

На правах рукописи

**БЛЕХМАН Алла Вениаминовна**

**ВНУТРИПОПУЛЯЦИОННАЯ И ГЕОГРАФИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ  
ШИРОКОАРЕАЛЬНОГО ВИДА *HARMONIA AXYRIDIS* PALL.  
ПО КОМПЛЕКСУ ПОЛИМОРФНЫХ ПРИЗНАКОВ**

03.00.15 - генетика

***АВТОРЕФЕРАТ***

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва, 2009

Работа выполнена в лаборатории цитогенетики Учреждения Российской академии наук Института биологии развития им. Н.К. Кольцова и в лаборатории сравнительной генетики животных Учреждения Российской академии наук Института общей генетики им. Н.И. Вавилова

**Научные руководители:**

доктор биологических наук,  
профессор **Н.Н. Воронцов**

доктор биологических наук,  
член-корреспондент РАН,  
профессор **И.А. Захаров-Гезехус**

**Официальные оппоненты:**

доктор биологических наук,  
профессор **В.Г. Митрофанов**

доктор биологических наук,  
профессор **М.И. Гордеев**

**Ведущее учреждение:**

Биологический факультет Московского  
государственного университета  
им. М.В.Ломоносова

Защита диссертации состоится " 21 " января \_\_\_\_\_ 2009 г. в 16 ч.  
на заседании диссертационного совета Д002.238.01 при Учреждении  
Российской академии наук Института биологии развития им. Н.К. Кольцова  
РАН по адресу: 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института биологии  
развития им. Н.К. Кольцова РАН.

Автореферат диссертации разослан "19" декабря 2008 г

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



Е.Б.Абрамова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Проблема образования видов и подвидов остается актуальной в современной биологии. Ключом к пониманию закономерностей и механизмов микроэволюции является изучение пространственной и временной динамики генофондов, о которой мы можем судить, прежде всего, по внутри- и межпопуляционной изменчивости полиморфных признаков. Кроме того, изучение современной картины внутривидовой и географической изменчивости полиморфных признаков в природных популяциях широкоареальных видов дает возможность делать выводы об их эволюционной истории. Одними из любимых объектов популяционно-генетических исследований давно стали разные виды божьих коровок с присущей им широкой изменчивостью рисунков элитр, генетическая детерминация которых у некоторых видов хорошо изучена.

Объектом наших исследований стала *Harmonia axyridis* (Coleoptera, Coccinellidae) – широкоареальный вид кокцинеллид, у которого ранее было изучено наследование не только рисунка элитр, но и еще одного признака – наличия элитрального гребня. Интерес научного сообщества к этому виду в последнее время особенно вырос в связи с его инвазией и необычайно быстрым распространением, начиная с конца прошлого века, в Северной Америке и в Европе. Однако, большое количество исследований инвазивных популяций *H. axyridis*, проведенных к настоящему времени, связаны с изучением особенностей ее экологии и влияния на природные комплексы в местах инвазии, но практически не затрагивают популяционно-генетические и эволюционные аспекты. Для понимания факторов, обеспечивших быстрое расселение в разных экологических условиях этого вида, выяснения источников инвазии, а также для решения других микроэволюционных проблем, необходимы исследования генетических особенностей как инвазивных, так и нативных (азиатских) популяций *H. axyridis*. Однако, со времен Ф.Г. Добржанского, около 80 лет назад показавшего наличие у этого вида ярко выраженной географической изменчивости рисунка элитр, подробное изучение полиморфизма *H. axyridis* проводилось только на ограниченных участках ареала. Данные этих исследований не позволяют пока сделать обоснованных выводов ни о характере и механизмах поддержания полиморфизма отдельных полиморфных признаков, ни о современной внутривидовой структуре этого вида, ни о возможной эволюционной истории ее образования. Выяснение этого круга вопросов стало предметом нашего исследования.

**Цель и задачи исследования.** Цель работы – на основе анализа внутривидовой и географической изменчивости комплекса полиморфных морфологических признаков и полиморфизма участка гена *COI* мтДНК уточнить степень внутривидовой дифференциации *H. axyridis* и восстановить вероятную историю ее формирования.

Для достижения этой цели были поставлены конкретные задачи:

- составить кадастровый список находок *H. axyridis* и построить карту ареала вида;
- изучить внутривидовую изменчивость рисунка пронотума, выделить дискретные варианты признака и исследовать сопряженность изменчивости рисунка пронотума с рисунком элитр и с полом;

- исследовать внутривидовую и географическую изменчивость трех морфологических признаков: рисунка элитр, рисунка пронотума, наличия элитрального гребня, сделать выводы о характере их полиморфизма;
- проанализировать полиморфизм молекулярно-генетического маркера (участка гена мтДНК, кодирующего малую субъединицу цитохромоксидазы I (*COI*)) в некоторых популяциях из разных участков ареала;
- сопоставить между собой географическую изменчивость всех признаков и сделать выводы о внутривидовой структуре *H. axyridis* и возможной эволюционной истории ее формирования.

**Научная новизна.** Впервые у кокциnellид для анализа внутривидовой изменчивости использован комплекс трех полиморфных признаков. Генетическая детерминация двух из них – рисунка элитр и наличия элитрального гребня – хорошо известна; рисунок пронотума, генетическая детерминация которого неизвестна, для анализа межпопуляционной изменчивости нами использован впервые. Также впервые у кокциnellид в качестве общепопуляционной характеристики применяется коэффициент сопряженности V (Крамера) рисунков пронотума и элитр. Подробный анализ изменчивости рисунка пронотума показал наличие полового диморфизма, до сих пор у кокциnellид половой диморфизм рисунка покровов никем не описывался. Также впервые у *H. axyridis* предпринято исследование полиморфизма митохондриального гена *COI*. Применение комплекса признаков, в том числе не использовавшихся ранее, позволило доказать подвидовой уровень различий между восточными и западными группами популяций и показать, что зоны клинальной изменчивости морфологических признаков - результат их вторичной гибридизации.

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные результаты приближают нас к пониманию проблемы соотношения полиморфизма и процессов микроэволюции - одной из центральных в эволюционной биологии. Комплекс полиморфных морфологических признаков и молекулярно-генетического маркера, может с успехом применяться для хронологического и географического мониторинга как исходных (нативных), так и инвазивных популяций *H. axyridis*. Основные результаты работы и их иллюстрации могут быть использованы в курсах лекций по генетике популяций и теории эволюции и при подготовке учебной литературы.

**Апробация работы.** Основные материалы диссертации были представлены на конференции «Современные проблемы биологической эволюции» (17–20 сентября 2007 г.) и на VII съезде ВОГиС, Саратов, 20-25 декабря 1994 г.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 5 статей (из них 3 - в изданиях, рекомендованных ВАК) и 2 тезисов докладов в материалах российских конференций.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из Введения, 4-х глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты, обсуждение результатов), выводов и списка литературы, содержащего 153 цитируемых источника, из них 82 - на иностранном языке. Работа изложена на 137 страницах, имеет 12 таблиц и 18 рисунков.

## Глава 1. Обзор литературы

Обзор литературы состоит из двух частей. В первой приведены данные о биологических особенностях *H. axyridis*, как объекта популяционно-генетических исследований. Во второй части анализируются данные литературы по различным направлениям изучения внутривидового полиморфизма у *H. axyridis* и других видов кокциnellид.

## Глава 2. Материал и методы

### 2.1. Материал

По морфологическим признакам проанализировано 47 сборов *H. axyridis* общим объемом 29695 экз. из 27 различных локалитетов российской части видового ареала. Материал собирался нами и по нашей просьбе другими коллекторами, смонтирован мной и в виде энтомологической коллекции хранится в ИБР РАН им. Н.К. Кольцова. Также в работе использованы некоторые сборы И.А. Захарова, хранящиеся у него. Жуки собирались без специального выбора во время осеннего лета на зимовку (или весеннего вылета после зимовки), часть сборов сделана из размножающихся колоний. Частично использован также материал энтомологической коллекции ЗИН РАН – около 5000 экз. из 79 локалитетов. Последовательность нуклеотидов участка гена *COI* проанализирована у 74 экз. из Горно-Алтайска (27), Владивостока (22) и Денвера (США) (25) (источником инвазии этого вида в США, по общему мнению, является Китай).

### 2.2. Методы исследования

#### 2.2.1. Первичный анализ морфологических признаков и методы статистического анализа данных

Морфологические признаки и пол изучались при 16-32-кратном увеличении бинокля. Пол определялся по окраске головы и форме последнего сегмента брюшка. На первом этапе данные наблюдений сводились в таблицы сопряженности, анализ которых проводился в пакете Statistica 6.0. Для оценок долей фенотипов и их статистических ошибок использованы стандартные формулы. Частота рецессивного аллеля  $r$ , определяющего отсутствие элитрального гребня, определялась из соотношения Харди-Вайнберга.

Для оценки степени сопряженности рисунка пронотума с рисунком элитры использовалась мера V-Крамера, принимающая значения от 0 до 1 и позволяющая оценивать степень корреляции признаков по несимметричным таблицам сопряженности. Коэффициент V рассчитывался по формуле  $V = \sqrt{\chi^2 / N \cdot \min(k-1, m-1)}$ , его ошибка –  $S_V = \sqrt{1 / N \cdot \min(k-1, m-1)}$ , где  $N$  – объем выборки,  $k$  и  $m$  – количества градаций признаков в таблице сопряженности, из которых используется минимальное значение.

Также нами применялись показатели популяционного разнообразия: коэффициент  $\mu$  (среднее число морф) =  $\left( \sum_{i=1}^m \sqrt{p_i} \right)^2$ , и  $h_\mu$  (доля редких морф) =  $1 - \mu/m$ , со статистическими ошибками –  $S_\mu = \sqrt{\frac{\mu(m-\mu)}{N}}$  и  $S_{h_\mu} = S_\mu/m$  – соответственно. При

этом  $m$  – количество различных морф признака,  $p_1 - p_m$  – их относительные частоты и  $N$  – объем выборки (Животовский, 1982).

Для взаимной классификации выборок применялся кластерный анализ, который проводился в пакете Statistica 6.0 в опции Многомерные исследовательские методы, анализ кластера, по методу полной связи (Complete Linkage) с использованием матрицы евклидовых дистанций (Euclidean distances). Достоверность сходства и различий выборок оценивалась стандартно по критерию  $\chi^2$ .

Сравнительный статистический анализ нуклеотидных последовательностей участка гена *COI* мтДНК проводили в программе MEGA 2.1. Дендрограмма сходства нуклеотидных последовательностей была построена по методу Neighbor-Joining с использованием двухпараметрической модели эволюции нуклеотидных последовательностей М. Кимуры.

### 2.2.2. Молекулярно-генетические методы

Нами исследована изменчивость участка гена мтДНК, кодирующего малую субъединицу цитохромоксидазы I (*COI*). Выделение ДНК из божьих коровок проводилось с помощью набора для выделения ДНК D1Atom DNA Prep фирмы "Изоген" (Россия) в соответствии с инструкцией фирмы производителя. Метод основан на использовании лизирующего реагента с гуанидинтиоцианатом, в присутствии которого ДНК активно сорбируется на NucleoS<sup>TM</sup>- сорбенте. Затем ДНК отмывается от белков и солей спиртовым раствором и элюируется из сорбента ЭкстраГеном Е<sup>TM</sup>. Для амплификации фрагмента гена *COI* размером 658 п.н. проводилась ПЦР с парой праймеров: LCO1490 (5'-GGTCAACAATCATAAAGATATTGG-3') и HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'), в которой использовали по 0,1 мкг выделенной тотальной ДНК. ПЦР проводилась на термоциклере GeneAmp<sup>R</sup> RCR System 2700 (Applied Biosystems) (США) с использованием наборов для амплификации PCR Core ("Изоген", Россия) в конечном объеме 50  $\mu$ l. Продукты амплификации визуализировали методом электрофореза в 1% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. Выделение из геля и очистка ПЦР-продукта проводились с использованием набора для элюции JETQUIK фирмы Genomed (Германия) в соответствии с инструкцией фирмы производителя. Секвенирование продуктов амплификации проводилось с обоих праймеров на приборе ABI PRISM 310 с использованием реагентов фирмы "Applied" (США) согласно рекомендациям фирмы-производителя.

## Глава 3. Результаты исследования

### 3.1. Кадастровый список находок *H. axyridis* и карта нативной части видового ареала

На первом этапе нашей работы была создана подробная карта видового ареала на основе кадастрового списка находок вида, составленного по материалам коллекций ЗИН и ИБР РАН, а также данным литературы. Все локализованные точки находок (136 точек) нанесены на карту, представленную в диссертации. Здесь имеет смысл привести координаты лишь некоторых пограничных точек: Тюкалинск Омской области – 55°51' с.ш., 72°11' в.д.; с. Андреевка Сар-

кандского района Талды-Курганской области – 45°39' с.ш., 79°22' в.д.; Якутск 62°02' с.ш., 129°43' в.д.; Шантарские острова 54°54' с.ш., 137°32' в.д. В западной части южной границы ареала пограничные точки находятся в северной Монголии на 47–48-м градусах северной широты; далее в Китае: Бухта-ци (Чжаланьтунь) – 48°30' с.ш., 123°00' в.д.; Lun-ngan-fu -32° с.ш., 104° в.д.; провинция Szechwan – 28° с.ш., 112° в.д. На востоке ареала пограничные точки находятся на юге о. Сахалин, о. Кунашир и Японских островах.

### 3.2. Изменчивость *H. axyridis* по комплексу признаков

#### 3.2.1. Изменчивость рисунка элитр

##### 3.2.1.1. Внутривидовая изменчивость

В исследованных выборках обнаружено 16 различных фенотипов рисунка элитр, которые могут являться проявлением различных сочетаний 9 аллелей соответствующего гена. Семь типов рисунка определяются комбинациями четырех обычных аллелей серии, располагающихся по порядку доминирования следующим образом: *conspicua* (C) > *spectabilis* (Sp) > *axyridis* (Ax) > *succinea* (s). Остальные 9 фенотипов являются проявлением пяти редких аллелей. Суммарная доля редких фенотипов во всей массе данных составляет всего 0,11%, что позволяет пренебречь их встречаемостью при дальнейшем статистическом анализе выборок. Особенности доминирования в данной серии не позволяют точно оценить число гетерозигот, а наличие в литературе данных о случаях неслучайного скрещивания и наличия микростациальной изменчивости у *H. axyridis* не позволяет корректно использовать соотношения Харди-Вайнберга для теоретического расчета аллельных частот. В связи с этим дальнейший анализ выборок проводился по распределению четырех реальных фенотипических классов: *conspicua*, *spectabilis*, *axyridis* и *succinea*, полученных при объединении соответствующих гомо- и гетерозиготных по аллелю *succinea* фенотипов.

##### 3.2.1.2. Внутрипопуляционная изменчивость

**Сезонная изменчивость** рисунка элитр исследовалась в трех различных локалитетах в парах последовательных весенних и осенних выборок. Полученные результаты приводятся в табл. 1. Они показывают, что в паре выборок из

Таблица 1. Сезонная изменчивость рисунка элитр

В ы б о р к а			Частота фенотипов элитр, %			Достоверность различий	
Локалитет	Дата сбора	N	<i>conspicua</i>	<i>spectabilis</i>	<i>succinea</i>	$\chi^2$	<i>p</i>
Заповедник "Бастак"	октябрь 2000	83	7,23±2,84	7,23±2,84	85,54±3,86	10,95	0,00
	май 2001	57	15,79±4,83	22,81±5,56	61,40±6,45		
Владивосток, ст. Седанка	10–13.10.2002	130	8,46±2,44	8,46±2,44	83,08±3,29	1,01 0,39	0,60 0,82
	12.05.2003	129	5,43±1,99	7,75±2,35	86,82±2,98		
	6–7.10.2003	475	5,68±1,06	9,47±1,34	84,84±1,65		
о. Попова	5.10.1974	396	6,31±1,22	8,33±1,39	85,35±1,78	2,87	0,24
	10–11.05.1975	137	2,92±1,44	6,57±2,12	90,51±2,50		

заповедника "Бастак" различия частот меланистов и фенотипа *succinea* высоко достоверны. При этом направление их динамики противоположно наблюдаемому в обеих приморских популяциях, в которых в весенних выборках наблюдается статистически недостоверное повышение частоты фенотипа *succinea* и понижение доли меланистов.

**Микрогеографическая изменчивость.** Для оценки возможной микрогеографической изменчивости *H. axyridis* во время осеннего лета 2003 г. жуки собирались в 4 точках Владивостока. По два сбора из тех же мест и 1 из Ботанического сада были сделаны в 1995, 2002 и 2004 годах. Результаты анализа встречаемости фенотипов элитр в этих выборках, представленные в табл. 2, показывают, что различия в частотах отдельных фенотипов между выборками,

Таблица 2. Микрогеографическая изменчивость рисунка элитр в г. Владивосток

год	Точка и дата сбора	Объем выборки	Доли фенотипов элитр в %			
			<i>conspicua</i>	<i>spectabilis</i>	<i>axyridis</i>	<i>succinea</i>
2004	ст. Седанка, 11 окт.	150	5,33±1,83	5,33±1,83	0,67±0,66	88,67±2,59
	Академ. гор-к, осень	795	5,28±0,79	8,05±0,96		86,67±1,21
2003	ст. Угольная, 6–8 окт.	113	6,19±2,27	7,08±2,41		86,73±3,19
	ст. Седанка, 6,7 окт.	475	5,68±1,06	9,47±1,34		84,84±1,65
	Академ. гор-к, 4 окт.	408	5,39±1,12	5,15±1,09		90,93±1,42
	2-я речка, 13,20 окт.	204	9,31±2,03	4,90±1,51		85,78±2,44
2002	ст. Седанка, 10–13 окт.	130	8,46±2,44	8,46±2,44		83,08±3,29
	Академ. гор-к, 04–10 окт.	1722	6,04±0,57	6,45±0,59		87,51±0,80
1995	Академ. гор-к, 28.сент.	1144	7,17±0,76	7,69±0,79		85,14±1,05
	Ботанический сад, 17 окт.	3987	5,29±0,35	5,54±0,36		89,16±0,49

собранными на ст. Седанка и в Академгородке в 2002, 2003 и 2004 гг. не имеют определенного направления. При этом в сборах 2003 г. различия между выборками из наиболее удаленных друг от друга точек (ст. Угольная – 2-я речка) по частоте фенотипа *succinea* меньше, чем между выборками из наиболее близких точек сборов (ст. Седанка – Академгородок), различия между которыми максимальны. В динамике частот других типов элитр географические закономерности также не обнаруживаются. Проверка достоверности различий между выборками за каждый год показала, что статистически достоверно различаются между собой только выборки 1995 г. (Академгородок – Ботанический сад) –  $\chi^2=13,9267$ ,  $p=0,0009$ , собранные с трехнедельным интервалом. Эти различия могут объясняться не столько микрогеографической изменчивостью, сколько возможными различиями в поведении разных морф во время лета на зимовку.



**Долговременная изменчивость.** При анализе долговременной динамики весенние выборки исключены из анализа, а осенние, сделанные в один год в разных районах Владивостока, объединены, поскольку их сравнительный анализ не показал наличия микрогеографической изменчивости. Объединены также однородные выборки 1983 г. из Новосибирска ( $\chi^2=0,551447$ ,  $p=0,7590$ ) и мономорфные (100% *axyridis*) выборки из Горно-Алтайска (1983, 2005 и 2006 гг.). Частоты фенотипов в повторных выборках приведены в табл. 3. Здесь же по некоторым популяциям (или регионам) приведены соответствующие данные Ф.Г. Добржанского начала прошлого века.

Таблица 3. Долговременная изменчивость рисунка элитр

выборка			Доли фенотипов рисунка элитр в %			
Локалитет	год сбора	объем	<i>conspicua</i>	<i>spectabilis</i>	<i>axyridis</i>	<i>succinea</i>
Новосибирск	1983	653			99,85±0,15	0,15±0,15
	2006	164			100,00±0,00	
Горно-Алтайск	1983–2006	362			100,00±0,00	
Алтайские горы*	до 1933	4013			99,95±0,04	0,05±0,04
п. Листвянка	1960	74			91,89±3,17	8,11±3,17
	1983	248			83,47±2,36	16,53±2,36
Иркутская область**	1960–1998	894			89,04±1,04	10,96±1,04
Иркутская провинция*	до 1933	73			84,90±4,19	15,10±4,19
Владивосток	1976	1497	3,07±0,45	3,74±0,49		93,19±0,65
	1979	435	10,80±1,49	13,56±1,64		75,63±2,06
	1980	371	6,20±1,25	5,93±1,23		87,87±1,69
	1995	5131	5,71±0,32	6,02±0,33		88,27±0,45
	2002	1852	6,21±0,56	6,59±0,58		87,20±0,78
	2003	1200	6,18±0,70	7,00±0,74		86,82±0,98
	2004	945	5,29±0,73	7,62±0,86	0,11±0,11	86,98±1,09
	1976–2004	11431	5,68±0,22	6,33±0,23	0,01±0,01	88,03±0,31
Владивосток	до 1933	765	6,80±0,91	6,00±0,86	0,80±0,32	85,60±0,14
о. Попова	1974	396	6,31±1,22	8,33±1,39		85,35±1,78
	1980	186	2,69±1,19	4,30±1,49		93,01±1,87
	1986	2292	4,32±0,42	4,36±0,43	0,04±0,04	91,27±0,59

\*Сборы Ф.Г. Добржанского (1933); \*\*Объединенная выборка, включающая сборы из Иркутской области: п. Листвянка (1960, 1983 гг.), д. Байкал (1982 г.), Иркутска (1998 г.).

Согласно представленным результатам долговременная изменчивость в популяциях Новосибирска и Алтая отсутствует. Выборки из п. Листвянка 1960–

1983 гг. различаются, но по критерию  $\chi^2$  - не достоверно ( $\chi^2=3,24460$ ,  $p=0,0717$ ). Различия между объединенной выборкой из Иркутской области 1960–1998 гг. и данными Ф.Г. Добржанского (1933) по Иркутской провинции также не являются достоверными –  $\chi^2=1,15652$ ,  $p=0,2822$ . Наиболее полно долговременная изменчивость проанализирована в популяции Владивостока, из которой сборы делались в течение 7 лет - с 1976 по 2004 гг. Результаты показывают, что выборки 1976 и 1979 гг. значительно отличаются друг от друга и от всех остальных. При этом в 1976 г. по сравнению с основной массой выборок наблюдается относительно повышенная частота фенотипа *succinea*, а в 1979 г. пониженная. Доли меланистов меняются в обратном направлении в целом параллельно друг другу. Выборки 1980–2004 гг. по критерию  $\chi^2$  однородны ( $\chi^2 = 6,05050$ ,  $p=0,6416$ ), в то время как каждая из первых двух достоверно отличается от их общей массы – выборка 1976 г. с  $\chi^2=37,7529$  и 1979 г. – с  $\chi^2=55,5145$ ,  $p=0,000$  в обоих случаях. Объединенная выборка из Владивостока (1976–2004 гг.) также достоверно отличается от данных Ф.Г. Добржанского –  $\chi^2 = 79,0977$ ,  $p=0,000$ . Однако эти различия определяются отклонением частоты фенотипа *axuridis* (частный  $\chi^2_{axuridis} = 72,2355$ ), а при учете распределения только трех обычных для этой популяции фенотипов – *conspicua*, *spectabilis* и *succinea* – эти выборки оказываются однородными –  $\chi^2=2,03548$ ,  $p=0,3614$ .

Выборки (1974, 1980 и 1986 гг.) с о. Попова также различаются статистически достоверно – общий  $\chi^2 = 16,8564$ ,  $p=0,0021$ . При этом выборка 1974 г. отличается от выборок 1980-х гг. гораздо значительно, чем последние между собой. Направления динамики отдельных фенотипов, как и в популяции Владивостока, представляют собой колебания вокруг средних значений.

### 3.2.1.3. Географическая изменчивость

Поскольку закономерной внутривнутрипопуляционной динамики рисунка элитр обнаружено не было, для оценки его географической изменчивости повторные выборки из одних и тех же локалитетов были объединены. Частоты фенотипов сведены в таблицу и в виде круговых диаграмм нанесены на географическую карту, которые даны в тексте диссертации. Там же приведены данные литературы по тем участкам ареала, из которых нет нашего материала, и рассчитанные нами величины коэффициентов внутривнутрипопуляционного разнообразия  $\mu$  и  $h_{\mu}$ . Эти данные показывают, что все выборки по распределению частот фенотипов элитр можно объединить в четыре группы. Первая из них включает выборки из популяций Новосибирска, Кемерово и Алтая, практически мономорфные по фенотипу *axuridis*, аллель *succinea* здесь встречаются очень редко, преимущественно в гетерозиготном состоянии. Вторая группа включает выборки из популяций от Красноярского края до Верхоленска, в ней наблюдается плавное увеличение частоты фенотипа *succinea* с запада на восток от  $0,90 \pm 0,90\%$  – в Красноярском крае до  $19,50 \pm 4,52\%$  – в Верхоленске и соответствующее снижение доли фенотипа *axuridis*. Третья группа образована выборками из Забайкалья – от собранной в 12 км от Байкальска, до Н. Цасучея. Первая из них, с частотами фенотипов *succinea* и *axuridis* по  $49,77 \pm 3,39\%$ , резко отличается от забайкальских выборок, в которых соответствующие частоты равны  $14,60 \pm 1,97\%$

и  $10,73 \pm 1,64\%$  (п. Листвянка) и  $85,40 \pm 1,97\%$ ,  $89,27 \pm 1,64\%$  (д. Байкал). Здесь же впервые с частотой  $0,46\%$  появляется фенотип *conspicua*. Остальные выборки этой группы показывают в целом однонаправленное с запада на восток снижение доли фенотипа *axuridis* и увеличение частоты фенотипа *succinea* (Н. Цасучей) до  $22,95\%$  и  $73,77\%$  – соответственно. Суммарные частоты фенотипов *spectabilis* и *conspicua* в этих выборках достигают уже  $5\%$ .

Четвертая группа, переход к которой наблюдается на юге Читинской области (с. Капцагайтуй) включает все выборки из популяций, обитающих восточнее Читинской области. Для них характерны очень низкие частоты фенотипа *axuridis* и повсеместно высокие – *succinea* ( $84,13\%$  –  $93,56\%$ ), меняющиеся между популяциями без определенного направления, также как и доли фенотипов *conspicua* и *spectabilis*, которые у каждого из них варьируют от  $3\%$  до  $9\%$ , в

основном параллельно друг другу. Амплитуды межпопуляционных колебаний частот всех фенотипов, обычных для этой группы выборок, не велики и не превышают обнаруженные при анализе внутривидовой изменчивости в популяциях Владивостока и о. Попова. Отсутствие направленной географической динамики между восточными популяциями хорошо видно также по результатам кластерного анализа, представленным на рис. 1.

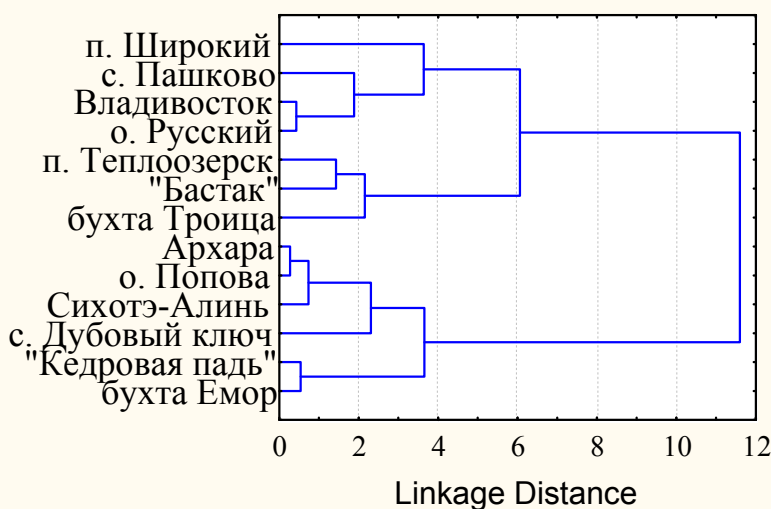


Рис. 1. Результаты кластерного анализа выборок из восточной группы популяций по распределению фенотипов элитр.

### 3.2.2. Изменчивость элитрального гребня

Элитральный гребень – поперечный хитиновый валик, расположенный на нижних концах элитр. Его развитие контролируется одним аутосомным диаллельным геном при полном доминировании. Поскольку факты о нарушении панмиксии по этому признаку не известны, для оценки его популяционной динамики использовались теоретически рассчитанные частоты рецессивного аллеля  $r$  ( $q_r$ ), определяющего в гомозиготе отсутствие элитрального гребня.

**Внутривидовая изменчивость.** Частоты рецессивных гомозигот ( $Q_{(rr)}$ ), аллеля  $r$  ( $q_r$ ) и результаты проверки достоверности различий между повторными выборками из каждой популяции сведены в табл. 4, по данным которой видно, что достоверными можно признать (на уровне значимости  $0,05$ ) только различия между выборками из популяции пос. Листвянка (1960 – 1983 гг.), в остальных популяциях внутривидовая изменчивость встречаемости элитрального гребня не обнаруживается.

Табл. 4. Внутрипопуляционная изменчивость элитрального гребня

Локалитет	дата выборки	объем выборки	доля рецессив- ных гомозигот ( $Q_{rr}$ ) в %	доля рецес- сивного алеля ( $q_r$ ) в %	$\chi^2$	p	
Новосибирск	10–16.10.1983	536	76,31±1,84	87,36±1,05	1,80	0,41	
	осень 1983	117	70,94±4,20	84,23±2,49			
	26–30.09.2006	164	73,17±3,46	85,54±2,02			
Горно-Алтайск	сентябрь 2005	57	70,18±6,06	83,77±3,62	0,02	0,89	
	18.08.2006	19	68,42±10,66	82,72±6,45			
Листвянка	1960	74	68,92±5,38	83,02±3,24	6,24	0,01	
	1983	249	82,33±2,42	90,74±1,33			
Бастак	октябрь 2000	83	2,41±1,68	15,52±5,42	0,08	0,78	
	май 2001	58	1,72±1,71	13,11±6,51			
Владивосток	2-ая речка	октябрь 2003	204	0,98±0,69	9,90±3,48	6,54	0,76
	Ботанич. сад	17.10.1995	3995	1,53±0,19	12,37±0,78		
	Академгородок	28.09.1995	1146	0,96±0,29	9,80±1,47		
		4–10.10.2002	1725	1,68±0,31	12,96±1,19		
		4.10.2003	414	1,93±0,68	13,89±2,43		
		осень 2004	796	1,51±0,43	12,29±1,76		
	ст. Седанка	10–13.10.2002	130	0,77±0,77	8,77±4,37		
		12.05.2003	130	1,54±1,08	12,41±4,35		
		октябрь 2003	475	0,84±0,42	9,17±2,28		
		11.10.2004	150	1,33±0,94	11,53±4,06		
ст. Угольная	6–8.10.2003	113	2,65±1,51	16,28±4,64			

**Географическая изменчивость.** В соответствии с результатами анализа внутрипопуляционной динамики элитрального гребня, для оценки его географической изменчивости повторные выборки были объединены, а из популяции п. Листвянка учитывается более поздняя – 1983 г. Результаты кластерного анализа выборок из разных популяций по встречаемости элитрального гребня, представленные на рис. 2, показывают, что группа восточных популяций (Архара – б. Троица) образует кластер с минимальными дистанциями между выборками. Различия между составляющими его выборками при уровне значимости  $\alpha=0,01$  не достоверны ( $\chi^2=14,4632$ ,  $p=0,0436$ ). В этих популяциях  $Q_{(rr)}$  и  $q_r$  колеблются от  $0,8\pm0,56\%$  и  $8,94\pm3,15\%$  (п. Теплоозерск) до  $2,71\pm0,77\%$  и  $16,46\pm2,35\%$  (б. Троица). Дистанции между выборками из западных популяций (Кемерово – Горно-Алтайск) значительно выше. Однако, статистически достоверно отличаются от остальных только выборки из Новосибирска и Горно-Алтайска, в которых  $Q_{(rr)}$  равны  $74,91\pm1,52\%$  и  $69,44\pm5,27\%$ , а  $q_r$  -  $86,55\pm0,88\%$  и  $83,51\pm3,15\%$  – соответственно. Выборки из остальных 5-ти популяций этой группы однородны ( $\chi^2=1,95189$ ,  $p=0,7446$ ), при достоверных различиях для всей группы в целом ( $\chi^2=23,1530$ ,  $p=0,0007$ ).  $Q_{(rr)}$  и  $q_r$  в этих выборках составляют

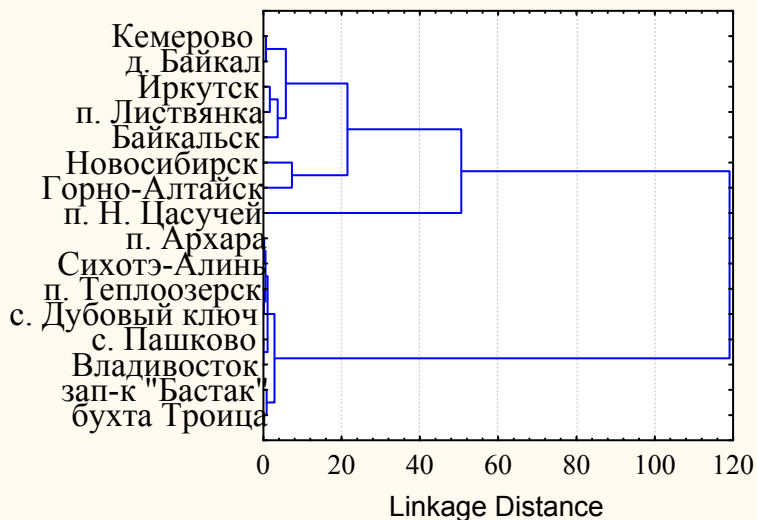


Рис. 2. Результаты кластерного анализа выборок по встречаемости элитрального гребня

80,87±2,12% – 84,93±2,42% и 89,93±1,18% – 92,16±1,31% – соответственно. Дендрограмма показывает также, что дистанции между выборками в каждом из двух кластеров не зависят от их географического положения. Выборка из Н. Цасучей имеет промежуточные между этими двумя группами значения соответствующих частот:  $Q_{(IT)} = 49,18 \pm 6,40\%$ ,  $q_T = 70,13 \pm 4,56\%$ .

### 3.2.3. Изменчивость рисунка пронотума

**Внутривидовая изменчивость.** Анализ рисунка пронотума у 14597 экз. *H. axyridis* (27 выборок из 12 локалитетов) позволил выделить 14 дискретных фенотипов, обозначенных на рис. 3 арабскими цифрами. Римскими цифрами обозначены полученные в результате объединения некоторых фенотипов категории, которые использованы для оценки внутрипопуляционных коэффициентов сопряженности рисунка пронотума с фенотипом элитр.

Различия между 2-м и 3-м, 11-м и 12-м, и 13-м и 14-м фенотипами в значительной степени количественные и могут трактоваться как модификацион-

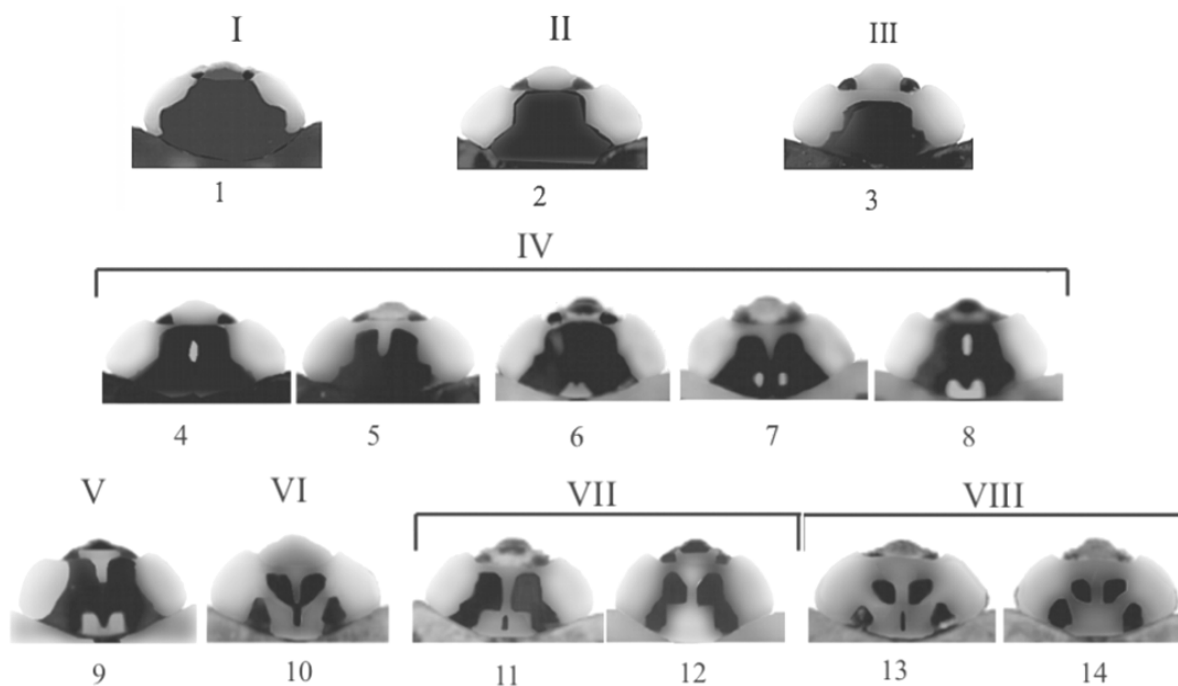


Рис. 3. Дискретные фенотипы рисунка пронотума.

ные. Переходы между остальными фенотипами значительно более дискретны, особи с промежуточным характером рисунка практически не встречаются.

**Сопряженность рисунка пронотума с фенотипом элитр.** Высокая сопряженность изменчивости рисунка пронотума с рисунком элитр была обнаружена еще Ф.Г. Добржанским, проанализировавшим небольшой по объему материал и использовавшим для определения степени корреляции коэффициент Пирсона. Нами предпринято аналогичное исследование на более массовом материале и с использованием более адекватного показателя корреляции качественных признаков – коэффициента сопряженности  $V$  (Крамера).

Анализ сопряженности рисунка пронотума и рисунка элитр показал наличие высокосignificantной корреляции этих признаков с показателем степени сопряженности  $V$  (Крамера) =  $0,5521 \pm 0,0047$  при  $p \ll 0,01$ . Также показатели  $V$  (Крамера) были оценены отдельно только среди меланистов (3 категории фенотипа элитр: *conspicua*, *spectabilis*, *axyridis*) и для всей выборки, при объединении меланистов в один класс (т.е. для 2-х категорий фенотипа элитр: меланисты и *succinea*). Они равны соответственно  $0,1307 \pm 0,0127$  и  $0,9425 \pm 0,0081$ , при  $p \ll 0,01$  в обоих случаях. Данные по распределению типов рисунка пронотума среди жуков с разными фенотипами элитр, которые представлены на рис. 4, показывают, что наиболее обычные для всех меланистов более меланизированные типы рисунков пронотума (2 – 5), у жуков фенотипа *succinea* – являются самыми редкими. Фенотипы 10 – 14 встречаются только у жуков *succinea*, а самый обычный для этого фенотипа элитр – 9-ый тип рисунка, у меланистов обнаружен с очень низкой частотой, только у жуков фенотипа *axyridis*. Типы пронотума 6–8 также являются редкими, хотя у жуков с элитрами *succinea* встречаются чаще, чем у меланистов.

**Половой диморфизм рисунка пронотума.** Анализ сопряженности рисунка пронотума с полом показывает наличие высокосignificantной ( $p=0,0000$ ) корреляции, хотя степень ее не очень велика ( $V$ -Крамера =  $0,4509$ ). Данные по встречаемости фенотипов рисунка пронотума среди особей разного пола и с разными фенотипами элитр представлены в виде соответствующих гистограмм на рис. 4. Там же указаны соответствующие коэффициенты популяционного разнообразия  $\mu$  и  $h_{\mu}$ , характеризующие степень и структуру разнообразия рисунка пронотума для каждого фенотипа элитр и одновременно для каждого пола. По гистограмме видно, что независимо от фенотипа элитр у самок частоты относительно более меланизированных типов рисунка пронотума (с 1-го по 9-ый) выше, чем у самцов, а частоты менее меланизированных (с 10-го по 14-й) ниже. При этом величина коэффициента сопряженности рисунка пронотума с полом для жуков с элитрами фенотипа *succinea* равна  $0,43 \pm 0,01$ , *conspicua* –  $0,53 \pm 0,04$ , *spectabilis* –  $0,56 \pm 0,04$  и *axyridis* –  $0,60 \pm 0,02$ . В то же время коэффициент сопряженности рисунка пронотума с фенотипом элитр для жуков разного пола практически идентичен и составляет  $0,55 \pm 0,01$  – у самок,  $0,57 \pm 0,01$  – у самцов при анализе по четырем основным фенотипам элитр, и  $0,96 \pm 0,01$  – у самцов,  $0,94 \pm 0,01$  – у самок при объединении всех меланистов в один класс.

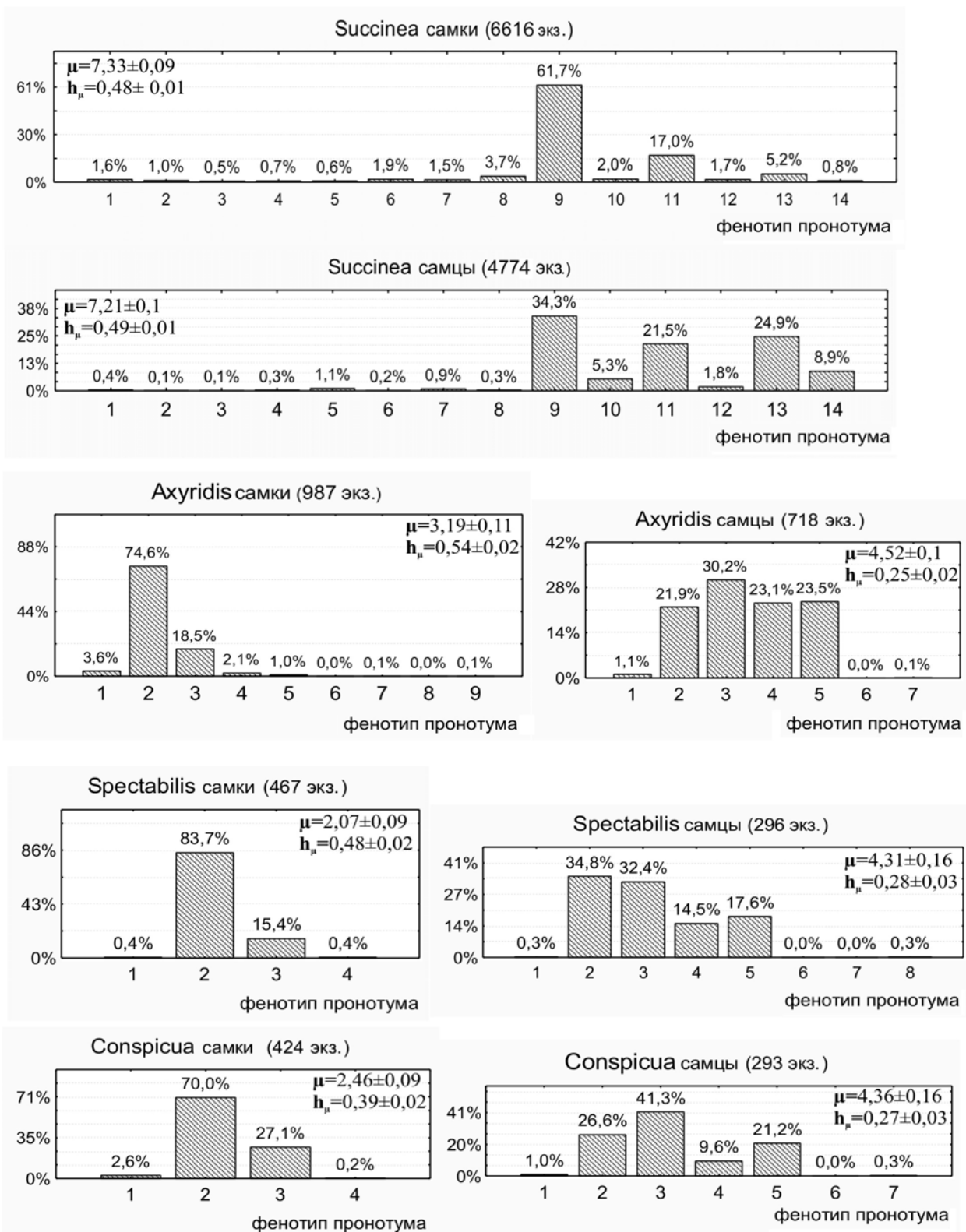


Рис. 4. Сопряженность рисунка пронотума с фенотипом элитр и с полом.

**Внутрипопуляционная динамика** рисунка пронотума изучалось в повторных выборках из Новосибирска и Владивостока. Выборки из Новосибирска 1983 г. и 2006 г., в которых присутствуют только меланисты, достоверно различаются между собой ( $\chi^2=84,7124$ ,  $p=0,000$ ). В сборе 2006 г. с частотой более 3% появляется 1-ый тип рисунка пронотума, частота 2-го типа возрастает почти

вдвое (по сравнению с 1983 г.), а частоты 3-го – 5-го типов резко уменьшаются и выравниваются между собой. В целом распределение фенотипов пронотума в выборке 2006 года становится более близким к таковому в выборке меланистов из Иркутска 1998 г.

Кластерный анализ выборок меланистов из Владивостока не выявил каких-либо закономерностей. Напротив, результаты кластерного анализа выборок жуков с элитрами *succinea*, представленные на рис. 5, показывают, что дистанции между выборками и их объединение в кластеры не зависят от точки, но соответствуют датам сборов.

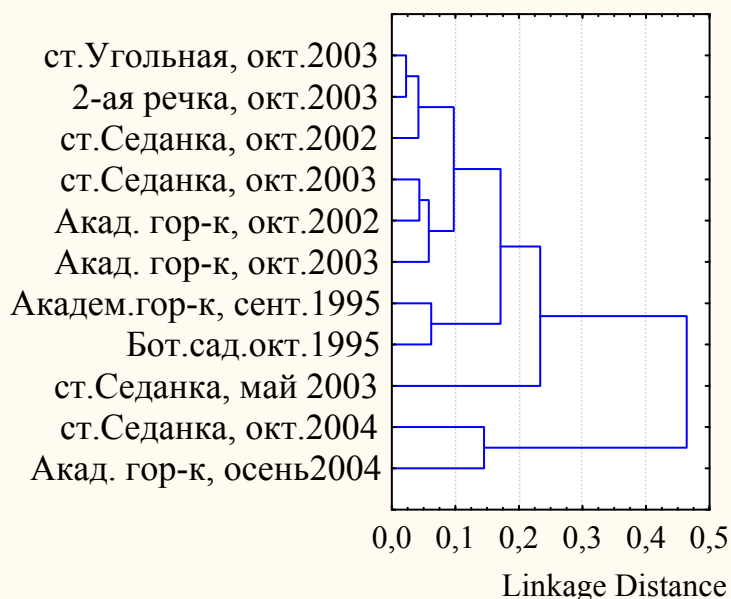


Рис. 5. Результаты кластерного анализа выборок из Владивостока по частотам фенотипов пронотума у жуков с элитрами *succinea*.

Так, различия между шестью осенними выборками 2002 и 2003 г.г. из 4-х различных точек города, не достоверны –  $\chi^2=80,0097$ ,  $p=0,0998$ . От них достоверно отличаются обе выборки 1995 г. ( $p=0,000$ ) и еще значительнее – весенняя выборка 2003 г. Выборки 2004 г., различающиеся между собой не достоверно ( $\chi^2=23,1429$ ,  $p=0,0169$ ), показывают максимальные отличия от всех остальных. Существенное отличие от основного кластера 2002–2003 гг. майской выборки 2003 г.

позволяет предполагать наличие сезонной изменчивости. Однако, сравнение по критерию  $\chi^2$  трех последовательных выборок из этой точки сбора: 10–13.10.2002; 12.05.2003; 6,7.10.2003 (ст. Седанка) не показывает статистически достоверных различий: общий  $\chi^2 = 35,5528$ ,  $p=0,0607$ ; для пары выборок осень 2002 – весна 2003  $\chi^2=16,6851$ ,  $p=0,1176$ ; а для пары весна 2003 – осень 2003  $\chi^2=16,2588$ ,  $p=0,1319$ .

**Географическая изменчивость.** Для анализа макрогеографической изменчивости повторные выборки из Новосибирска, Владивостока, п. Листвянка и заповедника "Бастак" были объединены. Данные о частотном распределении типов рисунка пронотума в исследованных выборках сведены в таблицу, которая приводится в тексте диссертации. Результаты кластерного анализа меланистов, как и при исследовании внутривидовой динамики, не выявили географических закономерностей. Напротив, выборки жуков фенотипа *succinea* (рис. 6) объединяются строго в соответствии с географическим положением соответствующих популяций, образуя два хорошо различающихся кластера. Один из них включает все выборки из популяций западной части ареала (от Иркутска до Н. Цасучея), а другой – из восточной (от заповедника "Бастак" до бухты Троица). Различия между выборками в каждом кластере по критерию  $\chi^2$  досто-



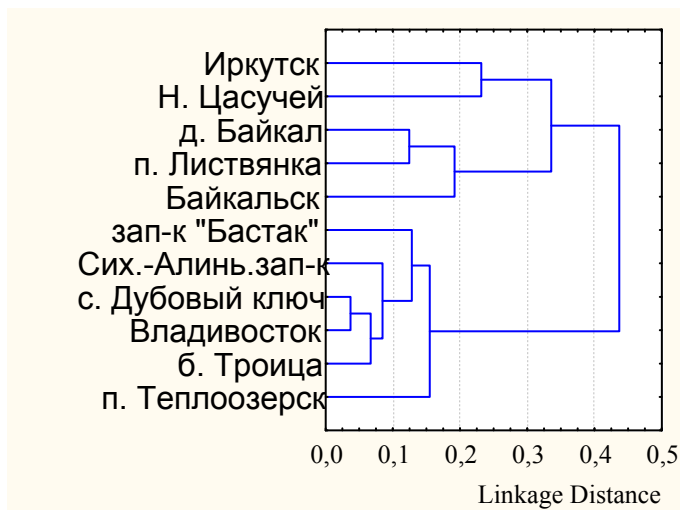


Рис. 6. Результаты кластерного анализа географической изменчивости рисунка пронотума у жуков с элитами *succinea*

верны –  $p=0,000$  в обоих случаях. Структура распределения фенотипов пронотума резко различается между этими кластерами. В выборках из западных популяций (Иркутск – Байкальск) частоты более меланизированных фенотипов (1 - 7 (рис. 3)) в 2–3 раза выше, чем в восточной группе, а фенотипы 10 и 11–14 отсутствуют, в то время как в восточных популяциях они встречаются со значительными частотами, варьирующими между популяциями хаотично. Выборка из Н. Цасучея по частотам одних фенотипов (2, 3, 4, 5, 12,

14) близка к "западной" группе, а по частотам других - занимает промежуточное положение или приближается к "восточной" группе. Частота фенотипа 9 меняется между всеми выборками без определенного направления от  $28,44 \pm 4,32\%$  (Байкальск) до  $54,72 \pm 4,83\%$  (заповедник Бастак").

**Динамика общепопуляционных характеристик.** Анализ географической изменчивости коэффициентов внутривидового разнообразия рисунка пронотума показал, что по соотношению  $\mu$  (4,4) и  $h_\mu$  (0,12) у меланистов максимальный уровень разнообразия наблюдается в популяции Байкальска, а у жуков с элитами фенотипа *succinea* - в популяциях Байкальска и Н. Цасучея (со значениями  $\mu$  – 8,3 и 8,29 и  $h_\mu$  – 0,17 и 0,25 – соответственно). Величина V-Крамера рисунка пронотума и рисунка элитр в западных популяциях меняется от  $0,65 \pm 0,07\%$  (Байкальск), до  $0,75 \pm 0,07\%$  (Иркутск), а в восточных – от  $0,82 \pm 0,02\%$  (Сихотэ-Алиньский зап-к) до  $0,98 \pm 0,08\%$  (зап-к "Бастак"). При этом для коэффициента сопряженности характерна высокая внутривидовая стабильность – в повторных выборках из Владивостока его изменения от  $0,91 \pm 0,02$  до  $0,97 \pm 0,05$  укладываются в величины статистических ошибок.

### 3.2.4. Изменчивость последовательности нуклеотидов участка гена *COI* мтДНК

Изменчивость последовательности нуклеотидов участка гена *COI* мтДНК длиной 648 п.н. исследовалась в трех популяциях *H. axyridis* – Горно-Алтайска, Владивостока и Денвера (США). Всего нами было обнаружено 10 гаплотипов, результаты статистического анализа сходства которых представлены на рис. 8, на котором видны два хорошо различимых кластера. Один из них образован последовательностями, встречающимися только в Горно-Алтайске, второй - последовательностями из всех трех популяций. При этом шесть гаплотипов встречаются только в Горно-Алтайске, один - только во Владивостоке. Общим для всех трех выборок является лишь 1 гаплотип.

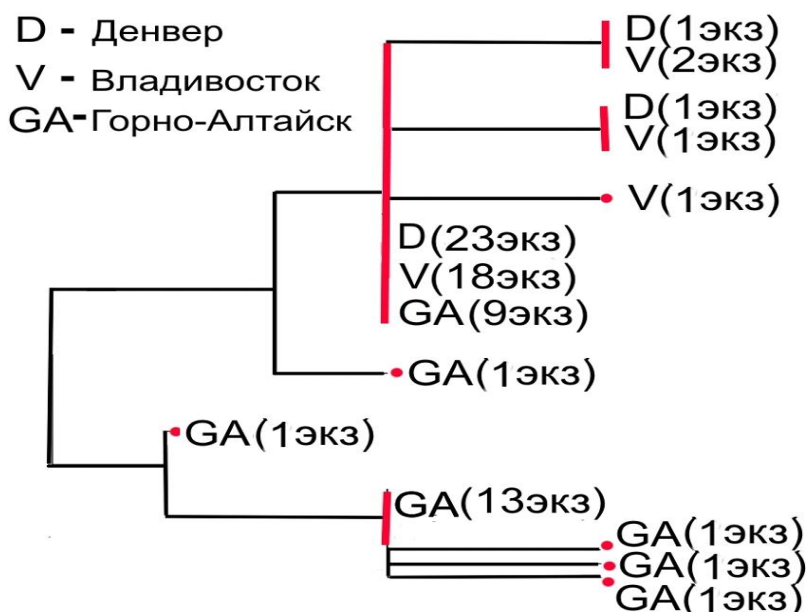


Рис. 8. Дендрограмма сходства нуклеотидных последовательностей участка гена *COI* мтДНК

Частоты гаплотипов в выборках сведены в табл. 5, данные которой показывают, что популяция Горно-Алтайска значительно отличается от популяций Владивостока и Денвера, очень сходных между собой, несмотря на наличие во Владивостоке 1 уникальной последовательности.

Таблица 5. Распределение в популяциях обнаруженных гаплотипов последовательности нуклеотидов участка гена *COI* мтДНК

Популяция	объем выборки	Доли гаплотипов в %									
		G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10
Горно-Алтайск	27	33,33	48,15	3,70	3,70	3,70	3,70	03,70			
Владивосток	22	81,82							4,55	9,09	4,55
Денвер	25	92,00							4,00	4,00	

## Глава 4. Обсуждение результатов

### 4.1. Границы ареала и особенности распространения *H. axyridis*

Нанесенные на карту точки находок позволяют описать границы ареала вида и сделать выводы о его структуре. Северная граница ареала *H. axyridis* проходит, по-видимому, на уровне 57°–58° с. ш., повторяя границы зоны вечной мерзлоты. Наличие более северной точки находки (Якутск), очевидно, связано с сокращенной записью на коллекционной этикетке, а не с обитанием здесь вида. Крайняя северо-западная точка находки (Тюкалинск) также удалена от основной массы находок, однако в отличие от Якутска, возможность обитания здесь вида не вызывает сомнений, так как связь с Алтайскими популяциями может осуществляться по р. Иртыш, по среднему течению которой, очевидно, проходит западная граница ареала. Исходя из экологических особенностей *H.*

*axyridis*, понятно, что на северо-западе ареал ограничен заболоченными участками Северо-западной равнины. Крайняя юго-западная точка находки в Талды-Курганской области, также удалена от основной массы находок, но не изолирована от основного ареала, поскольку из данных литературы известно, что по интразональным биотопам *H. axyridis* проникает до верховьев р. Аягуз. Далее граница ареала по верховьям Иртыша в Монгольском Алтае поворачивает на северо-восток и, очевидно, повторяет границы пустынных и полупустынных районов Монголии, поворачивая затем на юг уже в северо-западных областях Китая, где доходит вдоль Тибетского горного массива до провинции Szechwan. Дальнейшее распространение вида на юге Китая ограничивается тропическим климатом, и граница его ареала вновь поворачивает на восток, доходя до побережья и захватывая Корею и прибрежные острова, включая о. Тайвань. Восточная граница от Шантарских о-вов проходит по дальневосточному побережью, включая о. Сахалин, о. Кунашир и Японские о-ва. В целом полученная нами картина находок *H. axyridis*, дополненная данными литературы, позволяет утверждать, что азиатский (исходный) ареал этого вида, обладая широким разнообразием экологических условий, является непрерывным.

#### 4.2. Изменчивость рисунка пронотума

Дискретный характер различий между большинством выделенных фенотипов пронотума, сочетающийся с мультимодальным распределением их частот у жуков с элитрами фенотипа *succinea*, позволяет предполагать наличие генетической детерминации изменчивости этого признака. При этом характер сопряженности рисунка пронотума с рисунком элитр позволяют предположить, что ген, детерминирующий рисунок элитр, проявляя плейотропное действие, является модификатором гена, определяющего развитие рисунка пронотума.

Обнаруженный нами половой диморфизм рисунка пронотума сводится к количественным изменениям в распределении фенотипов пронотума у разных полов, причем не зависимо от фенотипов элитр. Это означает, что половой диморфизм у *H. axyridis* по рисунку пронотума имеет не генотипический, а модификационный характер.

#### 4.3. Внутрипопуляционная изменчивость *H. axyridis* по комплексу морфологических признаков

**Долговременная (многолетняя) динамика.** Обнаруженные нами в популяциях Владивостока и о. Попова статистически достоверные изменения частот фенотипов элитр и фенотипов пронотума не имеют определенного направления, а представляют собой "краткосрочные пульсации". Снижение частоты фенотипа *axyridis* с 0,8% (в сборах Ф.Г. Добржанского) до 0,01% (в наших) в популяции Владивостока, безусловно, связано с относительным повышением частот редких морф в энтомологических коллекциях, куда они, привлекая преимущественное внимание натуралистов, попадают существенно чаще, чем встречаются в природе. В остальных популяциях долговременная изменчивость рисунка элитр отсутствует. Эти результаты говорят о высокой стабильности данного признака во времени и "жесткости" (с позиций концепции "жесткого и гибкого полиморфизма") этой полиморфной системы по отношению к долго-

срочным изменениям среды при одновременной "гибкости" по отношению к локальным (краткосрочным) колебаниям экологических условий. Существенные изменения встречаемости элитрального гребня в популяции п. Листвянка и распределения рисунка пронотума в популяции Новосибирска, которые привели к снижению различий по этим признакам между названными популяциями и соседними, очевидно связаны с увеличением уровня миграции и снижением изоляции между географически близкими популяциями.

**Сезонная изменчивость.** Полученные данные по сезонной изменчивости рисунка элитр столь же противоречивы, как данные литературы. В одних популяциях она обнаруживается, в других нет. Там, где сезонная динамика обнаружена, направления ее могут быть диаметрально противоположны в разных популяциях. Аналогичная ситуация наблюдается и у *A. bipunctata*. Такая противоречивость не позволяет рассматривать селективную смертность разных фенотипов в различные сезоны как универсальный механизм поддержания устойчивого полиморфизма и заставляет искать иные объяснения сезонной динамики этого признака, там, где она есть. Одно из таких возможных объяснений может дать концепция "множественных ниш", базирующаяся на данных о микростациональной изменчивости. Действительно, весенние сборы обычно проводятся в апреле – мае, когда значительная часть жуков успела приступить к кормлению, а иногда и к размножению. Соответственно, на распределение частот морф в таких выборках может повлиять наличие микростациональной изменчивости, описанной для некоторых популяций *H. axyridis*, либо различия в сроках разлета с мест зимовки, связанные, например, с более быстрым прогревом меланистов. В то же время, все осенние сборы делались во время лета коровок на зимовку, когда они покинули места колоний, и эти выборки представляют собой совокупную популяцию. Этой же особенностью осенних сборов можно объяснить и отсутствие микрореографической изменчивости, обнаруженное нами по всем трем признакам в г. Владивостоке.

#### **4.4. Географическая изменчивость *H. axyridis*.**

##### **Внутривидовая структура и исторические причины ее формирования.**

**Географическая изменчивость полиморфных признаков.** Результаты анализа географической изменчивости *H. axyridis*, дополненные данными литературы, показывают, что в пределах видовой ареала есть две географически удаленные друг от друга зоны, популяции которой резко различаются между собой по комплексу признаков. Межпопуляционные различия внутри каждой из них минимальны и не имеют определенного географического направления. Первая из этих зон, популяции которой практически мономорфны по рисунку элитр, представленным фенотипом *axyridis*, простирается от западной границы ареала до Красноярского края – в долготном направлении, и от Новосибирской области до Северо-восточного Казахстана и Алтая – в широтном направлении. Частота рецессивного аллеля *r*, определяющего отсутствие элитрального гребня, здесь составляет 84–90%. Вторая зона занимает восточную часть ареала от Читинской области до Дальневосточного побережья, включая Северо-восточные области Китая. Фенотип *axyridis* встречается здесь очень редко, *succinea*

- с частотой 85–94%, а меланисты – *conspicua* и *spectabilis* – с суммарной частотой 6–15%. Частота аллеля *r* в популяциях этой зоны составляет 8–19%. По распределению фенотипов пронотума различия между популяциями этой зоны незначительны и не имеют географического направления. Уровень различий между популяциями западной и восточной зон "межпопуляционной стабильности" по обоим морфологическим признакам с известной генетической детерминацией по 75% критерию, принятому в классической систематике, соответствует подвидовому. Этот вывод полностью подтверждается данными о географической изменчивости молекулярно-генетического маркера. Высокое сходство выборок из Владивостока и Денвера (инвазивная популяция, имеющая китайское происхождение) говорит об отсутствии заметной изменчивости между популяциями восточной зоны ареала. С другой стороны, наличие только одного гаплотипа, общего для всех трех выборок, 6-ти гаплотипов, встречающихся только в Горно-Алтайске, и 3-х - только в выборках из восточных популяций говорит не только о значительном различии восточных и западных групп популяций, но и об их длительном изолированном друг от друга развитии.

Наряду с двумя зонами "межпопуляционной стабильности", существуют две зоны клинальной изменчивости. Первая из них занимает территорию от Прибайкалья (Иркутская обл.) до центральной части Читинской области включительно. Изменение фенооблика популяций по рисунку элитр в этой зоне имеет определенное географическое направление – частота фенотипа *succinea* меняется от 6% – в Иркутске, до 74% – в Н. Цасучее, а фенотипа *axuridis*, соответственно, от 94% до 23%. При этом в районе оз. Байкал происходит скачкообразное изменение частот этих фенотипов. Появляются в Забайкальских популяциях с увеличивающейся с запада на восток частотой фенотипы *conspicua* и *spectabilis*. На юго-востоке Читинской области, между п. Н. Цасучей и с. Капцагайтуй, вновь наблюдается резкое изменение фенооблика популяций по рисунку элитр. Динамика встречаемости элитрального гребня в этой зоне ареала несколько иная. Байкальские популяции по этому признаку не различаются между собой. Однако, в выборке из Н. Цасучея частота аллеля *r*, достигая 70%, имеет значение, промежуточное между характерными для западных и восточных популяций. Поскольку в Амурской части видового ареала никаких физико-географических изолирующих барьеров нет, а наличие элитрального гребня по общепринятому мнению является нейтральным признаком, можно предположить, что и в этой части ареала изменение частоты аллеля *r* происходит клинально. Анализ географической изменчивости рисунка пронотума также показал, что выборка из Н. Цасучея занимает промежуточное положение между байкальскими популяциями и популяциями восточной зоны, отличаясь от первых в меньшей степени, чем от вторых. При этом в байкальских популяциях скачкообразных изменений в распределении фенотипов не происходит, аналогично изменчивости элитрального гребня и в отличие от изменчивости рисунка элитр. Такая стабильность двух признаков в популяциях на противоположных берегах оз. Байкал, говорит об отсутствии географической изоляции между ними. Наличие резких переходов в фенооблике популяций по рисунку элитр может быть связано не только с макрогеографической изменчивостью, но и с

ландшафтной или микростациональной, поскольку в этих же местах происходит достаточно резкая смена характера растительности.

Вторая зона клинальной изменчивости рисунка элитр и элитрального гребня находится на Японских островах, где в направлении с севера на юг по данным литературы частота фенотипа *succinea* уменьшается от 43% до 2%, а доля фенотипа *conspicua* увеличивается от 34% до 84%. Частота аллеля *r* увеличивается в том же направлении от 7% на о. Хоккайдо до 94% на юге Японии. При этом отчетливый клинальный характер изменчивости этого признака наблюдается южнее Сангарского пролива, разделяющего острова Хоккайдо и Хонсю, между которыми *q<sub>r</sub>* меняется скачкообразно (от 7% до 71%).

Ранее наличие зон клинальной изменчивости рисунка элитр у *H. axyridis* связывали с адаптивностью этого признака, считая, она наблюдается на большей части ареала. Однако из наших данных следует, что это не так. Экологические условия в пределах зон "стабильности", особенно восточной, меняются не меньше, чем в зонах клинальной изменчивости. В то же время, характер макрогеографической изменчивости элитрального гребня и рисунка элитр в целом совпадает. Маловероятно, чтобы два независимых признака показывали однонаправленную изменчивость, адаптируясь к одинаковым изменениям среды. По крайней мере, характер внутривидовой изменчивости этих признаков не совпадает. С другой стороны, по показателям  $\mu$  и  $h_{\mu}$  в Забайкальских популяциях наблюдается повышение общего уровня внутривидового разнообразия по обоим признакам и значимое понижение (по сравнению с западной и восточной группами популяций) коэффициента сопряженности (V-Крамера) рисунка пронотума и рисунка элитр. Эти факты говорят о повышенной генетической гетерогенности популяций этой зоны ареала, которая может быть характерна для популяций, обитающих в "центрах происхождения" вида, в оптимальных для вида экологических условиях или в зонах вторичной гибридизации. Экологические условия Центральной Сибири не соответствуют экологическому оптимуму для *H. axyridis*. С другой стороны, если бы в Забайкалье находился "центр происхождения" и расселения вида, как предполагалось ранее, можно было бы ожидать более протяженных участков ареала с клинальной изменчивостью и менее протяженных зон "межпопуляционной стабильности". Мы же наблюдаем противоположную картину, причем по трем признакам. Это убеждает в том, что Сибирская зона клинальной изменчивости является зоной вторичной гибридизации длительно изолированных ранее групп популяций. Нет никаких оснований отрицать роль вторичной гибридизации в формировании зоны клинальной изменчивости и на Японских островах.

#### **История формирования современной внутривидовой структуры.**

Общая картина географической изменчивости по комплексу проанализированных признаков говорит о том, что в эволюционном прошлом вида единый ареал распался на две части, полностью изолированные друг от друга в течение длительного времени, после которого единство ареала было восстановлено.

Очевидно, что подобные изменения ареала хищного вида, основная добыча которого - паразиты растений, должны были происходить вслед за резкими изменениями растительных ландшафтов. Кроме того, заселение видом Япон-

ских островов могло произойти только при нарушении их изоляции от материка. Наиболее близким к современности геологическим периодом, когда происходили резкие колебания растительности и одновременно береговой линии, является плейстоцен, во время которого происходили резкие колебания климата, связанные с чередованием ледниковых периодов и межледниковий. В интересующем нас районе в наиболее теплые периоды межледниковий смешанные леса с участками лесостепей, где могла обитать *H. axyridis*, распространялись значительно севернее и южнее своих современных границ. Во времена первых плейстоценовых оледенений во всех горных системах Восточной Азии были развиты мощные ледники, вокруг которых происходила почти полная деградация лесной растительности, замещавшейся редколесьями и заболоченными тундрами, с которыми соседствовали холодные степи. Очевидно, что в подобных условиях *H. axyridis* не могла сохраниться ни в этих, ни в более южных областях, даже в виде небольшого изолята. В то же время, в Дальневосточном регионе, где благодаря приморскому климату в течение всего плейстоцена сохранялась лесная зона, в которой происходила лишь смена конкретных формаций. Очевидно, именно здесь, а также в северо-восточных и восточных районах современного Китая сохранялись условия, в которых такой вид как *H. axyridis* мог переживать периоды максимального похолодания. Во время последнего ледникового периода, с максимумом похолодания - 20-18 тыс. л.н., горное оледенение в Восточной Азии было значительно менее мощным, чем все предыдущие. Деградации лесной растительности, даже в своей максимальной фазе, не была полной. В том числе, на Алтае установлено наличие достаточно крупных островов типичных лесных формаций, при сплошном распространении в более восточных районах перигляциальных степей, не пригодных для обитания *H. axyridis*. Очевидно, именно во время последнего плейстоценового оледенения этот вид мог сохраниться как в дальневосточном регионе, так и на Алтае. С наступлением потепления в голоцене расширение видového ареала происходило уже из двух рефугиумов с образованием в Сибири зоны вторичной интеграции. В то же время, все периоды оледенений сопровождались соединением Японских островов с материком, что могло привести к образованию соответствующей зоны клинальной изменчивости за счет их повторного заселения.

### **Выводы:**

1. Современный ареал *Harmonia axyridis* в материковой части Азии, обладая широким разнообразием эколого-климатических и физико-географических условий, является непрерывным.
2. Изменчивость рисунка пронотума носит дискретный характер и имеет самостоятельную (от рисунка элитр) генетическую детерминацию. Впервые обнаруженный у кокциnellид половой диморфизм рисунка пронотума носит модификационный характер.
3. Внутрипопуляционный полиморфизм анализируемых морфологических признаков имеет устойчивый долговременный характер.
4. По комплексу полиморфных признаков в пределах ареала вида можно выде-

лить 2 обширные зоны - "западную" и "восточную", с отсутствием заметной межпопуляционной изменчивости в каждой из них, соединенные между собой зоной клинальной изменчивости. Уровень различий между "западными" и "восточными" популяциями соответствует подвидовому.

5. Данные по полиморфизму нуклеотидной последовательности участка гена COI мтДНК свидетельствуют о длительном изолированном развитии "западной" и "восточной" групп популяций.
6. Забайкальская зона клинальной изменчивости *Harmonia axyridis* является результатом вторичной гибридизации "западной" и "восточной" групп популяций, обособившихся в эпоху последнего плейстоценового оледенения в результате географической изоляции, и восстановивших единство видового ареала в период потепления в голоцене.

### Публикации по теме диссертации:

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Воронцов Н.Н., Блехман А.В. Феногеография и геногеография окраски надкрылий в популяциях восточноазиатской коровки *Harmonia (Lais) axyridis* Pall. (Coleoptera, Coccinellidae) // ДАН СССР. 1986. Т.286. № 1. С. 205-208

2. Блехман А.В. // Изменчивость рисунка пронотума у божьей коровки *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera, Coccinellidae) // Экологическая генетика. 2007. Т. 5. № 2. С. 25-36.

3. Блехман А.В. Популяционная изменчивость встречаемости элитрального гребня у божьей коровки *Harmonia axyridis* Pallas // Генетика. 2008. Т. 44. № 11. С. С. 1553-1557.

Статьи в других изданиях:

4. Воронцов Н.Н., Блехман А.В. Ареал и внутривидовая структура божьей коровки *Harmonia axyridis* Pall., 1773 (Coleoptera, Coccinellidae). // В сб.: "Эволюция, экология, биоразнообразие. Материалы конференции памяти Николая Николаевича Воронцова (1934-2000), Москва, 26-27 декабря 2000 г." М.: Издат. отдел УНЦ ДО, 2001. С. 150-156.

5. Захаров И.А., Блехман А.В. Популяционная генетика кокциnellид: старые и новые проблемы. // В сб.: "Эволюция, экология, биоразнообразие. Материалы конференции памяти Николая Николаевича Воронцова (1934-2000), Москва, 26-27 декабря 2000 г." М.: Издат. отдел УНЦ ДО, 2001. С. 134-149.

Тезисы докладов российских конференций:

6. Блехман А.В. Изучение генетического полиморфизма окраски элитр у *Harmonia axyridis* Pall. (Coleoptera, Coccinellidae) с использованием реальных частот генотипов // Материалы VII съезда ВОГиС, Саратов, 20-25 декабря 1994 г. // Генетика.- 1994, Т.30: приложение. С. 16-17.

7. Блехман А.В. Исследование географической изменчивости *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera, Coccinellidae) по комплексу морфологических признаков // В сб.: Современные проблемы биологической эволюции: материалы конференции. К 100-летию Государственного Дарвиновского музея. 17-20 сентября 2007, г. Москва. М.: Изд-во ГДМ. 2007. С. 103- 105.