

ВОРОБЬЕВА М.М.✉, **ВОРОНОВА Н.В.**

Белорусский государственный университет,

Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4, e-mail: varabmm@bsu.by

✉ masch.89@mail.ru, +37544-550-91-33

РАЗЛИЧИЯ В УРОВНЕ ВНУТРИВИДОВОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ В ТАКСОНАХ ТЛЕЙ, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ ХАРАКТЕРОМ ЭВОЛЮЦИОННОЙ ДИНАМИКИ

Внутривидовая генетическая вариабельность, как известно, является основным фактором, обеспечивающим выживание видов в нетипичных условиях окружающей среды и способствующим успешному противостоянию давлению естественного отбора на уровне популяций [1]. По этой причине оценка уровня генетической вариабельности, присущей виду как целому, имеет не только теоретический, но и значительный практический интерес, поскольку сведения о существующем внутри вида потенциале изменчивости могут служить индикатором потенциальной способности вида к расширению ареала или спектра кормовых растений, что особенно важно в случае насекомых – вредителей сельскохозяйственных растений, обладающих высоким биотическим потенциалом.

Особый интерес для изучения уровня внутривидовой генетической изменчивости представляют настоящие тли, поскольку среди них есть виды, значительно различающиеся по многим параметрам: степени пищевой специализации (генералисты и специалисты), широте ареала (космополиты и локально распространенные) или особенностям жизненного цикла (голоциклические и анголоциклические) [2, 3]. В этой связи тли являются уникальной моделью для изучения связи особенностей биологии вида и скорости закрепления мутаций в геноме. Согласно классическим представлениям, виды, питающиеся на широком спектре кормовых растений, различающихся между собой составом вторичных метаболитов (как, например, *Aphis craccivora* Koch, *A. fabae* Scopoli, *A. gossypii* Glover, *Myzus persicae* Sulzer и др.), должны обладать более высоким уровнем генетической изменчивости в сравнении с видами, адаптированными к питанию на узком спектре кормовых растений, так как подвергаются действию разнонаправленного естественного отбора в значительно отличающихся условиях. На сегодняш-

ний день в мире зарегистрировано небольшое количество многоядных видов тлей, большинство из которых принадлежит к наиболее молодому подсемейству (Aphidinea) [4, 5]. Климатические условия также играют важную роль в процессе биологической адаптации тлей, представляя собой мощный фактор отбора, оказывающий воздействие на все популяции одновременно и влияющий на генетический потенциал вида [6]. Способность к модификации жизненного цикла так же, как и способность питаться на широком спектре кормовых растений и адаптироваться к значительно различающимся климатическим условиям, может оказывать влияние на изменение генетической структуры популяции [7], причем характер этого влияния может быть противоречив.

Поскольку, как было сказано, уровень генетической вариабельности играет ключевую роль в адаптации видов к изменяющимся условиям окружающей среды и реализации их репродуктивного потенциала, в рамках настоящего исследования мы изучили динамику генетической вариабельности у тлей с широким и узким спектром кормовых растений, а также с разным жизненным циклом, основываясь на анализе нуклеотидных последовательностей митохондриального гена субъединицы 1 цитохромоксидазы *c* (*COI*). Анализируемый ген функционально не связан с питанием или метаболизмом компонентов пищи и не оказывает прямое влияние на адаптацию вида к значительно отличающимся климатическим условиям [8], поскольку, как известно, цитохромоксидаза *c* представляет собой терминальный фермент дыхательной цепи эукариот, генерирует окисление O_2 и транспортный перенос протонов через внутреннюю мембрану [9]. Ген *COI* входит в число наиболее консервативных белоккодирующих генов животных, поэтому в его последовательности допустимы только такие

замены, которые не нарушают функцию продукта, так как нарушение функции белка приводит к блокировке дыхательной цепи и элиминации мутантов. По этой причине, в ситуации, когда последовательность гена находится под действием строгого стабилизирующего отбора, мы можем рассчитывать, что накопление мутаций в этом гене будет носить стохастический характер и сможет служить маркером общей активности мутационного процесса

в геноме [10].

Материалы и методы

В качестве объекта для исследования были выбраны 63 вида тлей. Основываясь на литературных данных [11], анализируемые виды разделили на группы в соответствии с двумя критериями: широта перечня кормовых растений и особенности жизненного цикла (табл.).

Таблица. Дифференциация анализируемых видов тлей в зависимости от особенностей их биологии

Вид тлей	Пищевая специализация			Жизненный цикл	
	С.	У.Г.	Ш.Г.	А.	Г.
1	2	3	4	5	6
<i>Acyrtosiphon malvae</i>	-	+	-	+	-
<i>A. assiniboinense</i>	+	-	-	+	-
<i>A. pisum</i>	-	+	-	-	+
<i>Amphorophora agathonica</i>	-	+	-	-	+
<i>Anoecia fulviabdominalis</i>	-	+	-	+	-
<i>Aphis craccivora</i>	-	-	+	+	-
<i>A. fabae</i>	-	-	+	+	-
<i>A. farinosa</i>	-	+	-	-	+
<i>A. glycines</i>	-	+	-	-	+
<i>A. gossypii</i>	-	-	+	+	-
<i>A. maculatae</i>	-	+	-	+	-
<i>A. middletonii</i>	+	-	-	+	-
<i>A. nerii</i>	-	+	-	-	+
<i>A. oenotherae</i>	-	+	-	+	-
<i>A. pomi</i>	-	+	-	+	-
<i>A. rubicola</i>	+	-	-	+	-
<i>A. spiraeicola</i>	-	-	+	+	-
<i>A. varians</i>	-	+	-	+	-
<i>Aulacorthum solani</i>	-	-	+	+	-
<i>Brachycaudus cardui</i>	-	+	-	+	-
<i>B. helichrysi</i>	-	-	+	+	-
<i>Calaphis viridipallida</i>	-	+	-	+	-
<i>Capitophorus elaeagni</i>	-	+	-	-	+
<i>Chaitophorus neglectus</i>	+	-	-	+	-
<i>C. populicola</i>	+	-	-	+	-
<i>C. stevensis</i>	+	-	-	+	-
<i>Cinara costata</i>	-	+	-	+	-
<i>C. laricifex</i>	+	-	-	+	-
<i>C. mariana</i>	-	+	-	+	-
<i>C. nimbata</i>	+	-	-	+	-
<i>Drepanaphis acerifoliae</i>	+	-	-	+	-
<i>D. parva</i>	+	-	-	+	-
<i>Drepanosiphum platanoidis</i>	-	+	-	-	+
<i>Eriosoma lanuginosum</i>	-	+	-	-	+
<i>Euceraphis borealis</i>	+	-	-	+	-
<i>E. papyrifericola</i>	+	-	-	+	-
<i>Eulachnus rileyi</i>	-	+	-	-	+
<i>Hayhurstia atriplicis</i>	-	+	-	-	+
<i>Hyalopterus pruni</i>	-	+	-	-	+

Продолжение табл.

1	2	3	4	5	6
<i>Hyperomyzus lactucae</i>	–	+	–	+	–
<i>Illinoia rubicola</i>	–	+	–	+	–
<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	–	–	+	+	–
<i>M. californicum</i>	–	+	–	+	–
<i>M. pseudocoryli</i>	+	–	–	–	+
<i>M. rosae</i>	–	+	–	+	–
<i>Melaphis rhois</i>	–	+	–	+	–
<i>Myzus cerasi</i>	–	+	–	–	+
<i>M. persicae</i>	–	–	+	+	–
<i>Nasonovia ribisnigri</i>	–	+	–	+	–
<i>Nearctaphis bakeri</i>	–	+	–	+	–
<i>Pemphigus betae</i>	–	+	–	+	–
<i>P. populivenerae</i>	–	+	–	+	–
<i>Pentalonia nigronervosa</i>	–	+	–	+	–
<i>Periphyllus testudinaceus</i>	–	+	–	–	+
<i>Pleotrichophorus quadritrichus</i>	–	+	–	+	–
<i>Rhopalosiphum celtifoliae</i>	–	+	–	+	–
<i>R. oxyacanthae</i>	–	+	–	–	+
<i>R. padi</i>	–	+	–	+	–
<i>Schizaphis graminum</i>	–	+	–	–	+
<i>Sitobion avenae</i>	–	+	–	–	+
<i>Thecabius populiconduplifolius</i>	–	+	–	–	+
<i>Therioaphis trifolii</i>	–	+	–	–	+
<i>Uroleucon sonchi</i>	–	+	–	–	+
Размер выборки	13	42	8	43	20

Примечания: С. – специалисты, У.Г. – генералисты с узким спектром кормовых растений, Ш.Г. – генералисты с широким спектром кормовых растений, А. – анголоциклические (неполноцикловые), Г. – голоциклические (полноцикловые).

Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей COI провели по референсному гену в программе MEGA7 с использованием алгоритма MUSCLE. Для минимизирования влияния состава выборок на расчетные данные для каждого вида мы создали пять искусственных реплик (выборок), содержащих по 40 нуклеотидных последовательностей, выбранных случайным образом, для чего использовали собственную программу SHaRK. Для каждой реплики отдельно были рассчитаны: внутривидовые парные генетические дистанции (метод максимального правдоподобия) в программе MEGA7, а также число гаплотипов (h), дивергенция гаплотипов (Hd), нуклеотидное разнообразие (P_i) и среднее значение нуклеотидных различий (k) с использованием программы DNAsp. Статистический анализ полученных данных провели методами непараметрической статистики (метод множественного сравнения средних и медианный тест Манна–Уитни) и методами описательной статистики (использовали показатели меры среднего уров-

ня: среднее значение, стандартную ошибку, стандартное отклонение, максимальные значения, минимальные значения, значения интервала, значения медианы, значения верхней и нижней квантили, доверительный интервал, математическое ожидание) в программе STATISTICA8. Достоверными считали различия при $p \leq 0,01$.

Результаты и обсуждение

Среди анализируемых видов тлей, как было показано выше (таблица), около 20 % могут быть отнесены к специалистам, так как питаются на нескольких кормовых растениях, принадлежащих к одному ботаническому семейству. Большинство анализируемых видов (67 % видов) классифицировались как узкие генералисты, перечень кормовых растений которых включает менее 100 видов кормовых растений из не менее чем 2, но не более, чем 40 ботанических семейств. Кроме того, среди анализируемых тлей были широкие генералисты, адаптированные к питанию на сотнях а иногда и тысячах видов кормовых растений, принадлежащих

более чем к 40 различным семействам (13 % видов). В соответствии с гипотезой, тли-генералисты в сравнении со специалистами должны обладать более высоким уровнем генетической вариабельности, что обусловлено необходимостью адаптироваться к питанию на кормовых растениях с разным содержанием

вторичных метаболитов, в том числе токсичных. Действительно, в результате анализа внутривидовых парных генетических дистанций выявлены статистически значимые различия ($p=0,0073$) между генералистами и специалистами (рис. 1 А).

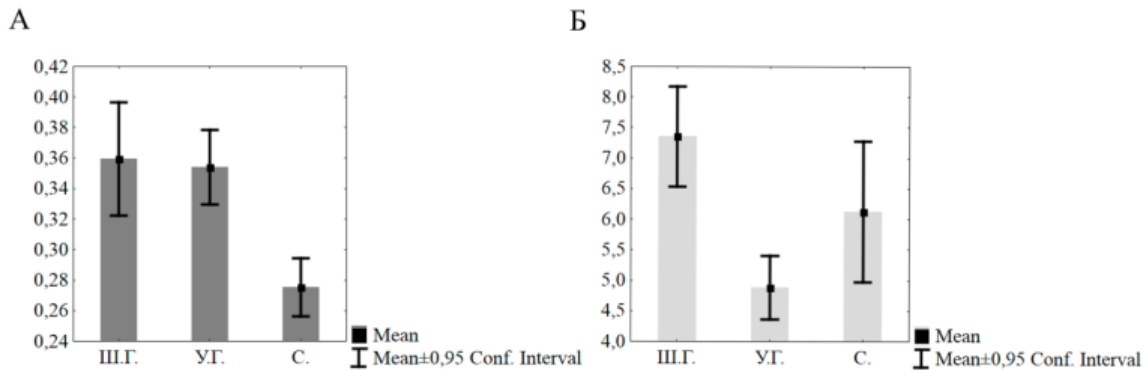


Рис. 1. Средние значения парных внутривидовых генетических дистанций между нуклеотидными последовательностями (А) и числом гаплотипов (Б), отражающие уровень генетических различий у тлей с разным спектром кормовых растений. С. – специалисты, Ш.Г. – генералисты с широким спектром кормовых растений, У.Г. – генералисты с узким спектром кормовых растений.

У генералистов с широким спектром кормовых растений при анализе нуклеотидных последовательностей *COI* было выявлено значительно большее число гаплотипов с высоким уровнем дивергенции в сравнении с генералистами, ассоциированными с узким спектром кормовых растений, и специалистами (рис. 1 Б). Интересно, что узкие генералисты демонстрировали меньшее число гаплотипов на реплику, чем специалисты. У некоторых видов из числа специалистов (*Cinara laricifex*, *Cinara nimbata*, *Chaitophorus populicola*) количество гаплотипов на реплику превышало 10 при среднем значении 6,2, в то время как среди узких генералистов лишь один вид (*Schizaphis graminum*, *Aphis middletonii*) из 42 проанализированных имел более 10 гаплотипов *COI*. Различия по числу выявляемых гаплотипов были статистически значимыми (между генералистами с широким и узким спектром кормовых растений $p=0,0000$; между генералистами с широким спектром кормовых растений и специалистами $p=0,0102$). Значения таких критериев, как среднее число нуклеотидных различий (k) и уровень нуклеотидного разнообразия (Pi), было также выше у генералистов с широким и узким спектром кормовых растений, чем у специализированных видов ($k=2,01$ %, $Pi=0,004$; $k=2,00$ %, $Pi=0,004$; $k=1,38$ %, $Pi=0,002$ соответственно).

Важной особенностью тлей является способность к модификации жизненного цикла. В соответствии с этим критерием на основе литературных данных [12] было принято решение разделить анализируемые виды тлей на следующие группы: голоциклические – тли, для которых характерно чередование полового и партеногенетического размножения; анголоциклические – тли, которые на протяжении всего жизненного цикла размножаются только партеногенетически на большей части ареала. Мы оценили изменчивость последовательности *COI* в этих группах тлей, используя те же статистические показатели.

Результаты анализа средних значений внутривидовых парных генетических дистанций между нуклеотидными последовательностями *COI* показали, что средние генетические дистанции у голоциклических видов значительно выше, чем у анголоциклических ($p=0,0079$) (рис. 2 А).

Большее число гаплотипов при их высокой средней дивергенции, однако, было выявлено у анголоциклических видов тлей (рис. 2 Б). Сравнительный анализ средних значений нуклеотидных различий и нуклеотидного разнообразия также не позволил выявить заметных различий между этими группами тлей по гену *COI*.

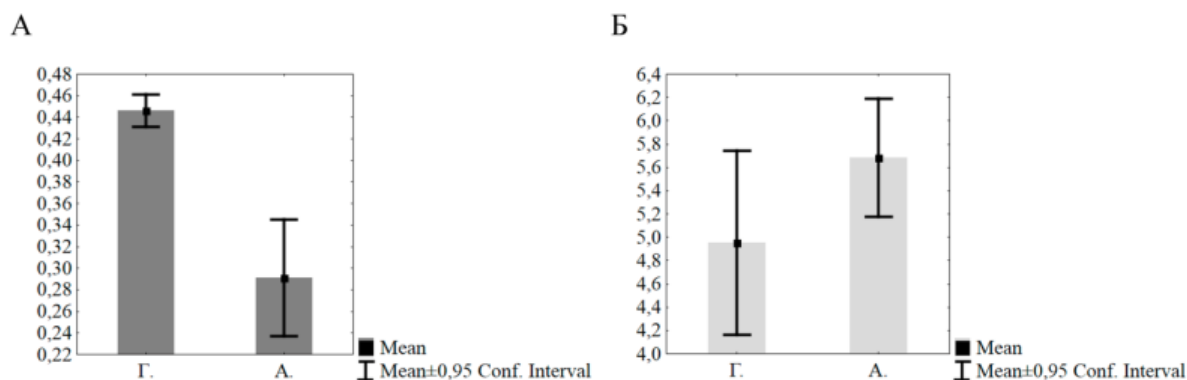


Рис. 2. Средние значения парных внутривидовых генетических дистанций между нуклеотидными последовательностями (А) и числом гаплотипов (Б), отражающие уровень генетических различий у тлей с разным жизненным циклом. Г. – голоциклические (полноциклые); А. – анголоциклические (неполноциклые).

Выводы

Сравнение уровня внутривидовой вариативности последовательности гена *COI* в группах видов тлей, отличающихся особенностями биологии и экологии, показало, что существуют статистически значимые различия между видами тлей с разной степенью пищевой специализации по таким критериям как средние значения внутривидовых генетических дистанций, число выявляемых гаплотипов, дивергенция гаплоги-

пов, нуклеотидное разнообразие и среднее значение нуклеотидных различий. Также были отмечены значительные различия между полноциклыми и неполноциклыми видами тлей. Указанное позволяет заключить, что особенности биологии, в частности пищевая специализация и особенности жизненного цикла, оказывают влияние на скорость закрепления мутаций в митохондриальном гене *COI* у тлей.

Литература

1. Deivendran S. Genetic variability of populations of *Nilaparvata lugens* (Stal) (Delphacidae: Hemiptera) as revealed by random amplified polymorphic DNA // Biolife. – 2015. – V. 3 (1). – P. 40–49.
2. Blackman R.L., Eastop V.F. Aphids of the world trees. An identification and information guide. – London: CAB International, 1994. – 1024 pp.
3. Holman J. Host plant catalog of aphids. Palaearctic region. – Berlin: Springer Science, 2009. – 1216 pp.
4. Vilcinskas A. Biology and ecology of aphids. – Germany, 2016. – 282 pp.
5. Cates A.G. Feeding patterns of monophagous, oligophagous, and polyphagous insect herbivores: The effect of resource abundance and plant chemistry // Oecologia. – 1980. – V. 46. – P. 22–31.
6. Wilson A.C.C., Sunnucks P., Hales D. Heritable genetic variation and potential for adaptive evolution in asexual aphids (Aphidoidea) // Biological J. of the Linnean Society. – 2003. – V. 79, Issue 1. – P. 115–135.
7. Crutsinger G.M., Rodriguez-Cabal M.A., Roddy A.B., Peay K.G., Bastow J.L., Kidder A.G., Dawson T.E., Fine P.V.A., Rudgers J.A. Genetic variation within a dominant shrub structures green and brown community assemblages // Ecology. – 2014. – V. 95 (2). – P. 387–398.
8. Simon C., Frati F., Beckenbach A., Crespi B., Liu H., Flook P. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved PCR primers // Ann. Entomol. Soc. Am. – 1994. – V. 87, N. 6. – P. 651–701.
9. Thao M.L.L., Baumann L., Baumann P. Organization of the mitochondrial genomes of whiteflies, aphids, and psyllids (Hemiptera, Sternorrhyncha) // BMC Evolutionary Biology. – 2004. – V. 4, N. 25. – P. 1–13.
10. Coeur d'acier A., Jousselein E., Martin J.F., Rasplus J.Y. Phylogeny of the genus *Aphis* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae) inferred from mitochondrial DNA sequences // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2007. – V. 42, Issue 3. – P. 598–611.
11. Blackman R.L., Eastop V.F. Aphids on the world's herbaceous plants and shrubs. – Chichester, 2006. – 1439 pp.
12. Favret C., Miller G.L., Nafria J.M.N., Gabaudan F.C. Catalog of the aphid genera described from the new world // Trans. ent. Soc. Am. – 2008. – V. 133, N. 6. – P. 363–412.

VARABYOVA M.M., VORONOVA N.V.

Belarusian State University,

Belarus, 220045, Minsk, Kurchatova str., 10, e-mail: masch.89@mail.ru

DIFFERENCES IN THE LEVEL OF INTRASPECIFIC GENETIC VARIABILITY IN TAXONS OF APHIDS, DIFFERING BY CHARACTER OF EVOLUTIONARY DYNAMICS

Aim. Aphids are an interesting model to study the level of the genetic variability since there are species, which differ in the level of host-plant specialization and the peculiarity of a life cycle among them. The mutations observed in *COI* gene allow defining the interspecific level of the genetic variability in aphids. **Methods.** The highly conservative *COI* gene was used to study the level of the genetic variability in aphids. **Results.** The analysis of nucleotide sequences of *COI* gene allowed discovering statistically significant differences between generalists with wide spectrum of host plants, generalists with narrow spectrum of host plants and specialists. In addition, the genetic differences were discovered between holocyclic and angolocyclic species of aphids. **Conclusions.** As a result of the work it was determined that the wide spectrum of host-plants and holocycle are associated with the high level of genetic variability of *COI* gene in aphids.

Keywords: aphids, genetic variability, *COI*, life cycle, host-plant specialization.