

61 : 02 - 3 / 1072 - σ

**ТЫВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ ГЕНЕТИКИ им. Н.И. ВАВИЛОВА РАН**

на правах рукописи

ДОРЖУ ЧОДУРАА МИХАЙЛОВНА

**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЦЕНТРАЛЬНО-
АЗИАТСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ЖУКОВ КОКЦИНЕЛЛИД**

03.00.15 - генетика

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель
д.б.н., проф. чл.-корр. РАН И.А. Захаров

МОСКВА
2002



ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1 Кокцинеллиды Тувы	8
1.2. Полиморфизм трех видов божьих коровок <i>Adalia bipunctata</i> , <i>Adonia variegata</i> , <i>Harmonia axyridis</i>	12
1.3. Наследование окраски и рисунка на надкрыльях у <i>Adalia bipunctata</i> и <i>Harmonia axyridis</i>	24
1.4. Явление бессамцовости	26
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	
2.1. Сборы кокцинеллид	31
2.2. Разведение кокцинеллид в лаборатории	32
2.3. Выделение ДНК и проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР)	33
2.4. Филогенетический анализ и статистическая обработка	35
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ	
3.1. Некоторые наблюдения над размножением божьих коровок в Туве	36
3.2. Полиморфизм популяций кокцинеллид	
3.2.1. Полиморфизм популяций <i>Adalia bipunctata</i>	37
3.2.2. Полиморфизм популяции <i>Adonia variegata</i> и <i>Harmonia axyridis</i>	49
3.3. Экспериментальные генетические исследования	
3.3.1. Статус формы <i>fasciatopunctata</i> <i>Adalia bipunctata</i>	52
3.3.2. Генетический анализ рисунка <i>fasciatopunctata</i>	60
3.3.3. Экспериментальные скрещивания жуков <i>Adonia variegata</i>	71
3.4. Явление бессамцовости в тувинских популяциях кокцинеллид	
3.4.1. Явление бессамцовости у <i>Adalia bipunctata</i>	76
3.4.2. Поиск бессамцовости в популяциях <i>Harmonia</i> и <i>Adonia</i>	83

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Таксономический статус "Adalia fasciatopunctata"	87
4.2. Факторы, поддерживающие внутрипопуляционный полиморфизм у <i>Adalia bipunctata</i>	90
4.3. Полиморфизм и вероятные центры происхождения видов <i>Adalia bipunctata</i> и <i>Harmonia axyridis</i>	93
4.4. Мюллеровская мимикрия как возможный фактор, поддерживающий высокую частоту формы <i>fasciatopunctata</i>	94
4.5. Бессамцовость в центрально-азиатских популяциях кокцинеллид	99
5. ВЫВОДЫ	100
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	101

Введение

Актуальность проблемы. Жуки семейства Божьи Коровки (Coleoptera: Coccinellidae) являются популярным объектом исследований в области эволюционной и популяционной генетики. Некоторые виды обитают на большей части Евразии в совершенно различающихся экологических условиях. Многие виды божьих коровок проявляют ярко выраженный полиморфизм по окраске и рисунку на надкрыльях и переднеспинке и существуют достаточно многочисленные данные о зависимости структуры популяций этих видов от экологических условий обитания, в том числе от таких антропогенных факторов, как загрязнение окружающей среды. Полиморфизм популяций по легко учитываемым морфологическим признакам, имеющим простую генетическую обусловленность, дает возможность для проведения исследований в различных направлениях популяционной и экологической генетики.

Среди божьих коровок достаточно широко распространено явление бессамцовости, связанное с зараженностью самок цитоплазматическими (передающимися через яйца) бактериями. Эти бактерии не оказывают заметного влияния на жизнеспособность самок, но убивают зародыши мужского пола. Изучение взаимоотношений и коэволюции кокцинеллид и андроцидных бактерий является перспективным направлением экологической генетики и симбиогенетики.

Большинство видов кокцинеллид являются афидофагами и в связи с этим они привлекают внимание как важный фактор регуляции численности вредителей растений. Несколько видов кокцинеллид, в том числе азиатский *Harpinia axyridis* Pall., находят практическое использование в программах биологической защиты растений.

В нашей стране популяционные исследования божьих коровок были начаты в 20-е годы Ф.Г. Добржанским, который, в частности, описал

географическую изменчивость многих видов. Эти исследования были продолжены Я.Я. Лусисом (Лусом), выполнившим тщательный анализ генетической детерминации полиморфизма у *Adalia bipunctata* L., открывшим явление бессамцовости и описавшим состав многих популяций европейской части СССР, Закавказья, Средней Азии и Монголии.

Кроме немногочисленных сведений о тувинских популяциях *Adalia bipunctata*, имеющихся в публикации Лусиса, кокцинеллиды Тувы не были объектами генетических исследований. Вместе с тем популяция кокцинеллид на этой территории существует в особых экологических условиях (континентальный засушливый климат, годовой перепад температур около 90°C, размножение в пространственно-изолированных колониях) - все это резко отличает условия существования популяций кокцинеллид Тувы от тех условий, в которых существуют хорошо изученные популяции Западной и Восточной Европы (*Adalia bipunctata*) и Японии (*Harmonia axyridis*). В отдельных пунктах Тувы заметно влияние антропогенных факторов (загрязнение среды, условия города), что может сказываться на генетических процессах в популяциях.

В связи с вышесказанным представлялось актуальным провести генетико-популяционные изучение популяций трех наиболее многочисленных видов: *Adalia bipunctata* L., *Harmonia axyridis* Pall. и *Adonia variegata* Goez, на территории Тувы, обратив особое внимание на состав их популяций, его возможную зависимость от экологических факторов, присутствие в этих популяциях андроцидных бактерий и сравнить полученные данные с относящимися к другим регионам Евразии.

Цели и задачи исследования. Целью данной работы было генетическое изучение популяций трех наиболее часто встречающихся видов жуков семейства Coccinellidae, обитающих на территории Тувы.

В работе были поставлены следующие конкретные задачи:

- описать состав популяций *Adalia bipunctata* разных районов Тувы и изучить изменение популяционного состава во времени и пространстве;
- изучить генетическую обусловленность особого рисунка на надкрыльях у *Adalia bipunctata*, который встречается только на территории Монголии и Тувы и получить прямые генетические данные о принадлежности проявляющей этот рисунок формы *fasciatopunctata* к виду *Adalia bipunctata*;
- охарактеризовать морфологический полиморфизм *Adonia variegata* и *Harminia axyridis*, которые ранее на территории Тувы не изучались;
- определить присутствуют ли в популяциях кокцинеллид на территории Тувы изменяющие половые соотношения бактерии и при выявлении таких бактерий определить их таксоэкономическую принадлежность.

Научная новизна. Охарактеризован состав популяций двух полиморфных видов *Adonia variegata* и *Harminia axyridis*, ранее на территории Тувы не изучавшихся. Впервые в прямых экспериментах показано отсутствие генетической изоляции форм *Adalia bipunctata* – f.*bipunctata* и f.*fasciatopunctata*, которые систематиками нередко описываются как самостоятельные виды. Впервые проведенный генетический анализ признака *fasciatopunctata* показал, что данный рисунок определяется одним аллелем полигенного локуса, который является предпоследним в ряду доминирования. Впервые на территории Центральной Азии обнаружены бессамцовые линии *Adalia bipunctata*, идентифицированы бактерии, вызывающие явления бессамцовости и показана их идентичность с подобными бактериями, выделенными на территории Восточной Европы. При обсуждении факторов, поддерживающих исключительно высокий уровень полиморфизма в популяциях *Adalia bipunctata*, выдвинута гипотеза, что одним из факторов, поддерживающих этот полиморфизм является мимикрия мюллеровского типа.

Апробация работы. Основные материалы были доложены на конференциях: "Научные чтения, посвященные 100-летию профессора В.П. Чехова", Томск, 2-5 декабря 1997 г.; Научно-практическая конференция ТывГУ, посвященная

"55 годовщине Победы в Великой Отечественной войне", Кызыл, 22-27 апреля 2000 г. и на межлабораторном семинаре ИОГен РАН (январь 2002 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 3 статьи: 1 в зарубежном и 2 в отечественных изданиях.

1. Обзор литературы

1.1 Кокцинеллиды Тувы

Работами А.И. Черепанова (1956) и С.В. Шаровой (1962) видовой состав кокцинеллид Тувы достаточно хорошо изучен. А.И. Черепанов в своем списке привел 38 видов. Этот список был значительно расширен и дополнен С.В. Шаровой. Ею было указано 58 видов кокцинеллид, среди которых 23 вида новых для Тувы, 4 вида новых для Сибири и 1 вид - новый для СССР.

Среди видов описанных С.В. Шаровой нас в дальнейшем будут интересовать три, которым ею дается следующая характеристика:

1. *Adonia variegata* Goeze. Широко распространенный в Евразии и массовый в Туве вид. Встречаются жуки и личинки в течение всего лета до конца сентября, часто на лугах, в степях и реже - в тайге, обычно на крапиве. К югу от хребта Таниу-Ола вид встречается реже. Хищник тлей.

2. *Adalia fasciatopunctata* Fald. Вид с недостаточно выясненным ареалом. Он известен из Южной Сибири, Малой Азии, Сирии и Монголии. Распространение на Кавказе нуждается в проверке. В Туве очень част на лугах, обычен на крапиве, не част в степях и редок в тайге на кустарниках и деревьях.

3. *Leis axyridis* Pall. (синоним – *Harmonia axyridis* Pall.) Маньчжуро-Китайский вид, распространившийся по Южной Сибири, вплоть до севера Казахстана. В Туве не редок, обнаружен в значительных количествах на крапиве. В других районах чаще встречается в лесных стациях, на лесных лугах, на зарослях полыни и реже на открытых лугах. Хищник тлей, резко снижающий численность больших колоний тлей на крапиве, полыни, в огородах и в других местах. Возможно применение его в биометоде борьбы с тлями.

Что касается *Adalia bipunctata*, то по этому поводу автор пишет следующее (1962, стр.1180): "Adalia bipunctata L., по данным Н.Н. Филиппова, на территории Бурятии-Монголии-Алтая замещается видом A. fasciatopunctata

Fald. и поэтому в Туве не мог оказаться. Нами он в Туве не обнаружен, хотя А.И. Черепанов указывает его как массовый вид. Встречавшиеся формы *A. fasciatopunctata* Fald., внешне похожие на обычные формы *A. bipunctata* L., оказывались чаще самцами и в садках давали потомство с различными формами *A. fasciatopunctata* Fald., в том числе и с двуточечными".

Автор описала распределение кокцинеллид по типам растительности, выделяя следующие стации: степи, суходольные луга, речные поймы, леса. Интересующие нас виды являются обычными для степей, сырых лугов речных пойм и болот.

Особо привлекающим кокцинеллид растением в условиях Тувы является крапива двудомная (*Urtica dioica* L.), достигающая высоты 3 м, растущая на пустырях, вокруг селений, огородов, лесопитомников и на местах бывших стоянок кочевников. Микроклиматические условия в зарослях крапивы резко отличаются от окружающих большой влажностью и затененностью. Крапива часто бывает заселена колониями крупных тлей, которыми охотно питаются многие виды коровок. На этом растении С.В. Шарова встречала в значительном количестве такие виды коровок, которые в других местах не встречаются или редки (*Tytthaspis trilineata* Ws., *Leis axyridis* Pall., *Neomysia gebleri* Croths). Ни одно растение не дало таких богатых и разнообразных сборов коровок. Автор привела следующий список видов коровок, встречающихся на крапиве:

1. <i>Adonia variegata</i> Goeze	часто
2. <i>Adonia amoena</i> Fald.	часто
3. <i>Tytthaspis trilineata</i> Ws.	не часто, локально
4. <i>Adalia fasciatopunctata</i>	очень часто
5. <i>Coccinella septempunctata</i> L.	часто
6. <i>Coccinella withei</i> Muls	не редко
7. <i>Coccinella transversoguttata</i> Fald.	часто
8. <i>Coccinella trifasciata</i> L.	часто
9. <i>Coccinella distincta</i> Fald.	не часто
10. <i>Coccinula quatuordecimpustulata</i> L.	не редко
11. <i>Calvia duodecimmaculata</i> Gebl.	не редко

12. <i>Propylaea quatuordecimpunctata</i> L.	редко
13. <i>Neomysia gebleri</i> Crothc.	редко
14. <i>Anatis ocellata</i> L.	редко
15. <i>Thea vigintiduopunctata</i> L.	не редко
16. <i>Leis axyridis</i> Pall.	не редко

Большинство этих коровок питается и размножается на крапиве. Они охотно поедают крупных зеленых крапивных тлей. По-видимому, жуков на крапиву влечет жажды. Вышедшие из куколок жуки очень нуждаются в воде, а крапива является хорошим влажным убежищем в жаркой Туве.

Виды *Adonia variegata* и *Harmonia axyridis* являются высоко полиморфными, но в классической работе Ф.Г. Добржанского (Dobzhansky, 1933), посвященной этим видам, сведений, относящихся к Туве, не имеется, хотя есть данные для близких районов: *Adonia* – Северная Монголия; *Harmonia* – Енисейская Губерния.

Только в работе Я.Я. Лусиса (1973) приведены результаты изучения двух, сделанных студентами в Кызыле и с.Хондергей, сборов *Adalia bipunctata*. Автор, отмечает сходство состава этих популяций с изученными им ранее популяциями Монголии.

Не приводя каких-либо экспериментальных данных, Я.Я. Лусис в этой же работе утверждает, что формы *f.fasciatopunctata*, *f.typica* и близкая к ней *f.anulata* (последние две являются типичными для Европы) принадлежат к одному виду *Adalia bipunctata*. Популяции Монголии и Тувы им выделяются в самостоятельный подвид *Adalia bipunctata fasciatopunctata*.

Изображение интересующих нас видов *Adalia bipunctata* и *Adonia variegata* даны из публикаций В.Н. Кузнецова (1993; 1997) (рис. 1, рис. 2).