

© М. Б. Удалов,
Г. В. Беньковская

Учреждение РАН Институт
биохимии и генетики УНЦ РАН

✿ В статье представлены данные об изменении фенетической структуры популяций колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say на Южном Урале (территория республики Башкортостан). Отмечено снижение уровня фенетического полиморфизма за период с 1994 по 2002 гг. Данные лабораторных токсикологических экспериментов позволяют считать селективное действие инсектицидов основным фактором снижения уровня внутривидового полиморфизма.

✿ **Ключевые слова:** колорадский жук; *Leptinotarsa decemlineata* Say; динамика популяционной структуры; фенетика популяций; генетика популяций; полиморфизм; Южный Урал.

ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ ПОЛИМОРФИЗМА В ПОПУЛЯЦИЯХ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА НА ЮЖНОМ УРАЛЕ

ВВЕДЕНИЕ

История формирования вторичного ареала колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) тесно связана с хронологией появления и распространения резистентных к инсектицидам популяций данного вида (Рославцева, 2009; Удалов и др., 2009). Предполагается, что экспансия, имеющая характер «экологического взрыва» (Фасулати, 2002), обусловлена высоким уровнем внутривидового полиморфизма и относительной эволюционной молодостью, с чем связывают поразительную пластичность и приспособляемость вида (Ушатинская, 1981; Фасулати, 2002; Tower, 1906).

Для успешного контроля и регуляции численности колорадского жука явно недостаточно заниматься только разработками новых инсектицидов или выведением устойчивых сортов картофеля. Необходимо (в рамках интегрированной системы защиты пасленовых от колорадского жука) больше внимания уделять анализу структуры его популяции. Первый шаг на этом пути — оптимизация методов и подходов выявления и анализа полиморфизма данного вида, как фенетического, так и ДНК (Удалов и др., 2003; Удалов и др., 2009).

Наиболее часто для изучения внутривидового полиморфизма в популяциях насекомых используется фенетический анализ. В качестве дискретно изменяющихся признаков — фенев — у колорадского жука можно выделить вариабельность рисунка покровов тела имаго и личинок, жилкование крыльев, окраску яиц. Из всего этого разнообразия чаще всего используются фены рисунка покровов имаго, в частности — фены темени, затылка, переднепинки и элитр (Кохманюк, 1981; Фасулати, 1985; Еремина, Денисова, 1987; Климец, 1997; Зелеев, 2002; Беньковская и др., 2004; 2008б).

В популяциях такого полиморфного вида, как колорадский жук, должны происходить процессы, приводящие к изменению генофонда и, как следствие, фенофонда популяций. В качестве примеров можно привести работы, показывающие изменения в фенетической структуре популяций колорадского жука как за продолжительный период времени (Еремина, Денисова, 1987; Овчинникова и др., 1984; Фасулати, 1985; Зелеев, 2002), так и под влиянием кормовой составляющей — сортов картофеля (Фасулати и др., 1994), других растений семейства *Solanaceae* (Фасулати, Карасева, 1998; Беньковская, 2007) и инсектицидов. Изменение фенетической структуры популяций колорадского жука под влиянием последнего фактора было показано для локальных популяций Липецкой (Еремина, Денисова, 1987), Брестской и Липецкой областей (Овчинникова и др., 1982; Климец, 1988), Московской и Липецкой областей (Рославцева, Еремина, 2005). К сожалению, в большинстве данных работ используется материал по полиморфизму только одного фена.

Таким образом, можно сделать следующие заключения — во-первых, анализ популяционной структуры ареала колорадского жука (как и любого другого полиморфного и эволюционирующего вида) необходимо проводить систематически, чтобы иметь полное представление о ее временной динамике. Второе — явно недостаточно использование в анализе популяционной структуры колорадского жука только одного типа фенов, как это делается в большинстве цитируемых выше публикаций. Увеличение в работе их количества даст возможность оценить структуру популяций по гораздо большему числу маркерных признаков. Третье — в популяционных исследованиях необходимо учитывать различные факторы, оказывающие влияние на динамику популяционной струк-

Поступила в редакцию 31.12.2009.
Принята к публикации 15.07.2010.

туры вида. Таким образом, целью нашей работы являлась оценка роли многократного повторяющегося воздействия инсектицидов как фактора, влияющего на фенетическую структуру популяции колорадского жука на территории республики Башкортостан.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследований были использованы перезимовавшие имаго колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say. Сбор колорадского жука проводился вручную с посадок картофеля в ряде районов Башкортостана, по диагональной линии участка через каждые 10–15 метров, по 1–2 экземпляра имаго с куста. Подобная методика сбора позволяет получить максимально разнообразную выборку материала (Амирханов, 1995).

Для анализа фенетического полиморфизма использовались фены рисунка темени (Климец, 1997), затылка (Беньковская и др., 2004, 2008а, 2008б), пронотума (Фасулати, 1985) и элитр (Климец, 1997).

Определение чувствительности колорадского жука к инсектицидам проводили топикальным методом рабочим раствором инсектицида фоксим (препарат Волатон) в дозе 1 мкл/особь как описано нами ранее (Беньковская и др., 2008а).

Анализ внутривидового разнообразия проводили с использованием двух показателей, предложенных Л. А. Животовским — среднего числа вариаций μ и доли редких вариаций h с их выборочными ошибками s_μ и s_h :

$$\mu = \left(\sum_{i=1}^m \sqrt{p_m} \right)^2,$$

$$s_\mu \approx \sqrt{\frac{\mu(m-\mu)}{N}},$$

$$h = 1 - \frac{m}{m},$$

$$s_h \approx \sqrt{\frac{h(1-h)}{N}},$$

где m — количество вариаций в популяции, p — частота вариации, N — объем выборки (Животовский, 1991).

Достоверность различий между частотами вариаций оценивали с помощью t -критерия Стьюдента (Лакин, 1990).

Расчеты по всем приведенным показателям и визуализацию полученных данных проводили с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2003 (1985–2003, Microsoft Corporation). Графически структуру популяций изображали в виде полигонов Дебеца (Животовский, 1991), откладывая на радиусах значения частот вариаций фенов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В Башкортостане колорадский жук впервые появился в 1976 г в двух районах — Кумертауском и Архангельском, в очагах общей площадью 22 га (Прогноз появления и распространения вредителей..., 1978; Мигранов, 1994). Очаги, судя по официальным сообщениям, были быстро ликвидированы и при систематических обследований вредитель обнаружен не был. В 1977 г. новый очаг колорадского жука был выявлен в Альшеевском районе на площади 0,01 га. Уже к 1979 г. колорадский жук заселил всю территорию республики Башкортостан.

Нами были рассмотрены различия в структуре локальных популяций колорадского жука на территории Башкортостана, происходившие в течение ряда лет. В качестве экспериментальной модели была выбрана старомусинская локальная популяция (Кармаскалинский район Башкортостана), выборки 1994 и 2002 годов.

Различия между частотами вариаций фенов в выборках из данной локальной популяции, разделенными во времени периодом в 8 лет, статистически достоверны для фенов рисунка темени и пронотума ($p < 0,001$), однако недостоверны для рисунка элитр.

На рисунке 1 видно, что за период с 1994 по 2002 гг. изменения оказались более выражены для фена темени и пронотума чем для элитр. Так, частота вариации фена темени «т» возросла с 0,08 до 0,34, вариации «ш», «З» и «М» обнаружены не были, в два раза возросла частота вариаций фена пронотума «З», «6» и «9», резко сократились частоты вариаций «1» и «7».

Подобная тенденция изменения фенетической составляющей структуры популяции (уменьшение и исчезновение частот одних вариаций на фоне увеличения других) неизбежно должна привести к снижению уровня полиморфизма (фенетического разнообразия) в популяциях.

Действительно, в рассматриваемой нами локальной популяции отмечено изменение уровня фенетического разнообразия колорадского жука. В большей степени такие изменения проявлялись для фенов рисунка темени и пронотума (различия статистически достоверны при $p < 0,001$), в меньшей — для элитр (рис. 2). Среднее число вариаций μ для фена темени снизилось с $3,64 \pm 0,157$ в 1994 г. до $1,95 \pm 0,291$ в 2002 г. (в 1,9 раза), для фенов пронотума — с $8,38 \pm 0,162$ до $6,41 \pm 0,49$ (в 1,3 раза), для фенов элитр с $2,30 \pm 0,174$ до $1,92 \pm 0,291$ (в 1,2 раза).

Обратная тенденция отмечена для такого показателя, как доля редких вариаций h , характеризующего структуру внутривидового разнообразия (рис. 2). В частности, за период с 1994 по 2002 гг. значение данного показателя для фена темени возросло в 2,2 раза (с 0,27 до 0,61), для пронотума — в 4,2 раза (с 0,07 до 0,29), для элитр — доля редких вариаций сохранилась с тенденцией к возрастанию. На наш взгляд, такие изменения можно объяснить тем, что в процессе становления данной локальной популяции (подобная тенденция характерна и

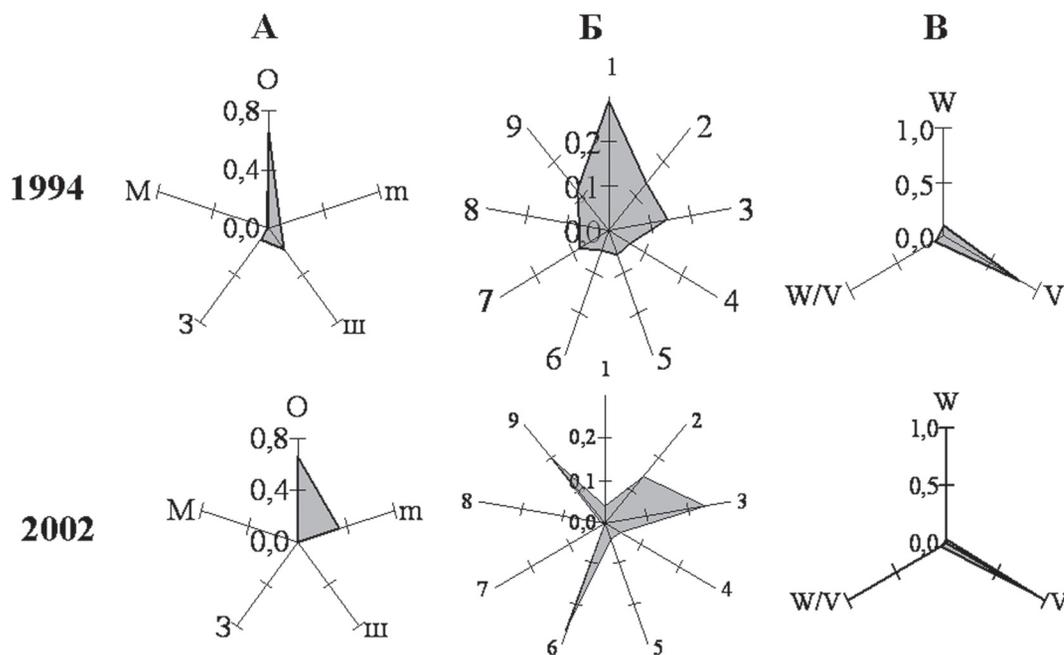


Рис. 1. Изменения фенетической структуры старомусинской локальной популяции колорадского жука за ряд лет. А — вариации фена темени, Б — пронотума, В — элитр. На осях полигонов отложены частоты вариаций соответствующего фена

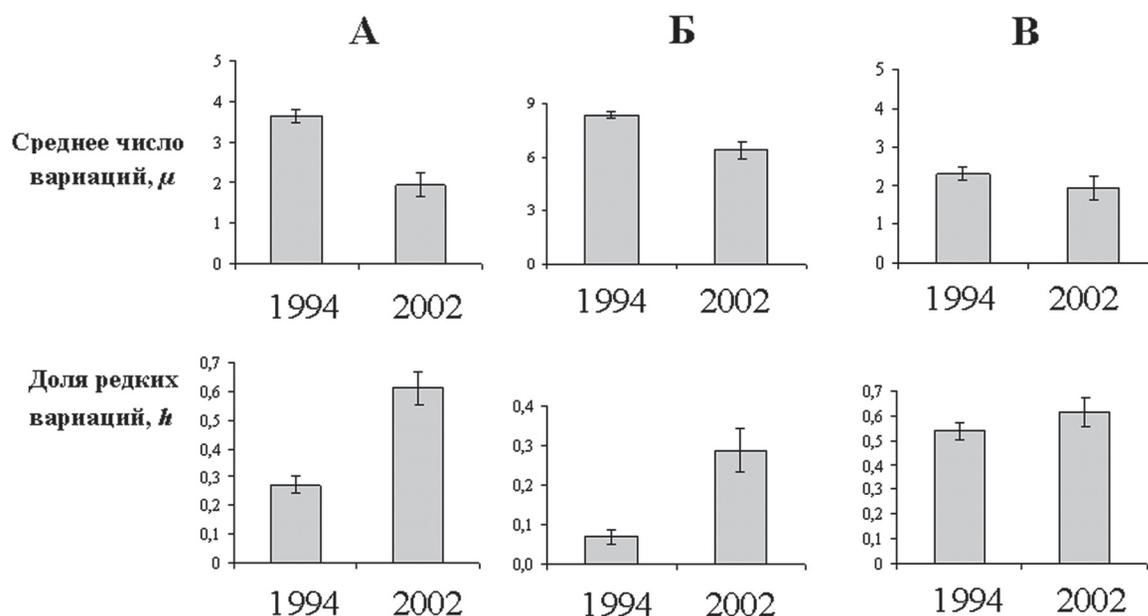


Рис. 2. Изменение уровня фенетического разнообразия старомусинской локальной популяции колорадского жука за ряд лет. А — вариации фена темени, Б — пронотума, В — элитр. Данные представлены с их выборочными ошибками s_{μ} и s_h

для выборок из других локальных популяций) снижение разнообразия происходило за счет перераспределения частот вариаций, в ходе которого часть вариаций, сформировавших ранее основу фенооблика популяции, переходит в разряд редких. А вариации, относящиеся к изначально редким, исчезают в результате их «вымывания» селективным отбором при инсектицидных обработках.

Как одну из гипотез, можно высказать предположение о том, что основное влияние на формирование фенетической структуры популяции колорадского жука на территории Южного Урала оказало «селективное» действие инсектицидов. При этом, в ходе «бессознательного отбора» в терминах Яблокова, Юсуфова (2004) происходит избирательное выживание особей, устойчивых к

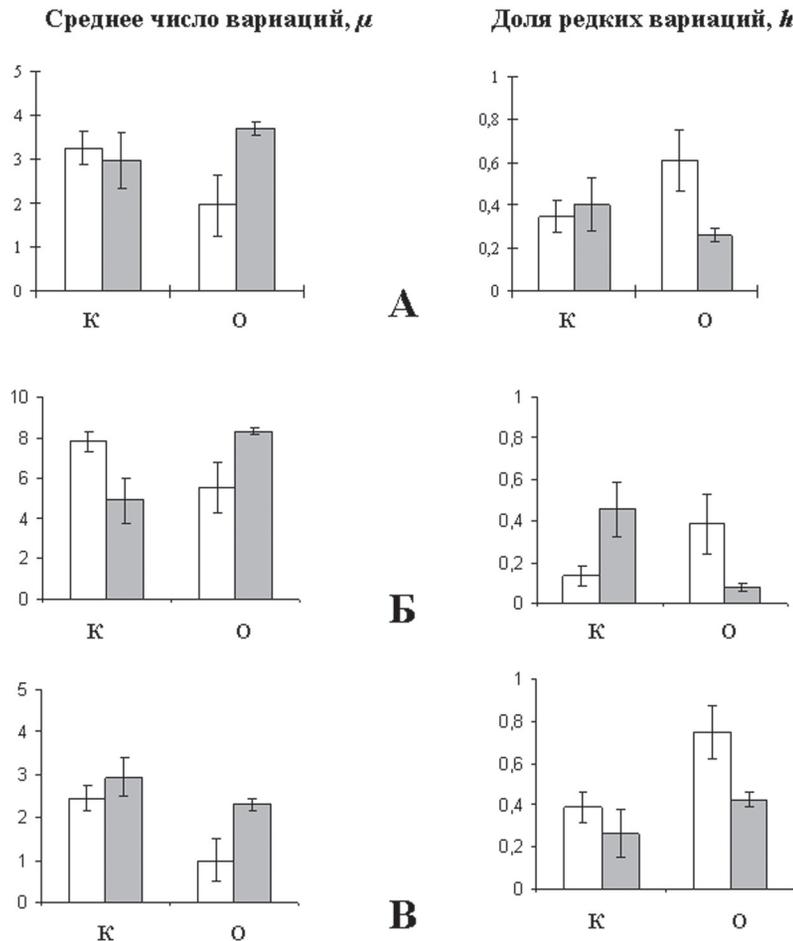


Рис. 3. Изменение уровня фенетического разнообразия в казангуловской локальной популяции колорадского жука по результатам токсикологического анализа в лабораторных экспериментах.

А — вариации фена темени, Б — пронотума, В — элитр. Светлые столбики — для выживших особей, серые — для погибших. К — контроль, О — опыт. Данные представлены с их выборочными ошибками s_{μ} и s_h .

действию инсектицидов и, напротив, элиминация особей чувствительных, чьи генотипы маркируются определенными фенами рисунка. Ранее нами была отмечена однонаправленность возрастания уровня резистентности к инсектицидам и увеличения частот некоторых вариаций фенов в локальных популяциях колорадского жука в Башкортостане (Удалов, 2006; Benkovskaya et al., 2006). В частности, в выживших после токсикологических обработок выборках преобладали особи, маркированные вариациями пронотума «3», «6» и «9» (Беньковская и др., 2004, 2008а). Скорее всего, именно накоплением особей резистентных к инсектицидам фенотипов с данными вариациями объясняется двукратное увеличение их доли в выборке 2002 г. (рис. 1, Б). Подобные же процессы — увеличение доли вариаций фена рисунка пронотума «3», «6» и «9» — отмечены и для популяций колорадского жука в других частях ареала — Московской области (Рославцева, Еремина, 2005), Брянской (Олейников и др., 2006), Калининградской, Ростовской и Вологодской областях (Васильева и др., 2005).

Мы рассмотрели, как воздействие инсектицидов в лабораторных условиях влияет на изменение уровня разнообразия в выборках их казангуловской локальной популяции (Давлекановский район Башкортостана) колорадского жука.

На рисунке 3 показаны изменения уровней фенетического разнообразия колорадского жука в общих выборках и в выборках, выживших после обработок летальной концентрацией волатона в лабораторных экспериментах.

Статистическая значимость различий характерна только для изменений частот вариаций фена пронотума: при сравнении выживших в опыте с выжившими в контроле и при сравнении выживших в опыте с погибшими в опыте ($p < 0,001$). По результатам сравнения выборок по частотам фенов темени и элитр различия статистически не достоверны.

Отмечено снижение уровня фенетического полиморфизма (среднее число вариаций μ) в группе выживших после обработки жуков как при сравнении с контролем

(в 1,7 раза для фенотипов темени, в 1,5 раза для фенотипов пронотума и 2,3 раза для фенотипов элитры) так и при сравнении с погибшими после обработки (в 1,9 раза для фенотипов темени, в 1,4 раза для фенотипов пронотума и в 2,5 раза для фенотипов элитры).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами был проведен анализ различий в ряде локальных популяций колорадского жука на территории республики Башкортостан между данными фенетического анализа 1994 и 2002 годов. Были выявлены изменения фенетической структуры локальных популяций колорадского жука во времени. Отмечено в нативных популяциях и экспериментально подтверждено в лабораторных опытах снижение уровня фенетического полиморфизма (среднего числа вариаций) в результате многократных обработок инсектицидами. Это дает нам возможность считать, что изменения уровня полиморфизма в популяциях колорадского жука на Южном Урале в основном обусловлены именно этим антропогенным фактором.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа была выполнена в рамках грантов, поддержанных Российским фондом фундаментальных исследований (проекты РФФИ № 09-04-00391-а и № 08-04-97015-р_поволжье_а). Авторы будут благодарны всем коллегам за возможность получить образцы колорадского жука из различных частей его ареала. Авторы благодарят рецензента за критический разбор нашей рукописи, за конструктивные и ценные замечания.

Литература

1. Амирханов Д. В., 1995. Биолого-токсикологическое обоснование совершенствования химической защиты картофеля от колорадского жука на Южном Урале: Автореф. докт. дис. СПб, 48 с.
2. Беньковская Г. В., 2007. Освоение новых пищевых ресурсов в популяциях колорадского жука // Материалы конференции «Современные проблемы биологической эволюции», Москва. С. 101–103.
3. Беньковская Г. В., Удалов М. Б., Поскряков А. В. и др., 2004. Феногенетический полиморфизм колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say и его чувствительность к инсектицидам на территории Башкирии // Агрехимия. № 12. С. 23–28.
4. Беньковская Г. В., Леонтьева Т. Л., Удалов М. Б., 2008а. Резистентность колорадского жука к инсектицидам на Южном Урале // Агрехимия. № 8. С. 55–59.
5. Беньковская Г. В., Удалов М. Б., Хуснутдинова Э. К., 2008б. Генетическая основа и фенотипические проявления резистентности колорадского жука к фосфорорганическим инсектицидам // Генетика. Т. 44. № 5. С. 638–644.
6. Васильева Т. И., Иванова Г. П., Иванов С. Г. и др., 2005. Изменения фенотипической структуры популяций колорадского жука от интенсивности применения инсектицидов // Материалы Второго Всероссийского съезда по защите растений «Фитосанитарное оздоровление экосистем», СПб. С. 14–15.
7. Еремина И. В., Денисова И. А., 1987. Изменчивость некоторых признаков колорадского жука в Саратовской области. М., 1987. 13 с. Деп. ВИНТИ 13. 0787, № 7712-В87.
8. Животовский Л. А., 1991. Популяционная биометрия. М.: Наука. 271 с.
9. Зелеев Р. М., 2002. Оценка полиморфизма рисунка переднеспинки и надкрылий колорадского жука, *Leptinotarsa decemlineata*, в окрестностях Казани // Зоологический журнал. Т. 81. № 3. С. 316–322.
10. Климец Е. П., 1988. Выявление чувствительности колорадского жука к действию инсектицидов с помощью фенотипов // Фенетика природных популяций. Тез. докл. М.: Наука. С. 111–117.
11. Климец Е. П., 1997. Дискретные вариации рисунка на дорсальной стороне тела колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) // Популяционная фенетика. М.: Наука. С. 45–58.
12. Кохманюк Ф. С., 1981. Колорадский жук как модель микроэволюции // Природа. № 12. С. 86–87.
13. Лакин Г. Ф., 1990. Биометрия. М.: Высшая школа. 352 с.
14. Мигранов М. Г., 1994. Пиретроиды: отечественные аналоги и их токсикология. — Уфа: Принт. 101 с.
15. Овчинникова Н. А., Климец Е. Н., Маркелов Г. В., 1984. Динамика генетической структуры популяции колорадского жука на территории Липецкой области // Генетика. Т. XX. № 1. С. 140–143.
16. Овчинникова Н. А., Маркелов Г. В., 1982. Внутривидовая изменчивость колорадского жука в Липецкой области // Науч. докл. Высшей школы. Биол. науки. № 7. С. 63–67.
17. Олейников А. В., Яковлева И. Н., Рославцева С. А. и др., 2006. Устойчивость к инсектицидам, фенетическая структура и активность ферментов в популяциях колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say из Брянской области // Агрехимия. № 3. С. 46–51.
18. Прогноз появления и распространения вредителей и болезней сельскохозяйственных культур в Башкирской АССР в 1978 году и меры борьбы с ними. 1978 / под ред. Л. А. Савилова. Уфа: Башкирское книжное издательство. 94 с.
19. Рославцева С. А., Еремина О. Ю., 2005. Резистентность к пиретроидам и фенотипический анализ популяций колорадского жука из Можайского района Московской области // Материалы Второго Всероссийского съезда по защите растений. «Фитосанитарное оздоровление экосистем», СПб. С. 57–58.

20. Рославцева С. А., 2009. Резистентность к инсектицидам в популяциях колорадского жука // *Агрохимия*. № 1. С. 87–92.
21. Удалов М. Б., Поскряков А. В., Беньковская Г. В. и др., 2003. Молекулярно-биологические методы мониторинга резистентности к инсектоакарицидам в популяциях членистоногих // *Агрохимия*. № 6. С. 81–88.
22. Удалов М. Б., 2006. Структура популяции колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say на Южном Урале: Автореф. канд. дис. Уфа. 24 с.
23. Удалов М. Б., Беньковская Г. В., Поскряков А. В. и др., 2009. Полиморфизм ДНК в изучении популяций членистоногих // *Успехи современной биологии*. Т. 129. № 1. С. 51–57.
24. Ушатинская Р. С., 1981. Колорадский картофельный жук. Филогения, морфология, физиология, экология, адаптация, естественные враги. — М.: Наука. 377 с.
25. Фасулати С. Р., 1985. Полиморфизм и популяционная структура колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say в Европейской части СССР // *Экология*. № 6. С. 50–56.
26. Фасулати С. Р., Вилкова Н. А., Иващенко Л. С., 1994. Видовые и внутривидовые особенности пищевых связей колорадского жука с растениями семейства *Solanaceae* // *Комуникация насекомых*. Материалы международного симпозиума, Харьков. С. 109–112.
27. Фасулати С. Р., Н. А. Карасева Н. А., 1998. Устойчивость овощных пасленовых растений к колорадскому жуку и принципы ее оценки в связи с внутривидовой изменчивостью вредителя // *АгроXXI*. № 2. С. 14–16.
28. Фасулати С. Р., 2002. Территориальное расселение колорадского жука в северных районах картофелеводства // *Экологические аспекты интенсификации сельскохозяйственного производства*. Мат-лы международной научно-практической конференции, Пенза. С. 205–207.
29. Яблоков А. В., Юсуфов А. Г., 2004. Эволюционное учение. Учеб. для биол. спец. вузов. — М.: Высш. шк. 310 с.
30. Benkovskaya G. V., Udalov M. B., Nikolenko A. G. et al., 2006. Temporal and toxicological dynamics in the cover spot patterns of the Colorado Potato Beetle in South Ural // *Resistant Pest Management Newsletter*. Vol. 15. N. 2. P. 13–15.
31. Tower W. L., 1906. An investigation of evolution in Chrysomelid beetles of the genus *Leptinotarsa*. Wash.: Publ. Carnegie Inst., 320 p.

CHANGE OF POLYMORPHISM LEVEL IN COLORADO POTATO BEETLE POPULATIONS IN THE SOUTHERN URALS

Udalov M. B., Benkovskaya G. V.

✿ **SUMMARY:** Data has been presented by the changing of phenetic structure of Colorado potato beetle populations in the Southern Urals (territory of Bashkortostan). The reduction of phenetic polymorphism level during the period of 1994–2002 has been noted. The results of laboratory toxicological experiments allow considering the selective effects of insecticides as one of main factors of intrapopulation polymorphism level decreasing.

✿ **KEY WORDS:** Colorado potato beetle; *Leptinotarsa decemlineata* Say; population dynamics; population fenetics; population genetics; polymorphism; South Urals.

✿ Информация об авторах

Удалов Максим Борисович — к. б. н., научный сотрудник лаборатории физиологической генетики, член Русского Энтомологического Общества.
Учреждение РАН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, отдел геномики, лаборатория физиологической генетики.
450054 Уфа, просп. Октября, 71, Россия.
E-mail: udalov-m@yandex.ru

Беньковская Галина Васильевна — д. б. н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории физиологической генетики, член Русского Энтомологического Общества.
Учреждение РАН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, отдел геномики, лаборатория физиологической генетики.
450054 Уфа, просп. Октября, 71, Россия.
E-mail: bengal2@yandex.ru

Udalov Maxim Borisovich — PhD.
Institute of biochemistry and genetics UNC the Russian Academy of Sciences, laboratory of physiological genetics.
450054 Ufa, avenue of October, 71, Russia.
E-mail: udalov-m@yandex.ru

Benkovskaya Galina Vasilevna — doctor of biological science, associate professor.
Institute of biochemistry and genetics UNC the Russian Academy of Sciences, laboratory of physiological genetics.
450054 Ufa, avenue of October, 71, Russia.
E-mail: bengal2@yandex.ru