

На правах рукописи

БАЛУЕВА

Екатерина Николаевна

**Популяционная структура и
экологические особенности разных морф
Harmonia axyridis Pall. (Coleoptera, Coccinellidae)**

Шифр и наименование специальности:
03.02.05 – энтомология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург
2010

Работа выполнена в Государственном научном учреждении
Всероссийский НИИ защиты растений Россельхозакадемии

Научный руководитель:

кандидат биологических наук
Белякова Наталия Александровна

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук
Резник Сергей Яковлевич

кандидат биологических наук
Фасулати Сергей Радиевич

Ведущее учреждение:

Санкт-Петербургский государственный университет

Защита состоится 28 октября 2010 г. в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 006.015.01 при Всероссийском научно-исследовательском институте защиты растений по адресу: 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, д. 3.
Факс: (812) 470-51-10; e-mail: vizrspb@mail333.com

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений

Автореферат разослан 27 сентября 2010 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Г.А. Наседкина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. *Harmonia axyridis* Pall. (Coleoptera, Coccinellidae) – высокоэффективный энтомофаг, которого используют для защиты растений уже около века (Воронин, 1968; Сидляревич, Воронин, 1970; Яркулов, 2002; Gordon, 1985).

Исходный ареал *H. axyridis* включает Южную Сибирь, северный Казахстан, Монголию, Китай, Приморский край, Курильские, Шантарские и Японские острова, Корейский п-ов (Кузнецов, 1993). Южные границы ареала *H. axyridis* достигают субтропиков в китайской провинции Юннань (23-24° с.ш.), северные – зоны вечной мерзлоты в Якутии (57-58° с.ш.) (Блехман, 2009; Zhang et al., 2008).

Хармония акклиматизировалась в Америке и Европе, где проводили массовые выпуски жуков из дальневосточных популяций для подавления тлей, кокцид и цикад (Koch et al., 2006). В настоящее время на востоке Европы хармония достигла Закарпатья (Marko, Pozsgai, 2009) и Латвии (Barševskis, 2009), на севере – Норвегии (Sthre et al., 2009).

Для понимания факторов, обеспечивших стремительное расширение ареала *H. axyridis*, необходимы дальнейшие исследования фенетической структуры и адаптивных стратегий разных географических популяций этого вида. Особый интерес представляют зоны ареала, где происходит смена доминирующих морф *H. axyridis*. В первую очередь это – юг Восточной Сибири, где идет гибридизация между темноокрашенными сибирскими и светлоокрашенными дальневосточными популяциями (Корсун, 1999; Бутько, 2004; Dobzhansky, 1951). Кроме того, фенетически сильно отличаются друг от друга популяции *H. axyridis* с восточного побережья Китая и Японских островов. В японских популяциях доля темноокрашенных морф *conspicua* и *spectabilis* в несколько раз выше по сравнению с восточно-китайскими материковыми популяциями (Komai et al., 1950). В связи с этим интерес представляют данные о фенетической структуре корейских популяций *H. axyridis*, локализованных между Восточным Китаем и Японскими островами.

Существует предположение, что представители различных морф *H. axyridis* отличаются по биотопической приуроченности, пищевым предпочтениям и репродуктивному потенциалу (Dobzhansky, 1951; Komai, Hosino, 1951; Soares et al., 2005). Для проверки этой гипотезы необходимо продолжить исследования экологических особенностей различных морф *H. axyridis*. Это расширит наши представления об адаптивной стратегии хармонии, а также позволит в полной мере реализовать ее потенциал как энтомофага в системах биологической защиты растений в Сибири и на Дальнем Востоке.

Следует отметить, что многолетний опыт использования хармонии в защите растений был не всегда положительным. Например, во Франции было отмечено, что жуки хармонии в качестве дополнительного питания используют созревший виноград; это в дальнейшем снижает качество вина (Koch, 2003; Koch et al., 2006). Кроме того, инвазия хармонии приводит к изменению в структуре комплексов местных кокциnellид, которые становятся жертвами хармонии (Pell et al., 2008). Исходя из этого, в ряде европейских стран были введены ограничения на использование хармонии для биологической защиты растений. С нашей точки зрения, в Европейской части РФ тоже следует принять меры, которые предотвра-

тют распространение хармонии за пределами теплиц. Возможным решением является использование для колонизации в защищенном грунте бессамцовых линий *H.axyridis*. Отсутствие самцов предотвратит нежелательное распространение хармонии за пределами теплиц. Исходя из этого, целесообразно провести выделение бессамцовых линий *H.axyridis* и первичную оценку перспектив их использования в биологической защите растений.

Цель работы. Сравнить фенетическую и половую структуру прибайкальских и дальневосточных популяций *H.axyridis*, оценить экологические особенности разных морф данного вида, определить пути дальнейшего использования *H.axyridis* в защите растений.

Задачи работы:

1. Оценить полиморфизм *H.axyridis* по рисунку надкрылий и наличию элитрального гребня в популяциях из Прибайкалья, Приморья и с Корейского полуострова.

2. Оценить прожорливость, продолжительность личиночного развития, потребляемую биомассу и вес имаго у *H.axyridis* разных морф при питании персиковой, бобовой и злаковой тлями.

3. Выявить пищевые предпочтения у имаго и личинок *H.axyridis* разных морф в условиях выбора жертвы.

4. Оценить соотношение полов в природных популяциях *H.axyridis*, выделить бессамцовые линии, оценить возможность их массового разведения для применения в биологической защите растений.

Научная новизна. Проведена сравнительная оценка микрогеографической изменчивости фенетического состава прибайкальских и корейских популяций. На острове Чеджу (Корея) выявлена повышенная (21%) частота редких морф *aulica* и *intermedia*.

Описаны новые структурные элементы рисунка надкрылий *H.axyridis*. Выявлен характер наследования этих элементов.

Проведена сравнительная оценка прожорливости и пищевых предпочтений 6 морф *H.axyridis*, в том числе редких. Выявлена значительная генетическая гетерогенность популяций *H.axyridis* по прожорливости, потребляемой и усваиваемой биомассе, а также по продолжительности личиночного развития.

Практическая значимость. На основе оценки пищевых предпочтений у личинок и имаго *H.axyridis* сформирована культура характеризующаяся рисунком надкрылий *aulica*, которая отличается повышенной прожорливостью при питании персиковой тлей.

Выделено 3 бессамцовых линии *H.axyridis*, перспективные для применения против тлей в теплицах на Европейской части РФ.

Апробация работы. Основные результаты исследований представлены на XIII съезде РЭО (Краснодар, 2007), международной научной конференции «Фитосанитарное обеспечение устойчивого развития агроэкосистем» (Орёл, 2008), международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы энтомологии» (Ставрополь, 2008, 2009), международной научно-практической экологической конференции «Живые объекты в условиях антропогенного пресса» (Белгород, 2008).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, из них 3 в журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы, включающего 185 источника, в том числе 124 на иностранных языках. Работа изложена на 130 страницах, содержит в основном тексте 21 таблицу и 42 рисунка.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

ГЛАВА 1. Кокциnellида *Harmonia axyridis*: распространение, биологические особенности и перспективы использования в защите растений (литературный обзор)

В обзоре литературы приведены основные биологические особенности *H. axyridis*, описан комплекс морфологических, экофизиологических, поведенческих и других признаков, которые обуславливают высокую эффективность *H. axyridis* в системах биологической защиты сельскохозяйственных культур. Уделено серьезное внимание процессу акклиматизации *H. axyridis* в Европе и Америке. Подробно проанализирована литература по вопросам, связанным с применением *H. axyridis* защите растений.

ГЛАВА 2. Материалы и методы

Сбор имаго, куколок и личинок *H. axyridis* проводили на территории Иркутской области, Приморского края и Республики Корея. Особей сортировали по полу, рисунку надкрылий (рис. 1, 2) и наличию элитрального гребня.

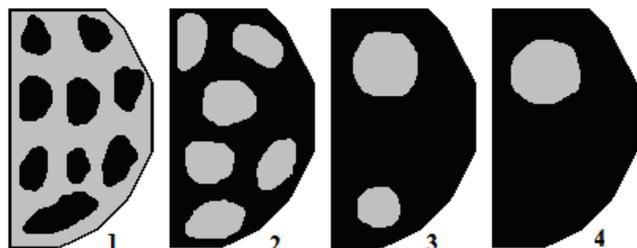


Рис. 1. Основные морфы *H. axyridis*.
1 – *succinea* (далее SUC),
2 – *axyridis* (AXY),
3 – *spectabilis* (SPC),
4 – *conspicua* (CON).

Среднее число морф рисунка надкрылий в популяции рассчитывали по формуле: $\mu = (\sqrt{p_1} + \dots + \sqrt{p_m})^2$, где p_1, \dots, p_m – частоты морф. Достоверность различий между популяциями оценивали по критерию хи-квадрат (Животовский, 1991). Долю гетерозигот в популяции рассчитывали по формуле Харди-Вайнберга с учетом последовательного доминирования аллелей: CON>SPC>TRP>AXY>TRF>INT>AUL>SUC (Tan, 1946).



Рис.2. Редкие морфы *H. axyridis*. 1-2 – *aulica* (далее AUL), 3 – *intermedia* (INT), 4 – *transversifascia* (TRF), 5 – *tripunctata* (TRP).

Разведение хармонии в лабораторных условиях проводили на злаковой тле. Для индивидуального разведения хармонии использовали пластиковые чашки Петри. В чашку помещали самца и самку одного возраста. В качестве корма использовали злаковую тлю на срезанных растениях пшеницы и яйца зерновой моли, наклеенные на картонные карточки. Яйцекладки собирали ежедневно. Полученных личинок выкармливали по стандартной методике (Яркулов, Белякова, 2002).

Оценку суточной прожорливости и пищевого предпочтения проводили при температурах 22°C, 24°C и 26°C, влажности воздуха 70-80% и длине дня 18 часов в чашках Петри индивидуально на личинках и имаго морф SUC, AUL, INT, AXU, SPC и CON из линий, в которых аллель рисунка надкрылий была выведена в гомозиготное состояние. Индекс пищевого предпочтения (ИПП) рассчитывали по формуле: $ИПП = \ln(e_1/A_1) / [\ln(e_1/A_1) + \ln(e_2/A_2)]$, где A_1 и A_2 – исходное число тлей первого и второго вида, предложенных в смеси, e_1 и e_2 – число тлей первого и второго вида, выживших в течение суток (Manly et al., 1974).

Для выделения бессамцовых линий *H.axyridis* отбирали суточные яйцекладки. После выхода личинок подсчитывали количество отродившихся особей и погибших эмбрионов. Личинок выкармливали по стандартной методике. Затем у полученных имаго оценивали соотношение полов. По сочетанию двух признаков (наследуемая полустерильность и отсутствие самцов в потомстве) отбирали самок, от которых закладывали бессамцовые линии.

Для статистической обработки полученных данных использовали Т-критерий Стьюдента, а также проводили корреляционный и дисперсионный анализ с помощью пакета программ SPSS v.13.0.

ГЛАВА 3. Фенетическая и половая структура популяций *Harmonia axyridis*

3.1. Полиморфизм *H. axyridis* по рисунку надкрылий и наличию элитрального гребня в популяциях с Дальнего Востока

В сборах, проведенных в 2008-2009 гг. на Корейском п-ове и в Приморье, доминировала морфа SUC, доля которой составила 86-97%. Частоты SPC и CON колебались в пределах 1,4-8,1%. Суммарная доля редких морф в материковых дальневосточных популяциях не превышала 0,6% (табл. 1).

Таблица 1. Частоты морф в популяциях *H.axyridis* на Дальнем Востоке.

Место сбора	Дата сбора	Число особей	Частоты морф, %							
			SUC	SPC	CON	AXY	AUL	INT	TRF	TRP
Приморский край										
Владивосток	VII.2009	168	88,1	5,9	5,4	0	0,6	0	0	0
Камень-Рыболов	VII.2009	368	85,9	5,7	7,9	0	0,3	0	0	0,3
Уссурийск	VII.2009	744	86,0	8,1	5,8	0,1	0	0	0	0
Уссурийск	VII.2008*	146	96,6	1,4	2,1	0	0	0	0	0
Уссурийск	IX.2008*	646	87,3	5,7	6,9	0	0	0	0	0
Корейский п-ов										
Нонсан	XI.2008	1206	91,1	3,6	5,1	0	0	0	0,1	0,1
Нонсан	III.2007	131	91,6	3,1	5,3	0	0	0	0	0
о-в Чеджу	III.2007	431	60,6	11,4	6,5	0	17,4	4,2	0	0

* - сборы А.Г. Коваля и В.И. Потемкиной

Фенетический состав популяций хармонии на Корейском п-ове и в Приморье отличается высокой стабильностью. Суммируя собственные и литературные данные, можно отметить, что в течение последних 50 лет (с 1959 г.) доля доминирующей морфы SUC колебалась незначительно на уровне 90-92%. Морфы SPC, CON и АХУ составляли в среднем 3,5%, 4,5% и 0,3% соответственно (Kang, Kim, 1960; Холин, 1988).

Помимо доминирования морфы SUC характерной особенностью дальневосточных популяций является высокая частота носителей элитрального гребня, доля которых составляет 98-99%.

При анализе фенетического состава приморских и корейских популяций *H.axyridis* не выявлено существенной разницы между осенними и летними сборами имаго. Это согласуется с литературными данными, по которым сезонные колебания частот доминирующих морф в дальневосточных популяциях *H.axyridis* не превышают 10% (Холин, 1988). Аналогичная ситуация описана для забайкальских популяций (Бутько, 2005).

Для оценки стабильности изменчивости *H.axyridis* в Приморье, летом 2009 г. нами были проведены сборы имаго в агроценозах сои и кукурузы, а также на сорной растительности. Несмотря на различные виды жертв, растений и мест сбора различий по частотам морф не выявлено. Доля доминирующей морфы SUC во всех тестированных выборках составила 85-88%. Это свидетельствует о высокой однородности популяций вида в Приморском крае.

В ходе изучения фенетического состава хармонии на сосновых деревьях в окрестностях г. Нонсана было выявлено, что собранные особи принадлежали двум близким видам: *H.axyridis* и *H.yedoensis*, имаго которых отличаются по строению гениталий самцов. Данные виды репродуктивно изолированы, что доказано в лабораторных экспериментах (Okada et al., 1978; Sasaji, 1981). Наличие *H.yedoensis* может быть одним из факторов, влияющих на фенетическую структуру популяций *H.axyridis* в сосновых лесах.

Отличительной чертой выборки с о-ва Чеджу является высокая частота морф AUL и INT (рис. 3). В Приморском крае AUL и INT встречаются чрезвычайно редко, их доля не превышает 0,3% и 0,03% соответственно (Холин, 1988).

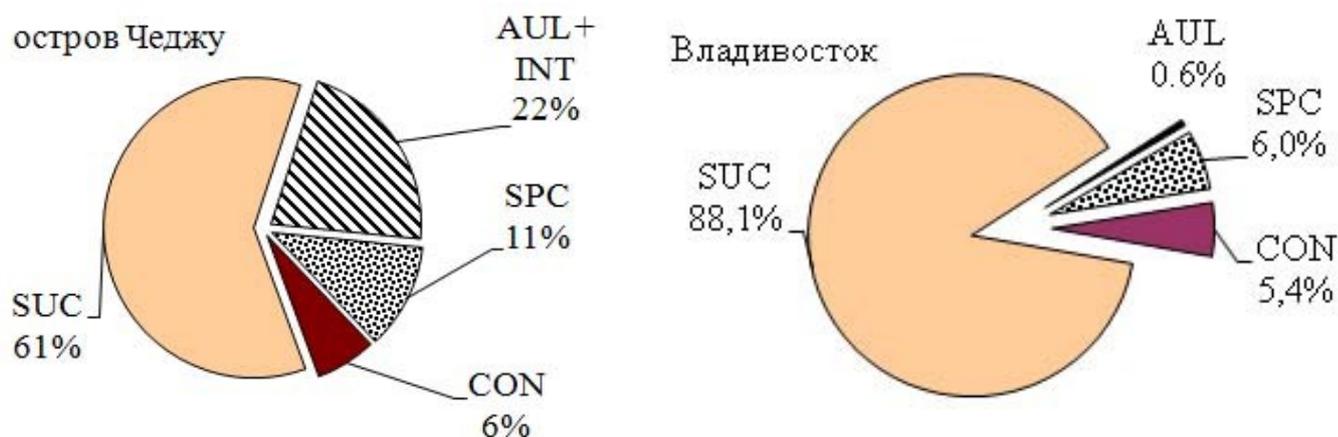


Рис. 3. Фенетический состав популяций хармонии на о-ве Чеджу (2007 г.) и в окрестностях Владивостока (2009 г.).

Островная популяция из Чеджу отличается значительным фенетическим разнообразием по сравнению с материковыми популяциями из Приморья и с Корейского п-ова. Среднее число морф (μ) в популяции из Чеджу составляет $3,37 \pm 0,113$, в то время как в Нонсане этот показатель существенно ниже – $1,88 \pm 0,042$. В Уссурийске он колеблется в пределах от $2,07 \pm 0,055$ до $2,22 \pm 0,073$.

3.2. Полиморфизм *H. axyridis* по рисунку надкрылий и наличию элитрального гребня в популяциях из Прибайкалья

В популяциях *H. axyridis* из Прибайкалья в 2009 г. выявлены имаго двух морф: АХУ и SUC. В Иркутске (берег р. Ангары) и в его окрестностях (берег р. Иркут) доминирует АХУ, частота которой составляет 81,7% и 93,2%, соответственно (табл.2). Микрогеографические флуктуации частот морф у хармонии могут быть результатом колебаний численности в разных точках и, как следствие, случайным дрейфом генов, сдвигающим частоты морф.

Таблица 2. Частоты морф в популяциях *H. axyridis* в Иркутске и его окрестностях.

Место сбора	Дата	Стадия развития	Растение	Число особей	Частоты морф, %	
					SUC	АХУ
окр. Иркутска (берег р. Иркут)	VII.2009	имаго	ива	61	3,3	96,7
	VII.2009	куколки	ива	102	8,8	91,2
	VII.2010	куколки	ива	52	5,8	94,2
	VII.2010	имаго	ива	35	8,6	91,4
	2009-2010			250	6,8	93,2
Иркутск (берег р. Ангары)	VII.2010	куколки	ива	83	22,9	77,1
	VII.2010	личинки	ива	56	21,4	78,6
	VII.2010	имаго	вяз	62	16,1	83,9
	VII.2010	куколки	вяз	88	14,8	85,2
	VII.2010	куколки	боярышник	49	16,3	83,7
	2010			338	18,3	81,7

В популяциях *H. axyridis* на побережье оз. Байкал доминирует морфа АХУ, ее частота в 2009-2010 гг. в среднем составляла 80,4%. При инкубации собранных куколок и личинок в лабораторных условиях мы получали имаго морфы АХУ с частотой 78-89% (табл. 3). При сборе имаго в природе этот показатель сокращался до 41-56% (табл. 4). На первый взгляд, это свидетельствует о повышенной смертности куколок морфы АХУ в природной среде по сравнению с SUC. Однако этот вывод не подтверждается данными по фенетическому составу выборок из Иркутска, в которых мы не выявили различий по частоте морф в сборах имаго по сравнению со сборами куколок или личинок, которые достигали имагинальной стадии в лабораторных условиях при кормлении тем видом корма, которым они питались в природе (табл. 2).

Выявленное нами на байкальском побережье равновесное соотношение частот морф АХУ и SUC, ранее отмечалось в Байкальске (сентябрь, 1983), где доля морфы SUC составляла 47% (Воронцов, Блехман, 1986).

Доля морфы SUC на уровне 50% отмечалась в популяциях Восточного Забайкалья (Булько, 2005; Блехман, 2009), однако механизмы, приводящие к сход-

ному фенетическому составу популяций в Читинской области и Прибайкалье, с нашей точки зрения разные.

Таблица 3. Частоты морф в популяциях *H.axyridis* в Прибайкалье (сбор на стадии личинки и куколки).

Место сбора	Дата	Стадия развития	Растение	Число особей	Частоты морф, %	
					SUC	AXY
Байкальск	30.07.2010	куколки	черемуха	86	23,3	76,7
	26.07.2010	куколки	черемуха	69	20,3	79,7
	26.07.2010	личинки	черемуха	30	20,0	80,0
	2010			185	21,6	78,4
Слюдянка	17.07.2009	личинки	черемуха	31	6,5	93,5
	21.07.2010	личинки	черемуха	165	10,9	89,1
	21.07.2010	куколки	черемуха	99	17,2	82,8
	21.07.2010	личинки	боярышник	49	12,2	87,8
	21.07.2010	куколки	боярышник	175	13,1	86,9
	21.07.2010	куколки	боярышник	86	12,8	87,2
	2009-2010			623	13,2	86,8
порт Байкал	15.07.2009	личинки	черемуха, ива	87	13,8	86,2
	28.07.2010	куколки	черемуха	99	8,1	91,9
	28.07.2010	личинки	черемуха	17	11,8	88,2
	2009-2010			203	10,7	89,3
Листвянка	01.08.2010	куколки	черемуха	38	21,1	78,9
	01.08.2010	личинки	черемуха	28	14,3	85,7
	2010			66	18,2	81,8

Таблица 4. Частоты морф в популяциях *H.axyridis* в Прибайкалье (сбор на стадии имаго).

Место сбора	Дата	Растение	Число особей	Частоты морф, %	
				SUC	AXY
Слюдянка	VII.2009	черемуха, крапива	58	59,3	40,7
порт Байкал	VII.2009	черемуха, ива, борщевик	91	45,1	53,8
Байкальск	VII.2010	черемуха	36	43,8	56,3

Восточное Забайкалье справедливо считают зоной гибридизации дальневосточной и сибирской *H.axyridis*, различия между которыми, по мнению ряда авторов, соответствуют подвидовому уровню (Воронцов, Блехман, 2001; Захаров, Блехман, 2001).

Увеличение частоты морфы SUC в Восточном Забайкалье происходит с запада на восток и сопровождается увеличением частоты носителей элитрального гребня (Корсун, 1999). Сочетание гребня с рисунком надкрылий SUC свойственно дальневосточным популяциям хармонии.

В Иркутской области нами отмечено увеличение частоты морфы SUC на берегах оз. Байкал, но при этом доля носителей гребня здесь остается чрезвычайно низкой, что свойственно сибирским популяциям (рис. 4).

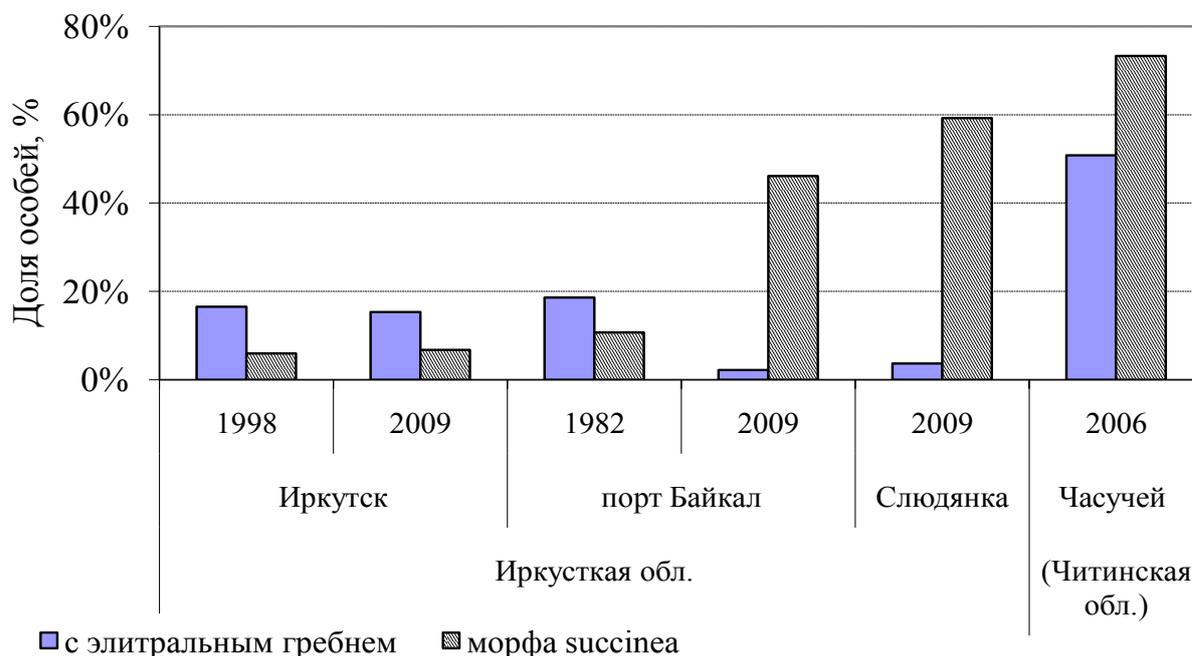


Рис. 4. Частоты встречаемости элитрального гребня и морфы *succinea* в популяциях *H. axyridis* в Прибайкалье и Восточном Забайкалье.

2009 г. – собственные данные; 1982, 1998 и 2006 гг. – данные А.В. Блехман (2008).

Изменение фенооблика прибайкальских популяций не связано с процессом межпопуляционной гибридизации дальневосточной и сибирской *H. axyridis*. В зоне активного обмена генетическим материалом между данными популяционными группами у гибридных особей должен в фенотипе проявляться типичный для хармонии с Дальнего Востока признак – элитральный гребень, так как он является доминантным (Komai, 1956). Однако у подавляющего большинства жуков морфы SUC в Прибайкалье гребень отсутствует. Поэтому мы предполагаем, что рост частот морфы SUC, отмеченный в 2009 и 2010 гг. на берегу оз. Байкал, произошел не за счет межпопуляционной гибридизации, а путем реализации внутренних резервов местной популяции. В среднем у 50% особей (табл. 4) произошел выход в гомозиготное состояние аллели SUC, которая присутствует в генофонде данной популяции в гетерозиготной форме.

Доминантная аллель АХУ маскирует присутствие рецессивной SUC, которая гораздо реже проявляется в фенотипе. Например, если в популяции из Иркутска доля морфы SUC составляет 7-18%, то частота гетерозигот по этой рецессивной аллели достигает 38%.

Высокая степень гетерозиготности в прибайкальских популяциях по рецессивной аллели SUC обуславливает значительную вариабельность их фенетического состава. В Приморье подавляющее большинство особей гомозиготны по аллели SUC, что обеспечивает высокую стабильность доминирования одноименной морфы.

Незначительная часть особей морфы SUC из прибайкальских популяций имели характерное каплевидное пятно на вершинной части надкрылий. Данному варианту морфы SUC мы дали название *SUC-drop* (рис. 5в, №2).

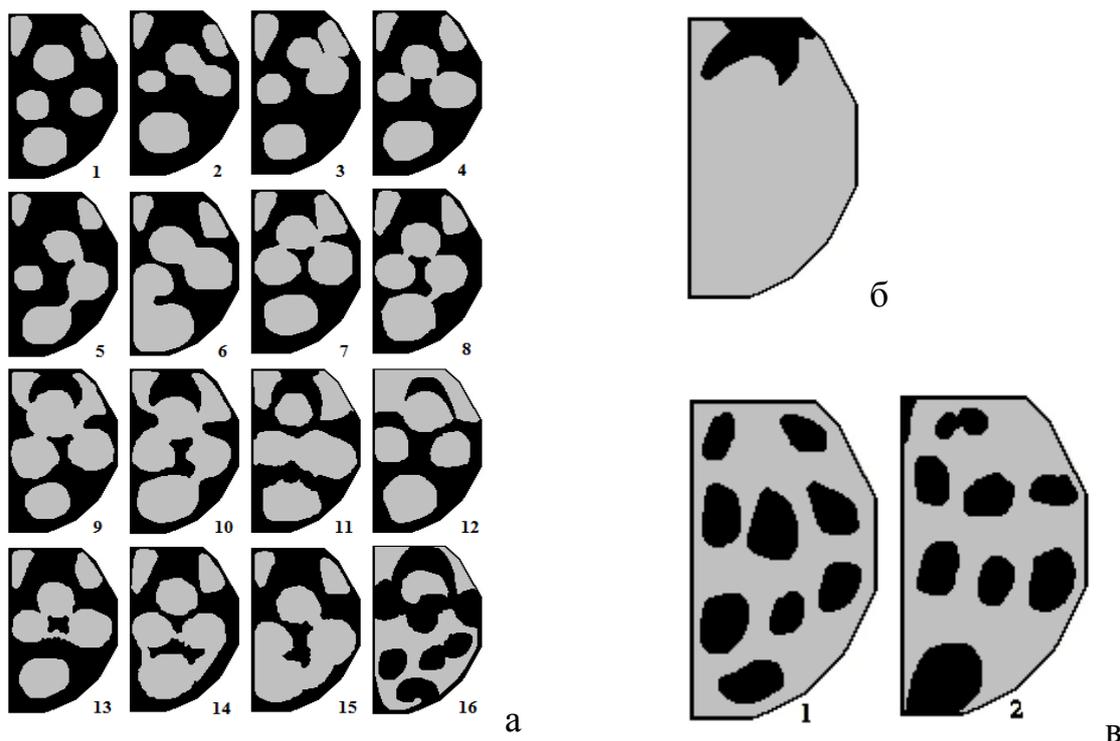


Рис. 5. Варианты рисунка морф АХУ (а и б) и SUC (в).

Рисунок доминирующей в Прибайкалье морфы АХУ, как правило, состоит из шести хорошо различимых пятен красно-оранжевого цвета на черном фоне (рис. 5а, №1). В прибайкальской популяции были выявлены особи с отклонениями в рисунке от классического варианта (рис. 5а, №2-16). Особей с одинаковыми вариантами рисунка АХУ скрещивали друг с другом. В потомстве F_2 - F_3 были получены линии №1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 12 (рис. 5а). В этих линиях родительский вариант рисунка надкрылий наследуется без расщепления.

Кроме того, мы выделили ранее не описанный у *H.axyridis* вариант рисунка, состоящий из одного небольшого серповидного пятна, расположенного у основания надкрылья (рис. 5б). Гибридологический анализ в трех последовательных поколениях позволил выявить характер наследования этого рисунка в потомстве самки-основательницы, которую мы скрестили с несколькими самцами морфы SUC. В потомстве F_1 все жуки воспроизводили родительские морфы в соответствии с принципом мозаичного доминирования: базальные серповидные пятна от матери сочетались со стандартным для SUC набором пятен (фенотип отца). При скрещивании жуков F_1 между собой в потомстве F_2 было выявлено расщепление: 26% SUC, 20% жуков с фенотипом самки-основательницы и 54% - гетерозиготы, несущие пятна обоих родителей. При скрещивании между собой жуков материнского типа мы получили однородное потомство, которое наследовало рисунок надкрылий от самки-основательницы (рис. 5б).

Очевидно, что базальные серповидные пятна (рис. 5б) являются единственным элементом рисунка АХУ, который присутствует во всех вариантах данной морфы (рис. 5а). Можно предположить, что морфа АХУ детерминирована не од-

ной аллелью, как это предполагалось ранее (Tan, 1946), а несколькими генами сложного локуса. Эти гены проявляют себя как истинные аллели в тестах на аллелизм, но разделяются в процессе кроссинговера. Гипотезу о псевдоаллелизме генов рисунка надкрылий у хармонии выдвигали ранее Комаи и Чино (Komai, Chino, 1969). С нашей точки зрения, у морфы АХУ основная аллель детерминирует только среповидные пятна у переднеспинки (рис. 5б). Остальные темные элементы рисунка формируются за счет генов-модификаторов.

Сходный генетический механизм наследования рисунка надкрылий известен у двухточечной коровки (*Adalia bipunctata* L.). Локус, определяющий рисунок, является сложным. Он содержит основную аллель и гены-модификаторы. Появление редких вариантов рисунка связано с рекомбинацией внутри сложного локуса (Захаров, 1995).

Значительная вариабельность формы светлых пятен на темном фоне отмечались ранее у морфы АХУ в Восточном Забайкалье (Бутько, 2005). Существует предположение, что так проявляется в фенотипе гетерозиготность по аллелям SUC и АХУ (Корсун, 1999; Бутько, 2005). Однако мы считаем, что невозможно объяснить выявленную нами изменчивость рисунка морфы АХУ (рис. 5 а), используя только принцип мозаичного доминирования, в соответствии с которым темноокрашенные области на надкрыльях *H.axyridis* проявляются там, где они были расположены у родителей.

Против гипотезы о гетерозиготности особей с нестандартным рисунком АХУ косвенно свидетельствует тот факт, что их доля в популяциях из Иркутской области не превышает 3-4%. Это в 10 раз меньше теоретически ожидаемой частоты гетерозигот по аллелям SUC и АХУ, рассчитанной по уравнению Харди-Вайнберга.

Подводя итог анализа фенетического состава прибайкальских популяций, можно отметить следующее: разнообразие морф хармонии в Прибайкалье гораздо шире, чем это считалось ранее.

3.3. Половая структура популяций *H.axyridis*

Проведена сравнительная оценка соотношения полов в природных популяциях *H.axyridis* в Прибайкалье, Приморье и в центральной части Корейского полуострова (Нонсан). В большинстве тестированных выборок отмечен сдвиг в соотношении полов в сторону самок, доля которых составила 54-67% (рис. 6).

Исходя из литературных данных, мы предположили, что сдвиг в соотношении полов в популяциях *H.axyridis* обусловлен наличием самок, зараженных альфа-протеобактериями рода *Spiroplasma*, которые наследуются цитоплазматически по материнской линии и убивают эмбрионы мужского пола (Majerus et al., 1998).

Для проверки этой гипотезы в индивидуальных кладках, полученных от природных самок, оценивали уровень стерильности. От семей с повышенным уровнем эмбриональной гибели закладывали линии. В 3-х линиях (из 30-ти тестированных) было выявлено стабильное наследование стерильности на уровне 40-60%, а доля самок в потомстве F₂-F₄ составила 99,8%. Это косвенно свидетельствует о присутствии в популяции из Нонсана самок, зараженных андрогидными бактериями.

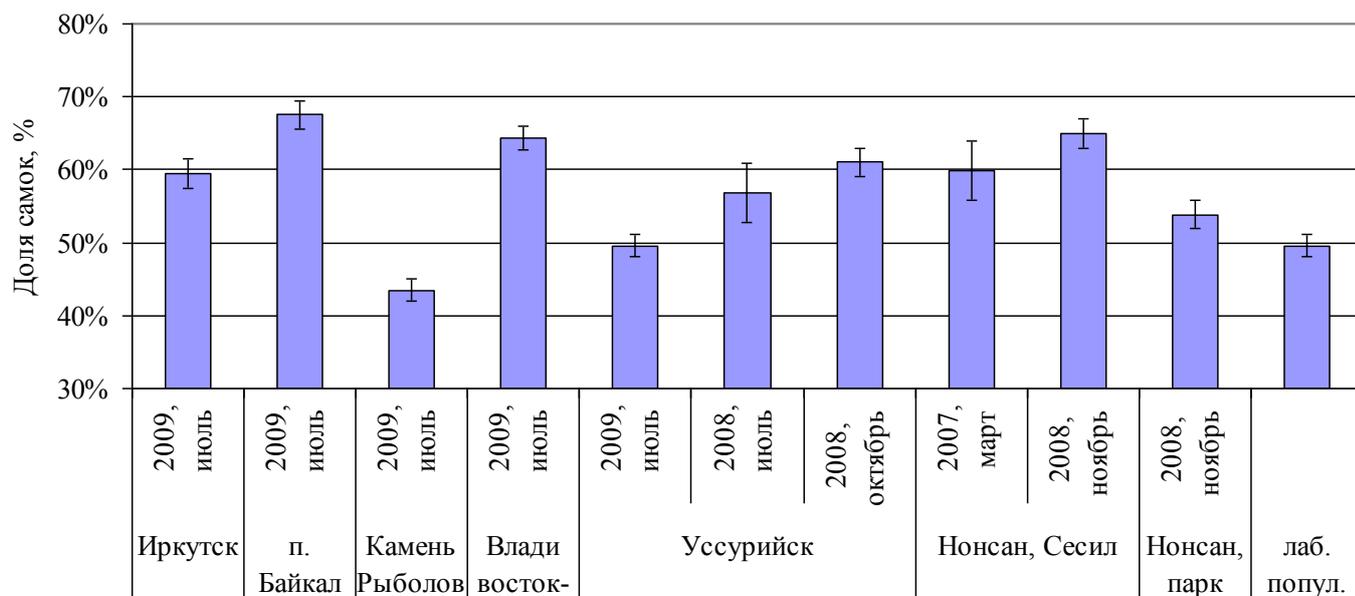


Рис. 6. Соотношение полов в популяциях *H. axyridis*.

Выделенные бессамцовые линии гармонии могут быть использованы в защищенном грунте в Европейской части РФ. При внесении в теплицу инкубированных яйцекладок личинки I возраста будут питаться погибшими мужскими эмбрионами, что повысит их шансы на выживание. Отсутствие самцов в биоматериале, использованном для колонизации, предотвратит нежелательное распространение *H. axyridis* за пределами теплиц.

ГЛАВА 4. Экологические особенности *Harmonia axyridis* разных морф

4.1. Прожорливость и продолжительность развития личинок при питании одним видом жертвы

Среднесуточную прожорливость личинок оценивали при питании персиковой или бобовой тлей. Выявлено, что при температуре 24°C особи морфы AUL в IV личиночном возрасте достоверно ($p < 0.05$) более прожорливы в при питании персиковой тлей (рис.7).

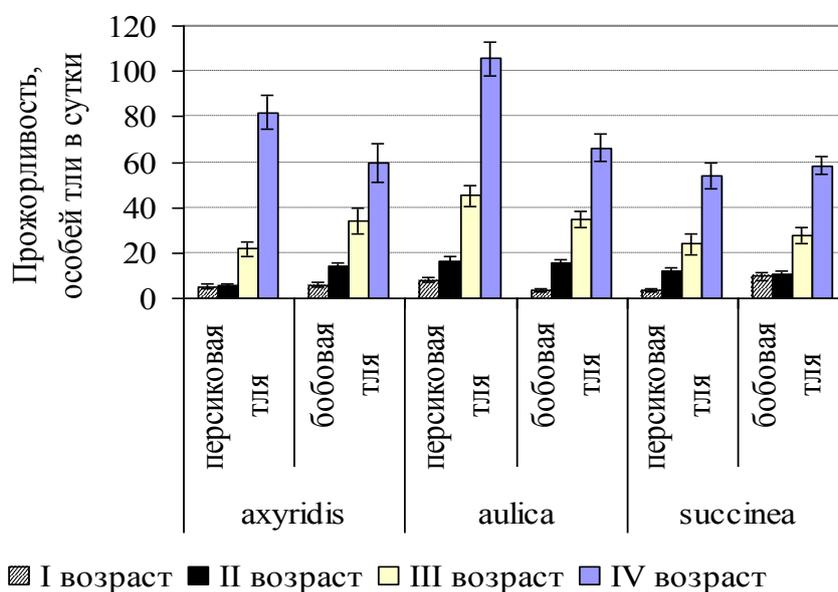


Рис. 7. Среднесуточная прожорливость личинок *H. axyridis* ($t=24$ °C).

При температуре 26°C эта тенденция сохраняется, хотя различия при попарном сравнении средних не достоверны. По результатам дисперсионного анализа, совместное влияние морфы и вида корма на прожорливость достоверно ($p < 0,01$), его сила составляет 20-32%. Наличие сильного взаимодействия между данными факторами свидетельствует о том, что выявленная нами тенденция к повышению прожорливости у личинок AUL на персиковой тле не является случайной.

Имаго, которые были получены из личинок в данном опыте, взвешивали. Максимальный средний вес ($33,3 \pm 2,25$ мг) был зафиксирован у самок морфы AUL, выкормленных на персиковой тле.

Вес имаго после выхода из куколки зависит от прожорливости личинок. Сила влияния этого фактора составляет 41,4% и 47,3% у самцов и самок соответственно. На этом фоне влияние морфы не достоверно или является слабым. Следовательно, различие по весу у имаго разных морф определяется различием в прожорливости личинок.

4.2. Пищевые предпочтения личинок в условиях выбора жертвы

При питании личинок *H.axyridis* смесью бобовой и злаковой, а также бобовой и персиковой тлями выявлены существенные различия по прожорливости между особями разных морф (табл. 5, 6). Максимальное количество бобовой тли в обоих вариантах опыта поедали личинки морфы CON.

Таблица 5. Общая прожорливость личинок *H.axyridis* при питании бобовой тлей в смеси со злаковой или персиковой тлями (соотношение жертв 1:1).

Морфа	Количество особей бобовой тли	
	Вариант 1 – злаковая и бобовая тли	Вариант 2 – персиковая и бобовая тли
<i>succinea</i>	208±8,8	215±9,6
<i>aulica</i>	207±7,2	202±21,5
<i>intermedia</i>	213±8,7	204±7,6
<i>axyridis</i>	206±7,6	214±8,8
<i>spectabilis</i>	197±7,6	203±7,6
<i>conspicua</i>	217±7,2	242±7,5
Всего	209±2,9	215±4,2
Достоверность влияния фактора (морфа)	p<0,05	
Сила влияния фактора	17,2%	

Таблица 6. Общая прожорливость личинок *H.axyridis* при питании злаковой или персиковой тлями в смеси с бобовой тлей (соотношение жертв 1:1).

Морфа	Количество особей злаковой тли	Количество особей персиковой тли
<i>succinea</i>	399±11,8	225±5,2
<i>aulica</i>	394±9,7	214±11,6
<i>intermedia</i>	403±11,9	222±4,1
<i>axyridis</i>	414±10,3	231±4,7
<i>spectabilis</i>	391±10,3	223±4,0
<i>conspicua</i>	396±9,7	258±4,1
Всего	399±4,1	229±2,3
Достоверность влияния фактора (морфа)	p>0,05	p<0,001
Сила влияния фактора	-	61,5%

Различия между морфами по индексу пищевого предпочтения выявлены только в варианте опыта со злаковой и бобовой тлями (рис. 8).

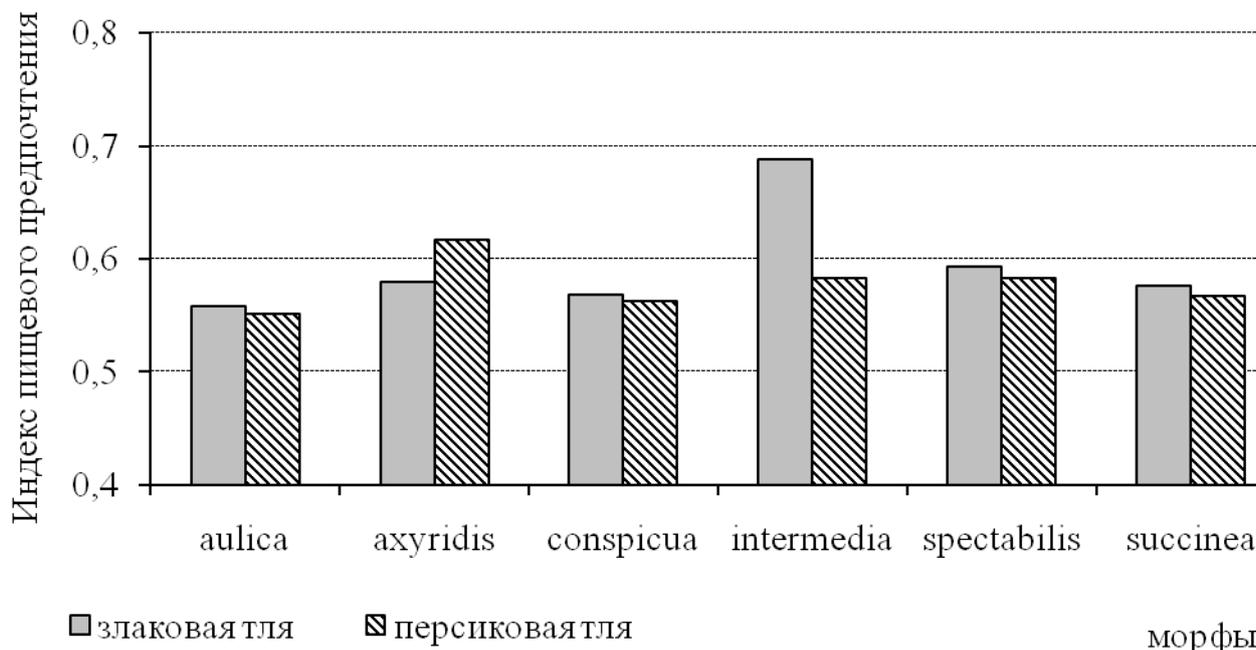


Рис. 8. Индекс пищевого предпочтения у личинок *H. axyridis* в III возрасте при питании бобовой тлей в смеси со злаковой или персиковой тлями (соотношение жертв 1:1).

У особей морфы INT в III личиночном возрасте отмечено ярко выраженное предпочтение к злаковой тле, индекс пищевого предпочтения которой составил 0,698 (рис. 8). В IV возрасте этот показатель снизился до 0,5.

4.3. Прожорливость, потребление биомассы и привес имаго в условиях выбора жертвы

При кормлении имаго бобовой тлей в смеси со злаковой или персиковой тлями существенных различий по прожорливости между особями разных морф не выявлено. Отмеченное снижение прожорливости при использовании персиковой тли в смеси с бобовой, в основном обусловлено разницей в весе жертв. Персиковая тля весит $0,43 \pm 0,105$ мг, что в 4 раза больше веса злаковой тли ($0,19 \pm 0,031$ мг).

В варианте опыта с персиковой тлей суточная прожорливость имаго ниже, чем в варианте опыта со злаковой тлей (табл. 7). Однако разница по суточному потреблению биомассы при использовании разных вариантов корма не превышает 1-2 мг.

Таблица 7. Суточная прожорливость имаго *H. axyridis* при питании бобовой тлей в смеси со злаковой или персиковой тлями (соотношение жертв 1:1).

Вариант опыта	Пол	Съедено бобовой тли	Съедено злаковой тли
Смесь: бобовая и злаковая тли	самка	$25,9 \pm 0,59$	$28,5 \pm 0,38$
	самец	$26,3 \pm 0,46$	$28,4 \pm 0,30$
			Съедено персиковой тли
Смесь: бобовая и персиковая тли	самка	$22,5 \pm 0,52$	$24,2 \pm 0,34$
	самец	$21,9 \pm 0,83$	$23,7 \pm 0,54$

При кормлении *H.axyridis* смесью бобовой и злаковой тли выявлены существенные различия между имаго разных морф по суточному привесу. Привес у имаго морф INT, АХУ и CON в 2-2,5 раза больше, чем у имаго SPC и SUC (рис. 9).

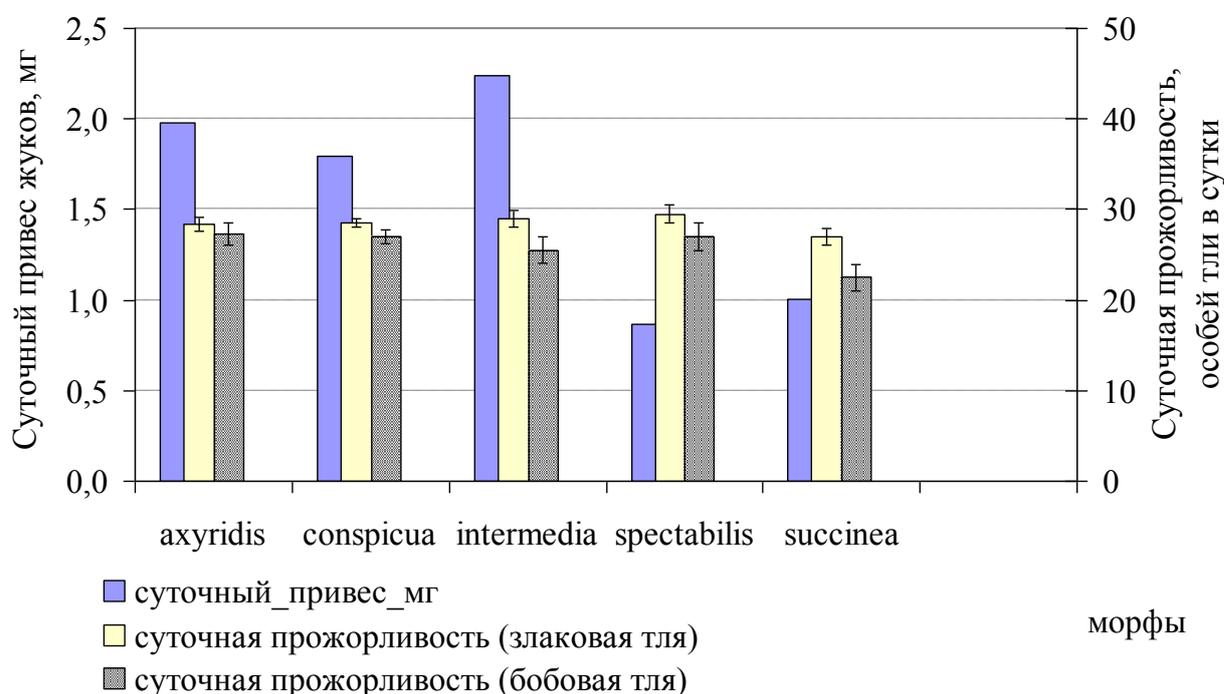


Рис. 9. Суточная прожорливость и привес имаго *H.axyridis* разных морф при питании смесью злаковой и бобовой тлей.

Достоверность выявленных различий подтверждается результатами дисперсионного анализа (табл. 8). На величину суточного привеса имаго при кормлении смесью бобовой и злаковой тлей высоко достоверное влияние оказывает морфа ($p < 0,01$).

Таблица 8. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа по оценке влияния морфы и пола на суточный привес имаго *H.axyridis* при питании смесью злаковой и бобовой тлей.

Фактор	Вариант опыта			
	злаковая и бобовая тля		персиковая и бобовая тля	
	p	сила влияния фактора, %	p	сила влияния фактора, %
морфа	0,002	42,6	0,990	1,3
пол	0,016	16,5	0,096	12,1
морфа и пол	0,592	10,2	0,277	15,8

Выявленные нами различия между морфами по суточному привесу свидетельствуют о том, что особи INT, АХУ и CON лучше усваивают злаковую тлю, чем бобовую. Хотя по прожорливости морфы в пределах одного варианта опыта не отличаются друг от друга.

Подводя итоги серии лабораторных опытов по оценке пищевых предпочтений, прожорливости и др. показателей у разных морф хармонии, следует отметить следующее. Нами выявлены различия между лабораторными популяциями, маркированными по рисунку надкрылий:

1. *H.axyridis* морфы AUL отличается от АХУ и SUC более высокими прожорливостью личинок старших возрастов и весом самок при питании персиковой тлей.
2. В условиях выбора жертвы личинки *H.axyridis* III возраста морфы INT предпочитают злаковую тлю (индекс пищевого предпочтения 0,698) бобовой тле.
3. При питании личинок *H.axyridis* смесью бобовой и персиковой тлей особи морфы CON характеризуются наибольшей прожорливостью и потребляемой биомассой.
4. При кормлении имаго *H.axyridis* смесью бобовой и злаковой тлей привес у имаго морф INT, АХУ и CON в 2-2,5 раза больше, чем у имаго SPC и SUC.

Полученный результат отражает высокий уровень гетерогенности по тестированным показателям в популяциях хармонии. Учитывая методические особенности¹ поставленных опытов, мы считаем, что выявленная гетерогенность носит наследственный характер, а различия определяются в значительной степени фактором семьи (в нашем случае – принадлежностью к фенотипически маркированной линии).

По всем тестированным показателям доминирующая морфа SUC находилась на среднем для корейской популяции *H.axyridis* уровне. Это подтверждает предположение о том, что данная морфа отличается средней, но стабильной репродукцией на широком спектре жертв. Ранее в литературе высказывались предположения о том, что морфа SUC отличается от других более высокой пластичностью (Berkvens et al., 2008).

Выделенные нами и тестированные по ряду показателей линии хармонии, маркированные по рисунку надкрылий, послужат исходным материалом для селекции *H.axyridis* на повышенную прожорливость при питании определенным видом тли.

¹ Скрещивания необходимые для гомозиготизации аллелей элитрального рисунка, а затем внутрилинейное разведение гомозигот в течение нескольких поколений привели к тому, что возрос уровень родства между особями одной морфы внутри каждой из фенотипически маркированных линий.

ВЫВОДЫ

1. Многолетняя и сезонная динамика частот морф в приморских и корейских популяциях *H.axyridis* отличается высокой стабильностью. Доминирует морфа *succinea*, доля которой колеблется в пределах 90-92%. Элитральный гребень отмечен у 96-98% особей в Приморье и у 82-86% на Корейском п-ове.

2. Популяция *H.axyridis* на о-ве Чеджу отличается от материковых значительным фенетическим разнообразием; частота морф *aulica* и *intermedia* здесь в 20 раз выше, чем на Корейском п-ове и в Приморье.

3. В прибайкальской популяции *H.axyridis* доминирует морфа *axyridis*, доля которой колеблется в пределах 78-89%. Элитральный гребень отмечен у 2-18% особей, что свидетельствует о том, что в данном регионе не происходит гибридизации между дальневосточными и сибирскими популяциями.

4. Доминирующая в Прибайкалье морфа *axyridis* детерминирована несколькими генами сложно локуса, среди которых основная аллель детерминирует 2 серповидных базальных пятна на светлом фоне. Остальные темные элементы рисунка формируются за счет рекомбинации генов-модификаторов внутри сложного локуса, что создает генетическую основу для значительного фенетического разнообразия прибайкальских популяций *H.axyridis*.

5. Сдвиг в соотношении полов в сторону самок (65-67%) отмеченный в прибайкальских и приморских популяциях *H.axyridis*, отчасти обусловлен наличием самок, дающих чисто женское потомство.

6. Морфа *succinea* отличается средним для корейской популяции *H.axyridis* уровнем прожорливости, продолжительности развития и привеса имаго при питании разными видами жертв; имаго не имеют ярко выраженных пищевых предпочтений, что в целом свидетельствует об универсальности и высокой пластичности морфы *succinea*, составляющей ядро популяций на Дальнем Востоке, в Европе и Америке.

7. В корейской популяции *H.axyridis* выявлен высокий уровень генетической гетерогенности по прожорливости, пищевым предпочтениям и привесу имаго, что определяет ее высокий адаптивный потенциал.

Практические рекомендации

1. Для борьбы с персиковой тлей в защищенном грунте рекомендована линия *H.axyridis*, маркированная рисунком надкрылий *aulica*, которая отличается повышенной прожорливостью при питании данным вредителем.

2. Для применения в теплицах на Европейской части РФ рекомендованы 3 выделенные бессамцовые линии *H.axyridis*.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных Перечнем ВАК РФ.

Балуева, Е.Н. Фенотипическая изменчивость кокциnellиды *Harmonia axyridis* по рисунку надкрылий и наличию элитрального гребня / **Балуева, Е.Н.** // Естественные науки. – 2009. – №3. – С. 8-15.

Белякова, Н.А., Экологические особенности трех морфотипов кокциnellиды *Harmonia axyridis* Pallas / Белякова, Н.А., **Балуева, Е.Н.** // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2009, – № 14. – С. 54-59.

Белякова, Н.А. Пищевые предпочтения кокциnellиды *Harmonia axyridis* Pall. и перспективы ее использования для биологической защиты растений / Белякова, Н.А., **Балуева, Е.Н.** // Доклады РАСХН, – 2009, – №5, – С.30-32.

Статьи, опубликованные в других научных журналах и сборниках, материалах международных и всероссийских съездов и конференций

Балуева, Е.Н. Сравнительная оценка экологических особенностей *Harmonia yedoensis* Takiz. и *Harmonia axyridis* Pall. (Coccinellidae) / **Балуева, Е.Н.** // Проблемы защиты растений в условиях современного сельскохозяйственного производства: материалы науч. конф., ВИЗР, – СПб, – 2009, – С. 7-8.

Балуева, Е.Н. Редкие морфотипы *Harmonia axyridis* Pall. (Coccinellidae) в популяциях Корейского полуострова / **Балуева, Е.Н.** // Труды Ставропольского отд. РЭО, вып. 5, Материалы Второй Международной научно-практической интернет-конф. «Актуальные вопросы энтомологии», 1 марта 2009 г., Ставропольский государственный аграрный университет. – Ставрополь, – АГРУС, – 2009, – С. 40-43.

Балуева, Е.Н. Выделение редких фенотипов *Harmonia axyridis* и перспективы их использования в биологической защите растений / **Балуева, Е.Н.** // Фитосанитарное обеспечение устойчивого развития агроэкосистем: материалы между. науч.-практ. конф., Орел, 18-20 марта 2008 г. – Орел: Изд-во ОрелГАУ, –2008. – С. 151-153.

Белякова, Н.А., Фенотипическая структура популяций *Harmonia axyridis* Pall. (Coccinellidae) / Белякова, Н.А., **Балуева, Е.Н.** // Труды Ставропольского отд. РЭО, вып. 4 Актуальные вопросы энтомологии: материалы между. научно-практической конф. Ставрополь, 10-12 сентября 2008 г. – Ставропольской государственный аграрный университет. – АГРУС, – 2008, – С. 66-70.

Балуева, Е.Н. Сохранение генотипического полиморфизма в лабораторных культурах кокциnellиды *Harmonia axyridis* / **Балуева, Е.Н.** // Живые объекты в условиях антропогенного пресса: материалы междунаро. между. науч.-практ. экологич. конф., Белгород, 22-25 сентября 2008 г. – Белгород, – 2008. – С. 15-16

Белякова, Н.А. Фенотипическая изменчивость и наследуемая бессамцовость в популяциях кокциnellиды *Harmonia axyridis* Pall. на территории Кореи / Белякова, Н.А., **Балуева, Е.Н.** // Достижения энтомологии на службе агропромышленного комплекса, лесного хозяйства и медицины: Тез. докл. XIII съезда РЭО, Краснодар, 9-15 сентября 2007 г. – Краснодар, – 2007. – С.25-26.

Белякова, Н.А. Перспективы использования полиморфных культур и бессамцовых линий *Harmonia axyridis* для биологической защиты растений / Белякова, Н.А., **Балуева, Е.Н.** // Информ. бюл. ВПРС МОББ. – 2007. – № 38. – С. 35-39.

