

КРИЖАНОВСЬКА М. А.✉, ПРОКОП'ЯК М. З., ГОЛІНЕЙ Г. М., ШЕВЧИК Л. О.

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Україна, 46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2, ORCID: 0000-0002-7802-5246, 0000-0002-2846-4208, 000-0003-4346-9151, 0000-0003-0755-2193

✉ kryganovska@chem-bio.com.ua

ОЦІНКА ФЕНОТИПІЧНОЇ МІНЛИВОСТІ МАЛЮНКА ПЕРЕДНЬОСПИНКИ КОЛОРАДСЬКОГО ЖУКА В УМОВАХ м. КАМ'ЯНКА-БУЗЬКА ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Мета. Проаналізувати прояв поліморфізму колорадського жука на основі малюнку передньоспинки локальної популяції *Leptinotarsa decemlineata* Say, що розвивалась на території м. Кам'янка-Бузька Львівської області. **Методи.** При вивченні фенотипічної мінливості елементів малюнку передньоспинки імаго використовували видозмінену формулу Л. Тауера та методики Ф. С. Кохманюка і С. Р. Фасулаті, які дозволили здійснити фенооблік популяції. **Результати.** На досліджуваній городній ділянці ідентифіковано 22 варіації фенів, які належать до груп *A, B, C, D, E, G, K, L, M, P*. Серед яких домінували *A, B, C, D, E, F*, а найбільш варіабельними виявились фени групи *A* і *E*. Виявлено, що у 2021 р. локальна популяція за класифікацією Кохманюка налічувала 7 морф, серед яких домінуючою була *U* (42 %) і часто зустрічались *UP* (13 %) та *V* (23 %). У 2022 р. кількість морф зросла до 9 за рахунок появи морф *VH* і *HU* (1-2%), типовими залишились морфи: *U* (27 %), *UP* (18 %) і *V* (21 %). Аналіз частоти феноформ за методикою Фасулаті показав, що у популяції 2021 р. присутні всі 9 фенофор, серед яких домінували 3 (33 %), 6 (16 %), 8 (12 %), 9 (11 %). У наступному році феноформи 4 і 5 були відсутні. Домінуючою феноформою залишилася 3 (33 %), частота феноформи 6 не значно зменшується (14 %), проте майже у 2 рази збільшується частота феноформи 9. **Висновки.** Аналіз фенотипічної мінливості колорадського жука показав, що локальна популяція м Кам'янка-Бузька Львівської області є гетерогенною і демонструє утворення нових фенів та їх варіацій, які сприяють появі нових морф і феноформ. Це свідчить про збільшення поліморфізму і початку формування стійкої резистентної до отрутохімікатів популяції.

Ключові слова: колорадський жук, передньоспинка, фенотипічний поліморфізм, фен, феноформа.

Одним з найбільш яскравим прикладом видів-вселенців є колорадський жук (*Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824) якій належить до сільськогосподарських шкідників і володіє великою індивідуальною та популяційною мінливістю. Йому притаманна висока екологічна пластичність, яка зумовлена еколого-фізіологічним поліморфізмом, що формується на основі генетичної варіабельності особин [1-3].

Завдяки широкому спектру внутрішньовидової мінливості колорадський жук демонструє здатність до прискореної адаптації в найрізноманітніших екологічних умовах. Це дозволяє йому швидко пристосовуватись до нових стресових умов, еволюціонувати та утворювати нові стійкі форми, які формують резистентні популяції, головним чином до засобів боротьби з ними [4-7].

Формування пристосування даного виду прослідковується на основі адаптаційного поліморфізму популяції та проявляється у зміні біологічних показників і появи нових внутрішньопопуляційних форм. Наслідком цього є зміна зовнішніх ознак особин шкідника [8, 9].

На сучасному етапі проведення популяційних досліджень велику увагу приділяють вивченню поліморфізму на молекулярному, хромосомному, білковому рівнях. Проте використання фенотипічних маркерів залишається актуальним і на початковому етапі дослідження популяції дозволить отримати дані про межі внутрішньовидових угруповань, виникнення нових популяційних вогнищ та намітити подальші шляхи їх вивчення [10].

Як дискретно мінливі ознаки – фени – у колорадського жука виділяють різноманітність малюнка тіла імаго, жилкування крил, забарвлення яєць і личинки. Особливу увагу приділяють малюнку плям тім'яні, передньоспинки та надкрил імаго. Найчастіше для аналізу використовують морфологічний поліморфізм малюнка передньоспинки. Доведено, що варіабельність його елементів пов'язана із дією багатьох абіо-

© КРИЖАНОВСЬКА М. А., ПРОКОП'ЯК М. З., ГОЛІНЕЙ Г. М., ШЕВЧИК Л. О.

тичних і біотичних факторів та антропогенним впливом, зокрема, харчової бази, вологості, температури, інсектицидів, фітонцидів. Більшість варіабельної зміни малюнка генетично обумовлена [4, 11].

Наукові дослідження фенотипічної структури локальних популяцій колорадського жука дозволили виявити взаємозв'язок адаптаційного поліморфізму з малюнком передньоспинки імаго, це допоможе встановити широкий спектр внутрішньовидової мінливості *L. decemlineata*, виявити напрямки, темп і особливості мікроеволюційних процесів виду та розробити рекомендації по селекції сортів картоплі стійкої до ураження та ефективного використання інсектицидів [5, 12, 13].

Географічні й кліматичні умови Львівської області є придатними для вирощування картоплі та відтак достатньо сприятливими для масового розповсюдження жука-шкідника. Ефективним способом контролю і регуляції чисельності шкідників є визначення напрямку формування його адаптації до факторів середовища. Індикаторним показником адаптаціогенезу може

слугувати зміна фенотипічної структури популяції *L. decemlineata*.

Матеріали і методи

Оцінку фенотипічної мінливості колорадського жука здійснювали без розподілу за статтю методом активного відлову у червні 2021 р. (100 екземплярів) і червні 2022 р. (100 екземплярів) роках на ділянках рослин *Solanum tuberosum* L. сорту Рів'єра у приватному господарстві м Кам'янка-Бузька. Насадження картоплі до збору жука інсектицидом не оброблялися. Зібрані екземпляри закріплювали за допомогою голки на пінопласт і формували колекції по 100 комах. У кожного десятого жука розглядали малюнок передньоспинки, ідентифікували фени (рис. 1), замальовували дані варіації та склали формулу запропоновану Тауером і удосконалену Кохманюком (рис. 2) [2, 4, 14]. Фенооблік всіх зібраних комах проводили за методикою Ф. С. Кохманюка і С. Р. Фасулаті (рис. 5) [2, 4].

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали з використанням Microsoft Excel-7 і STATISTIKA 6.0.

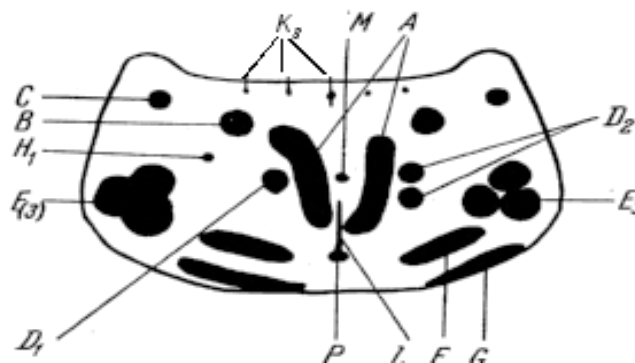


Рис. 1. Умовна схема розташування фенів на передньоспинці колорадського жука (за Л. Тауером, 1906).

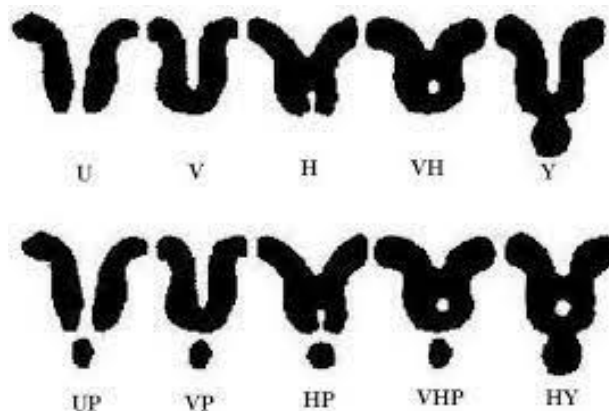


Рис. 2. Схема різноманіття фенів групи А (за Ф. С. Кохманюком).

Результати та обговорення

Малюнок передньоспинки колорадського жука являє собою складну і лабільну систему меланінових рисок і плям різних розмірів і форми, більшість з яких попарно симетричні. Можливе як симетричне, так і асиметричне злиття сусідніх плям. Більшість із фенів та їх варіації представлені практично у кожній популяції.

Досліджена популяція колорадського жука м. Кам'янка-Бузька характеризується різноманітністю фенів, а також їх кількістю та розташуванням. Проводячи аналіз мінливості малюнку передньоспинки обраних 20 піддослідних комах було виявлено 22 варіації фенів які представлені у таблиці 1.

Домінуючими групами фенів у популяції колорадського жука на городній ділянці були виявлені *A*, *C*, *D*, *E*, *F* (рис. 3).

Фен *A* мав 4 модифікації: *A* – пряма смуга (6 повторів), *A*¹ – зігнута угорі (17 повторів), *A*₁ – зігнута знизу (1 випадок), (*A*¹*B*) угорі з'єднана з феном *B* (19 повторів). Фен *B* (одна пляма) – без модифікації (17 повторів). Фен *C* був наявний у кожній особині (20 екземплярів). Фени *D* мали 2 модифікації: 1 пляма (27 повторів) і 2

з'єднані плями (4 повтори). Найбільше модифікацій (8) спостерігали у фенів групи *E*: 2, 3, 4 окремі плями (4, 8, 1 повтор відповідно), 2, 3, 4 з'єднані плями (3, 14, 1 повтор відповідно) та 2 злиті разом і 1 окремо (8 повторів), 3 злиті разом і 1 окремо (1 випадок). Фен *F* спостерігали у 19 особин, 1 екземпляр не мав даного фену. Фен *G* був зафіксований у 2022 р. в одного жука. Особливо треба відмітити появу фенів *K*, *L*, *M* у жуків з піддослідної городньої ділянки на другому році дослідження. Очевидно їх поява була викликана застосуванням інсектициду протягом літа. Так, фен *K* у вигляді 4 окремих плям було виявлено у 1 жука, фен *L* у – 3, фен *M* – у 2 і фен *P* – у 3 екземплярів.

Отже, отримані результати свідчать про те, що у досліджуваній популяції *L. decemlineata* найбільш варіабельними виявились фени групи *A* і *E*. З літературних джерел відомо [2], що фени групи *A* володіють адаптивними пристосуваннями, тому зростання частоти фенів даної групи свідчить, що носії цих фенів мають високу спроможність до виживання в мінливих умовах техногенного навантаження.

Таблиця 1. Частота варіювання фенів на передньоспинці *Leptinotarsa decemlineata* у досліджуваній популяції

№	Фен	Рік	
		2021 рік	2022 рік
1	<i>A</i>	3	3
2	<i>A</i> ¹	9	8
3	<i>A</i> ₁	–	1
4	(<i>A</i> ¹ <i>B</i>)	11	8
5	<i>B</i>	11	6
6	<i>C</i>	20	20
7	<i>D</i> ₁	15	12
8	<i>D</i> (₂)	2	2
9	<i>E</i> ₂	–	4
10	<i>E</i> ₃	5	3
11	<i>E</i> ₄	1	–
12	<i>E</i> (₂)	1	2
13	<i>E</i> (₃)	6	8
14	<i>E</i> (₄)	–	1
15	<i>E</i> (₂)+1	6	2
16	<i>E</i> (₃)+1	1	–
17	<i>F</i>	20	18
18	<i>G</i>	–	2
19	<i>K</i> ₄	–	1
20	<i>L</i>	–	3
21	<i>M</i>	–	2
22	<i>P</i>	8	3

Примітка. Розшифрування умовних позначень фенів наведено на рис. 1.

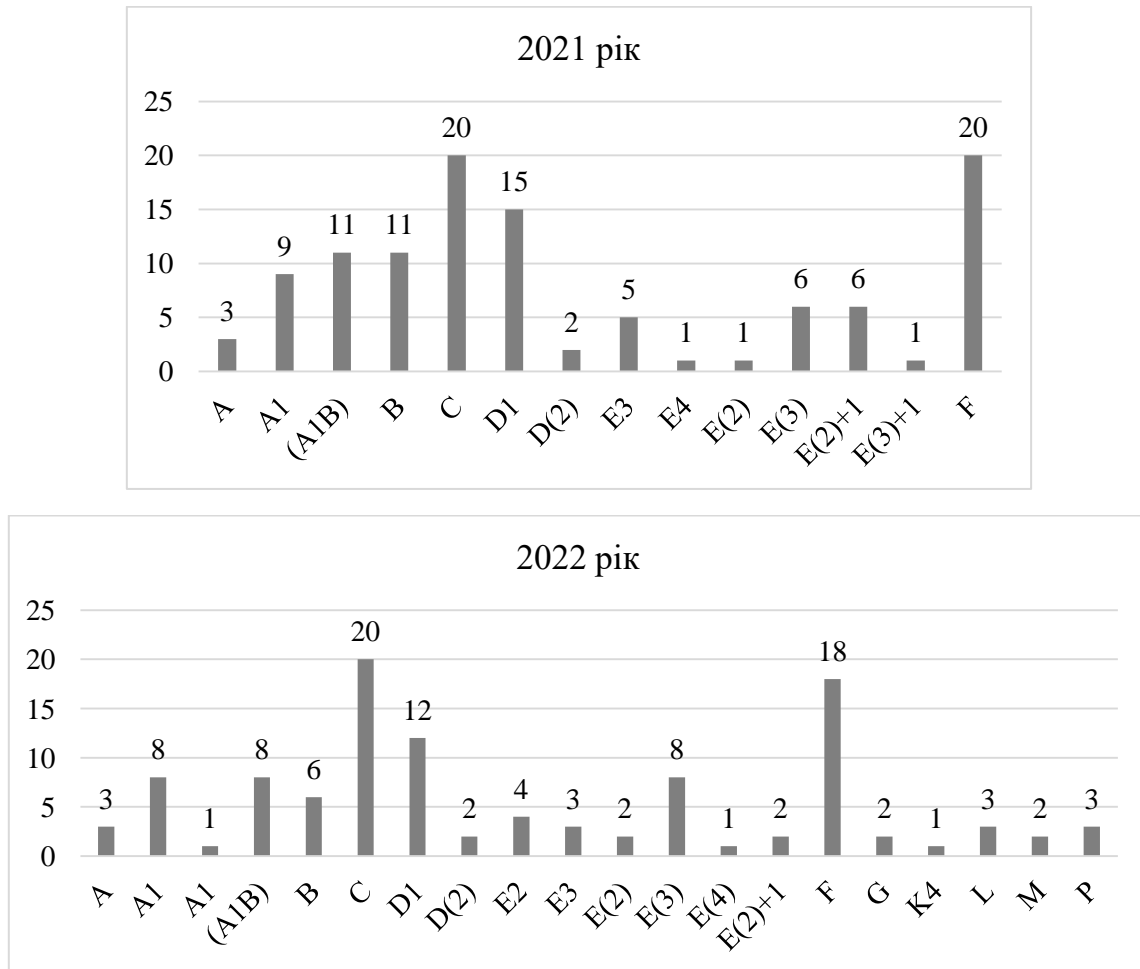


Рис. 3. Співвідношення частоти варіювання фенів (дані за 2021 і 2022 рр.).

За розширеною класифікацією Ф. С. Кохманюка, яка урізноманітнює опис варіації фенів групи *A* і виділяє 10 морф, було проаналізовано по 100 екземплярів з вибірки кожного року.

Проведений аналіз показав, що в умовах м. Кам'янка-Бузька у 2021 р. серед існуючих 10 морф було виявлено 7. Домінуючою була морфа

U на яку припадало 42 % популяції. На дослідній ділянці доволі часто зустрічались морфи *UP* та *V* (13 % і 23 % відповідно). Малочисельними були морфи: *VP* які складали 8 %, морфа *H* – 2 %, морфа *HP* – 9 %, морфа *Y* – 3 %. На території локальної популяції були відсутні три морфи: *VH*, *VHP*, *HY* (табл. 2).

Таблиця 2. Частота морф локальної популяції *Leptinotarsa decemlineata* (за класифікацією Ф. С. Кохманюка)

Морфи	Рік	
	2021	2022
<i>U</i>	0,42 ± 0,04	0,27 ± 0,04
<i>UP</i>	0,13 ± 0,03	0,18 ± 0,03
<i>V</i>	0,23 ± 0,04	0,21 ± 0,04
<i>VP</i>	0,08 ± 0,02	0,13 ± 0,03
<i>H</i>	0,02 ± 0,01	0,05 ± 0,02
<i>HP</i>	0,09 ± 0,02	0,11 ± 0,03
<i>VH</i>	–	0,02 ± 0,01
<i>VHP</i>	–	–
<i>Y</i>	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01
<i>HY</i>	–	0,01 ± 0,009

На досліджуваній городній ділянці у 2022 році було виявлено 9 морф з 10. Типовими були морфи: *U* яку мали 27 % жуків, *UP* – 18 % і *V* – 21 %. На морфи *VP* і *HP* припадало 13 % і 11 % відповідно. Морфа *H* була малочисельна, проте її частота зросла у порівнянні до минулого року. Хоча частота морф *VH* і *HU* коливалась в незначних межах 1-2 %, необхідно зазначити, що вони були відсутні у 2021 році, що може свідчити про збільшення поліморфізму і формування стійких популяцій. Не дивлячись на збільшення різноманіття морф, морфа *VHP* у даній городній популяції не була ідентифікована.

Суттєва різниця між 2021 і 2022 роках за частотою зустрічі спостерігалась лише по морфі

U, різниця між іншими морфами становила 0,01-0,05.

Отримані експериментальні дані підтверджують загальну спрямованість до збільшення мінливості колорадського жука у бік ускладнення малюнку, якщо вони мешкають в мінливих умовах середовища, або зазнають антропогенного тиску.

Застосування методики С. Р. Фасулаті дозволяє описати фенотипічну мінливість досліджуваної городньої популяції не за допомогою окремих фенів, а використати їх сукупність (рис. 4).

На основі взаємного розташування фену *A* та сусідніх фенів *P* і *B* зібраних колорадських жуків розділяли на 9 феноформ (табл. 3, рис. 5).

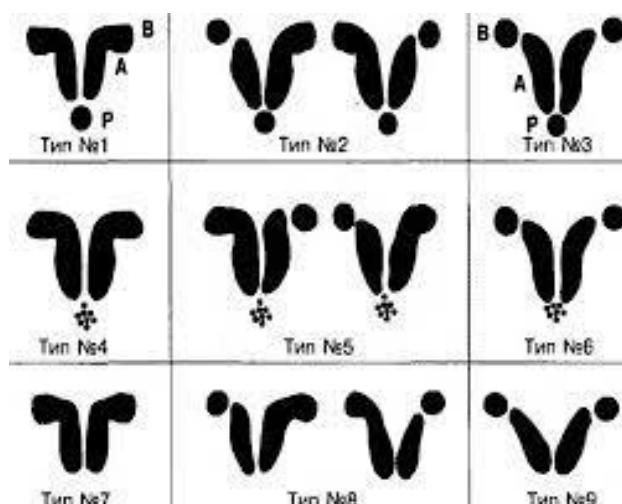
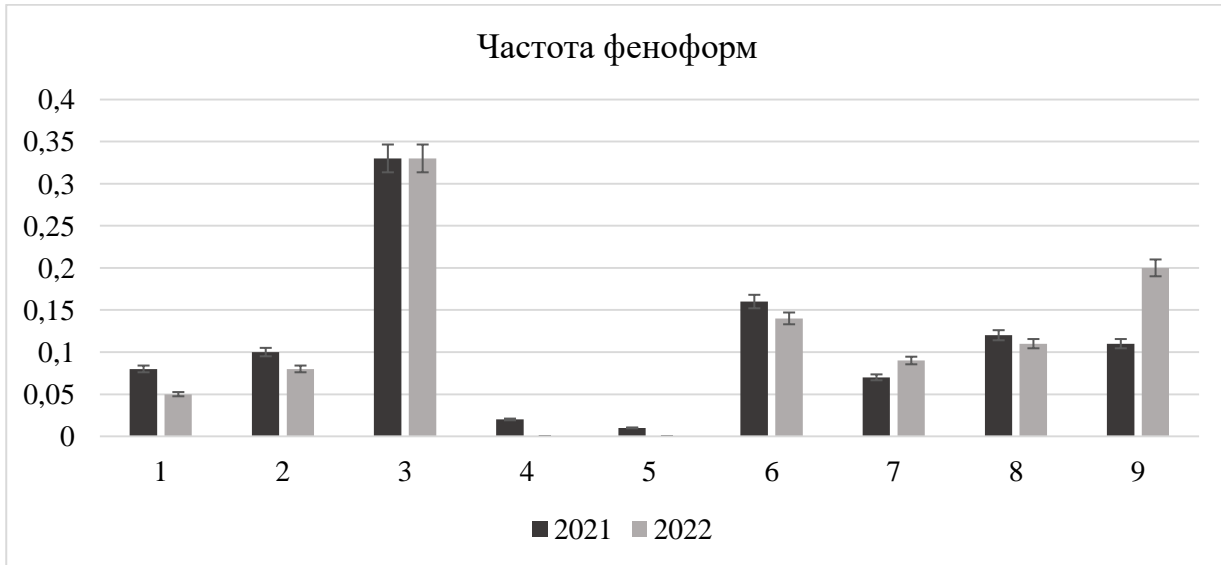


Рис. 4. Основні комплекси малюнка, їх умовні номери, відмінні ознаки та позначення фенів (за С. Р. Фасулаті)

Таблиця 3. Частота феноформ локальної популяції *Leptinotarsa decemlineata* Say (за класифікацією Фасулаті)

Феноформа	Частота	
	2021 рік	2022 рік
1	0,08 ± 0,04	0,05 ± 0,03
2	0,10 ± 0,04	0,08 ± 0,04
3	0,33 ± 0,07	0,33 ± 0,07
4	0,02 ± 0,02	–
5	0,01 ± 0,02	–
6	0,16 ± 0,05	0,14 ± 0,05
7	0,07 ± 0,04	0,09 ± 0,04
8	0,12 ± 0,05	0,11 ± 0,05
9	0,11 ± 0,04	0,20 ± 0,06

Рис. 5. Порівняльний аналіз фенотипічної структури популяції *L. decemlineata*.

Аналіз фенотипічної мінливості малюнку передньоспинки колорадського жука показав, що на городній ділянці м. Кам'янка-Бузька у 2021 році було виявлено всі фенотипи, але з неоднаковою частотою. У даній популяції панували особини з фенотипом 3 (33 %) і 6 (16 %). Імаго з фенотипами 8 і 9 займали 12 % і 11 % відповідно. Частота фенотипу 1 складала 8 %, 2 – 10 %, 7 – 7 %, 8 – 12 % і 9 – 11 %. Фенотипи 4 і 5 були зрідка зустрічні (1-2 %).

Проте у наступному 2022 році результатом аналізу встановлено зменшення кількості фенотипів до 7 за рахунок відсутності фенотипу 4 і 5. Домінуючою фенотипом залишається 3, на яку припадає 33 % загальної кількості досліджуваних жуків. Частота фенотипу 6 зменшується на 2 %, а 8 – на 1 %. Проте майже у 2 рази збільшується частота фенотипу 9. Також спостерігалось 2 % збільшення частоти 7 фенотипів. Частота решта фенотипів була меншою на 1-3 %.

Динаміка фенотипічної структури популяції колорадського жука під впливом різних біотичних і абіотичних факторів вивчалась багатьма науковцями [2, 4, 5, 7, 11]. Їх результати свідчать, що для кожного регіону, в залежності від географічно-кліматичних умов та антропогенного тиску формується специфічне співвідношення фенотипів.

Аналіз фенотипічної мінливості *L. decemlineata* показав, що збільшення частоти фенотипів 3, 6, та 9 свідчить про те, що городня

ділянка довгий час оброблялась інсектицидами, які виступають індуктором мікроеволюційних процесів і викликають відповідні адаптації і формують резистентну до отрутохімікатів популяцію.

Мікроеволюційні перетворення у популяціях колорадського жука, що сприяють розвитку резистентності до інсектицидів та адаптацій до стійких сортів картоплі, призводять до дезінтеграції внутрішньопопуляційної структури.

Висновки

Вивчення фенотипічної мінливості малюнку передньоспинки у популяції *L. decemlineata* показало, що на городній ділянці м. Кам'янка-Бузька за класифікацією Тауера наявні 22 варіації фенів. Серед яких домінували фени груп *A*, *B*, *C*, *D*, *E*, *F*, а найбільш варіабельними виявились фени групи *A* і *E*. Фени, які розташовані на повздовжній осі (М, К, L) були виявлені у жуків зібраних у другому році дослідження.

За класифікацією Кохманюка гетерогенність популяції за рік збільшилась з 7 морф до 9, за рахунок появи нових морф *VH* і *HU* з незначною частотою (1-2 %), що вочевидь, свідчить про збільшення поліморфізму і початку формування стійкої популяції.

Аналіз частоти фенотипів за методикою Фасулаті показав, що у популяції пануючими виявились 3,6, 8 і 9, що вказує на стійкість популяції до дії інсектицидів.

References

1. Grapputo A., Boman S., Lindström L. et al. The voyage of an invasive species across continents: genetic diversity of North American and European Colorado potato beetle population. *Mol. Ecol.* 2005. № 14. P. 4207–4219.
2. Toryanik V. N. Phenotypical structure of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) population within Shostka town and its suburbs. *Natural sciences: coll. Science Working Sumy: SumyDPU named after A. S. Makarenko*. 2013. P. 85–91. Retrieved from: https://repository.sspu.edu.ua/bitstream/123456789/3374/1/Toryanik___Fenetychna%20struktura%20populiacii.pdf. [in Ukrainian]
3. Hare J. D. Ecology and management of the Colorado potato beetle. *Ann. Rev. Entomol. Palo Alto*. 1990. Vol. 35. P. 81–100.
4. Yeltsov A. L. Changes in semi natural populations of *Leptinotarsa decemlineata* (Say, 1824) in Precarpathians influenced by anthropogenic pressure. *Bulletin of Vasyl Stefanyk Prykarpattia National University. Series Biology*. Ivano-Frankivsk, 2012. Is. XVI. P. 10–23. Retrieved from: <http://lib.pnu.edu.ua/files/Visniki/visnyk-biolog-2012-16.pdf>. [in Ukrainian]
5. Liutko L. M., Boyko Yu. V. Variability phenotypic structure of colorado potato beetle. *Zbirnyk naukovykh prac' Instytutu bioenergetychnykh kultur s tsukrovyykh byriakiv*. 2012. Is. 15. P. 54–57. Retrieved from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/znpicb_2012_15_14. [in Ukrainian]
6. Feyereisen R. Molecular biology of insecticide resistance. *Toxicol. Lett.* 1995. № 82/83. P. 83–90.
7. Novoselska T. G. Aspects of influence of natural factors on the microevolutionary variability of the population structure of adults of the Colorado potato beetle. *Zakhyst i karantyn roslyn*. 2002. Is. 48. P. 98–103. [in Ukrainian]
8. Ryabchenko M. O., Nikitin M. I., Lysytska. S. M. Autecology of the Colorado beetle. Dnipropetrovsk : Porogy, 2007. 172 s. [in Ukrainian]
9. Loxdale H. D., Lushai G. Molecular markers in entomology. *Bull. Entomol. Res.* 1998. № 88. P. 577–600.
10. Vashchyshyn O. A. Koloradskyi zhuk u zakhidnomu lisostepu Ukrainy. *Peredhirne ta hirske zemlerobstvo i tvarynnytstvo*. 2016. Is. 59. P. 32–39. Retrieved from: http://nbuv.gov.ua/UJRN/pgzt_2016_59_7. [in Ukrainian]
11. Jakubenko D. S., Zadorozhnaya V. J. Phenotypic structure of population *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 of Mihajlovsky district of Zaporozhian region. *Bulletin of Zaporizhzhya National University*, 2013. P. 12–18. Retrieved from: https://alfasmartagro.com/alfa-science/harmful_objects/potato_pests/leptinotarsa_decemlineata_say/. [in Ukrainian]
12. Roderick G. K. Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography, and their uses. *Ann. Rev. Entomol.* 1996. № 41. P. 325–352.
13. Hawthorne D. J. AFLP-based genetic linkage map of the colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say : sex chromosomes and a pyrethroid-resistance candidate gene. *Genetics*. 2001. Vol. 158. P. 695–700.
14. Tower W. L., 1906. An investigation of evolution in Chrysomelid beetles of the genus *Leptinotarsa*. Wash. : Publ. Carnegie Inst. 320 p.

KRYZHANOVSKA M. A., PROKOPIAK M. Z., HOLINEI H. M., SHEVCHYK L. O.

*Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University,
Ukraine, 46027, Ternopil, M. Kryvonosa str., 2*

EVALUATION OF THE PHENOTYPIC POLYMORPHISM OF THE PATTERN OF *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY PRONOTUM IN THE CONDITIONS OF KAMIANKA-BUZKA CITY (LVIV OBLAST)

Aim. The Colorado potato beetle population is characterized by a high degree of polymorphism. This provides a high level of adaptability to the most diverse distribution conditions. The aim is to the study of the variability of the pattern of *Leptinotarsa decemlineata* pronotum in June 2021 and June 2022. **Methods.** The analysis of the phenotypic variability of *L. decemlineata* population of Kamianka-Buzka city based on studying the presence or absence of certain phens, their number and placement according to Tauer method. **Results.** 22 variations of phens belonging to *A, B, C, D, E, G, K, L, M, P* groups were found. The dominant were phens of *A, B, C, D, E, F* groups. The most variable were the phens of *A* and *E* groups. The phenotypic structure of the colorado beetle population was determined according to Kohmaniuk's classification. It was found that the dominant morphs in 2021 and 2022 were *U* (42 % and 27 %), *UP* (13 % and 18 %) and *V* (23 % and 21 %), respectively. **Conclusions.** The analysis of the frequency of phenoforms according to the Fasulati method showed that in the population of 2021 and 2022, phenoforms 3, 6 and 9 were dominant. They form the basis of the population and ensure the resistance of the population to the insecticides. The study of the intrapopulation diversity indicates an unbalanced population structure of *L. decemlineata*.

Keywords: *Leptinotarsa decemlineata*, pronotum, phenotypic polymorphism, phen, phenoform.