 2005a. Duration and thermal reaction norms of development are significantly different in winter and summer brood pupae of the ants *Myrmica rubra* Linnaeus, 1758 and *M. ruginodis* Nylander, 1846 (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecologische Nachrichten*. 7 : 69—76.
- Kipyatkov V. E., Podlipaeva Yu. I., Maysov A. V. 2005b. First demonstration of the latitudinal variation of heat shock protein content and expression after cold shock in ants *Myrmica rubra* L. and *M. ruginodis* Nyl. In: *International Symposium on the Environmental Physiology of Ectotherms and Plants*. Roskilde, Denmark. 41.
- Laemmli U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227 : 680—685.
- Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. F. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193 : 265—275.

Sørensen J. G., Dahlgaard J., Loeschcke V. 2001. Genetic variation in thermal tolerance among natural populations of *Drosophila buzzatii*: down regulation of Hsp70 expression and variation in heat stress resistance traits. *Funct. Ecol.* 15 : 289—296.

Sørensen J. G., Kristensen T. N., Loeschcke V. 2003. The evolutionary and ecological role of heat shock proteins. *Ecol. Lett.* 6 : 1025—1037.

Sørensen J. G., Norry F. M., Scannapieco A. C., Loeschcke V. 2005. Altitudinal variation for stress resistance traits and thermal adaptation in adult *Drosophila buzzatii* from the New World. *J. Evol. Biol.* 18 : 829—837.

Towbin H., Staehelin T., Gordon J. 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets:

procedure and some applications. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 76 : 4350—4354.

Vepsäläinen K., Pisarski B., Kantorek R., Laine K. J. 1984. Formicidae (Hymenoptera) of Inari Lapland. *Kevo Notes.* 7 : 115—116.

Zatsepina O. G., Velikodvorskaia V. V., Molodtsov V. B., Garbuz D., Lerman D. N., Bettencourt B. R., Feder M. E., Evgenyev M. B. 2001. A *Drosophila melanogaster* strain from sub-equatorial Africa exceptional thermotolerance but decreased Hsp 70 expression. *J. Exp. Biol.* 204 : 1869—1881.

Поступила 21 III 2007

EXPRESSION OF STRESS PROTEINS OF FAMILY HSP70 IN RESPONSE TO COLD IN *MYRMICA* ANTS FROM DIFFERENT GEOGRAPHIC POPULATIONS

A. V. Maysov,^{1,*} Yu. I. Podlipaeva,² V. E. Kipyatkov¹

¹ Department of Entomology of St. Petersburg State University, and ² Institute of Cytology RAS, St. Petersburg;

* e-mail: owlsmay@mail.ru

Expression of HSP70 is induced by stress factors, including sub-lethal chilling, but the role of HSP70 for overcoming consequences of cold stress is not clear. If the role is positive, the level of HSP70 expression might be higher in populations from colder climates. By use of immunoblotting we investigated dynamics of HSP70 expression in response to cold stress in two *Myrmica* species from three localities of different latitude (50, 60 and 67° N). The results showed that in the more thermophilic species *Myrmica rubra* expression of HSP70 after cold stress was more intense. Expression traits within both species did not show direct relationship with latitude. In *M. rubra* the southernmost population and in *M. ruginodis* the northernmost one displayed the fastest and most intense response. However, in *M. rubra* the two other studied populations were similar in timing and intensity of the response, while in *M. ruginodis* the intermediate population showed the slowest and weakest response. The data suggest that the expression of HSP70 might play the most considerable role in the adaptation to cold in the southernmost population of *M. ruginodis*.

Key words: HSP70, stress, cold tolerance, geographic variation, *Myrmica*.