

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ УРОВНЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО СХОДСТВА ИНВАЗИВНЫХ И АБОРИГЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ АЛЫЧОВОЙ ТЛИ (*BRACHYCAUDUS DIVARICATAE* SHAP., 1956)

Представлены предварительные результаты изучения генетической вариабельности STR-маркеров (short tandem repeats) в инвазивных и аборигенных популяциях тли *Brachycaudus divaricatae* Shap., являющейся опасным вредителем алычи (*Prunus divaricata* Ldb s. l.). Для сравнения образцов, коллектированных на территории первичного (Армения) и вторичного (Беларусь) ареалов, были использованы 7 микросателлитных локусов. В результате установлено, что тли из Беларуси обладают меньшим уровнем генетической вариабельности, чем из Армении, однако эти различия незначительны. Таким образом, экспансия *B. divaricatae* на новые территории проходит без существенной потери генетической вариабельности.

Ключевые слова: *Brachycaudus divaricatae*; тли; генетическая вариабельность; инвайдеры; алычовая тля; микросателлитные локусы; STR-анализ.

The article presents the preliminary results of studying the STR-markers variability of invasive and aboriginal populations of *Brachycaudus divaricatae* Shap., which is a dangerous pest of cherry plum (*Prunus divaricata* Ldb s. l.). Seven STR loci were used for comparison of samples collected in Armenia and Belarus. It's found that aphids collected on the territory of Belarus have the less level of the genetic variability than Armenian ones. But these differences were not significant. It means that the expansion of *B. divaricatae* in novel territory occurs without significant loss of the genetic variability.

Key words: *Brachycaudus divaricatae*; aphids; genetic variability; invasive species; cherry-plum aphid; microsatellite loci; STR-analysis.

В конце 1990-х – начале 2000-х гг. человечество столкнулось с обострением экологической проблемы биологических инвазий – интенсификацией процессов вторжения чужеродных для региональных фаун таксонов. Новые виды-вселенцы ежегодно регистрируются как в Европе, так и в странах Нового Света, Австралии, Восточной Азии. Процесс, который на первый взгляд должен приводить к увеличению биологического разнообразия, пополняя сложившиеся региональные сообщества новыми видами, на деле несет тяжелые последствия, усиливая межвидовую конкуренцию, что опасно для аборигенных и прежде всего эндемичных видов, поскольку зачастую ставит их на грань угрозы исчезновения [1].

Среди видов-инвайдеров особое место занимают вредители растений, в первую очередь культивируемых и других хозяйственно ценных. Инвазии фитофагов на новые территории облегчаются широкой интродукцией их кормовых растений и трансграничным перемещением посадочного материала. Многие из них, в частности тли (*Insecta: Aphidoidea*), быстро адаптируются к новым условиям, нередко меняя вариант биологического цикла и спектр кормовых растений. Поскольку они способны переносить большое число патогенных для растений вирусов, их инвазии представляют большую проблему для растениеводства.

К числу инвайдеров, в настоящее время успешно освоивших территорию Беларуси, принадлежит алычовая тля (*Brachycaudus divaricatae* Shaposhnikov, 1956), которая вредит алыче (*Prunus divaricata* Ldb s. l.) и ее садовым формам. *B. divaricatae* является фитофагом *P. divaricata*, и ее естественно-исторически сложившийся ареал не мог выходить за пределы территории природного произрастания алычи – Закавказья и прилегающих регионов Малой, Передней и Средней Азии. В последующем

вслед за интродуцируемой и вводимой в насаждения алычой этот вид тлей широко распространился по Европе, проникнув на территорию Польши [2, 3], Литвы [4, 5] и Беларуси [5]. К настоящему времени он стал обычным в садовых и декоративных насаждениях Беларуси, где ощутимо вредит растениям алычи.

Один из важнейших вопросов изучения инвазивных видов фитофагов – это прогностическая оценка реализации репродуктивного потенциала инвайдера на новой территории, а также его способности осваивать произрастающие здесь новые для фитофага кормовые растения. При этом чем выше уровень генетической вариабельности инвазивной популяции, тем более опасен инвайдер с точки зрения реализации своего максимального потенциала и приспособления к новым экологическим условиям. Ранее мы представили работу, касающуюся оценки общей морфометрической изменчивости инвазивных популяций *B. divaricatae* в сравнении с аборигенными. Оказалось, что более широкое варьирование значений морфометрических признаков наблюдалось у тлей из Беларуси [6]. В рамках указанного исследования были получены первые сравнительные данные об уровне генетической вариабельности тлей инвазивных и аборигенных популяций, коллектированных на территории Беларуси (инвайдеры) и Армении (аборигены).

Материалы и методы исследований

Сборы тлей *B. divaricatae* были выполнены в 2010–2012 гг. на территории всех шести административных областей Беларуси (Брестская, Гомельская, Гродненская, Витебская, Могилевская, Минская) и г. Минска. Для сравнения использованы образцы, коллектированные на территории четырех административных областей Республики Армения (Арагацотнская, Котайкская, Тавушская и Сюникская) Г. А. Караган и А. Э. Айвазян, за что авторы им чрезвычайно признательны.

ДНК выделяли из единичных тлей с применением коммерческого набора (Thermo scientific). Для получения микросателлитных повторов (STR) использовали праймеры [7], представленные в табл. 1.

Таблица 1

Праймеры, применявшиеся для анализа вариабельности микросателлитных локусов *Brachycaudus divaricatae*

Локус	Мотив	Последовательность, 5'–3'
<i>Bh – CT3H7</i>	(CT) ₁₂ (AC) ₅	CTTAAGACGACGCGATGACG ACAGCAGTCGTAGAGTGTGA
<i>Bh – GT3B4</i>	(TG) ₆ CG(TG) ₃	GAATTGCCGGCTATCAAGAC ACGCGCAGCAGATGAGATAC
<i>Bh – GT3B5</i>	(AC) ₁₇	ATCTCCTCATCCAATCGGTG ATACGTGAAGTCTGTGGTG
<i>Bh – GT3C9</i>	(AC) ₁₆	GCGCFGGGATATGTCTTCTT CGGTTCTGTATTGAGACGCA
<i>Bh – GT3D5</i>	(TA) ₆ TG(TA) ₄	CGAGAAACGGGTGGTGTGTA AACCGCACACAGAATGTCAC
<i>Bh – GT3D8</i>	(CA) ₁₄	TAGGAGACCGGAACTGCAGA GCGTGTCTGAAGTGCGAGTG
<i>Bh – GT3G9</i>	(CT) ₆ (CA) ₁₁	ATGCCACGTCTGTGTCAGCCA CGTCGTGCTATACTCGGACA

Реакционная смесь для полимеразно-цепной реакции (ПЦР) содержала в 25 мкл: 12,5 мкл 2 × MasterMix (Праймтех, Беларусь), 5 мкл H₂O по 0,5 ммоль/м³ каждого праймера, 3 нг ДНК. ПЦР осуществляли в режиме: 95 °С – 15 мин; 40 циклов по 94 °С – 1 мин; 63 °С – 1 мин 30 с; 72 °С – 1 мин; 60 °С – 30 мин.

Определение длин STR-фрагментов провели по результатам электрофоретического разделения с помощью программы GelQuest 3.2.1. В приложении ClusterVis программы GelQuest построили бинарную дистанционную матрицу на основе взвешенных евклидовых дистанций. Статистическую обработку результатов выполнили в приложении ClusterVis методом principal coordinates analysis (PCoA).

Результаты исследований и их обсуждение

Установлено, что STR-фрагменты у *B. divaricatae*, коллектированных в Беларуси и Армении, различались по длине и числу выявленных аллелей, которое варьировало от 1 до 5, причем у образцов из Армении отмечено большее число аллелей локуса *G9*, а из Беларуси – локуса *D8*. По остальным локусам число выявленных аллелей у исследуемых образцов тлей было одинаковым.

Как в аборигенных, так и в инвазивных популяциях тлей были обнаружены носители уникальных аллелей, т. е. фрагменты, которые обнаруживались в фореграммах особей только из одной популяции. Всего обнаружено 9 уникальных аллелей, причем 6 из них были отмечены у образцов из Беларуси, 3 – у образцов из Армении (табл. 2).

Таблица 2

Выявленные уникальные аллели исследованных STR-локусов тлей *B. divaricatae*

Локусы	Длина аллели, п. н.	
	Сборы тлей из Беларуси	Сборы тлей из Армении
<i>Bh – GT3B4</i>	43	180
<i>Bh – GT3B5</i>	125 (50 % особей)	–
<i>Bh – GT3C9</i>	80, 100, 120	–
<i>Bh – GT3D8</i>	72–75 (12,5 % особей)	179–182 (75 % особей)
<i>Bh – GT3G9</i>	–	385 (50 % особей)

Необходимо отметить, что у образцов, коллектированных в Беларуси, отмечены 3 уникальные аллели локуса *C9*, в то время как у таковых из Армении уникальных аллелей данного локуса не отмечено. В то же время у 50 % образцов, собранных на территории Армении, отмечены уникальные аллели локуса *G9*. В образцах, собранных в Беларуси, уникальных аллелей данного локуса не отмечалось.

По уровню сходства – различия STR-паттернов были рассчитаны парные генетические дистанции отдельно для тлей, коллектированных в Беларуси и Армении, в табл. 3 приведены их диапазоны (min – max) и средние (av.) значения.

Таблица 3

Генетические дистанции по исследованным STR-локусам между образцами *B. divaricatae*

Локус	Генетические дистанции	
	Сборы тлей из Беларуси, min – max (av.)	Сборы тлей из Армении, min – max (av.)
<i>Bh – CT3H7</i>	0,000–0,630 (0,382)	0,000–0,853 (0,474)
<i>Bh – GT3B4</i>	0,000–0,567 (0,352)	0,000–0,621 (0,438)
<i>Bh – GT3B5</i>	0,000–0,673 (0,442)	0,000–0,632 (0,450)
<i>Bh – GT3C9</i>	0,000–0,599 (0,405)	0,000–0,764 (0,469)
<i>Bh – CT3D5</i>	0,000–0,635 (0,488)	0,000–0,707 (0,517)
<i>Bh – GT3D8</i>	0,000–0,686 (0,515)	0,000–0,632 (0,232)
<i>Bh – GT3G9</i>	0,000–0,674 (0,507)	0,000–0,674 (0,515)

Значения генетических дистанций между образцами из аборигенных популяций мало превышали размеры генетических дистанций между образцами инвайдеров, однако эти различия были статистически значимы ($p = 0,000 0$).

Рассчитанные генетические дистанции использовали для построения графиков методом координатного анализа, результаты которого представлены на рис. 1. В соответствии с методом исследованные генетические образцы изображены в виде скопления точек в трехмерной системе координат.

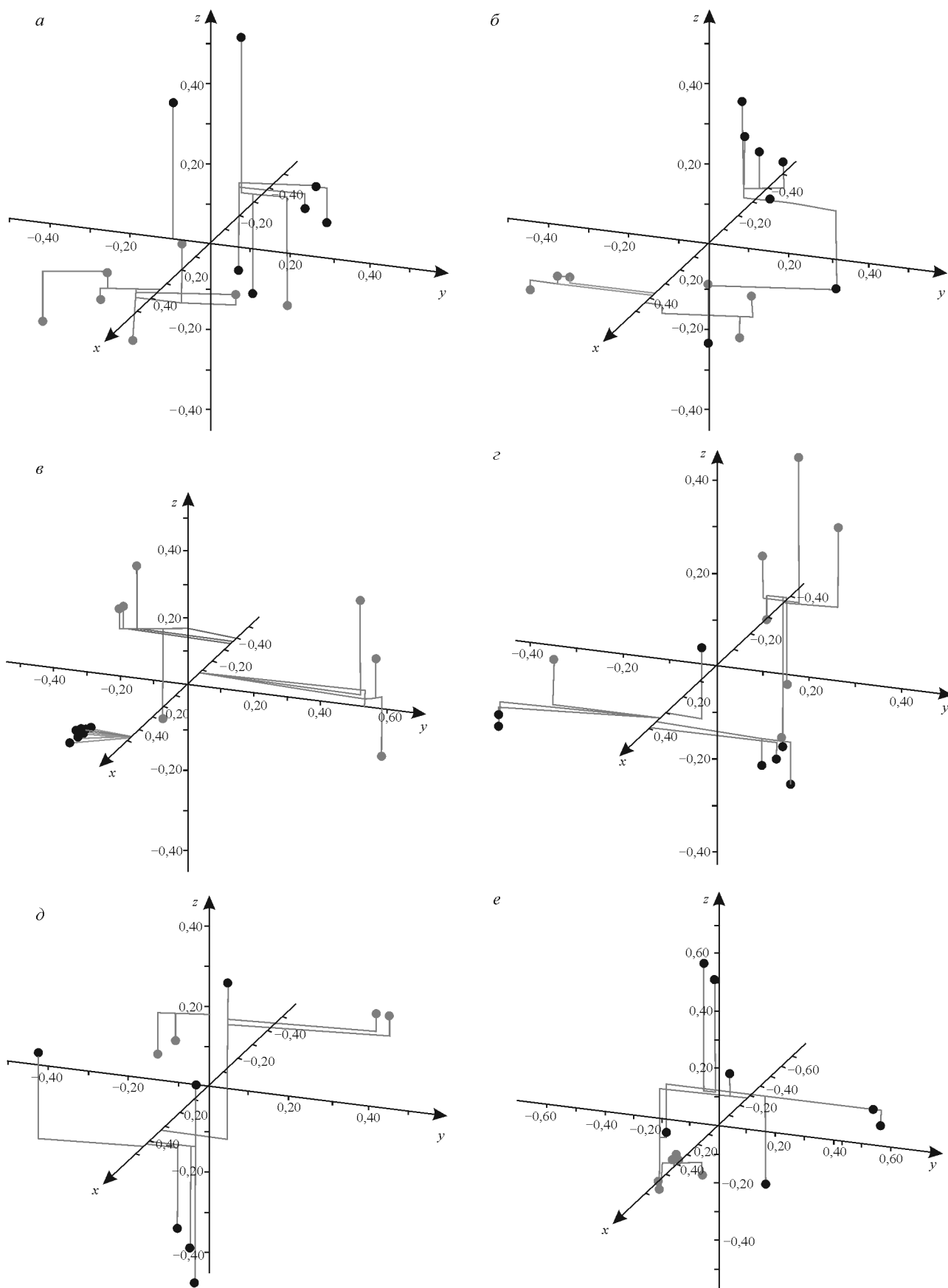


Рис. 1. Анализ сходства микросателлитных локусов *B. divaricatae*: а – локус B4; б – локус D5; в – локус H7; г – локус G9; д – локус D8; е – локус C9.
 ● – Армения; ● – Беларусь

Результаты анализа выборки по каждому микросателлитному локусу в отдельности показали, что образцы из Беларуси не образуют на графиках изолированной группы (исключение составляет локус *H7*), что свидетельствует об отсутствии принципиальных различий между аборигенными формами и инвайдерами. Однако при объединении результатов РСА-анализа оказалось, что все исследованные образцы разбились на три разновеликие группы (рис. 2).

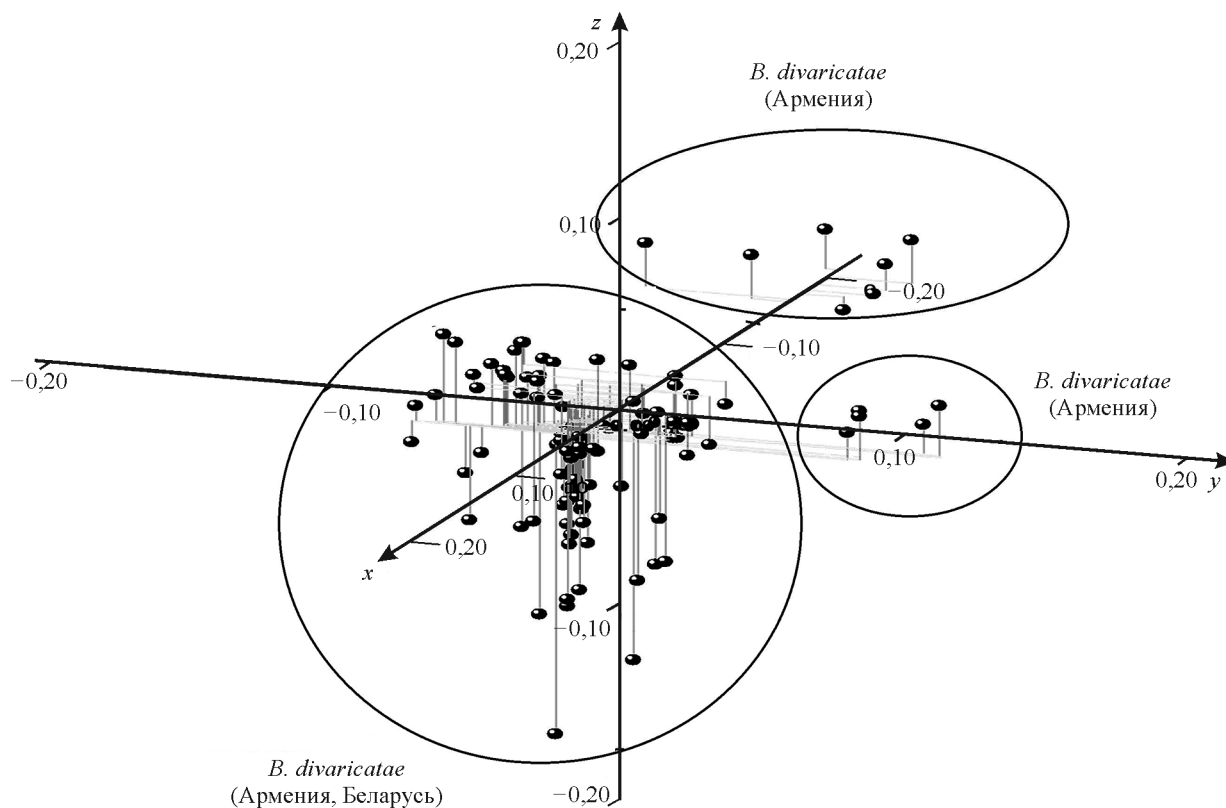


Рис. 2. Анализ сходства микросателлитных локусов *B. divaricatae*, коллектированных на территории Армении и Беларуси

Центральная группа объединила тлей как из инвазивных, так и из аборигенных популяций, она включала тлей, значительно отличающихся друг от друга, однако все они могли сформировать филогенетические связи между собой. Еще две группы были образованы только тлями из Армении, в них вошли образцы, чьи STR-паттерны не могли быть «связаны» с остальными цепочкой элементарных эволюционных событий. Этот факт соответствует ожидаемым результатам, поскольку может быть следствием реализации «эффекта основателя». Однако, учитывая крайнюю молодость коллектированных на территории Беларуси популяций *B. divaricatae* (менее 10 лет, что соответствует приблизительно десяти половым и 40–50 партеногенетическим поколениям), можно заключить, что экспансия тлей *B. divaricatae* на новые территории происходит без существенной потери генетической вариабельности.

Таким образом, инвазивные популяции *B. divaricatae* на территории Беларуси обладают меньшим уровнем генетической вариабельности, чем аборигенные на территории Армении, однако это различие не является кардинальным. Результаты исследования показали, что экспансия *B. divaricatae* на новые территории происходит без существенной потери генетической вариабельности, а если оценивать количество выявленных уникальных STR-аллелей – даже с ее частичным возрастанием. Поскольку уровень генетической вариабельности инвазивных популяций находится в прямой связи с их потенциальной опасностью как вредителей сельскохозяйственных и других культивируемых растений, данный вопрос требует тщательного дополнительного изучения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Global Invasive Species Programme (GISP). 1999 [Electronic resource]. URL: <http://jasper.stanford.edu/gips/> (date of access: 04.02.2014).
2. Cichocka E., Lubiarz M. Aphids colonizing cherry plum (*Prunus cerasifera* Ehrh.) trimmed hedges // Aphids and Other Hemipterous Insects. 2003. Vol. 9. P. 37–44.

3. *Osiadacz B., Halaj R.* Systematic review of aphids (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphidomorpha) of Poland with host plant index // Silesian Natural History Monographs. 2010. Vol. 1.
4. *Rakauskas R., Turčinavičienė J.* *Brachycaudus divaricatae* Shaposhnikov, 1956 in Europe: biology, morphology and distribution, with comments on its taxonomic position (Hemiptera, Sternorrhyncha: Aphididae) // Zoosystematics and Evolution. 2006. Vol. 82 (2). P. 248–260.
5. *Rakauskas R., Buga S.* Contribution to the knowledge of the aphid (Hemiptera, Sternorrhyncha: Aphidoidea) fauna of the Gorodok Highland, Belarus // Acta Zool. Lituanica. 2010. Vol. 20 (4). P. 205–224.
6. *Воронова Н. В., Сетракова Е. М., Караган Г. А., Айвазян А. Э., Буга С. В.* Морфометрический анализ тлей *Brachycaudus divaricatae* Shar. (Rhynchota: Aphididae): варьирование значений признаков между аборигенными и инвазивными популяциями // Вестн. Гродн. гос. ун-та им. Я. Купалы. Сер. 5, Экономика. Социология. Биология. 2014. № 2 (177). С. 136–143.
7. *Coeur d'Acier A., Cocuzza G., Jousselin E., Cavalieri V., Barbagallo S.* Molecular phylogeny and systematics in the genus *Brachycaudus* (Homoptera: Aphididae): insights from a combined analysis of nuclear and mitochondrial genes // Zoologica Scripta. 2012. Vol. 37. P. 175–193.

Поступила в редакцию 25.06.2015.

Мария Михайловна Воробьева – аспирант кафедры зоологии биологического факультета БГУ. Научный руководитель – Н. В. Воронова.

Нина Владимировна Воронова – кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии биологического факультета БГУ.

Сергей Владимирович Буга – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой зоологии биологического факультета БГУ.