

© С.Я. Резник¹,
А.Н. Овчинников¹,
А.А. Овчинникова¹,
Н.А. Белякова², Л.В. Барабанова³

¹ Зоологический институт РАН,
Санкт-Петербург;

² Всероссийский НИИ защиты растений РАН, Санкт-Петербург — Пушкин;

³ ФГБУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург

В лабораторных условиях проведено скрещивание божьих коровок *Harmonia axyridis* (Pall.) из автохтонной Иркутской и инвазионной Сочинской популяций, различающихся по фотопериодической индукции диапаузы. У особей из Иркутской популяции короткий световой день индуцирует репродуктивную диапаузу, в то время как у божьих коровок из Сочинской популяции фотопериодическая реакция ослаблена. Гибриды первого поколения реципрокных скрещиваний продемонстрировали фотопериодическую реакцию, сходную с таковой у родительских форм из Иркутской популяции. Полученные данные указывают на преобладание индукции диапаузы под влиянием короткого дня и равный вклад самцов и самок в детерминацию данного признака у потомства.

✿ **Ключевые слова:** наследование; диапауза; фотопериод; насекомые; биологические инвазии; *Harmonia axyridis*; Coccinellidae.

О ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОЙ ИНДУКЦИИ ДИАПАУЗЫ У ГИБРИДОВ ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ *HARMONIA AXYRIDIS* (PALL.) (COLEOPTERA, COCCINELLIDAE)

ВВЕДЕНИЕ

Диапауза, состояние покоя, характеризующееся резким снижением интенсивности метаболизма, остановкой роста и развития, прекращением размножения у имаго, увеличением устойчивости к экстремальным факторам среды и рядом других признаков — необходимый этап сезонного цикла большинства видов насекомых, обитающих вне зоны тропиков. Диапауза — упреждающая реакция, она индуцируется сигнальными факторами среды (важнейшими из них являются температура и длина светового дня) до наступления неблагоприятных условий [3, 4, 10]. Соотношение между фотопериодом (длиной дня), температурой, осадками, наличием корма и другими жизненно важными факторами среды, естественно, зависит от специфики локального климата. Поэтому расселение насекомых за пределы исходного ареала обычно требует соответствующих изменений фотопериодических реакций, а биологические инвазии, как и преднамеренная интродукция полезных видов, предоставляют уникальную возможность изучения механизмов приспособления к новым параметрам окружающей среды [9].

Объект нашего исследования, хищная божья коровка *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera, Coccinellidae), долгое время успешно использовалась для биологической борьбы с вредными насекомыми, но несколько десятилетий назад неожиданно оказалась способной проникать в естественные биоценозы. К настоящему времени инвазионные популяции *H. axyridis* найдены более чем в 40 странах Европы, Америки и Африки [12], в том числе и на территории России [18]. В качестве предпосылок этой инвазии рассматривали самые разные особенности биологии *H. axyridis* [12, 14]. В частности, выяснилось, что у представителей инвазионных популяций по сравнению с автохтонными ослаблена фотопериодическая реакция, способствующая индукции зимней репродуктивной диапаузы при осеннем сокращении длины дня [11]. Возможно, такая особенность биологии обеспечивает инвайдерам быструю адаптацию к любому климату, так как при ослаблении фотопериодической реакции диапауза индуцируется отсутствием белкового корма (тлей), а этот сигнальный фактор, в отличие от длины дня, не зависит от широты местности, но напрямую связан с приближением зимы.

Целью данной работы было изучение фотопериодической индукции диапаузы у гибридных особей, полученных от скрещивания между представителями автохтонной и инвазионной популяций *H. axyridis*. Наследование различных особенностей фотопериодической реакции было изучено у ряда видов насекомых [4, 13]. В семействе Coccinellidae была исследована только *Coccinella septempunctata* L. [10, 15]. С *H. axyridis* подобные работы не проводили. Следует отметить, что особи из инвазионных и автохтонных популяций могут скрещиваться и в естественных условиях, причем результаты такой гибридизации, возможно, скажутся на дальнейшем ходе инвазии [12, 17].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В работе были использованы лабораторные популяции *H. axyridis*, происходящие от 670 имаго, собранных 18.07.2015–28.07.2015 в зоне инвазии (г. Сочи), и 420 имаго, собранных 31.07.2015 в пределах исходного ареала

Поступила в редакцию 24.05.2016
Принята к публикации 05.06.2016

(г. Иркутск). Разведение насекомых происходило в Лаборатории биометода ВИЗР при температуре 20–25 °С, продолжительности светового дня 18 ч и питании разными видами тлей. Особей 1-го лабораторного поколения скрещивали в Лаборатории экспериментальной энтомологии ЗИН при температуре 20 °С, продолжительности светового дня 18 ч и питании личинками и имаго персиковой тли *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae), разводимой на проростках бобов *Vicia faba* L. Для этого имаго сразу после выхода из куколки объединяли в пары соответственно схеме опыта. На каждый из 4 вариантов реципрокных скрещиваний ставили по 3 пары насекомых, которых помещали в пластиковые чашки Петри размером 90 × 15 мм. Отложенные яйца инкубировали при тех же условиях, а вылупившихся личинок, числом не менее 30 штук на каждую пару жуков, использовали в тесте на фотопериодическую индукцию диапаузы. Подопытных личинок содержали при стандартных условиях кормления и режиме температуры, но при коротком 12-часовом дне. Предшествующие исследования показали, что короткий световой день индуцирует диапаузу у особей из автохтонных популяций гораздо сильнее, чем у особей из инвазионных популяций [11]. После выхода имаго их также попарно рассаживали в чашки Петри в количестве от 9 до 14 пар потомков на каждую родительскую пару. Взрослых жуков содержали при тех же условиях, что и личинок, и через 20 дней вскрыли. Имагинальная диапауза насекомых проявляется прежде всего в прекращении размножения. В этой связи, согласно предыдущим исследованиям, диапаузирующих самок отличали от активных по состоянию яичников [11]. Так, у диапаузирующих особей присутствуют только гермарины, а у созревающих — фолликулы и ооциты. Всего было проанализировано 125 самок, полученных от 11 родительских пар. Одна из родительских самок погибла, не отложив

яиц. Для выявления гетерогенности распределения созревающих и диапаузирующих особей в потомстве разных родительских пар использовали критерий «хи квадрат». Единицей варьирования служила одна гибридная самка. Множественные сравнения осуществляли с помощью дисперсионного анализа с применением поправки Тьюки. Единицей варьирования при этом было потомство одной пары божьих коровок. Показатель доли созревающих самок для проведения статистического анализа был подвергнут преобразованию Фишера [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ распределения созревающих и диапаузирующих особей в потомстве разных родительских пар *H. axyridis* выявил существенную гетерогенность ($\chi^2 = 42,1$, $n = 125$, $df = 10$, $p < 0,001$), при этом в пределах каждого варианта скрещивания различия были недостоверными ($p > 0,2$). Дисперсионный анализ показал достоверное влияние варианта скрещивания на долю диапаузирующих особей ($F = 15,4$, $n = 11$, $df = 3$, $p = 0,002$). В потомстве самок и самцов из инвазионной популяции г. Сочи доля диапаузирующих особей была в 7–8 раз ниже ($p < 0,01$), чем в потомстве остальных вариантов скрещивания, различия между которыми оказались недостоверными (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты показывают, что у гибридов F_1 от скрещивания особей *H. axyridis* из популяций г. Сочи и г. Иркутска преобладает способность к индукции диапаузы под влиянием короткого дня. Вклад самки и самца в детерминацию данного признака у потомства

Таблица 1

Доля самок F_1 , диапаузовавших в условиях короткого дня, в потомстве разных вариантов скрещивания особей из инвазионной (Сочи) и автохтонной (Иркутск) популяций *Harmonia axyridis*
The proportion of females that entered diapause under short day conditions in F_1 hybrids between individuals from invasive (Sochi) and autochthonous (Irkutsk) populations of *Harmonia axyridis*

Вариант скрещивания		Число исследованных самок F_1	Доля диапаузирующих самок F_1 (%)	
самка	самец		в потомстве данной пары	в варианте скрещивания *
Сочи	Сочи	9	11,2	10,0 a
Сочи	Сочи	11	9,1	
Иркутск	Иркутск	10	90	79,3 b
Иркутск	Иркутск	9	66,7	
Иркутск	Иркутск	10	80	
Сочи	Иркутск	11	91	84,6 b
Сочи	Иркутск	14	71,5	
Сочи	Иркутск	14	92,9	
Иркутск	Сочи	11	81,9	67,6 b
Иркутск	Сочи	14	71,5	
Иркутск	Сочи	12	50	

* разными латинскими буквами отмечены достоверно различающиеся варианты скрещивания ($p < 0,01$)

оказался одинаковым, о чем свидетельствует отсутствие достоверных различий между результатами реципрокных скрещиваний. Ранее проведенные исследования на других видах насекомых продемонстрировали противоречивые результаты [4, 13]. Так, реципрокные скрещивания между особями из северных и южных популяций мухи *Calliphora vicina* R.-D. (Diptera, Calliphoridae) показали, что индукция личиночной диапаузы у потомства определяется генотипом самки, в то время как продолжительность диапаузы зависит также и от генотипа самца [1, 13]. Фотопериодическая реакция гибридов от скрещивания особей из разных популяций отдельных видов чешуекрылых оказалась промежуточной по сравнению с реакциями самца и самки, что свидетельствует об аддитивности действия генов [3, 4, 19]. Межпопуляционные гибриды мухи *Drosophila littoralis* Meigen (Diptera, Drosophilidae) также проявляли промежуточные признаки фотопериодической реакции, но при этом наблюдалось неполное доминирование способности вступать в диапаузу [4]. Скрещивание диапаузирующих и неспособных к диапаузе подвидов комара *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae) и златоглазки *Chrysopa carnea* Stephens (Neuroptera, Chrysopidae) показало, что у их гибридов преобладает состояние неспособности к диапаузе [2, 4]. Таким образом, имеющиеся данные литературы демонстрируют большое разнообразие генетического контроля важного для насекомых признака, связанного с индукцией и продолжительностью диапаузы [6]. По всей видимости, это определяется многочисленностью видов и их жизненных форм, сформировавшихся в процессе эволюции. В этой связи планируемые дальнейшие эксперименты с изучением проявления признака индукции диапаузы у гибридов второго поколения и возвратных скрещиваний позволят сделать конкретные выводы о наследуемости данного признака у *H. axyridis*.

Следует заметить, что по результатам нашего исследования гибридные потомки первого поколения, возникшие в результате скрещивания особей *H. axyridis* из автохтонной (диапаузирующих под влиянием короткого дня) и инвазионной (имеющих слабую фотопериодическую реакцию) популяций, наследуют сильную фотопериодическую реакцию родительских особей из автохтонной популяции. При этом потомство самцов и самок из инвазионной популяции сохраняет относительную независимость репродуктивного созревания от длины дня, что обеспечивает выживание значительной части смешанной популяции при любой сезонной динамике климата. Имеющая место межпопуляционная гибридизация, повышающая генетическое разнообразие, также рассматривается другими авторами как важная предпосылка стремительной инвазии *H. axyridis* [7, 8, 12, 17].

Авторы выражают глубокую благодарность Л. С. Раменской и О. С. Безман-Мосейко (ЗИН) за помощь в проведении экспериментов. Работа была проведена при

частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 15-29-02526 офи_м «Комплексное исследование биологических инвазий и антропогенного влияния на экосистемы») и при участии ЗИН РАН (тема № 01201351183 «Морфологические и экофизиологические адаптации насекомых как компонент общего биоразнообразия»).

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградова Е.Б. Диапауза мух и ее регуляция. — СПб.: Наука, 1991. [Vinogradova EB. Diapause in flies and its control. Saint Petersburg: Nauka; 1991. (In Russ).]
2. Виноградова Е.Б., Карпова С.Г. Сезонные и суточные ритмы кровососущих комаров. — СПб.: ЗИН РАН, 2010. [Vinogradova EB, Karpova SG. Seasonal and circadian rhythms in bloodsucking mosquitoes. Saint Petersburg: ZIN RAN; 2010. (In Russ).]
3. Данилевский А.С. Фотопериодизм и сезонное развитие насекомых. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1961. [Danilevskiy AS. Photoperiodism and seasonal development of insects. Leningrad: Izd-vo LGU; 1961. (In Russ).]
4. Саулич А.Х., Волкович Т.А. Экология фотопериодизма насекомых. — СПб.: Изд-во СПбГУ, 2004. [Saulich AKh, Volkovich TA. Ecology of insect photoperiodism. Saint Petersburg: Izd-vo SPbGU; 2004. (In Russ).]
5. Справочник по прикладной статистике. Т. 1 / Под ред. Э. Ллойда, У. Ледермана, Ю. Н. Тюрина. — М.: Финансы и статистика, 1989. [Handbook of applied statistics. Vol. 1 E Lloyd, U Lederman, YuN. Tyurin, editors. Moscow: Finansy i statistika; 1989. (In Russ).]
6. Chen C, Xia QW, Chen YS, et al. Inheritance of photoperiodic control of pupal diapause in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner). *J Insect Physiol.* 2012;58(12):1582-1588. doi:10.1016/j.jinsphys.2012.09.013.
7. Facon B, Pointie JP, Jarne P, et al. High genetic variance in life-history strategies within invasive populations by way of multiple introductions. *Curr Biol.* 2008;18(5):363-367. doi:10.1016/j.cub.2008.01.063.
8. Facon B, Crespín L, Loiseau A, et al. Can things get worse when an invasive species hybridizes? The harlequin ladybird *Harmonia axyridis* in France as a case study. *Evol Appl.* 2011;4(1):71-88. doi: 10.1111/j.1752-4571.2010.00134.x.
9. Handley LJJ, Estoup A, Evans DM, et al. Ecological genetics of invasive alien species. *BioControl.* 2011;56(4):409-428. doi: 10.1007/s10526-011-9386-2.
10. Hodek I. Diapause/dormancy. In: Hodek I, van Emden HF, Honek A, editors. Ecology and behaviour of the ladybird beetles. Chichester: Wiley-Blackwell; 2012;275-342.
11. Reznik SY, Dolgovskaya MY, Ovchinnikov AN, Belyakova NA. Weak photoperiodic response facilitates the biological invasion of the harlequin ladybird *Harmonia axyridis*

- (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae). *J Appl Entomol.* 2015;139(4):241-249. doi: 10.1111/jen.12158.
12. Roy HE, Brown PM, Adriaens T, et al. The harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*: global perspectives on invasion history and ecology. *Biol Invas.* 2016;18(4):997-1044. doi: 10.1007/s10530-016-1077-6.
 13. Saunders DS, Steel CGH, Vafopoulou X, Lewis RD. Insect clocks. Amsterdam: Elsevier; 2002.
 14. Sloggett JJ. *Harmonia axyridis* invasions: deducing evolutionary causes and consequences. *Entomol Sci.* 2012;15(3):261-273. doi: 10.1111/j.1479-8298.2012.00519.x.
 15. Sloggett JJ, Honek A. Genetic studies. In: Hodek I, van Emden HF, Honek A, editors. Ecology and behaviour of the ladybird beetles. Chichester: Wiley-Blackwell; 2012;13-53.
 16. Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S. Seasonal adaptations of insects. New York: Oxford University Press; 1986.
 17. Turgeon J, Tayeh A, Facon B, et al. Experimental evidence for the phenotypic impact of admixture between wild and biocontrol Asian ladybird (*Harmonia axyridis*) involved in the European invasion. *J Evol Biol.* 2011;24(5):1044-1052. doi: 10.1111/j.1420-9101.2011.02234.x.
 18. Ukrainsky AS, Orlova-Bienkowskaja MJ. Expansion of *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) to European Russia and adjacent regions. *Biol Invas.* 2014;16(5):1003-1008. doi: 10.1007/s10530-013-0571-3.
 19. Xiao L, He HM, Zhong PS, et al. Inheritance of photoperiodic control of larval diapause in the Asian corn borer *Ostrinia furnacalis* (Guenée). *Bull Entomol Res.* 2015;105(3):326-334. doi:10.1017/S0007485315000140.

ON THE PHOTOPERIODIC INDUCTION OF DIAPAUSE IN FIRST GENERATION HYBRIDS OF *HARMONIA AXYRIDIS* (PALL.) (COLEOPTERA, COCCINELLIDAE)

S.Ya. Reznik, A.N. Ovchinnikov, A.A. Ovchinnikova, N.A. Belyakova, L.V. Barabanova

For citation: *Ecological genetics.* 2016;14(2):39-42

☼ **SUMMARY: Background.** Diapause is an important component of insect life cycle which ensures synchronization of reproduction and development with local seasonal climate. Genetic bases of this synchronization are particularly important for the analysis of biological invasions. **Materials and methods.** We investigated photoperiodic induction of diapause in hybrids between two populations of *Harmonia axyridis* (Pallas): autochthonous population from Irkutsk (Siberia) which shows a strong induction of diapause by short days and invasive population from Sochi (the Caucasus) which exhibits very weak photoperiodic induction of diapause. **Results.** Reciprocal crosses showed that the strong photoperiodic induction of diapause is dominant and the effects of male and female genotypes on progeny phenotype are equal.

☼ **KEYWORDS:** inheritance; diapauses; photoperiod; insects; biological invasions; *Harmonia axyridis*; Coccinellidae.

☼ Информация об авторах

Сергей Яковлевич Резник — д-р биол. наук, зав. лабораторией экспериментальной энтомологии. Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург. E-mail: reznik1952@mail.ru.

Андрей Никитович Овчинников — канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория экспериментальной энтомологии. Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург. E-mail: Andrey.Ovchinnikov@zin.ru.

Антонина Александровна Овчинникова — младший научный сотрудник, лаборатория экспериментальной энтомологии. Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург. E-mail: enoty@mail.ru.

Наталья Александровна Белякова — канд. биол. наук, зав. лабораторией биометода. Всероссийский институт защиты растений, Санкт-Петербург. E-mail: belyakovana@yandex.ru.

Лариса Владимировна Барабанова — канд. биол. наук, доцент, кафедра генетики и биотехнологии. СПбГУ. E-mail: lbarabanova@mail.ru.

☼ Information about the authors

Sergey Ya. Reznik — Head of Laboratory of Experimental Entomology. Zoological Institute RAS. E-mail: reznik1952@mail.ru.

Andrey N. Ovchinnikov — Researcher, Laboratory of Experimental Entomology. Zoological Institute RAS. E-mail: Andrey.Ovchinnikov@zin.ru.

Antonina A. Ovchinnikova — Junior Researcher, Laboratory of Experimental Entomology. Zoological Institute RAS. E-mail: enoty@mail.ru.

Natalia A. Belyakova — Head of Laboratory of Biological Control. All-Russian Institute of Plant Protection. E-mail: belyakovana@yandex.ru.

Larisa V. Barabanova — Associate Professor, Department of Genetics & Biotechnology. St Petersburg State University. E-mail: lbarabanova@mail.ru.