

УДК 574:575

## ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ДУБА ПУШИСТОГО И ЗЕЛЕННОЙ ДУБОВОЙ ЛИСТОВЕРТКИ НА КОМПОНЕНТЫ ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ ЕЕ ПАРАЗИТА *BRACHIMERIA INTERMEDIA* (HYMENOPTERA: CHALCIDIDAE)

Симчук А. П.<sup>1</sup>, Ивашов А. В.<sup>1</sup>, Оберемок В. В.<sup>1</sup>, Гюрбюз М. Ф.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Таврический национальный университет им. В. И. Вернадского, Симферополь, [ecology@crimea.edu](mailto:ecology@crimea.edu)

<sup>2</sup>Университет Сулеймана Демиреля, Испарта, Турция

Исследовали изменчивость размеров тела паразита *Brachimeria intermedia* Nees. (Hymenoptera: Chalcididae) в зависимости от его внутривидовой генетической изменчивости, а также от генетической изменчивости его насекомого хозяина (зеленая дубовая листовертка, *Tortrix viridana* L.) и ее кормового растения (дуб пушистый, *Quercus pubescens* Willd.). Генетическую изменчивость дубов исследовали методом RAPD-PCR (праймер ОРА 14). Для оценки генетической изменчивости листовертки и паразита использовали фены. Полученные данные свидетельствуют, что генетическая изменчивость зеленой дубовой листовертки и ее кормового растения влияет на компоненты приспособленности ее паразитов.

*Ключевые слова:* *Brachimeria intermedia*, *Tortrix viridana*, дуб пушистый, генетика экосистем.

### ВВЕДЕНИЕ

В последнее время возрос интерес к проблеме регулирующей роли генетической информации в экосистемах. Дискуссии по этим вопросам был посвящен специальный выпуск журнала Ecology [1]. В лесных экосистемах основополагающая роль в формировании среды обитания большинства видов принадлежит древесным организмам. Генетические характеристики этих организмов, как оказалось, имеют значение для всей экосистемы. Например, генетическая изменчивость тополя в значительной степени определяет вариабельность таких показателей, как минерализация почвенного азота [2], видовой состав и плотность членистоногих, его населяющих, и даже эффективность контроля численности этих членистоногих со стороны птиц [3]. Генетическая изменчивость дуба голого существенно влияла на потоки углерода и азота в экосистеме [4]. Изменчивость дуба пушистого по RAPD-PCR спектрам проявляла связь с круговоротом некоторых тяжелых металлов [5].

Таким образом, внутривидовая генетическая изменчивость одного вида может вносить определенный вклад в формирование условий существования других видов, находящихся в сфере его влияния. Это значит, что на приспособленность разных генотипов каждого вида в сообществе может оказывать влияние генетическая изменчивость других взаимодействующих с ним видов.

Прямое наблюдение селективных процессов, их анализ и оценка представляют собой достаточно сложную для выполнения процедуру, а зачастую и невозможную из-за неоднозначности трактовки полученных результатов. Косвенной оценкой

селективности может послужить связь того или иного фенотипического или генотипического класса с заведомо важным в приспособительном отношении признаком [6]. Для насекомых в роли таких признаков могут выступать, например, размерные показатели тела, напрямую связанные с приспособленностью [7, 8].

В какой степени изменчивость некоторых паразитов зеленой дубовой листовертки по признакам, связанным с приспособленностью, соотносится с их гено- или фенотипами, а в какой – с генетической изменчивостью самой листовертки и дуба – предмет исследования и обсуждения в данной статье.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в естественной популяции *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera: Tortricidae) на постоянной пробной площади «Лавровое», расположенной на Южном берегу Крыма недалеко от с. Лавровое, севернее Медведь-Горы. В качестве модельных было выбрано 20 деревьев дуба пушистого (*Quercus pubescens* Willd.). С каждого дерева собирали куколок зеленой дубовой листовертки и, после процедуры взвешивания на торсионных весах размещали их по отдельным пробиркам с этикетками. В дальнейшем пробирки ежедневно осматривали на предмет выхода имаго или паразита.

Изменчивость листовертки оценивали по следующим фенам [9].

Фен № 1. Число зубцов кремастера куколки от 1 до 8.

Фен № 2. Уровень средних зубцов по отношению к крайним: 1 – одинаковая высота; 2 – средние зубцы выше крайних; 3 – средние зубцы ниже крайних; 4 – признак отсутствует.

Для определения вышедших паразитов использовали определительные таблицы из коллективной монографии [10].

Для характеристик особей *B. intermedia* использовали следующие фены [9].

Фен № 1 – число зубцов на левом бедре.

Фен № 2 – число зубцов на правом бедре

Фен № 3 – разница числа зубцов на левом и правом бедре

С каждого вышедшего паразита с точностью не ниже чем 0,025 мм под бинокулярным микроскопом МБС-9 снимали следующие размерные показатели: длина грудного сегмента, длина брюшка, общая длина тела и ширина головной капсулы паразита.

Листья, собранные с 14 модельных деревьев, служили в качестве источника ДНК для исследования их генетической изменчивости. Образцы ДНК выделяли из 20 мг свежего листа дуба. Экстракцию тотальной ДНК проводили согласно стандартной методике [11]. Для исследования полиморфизма методом RAPD-PCR использовали праймер OPA 14 (Operon Technologies, USA).

RAPD-PCR проводили в реакционной смеси объемом 25 мкл на термоциклере «Терцик» (ДНК-Технология, Россия) с использованием реактивов для полимеразной цепной реакции GenePak™ PCR Universal (ИзоГен, Москва). Амплификацию проводили в режиме: 1 цикл денатурации 95° С в течение 5 мин и последующие 45 циклов по схеме: 95° С – 1 мин, 36° С – 1 мин, 72° С – 2 мин. Терминальную стадию синтеза проводили при 72° С – 10 мин.

Продукты амплификации разделяли электрофоретически в 1,8%-ном агарозном геле и после окрашивания бромистым этидием анализировали под ультрафиолетом [11]. В качестве маркера использовали DNA-markers М 100 (ИзоГен, Москва) с длиной фрагментов 100, 200... 1000 пар нуклеотидов.

Для математической обработки полученных результатов применяли стандартные статистические процедуры с использованием возможностей программы MS Excel-XP.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменчивость размеров тела паразита исследовали с применением процедуры двухфакторного дисперсионного анализа. При этом в качестве факторов учитывали фены паразитов и фены куколок листовертки, из которых они вышли. Некоторые признаки паразитов показали зависимость от фактора «фен насекомого-хозяина» или от фенотипа самого паразита. Основное внимание уделяли данным, в которых присутствует достоверное взаимодействие факторов.

Статистически значимое взаимодействие факторов указывает на то, что особи паразита, несущие один и тот же фен, могут иметь максимальные значения признака, развиваясь в куколках листовертки одного фенотипического класса и минимальные – при развитии в куколках альтернативного фенотипического класса. Данные, представленные на рис. 1, подтверждают это предположение.

Развиваясь в куколках листовертки с одинаковым уровнем зубцов кремастера (фен 2, вариант 1) и в куколках с четырьмя зубцами на кремастере (фен 1), особи *B. intermedia* с большим числом зубцов на левом бедре достигали наибольших размеров, а особи с большим числом зубцов на правом бедре – наименьших. Для паразитов, развивавшихся в куколках хозяина с другими вариантами фенов, наблюдалась обратная картина (рис. 1).

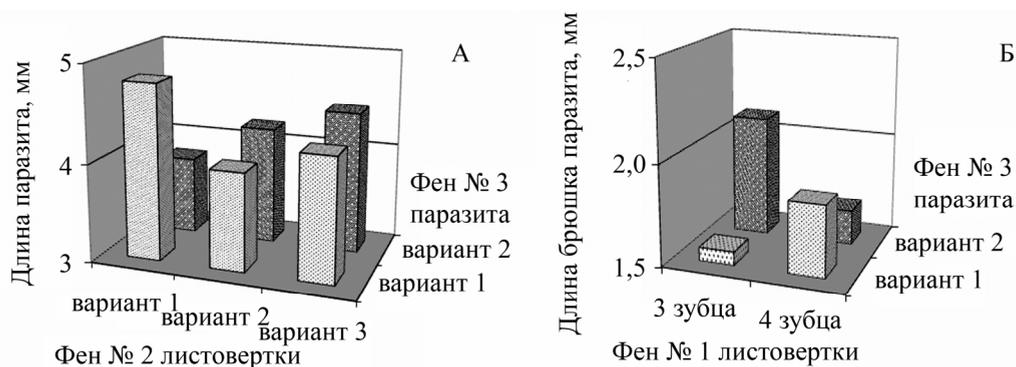


Рис. 1. Размеры тела имаго паразита *Brachimeria intermedia* в зависимости от его фенотипа и фенотипа насекомого-хозяина

Значение взаимодействия факторов ANOVA, (А)  $F=6,49$ ;  $P<0,05$ ; (Б)  $F=7,88$ ;  $P<0,05$ ).

На рисунке 2 представлены электрофоретические спектры продуктов амплификации ДНК из листьев исследуемых дубов с праймером ОРА-14.

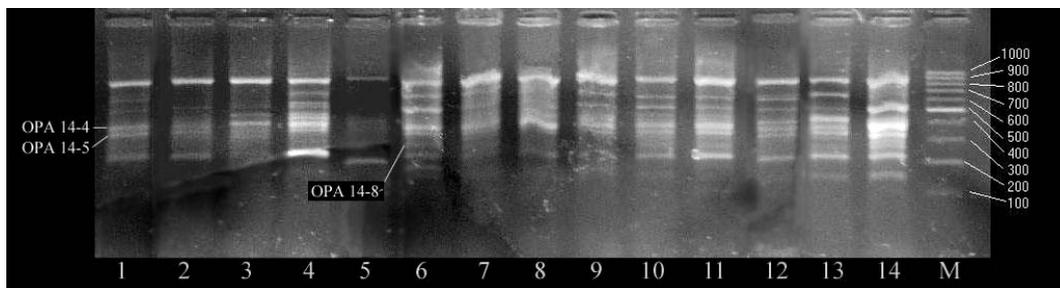


Рис. 2. Индивидуальные электрофоретические спектры амплифицированных фрагментов ДНК деревьев дуба пушистого праймером ОРА 14

М – маркеры молекулярных масс от 100 до 1000 п.н. Обозначены отдельные фракции.

Двухфакторный дисперсионный анализ показал статистически значимое взаимодействие факторов, связанное с тем, что размеры паразитов варьировали не только в зависимости от фенов, которые они несли, но и в зависимости от генотипа дерева, на котором они обитали (рис. 3). На размеры представителей *B. intermedia* с разным количеством зубцов на правом бедре оказывало влияние наличие или отсутствие ДНК фракции ОРА 14-8 (длиной около 250 п.н.) в RAPD-PCR спектре дуба (рис. 3).

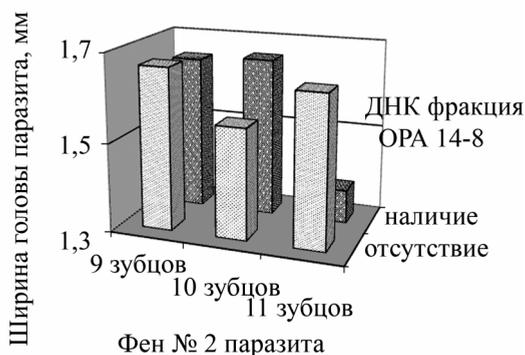


Рис. 3. Размеры головной капсулы имаго паразита *B. intermedia* в зависимости от его фенотипа и генотипа дерева, на котором обитало насекомое-хозяин

Значение взаимодействия факторов ANOVA, (A)  $F=4,84$ ;  $P<0,05$ .

Как оказалось, паразиты одного и того же фенотипа могут иметь разную относительную приспособленность в зависимости от фенотипа насекомого-хозяина и генотипа растения, на котором они обитают. Это прямое доказательство того, что внутривидовая генетическая изменчивость одного вида влияет на приспособленность генотипов другого вида, взаимодействующего с ним в сообществе. Таким образом, представленные в работе данные демонстрируют

наличие информационных связей между генофондами трех взаимодействующих в экосистеме видов и подтверждают интегрированность генопласта экосистемы [12]. Связи эти действительно реализуются в виде стохастических ассоциаций фенотипов (генотипов) представителей разных видов. Наличие таких связей предполагает, что изменение генетической структуры одного вида в сообществе не может не сказаться на генетической структуре других связанных с ним видов.

## ВЫВОДЫ

1. Особи паразита *B. intermedia* разных фенотипов достигают различных размеров в зависимости от фенотипа куколок насекомого-хозяина.

2. Особи паразита *B. intermedia* разных фенотипов достигают различных размеров в зависимости от генотипа дерева, на котором питались личинки и окукливались куколки насекомого-хозяина.

3. Поскольку размеры тела насекомого связаны с его приспособленностью, можно считать, что приспособленность вида зависит и от генетической изменчивости тех видов, с которым данный вид взаимодействуют в сообществе.

## Список литературы

1. Special feature // Ecology. – 2003. – V. 84, №3. – P. 545–601.
2. Schweitzer J.A., Bailey J.K., Rehill B.J., Martinsen G.D., Hart S.C., Lindroth R.L., Keim P., Whitham T.G. Genetically based trait in a dominant tree affects ecosystem processes // Ecology letters. – 2004. – V. 7. – P. 127–134.
3. Bailey J.K., Wooley S.C., Lindroth R.L., Whitham T.G. Importance of species interactions to community heritability: a genetic basis to trophic-level interactions // Ecology letters. – 2006. – V. 9. – P. 78–85.
4. Madritch, M. D., Hunter M.D. Phenotypic diversity influences ecosystem functioning in an oak sandhills community // Ecology. – 2002. – V. 83. – P. 2084–2090.
5. Савушкина И.Г., Оберемок В.В., Симчук А.П. Содержание некоторых тяжелых металлов в листьях дубов, маркированных по случайно амплифицированной полиморфной ДНК // Экосистемы Крыма, их оптимизация и охрана. – 2004. – С. 24–29.
6. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. – М.: Наука, 1989. – 328 с.
7. Watt W.B., Carter P.A., Donahue K. Females' choice of «good genotype» as mates is promoted by an insect mating system // Science. – 1986. – № 233. – P. 1187–1190.
8. Simchuk A.P., Ivashov A.V., Companytsev V.A. Genetic patterns as possible factors causing population cycles in oak leafroller moth, *Tortrix viridana* L. // Forest Ecology and Management. – 1999. – V. 113. – P. 35–49.
9. Ивашов А. В. Консортивные связи зеленой дубовой листовертки (*Tortrix viridana* L.): теоретические и прикладные аспекты // Дисс. ... докт. биол. наук. Днепропетровск: Днепр. нац. универ, 2001. – 32 с.
10. Зерова М.Д., Котенко А.Г., Серегина Л.Я., Толканиц Л.И. Энтомофаги зеленой дубовой листовертки и непарного шелкопряда юго-запада Европ. части СССР. – Киев: Наукова думка, 1989. – 197 с.
11. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular Cloning: Laboratory Manual. N. Y.: Cold Spring Harbour Univ. Press, 1989. – 1626 p.
12. Голубець М.А. Екологія. – Львів: Поллі, 2000. – 316 с.

Сімчук А. П., Івашов А. В., Оберемок В. В., Гюрбюз М. Ф. Вплив генетичної мінливості дубу пухнастого та зеленої дубової листовійки на компоненти пристосованості її паразита *Brachimeria intermedia* (Hymenoptera: Chalcididae) // Екосистеми, їх оптимізація та охорона. Сімферополь: ТНУ, 2012. Вип. 6. С. 115–120.

Вивчали мінливість розмірів тіла паразита *Brachimeria intermedia* Nees. (Hymenoptera: Chalcididae) в залежності від його внутрішньовидової генетичної мінливості, а також від генетичної мінливості його комахи-хазяїна (зелена дубова листовійка, *Tortrix viridana* L.) та її харчової рослини (дуб пухнастий, *Quercus pubescens* Willd.). Генетичну мінливість дубів вивчали методом RAPD-PCR (праймер ОРА 14). Для оцінки генетичної мінливості листовійки та паразиту застосовували фени. Отримані дані свідчать, що генетична мінливість зеленої дубової листовійки та її харчової рослини впливає на компоненти пристосованості її паразитів.

*Ключові слова:* *Brachimeria intermedia*, *Tortrix viridana*, дуб пухнастий, генетика екосистем.

Simchuk A. P., Ivashov A. V., Oberemok V. V., Gürbüz M. F. The influence of genetic heterogeneity of the pubescent oak and oak leaf roller on the adaptational components of its parasitoid, *Brachimeria intermedia* (Hymenoptera: Chalcididae) // Optimization and Protection of Ecosystems. Simferopol: TNU, 2012. Iss. 6. P. 115–120.

Variation in body sizes of the parasitoids *Brachimeria intermedia* Nees. (Hymenoptera: Chalcididae) was investigated according to their intraspecific genetic heterogeneity of their host insect, *Tortrix viridana* L. (Lepidoptera, Tortricidae) and its forage plant, pubescent oak (*Quercus pubescens* Willd.). The genetic heterogeneity of oaks was examined with the use of RAPDPCR method and primer OPA 14. Phenets were used to estimate genetic variation of the leafroller and its parasitoids. The obtained data showed that genetic heterogeneity of the oak leafroller and its forage plant effects on the adaptational components of its parasitoids.

*Key words:* *Brachimeria intermedia*, *Tortrix viridana*, pubescent oak, ecosystem genetics.

*Поступила в редакцію 14.11.2011 г.*