

УДК 577.212

М. М. Воробьева², Н. В. Воронова², Е. А. Абакумова³, К. В. Аргер⁴

¹Кандидат биологических наук, доцент кафедры биолого-химического образования, УО «Мозырский государственный педагогический университет им. И. П. Шамякина», г. Мозырь, Республика Беларусь

²Кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры зоологии,

Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

³Студентка биологического факультета, Белорусский государственный университет, г. Минск, Республика Беларусь

⁴Студентка технолого-биологического факультета, УО «Мозырский государственный педагогический университет им. И. П. Шамякина», г. Мозырь, Республика Беларусь

ПОЛИМОРФИЗМ РИСУНКОВ ПЕРЕДНЕСПИНКИ, ТЕМЕНИ, ЭЛИТР И ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ В ПОПУЛЯЦИЯХ *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY ЮЖНЫХ РЕГИОНОВ БЕЛАРУСИ

Популяции *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 южных регионов Беларуси характеризуются внутривидовым фенотипическим полиморфизмом. Анализ фенотипической структуры популяций показал, что пространственно разобщенные популяции *L. decemlineata* из Брестской и Гомельской областей обладают сходством рисунка центральной части переднеспинки, элитры и темени. Статистически значимых различий по частотам анализируемых фенотипов при сравнении выборок *L. decemlineata* из разных областей не выявлено.

Имаго *L. decemlineata*, коллектированные в Гомельской области, в лабораторных условиях демонстрируют устойчивость к инсектицидам. Отмечена связь между устойчивостью *L. decemlineata* к инсектицидам и частотой встречаемости определенных морф. Высокий уровень резистентности к инсектицидам в лабораторных условиях демонстрируют морфы № 3 и № 6.

Ключевые слова: *Leptinotarsa decemlineata*, фенотипический полиморфизм, переднеспинка, элитры, темя, резистентность, неоникотиноиды.

Введение

Колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824) – основной вредитель картофеля, имеющий повсеместное распространение [1]. В Беларуси *L. decemlineata* принадлежит к числу экономически значимых вредителей, поскольку при высокой численности фитофага отмечено снижение урожая (30–50 %, а иногда и полное уничтожение посевов), уменьшение размеров клубней, содержание в них крахмала и белка. Насекомые также переносят вирион ветереновидности клубней, X-вирус и возбудителей рака картофеля [1], [2].

Согласно литературным данным, более благоприятными по климатическим условиям для развития и размножения колорадского жука являются южные районы Беларуси, к числу которых принадлежат Гомельская и Брестская области. В данных регионах в жаркие и сухие годы отмечают два поколения колорадских жуков, то есть на растениях практически весь вегетационный период встречаются все стадии развития вредителя: перезимовавшие жуки, яйцекладки, личинки всех возрастов и молодые жуки, что обуславливает наибольшую их вредоносность и значительно затрудняет борьбу с ними [2]. Кроме того, особенностью *L. decemlineata*, во многом определяющей его значение как вредителя, является высокая экологическая пластичность, которая и позволяет быстро и эффективно адаптироваться к изменениям условий окружающей среды. Широкий адаптивный потенциал обусловлен высокой морфологической, генетической и биохимической вариабельностью вида, лежащей в основе микроэволюционных преобразований. В процессе становления вида осуществлялся селективный отбор генотипов, характеризующихся широкими пределами индивидуальных норм реакции, что сыграло ключевую роль в расширении ареала и спектра кормовых растений, а также в формировании устойчивости к инсектицидам различных классов [3]–[6]. По этим причинам *L. decemlineata* является универсальной моделью для изучения внутривидового фенотипического полиморфизма, а также устойчивости конкретных морф к инсектицидам.

Цель работы – изучить вариабельность рисунка покровов тела (фены темени, переднеспинки и элитр) имаго *L. decemlineata*, коллектированных на территории Брестской и Гомельской областей, а также оценить устойчивость разных морф к препаратам из группы неоникотиноидов в лабораторных условиях.

Методы исследования

Имаго *L. decemlineata* коллектированы в Гомельской (г. Мозырь, г. п. Петриков, г. Ельск, г. Калинковичи, г. Речица) и Брестской областях (г. Иваново, г. Пинск, г. Лунинец, г. п. Парахонск, г. Микашевичи) Республики Беларусь в 2018–2019 гг. Сбор материала проводился вручную с посадок картофеля по диагональной линии участка через каждые 10–15 метров, по 2 экземпляра имаго с куста.

Для анализа фенотипического полиморфизма в популяциях *L. decemlineata* использовали фены центральной части переднеспинки, темени и элитр (рисунок 1) [3]. Статистический анализ полученных данных провели методом непараметрической статистики (критерий Стьюдента) в программе STATISTICA 8.0. Достоверными считали различия при $p \leq 0,01$.

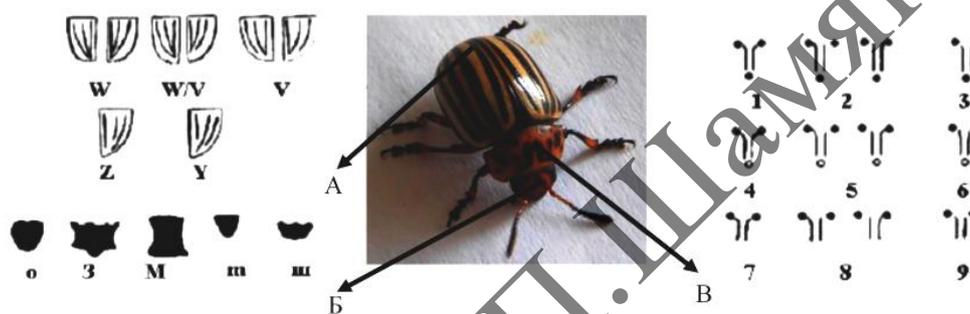


Рисунок 1. – Фены рисунка надкрылий (А), темени (Б) и переднеспинки (В) имаго колорадского жука

Для оценки резистентности колорадского жука к инсектицидам провели мониторинг его чувствительности к препаратам «Имидор» (производитель АО «Щелково Агрохим», РФ, действующее вещество имидаклоприд) и «Актара» (производитель ООО «Сингента», Швейцария, действующее вещество тиаметоксам), относящихся к группе неоникотиноидов контактно-кишечного и системного действия. Эксперимент проводили в чашках Петри, дно которых выстлано фильтровальной бумагой, смоченной несколькими каплями воды для поддержания влажности. В каждую чашку помещали фрагмент листа картофеля, предварительно выдержанный (10 мин) в растворе инсектицида (для опытных образцов) или воды (для контрольных образцов) и по 5 особей имаго колорадского жука. Подбор дозы инсектицида проводили экспериментально, основываясь на концентрациях, предложенных производителем. В частности, для инсектицида «Имидор, ВРК» концентрация составила 0,08 г/л, при двукратном увеличении – 0,16 г/л, а при четырехкратном увеличении – 0,32 г/л. Для инсектицида «Актара, КС» концентрация составила 0,03 г/л, при двукратном увеличении – 0,06 г/л, а при четырехкратном увеличении – 0,12 г/л. Учет выживших/погибших особей проводили через 1, 3, 6, 20 ч после кишечного контакта насекомого с инсектицидом.

Суммарная выборка протестированных жуков в экспериментах (включая контрольные группы) составила 2880 особей, в частности 1170 особей подвергались обработке инсектицидом «Имидор» и 990 – «Актара». Для подбора концентраций использовали выборку в 500 имаго, из них 125 составили контрольную группу.

Расчет смертности в опытных вариантах (С) проводили по формуле Аббота (Abbott 1925):

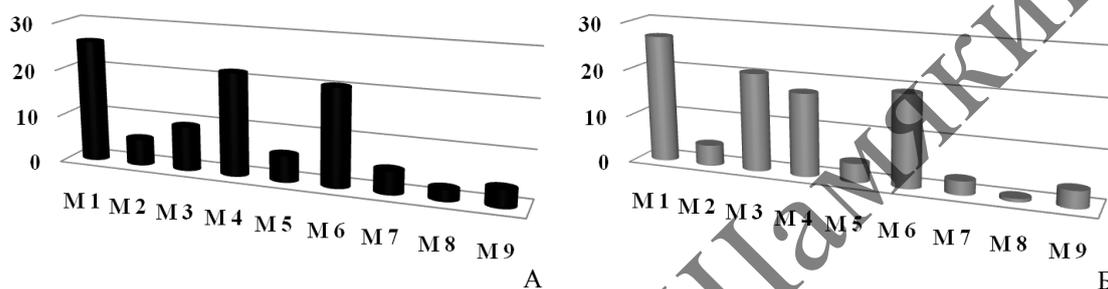
$$C = (A - B) / A \times 100,$$

где А – общее число особей в опытной группе, В – число выживших особей [7].

Оценку устойчивости провели методом анализа выживаемости в программе STATISTICA 8.0.

Результаты исследования и их обсуждение

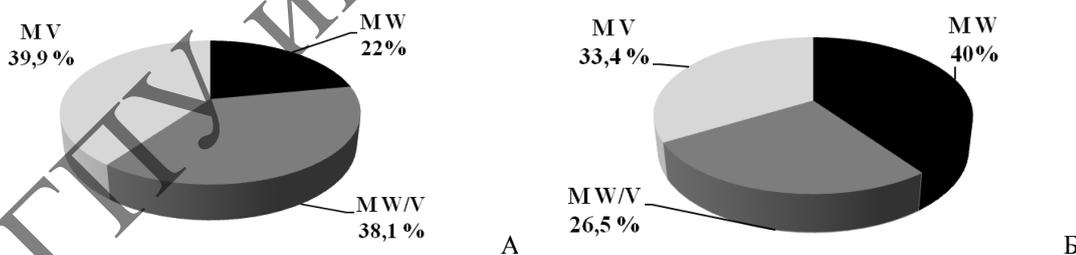
На основе частоты встречаемости вариаций фена рисунка центральной части передне-спинки у колорадских жуков, коллектированных в Гомельской и Брестской областях, методами фенетики выделено 9 морф. В популяциях *L. decemlineata*, коллектированных в Брестской области, встречаются все описанные Фасулати феноформы передне-спинки (рисунок 1В). Наиболее представлены феноформа № 1 (25,9 %), № 4 (21,7 %) и № 6 (20,6 %), меньше – феноформа № 8 (2,4 %) и № 9 (3,4 %) (рисунок 2А). Изучение фенотипической структуры популяций колорадского жука Гомельской области позволило констатировать также 9 феноформ центральной части рисунка передне-спинки. В данной популяции преобладали феноформы № 1 (26,9 %), № 3 (20,3 %), № 6 (19,3 %) и № 4 (17,5 %), а редкими оказались № 8 (0,7 %), № 7 (2,9 %) и № 9 (3,5 %) (рисунок 2Б).



М 1 – морфа № 1; М 2 – морфа № 2; М 3 – морфа № 3; М 4 – морфа № 4;
 М 5 – морфа № 5; М 6 – морфа № 6; М 7 – морфа № 7; М 8 – морфа № 8; М 9 – морфа № 9

Рисунок 2. – Диаграмма, отражающая частоту встречаемости вариаций рисунка передне-спинки в популяциях *Leptinotarsa decemlineata* Брестской (А) и Гомельской (Б) областей

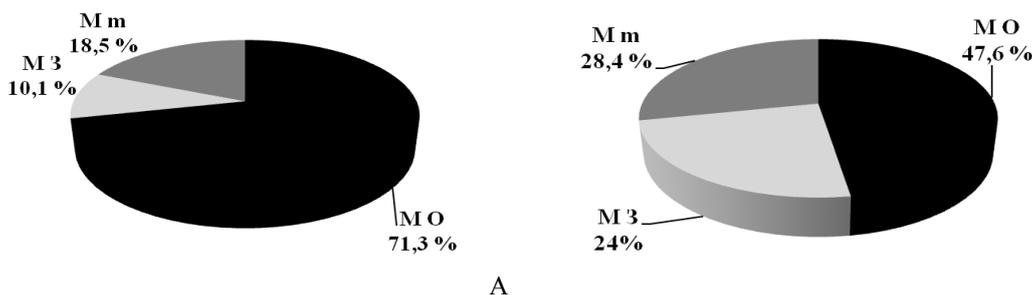
Фенотипический полиморфизм также отмечен в рисунках элитр (рисунок 1А) имаго колорадского жука. В популяциях из Брестской и Гомельской областей обнаружено присутствие трех фен (V, W/V и W) из пяти, описанных М. Б. Удаловым. Оказалось, что фены V (39,9 %) и W/V (38,1 %) преобладают в популяциях жуков из Брестской области, а фен W (40 %) – в популяциях жуков из Гомельской области. Фены Z и Y не были отмечены в популяциях колорадского жука, коллектированных как в Брестской, так и в Гомельской областях (рисунок 3).



М V – морфа V; М W/V – морфа W/V; М W – морфа W

Рисунок 3. – Диаграмма, отражающая частоту встречаемости вариаций рисунка элитр в популяциях *Leptinotarsa decemlineata* Брестской (А) и Гомельской (Б) областей

При изучении вариаций рисунка темени (рисунок 1) в популяциях колорадских жуков из Брестской области обнаружено присутствие трех фен о, З и т, при этом отмечается резкое преобладание фена о (73,1 %), в то время как фены т (18,5 %) и З (10,1 %) являются редкими. Анализ полиморфизма рисунка темени в популяциях колорадских жуков из Гомельской области показал, что более представленным в данной популяции является также фен о (47,6 %), несколько реже встречаются фены т (28,4 %) и З (24 %). Фены М и ш не были зарегистрированы в популяциях колорадского жука, коллектированных как в Брестской, так и в Гомельской областях (рисунок 4).



M m – морфа М; М 3 – морфа 3; М О – морфа О

Рисунок 4. – Диаграмма, отражающая частоту встречаемости вариаций рисунка темени в популяциях *Leptinotarsa decemlineata* Брестской (А) и Гомельской (Б) областей

Сравнительный анализ фенотипической структуры исследуемых популяций колорадского жука показал, что пространственно разобщенные популяции *L. decemlineata* из Брестской и Гомельской областей характеризуются сходством рисунка центральной части переднеспинки, надкрылий и темени. Статистически значимых различий при сравнении выборок из разных областей по частотам анализируемых фенотипов отмечено не было.

На сегодняшний день в Беларуси единственным действенным способом контроля численности и распространения колорадского жука остается применение инсектицидов, однако в литературе [8] появились сведения о формировании резистентности в популяциях *L. decemlineata* к инсектицидам из классов фосфорорганических соединений, карбаматов, пиретроидов, нереистоксенов и неоникотиноидов, а также об устойчивости конкретных морф колорадского жука к инсектицидам. Мы провели серию экспериментов по изучению устойчивости имаго колорадского жука, коллектированных в Гомельской области (для постановки эксперимента использовали имаго колорадского жука только из Гомельской области, поскольку одинаковые морфы были отмечены как в Брестской, так и Гомельской областях), к инсектицидам из класса неоникотиноидов.

Подбор доз с различной летальностью провели в серии разведений и учитывали результаты в соответствии с той же временной схемой, т.е. через 1, 3, 6 и 20 ч с начала питания жуков. При сравнении полученных результатов оказалось, что в обоих случаях дозировки веществ, рекомендуемые производителями, были значительно ниже как летальной (LD_{95}), так и полублетальной дозы (LD_{50}) для тестируемых жуков (рисунки 5 и 6), причем смертность в контрольной группе во всех случаях была равна нулю.

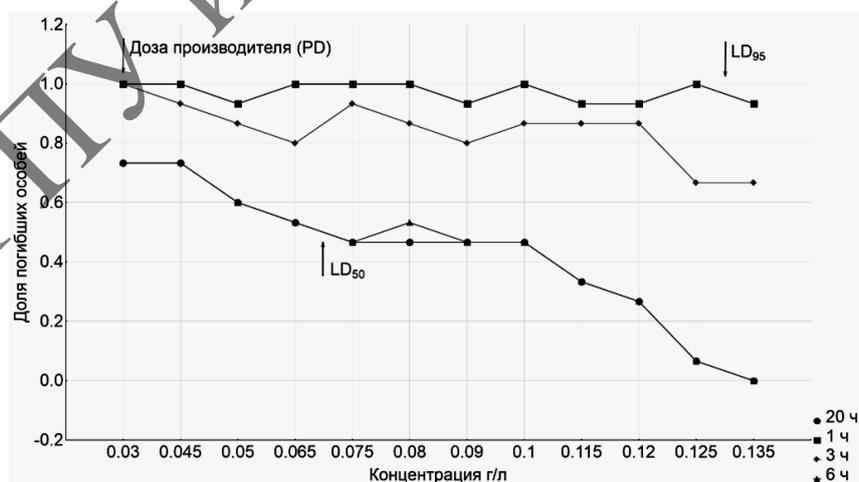


Рисунок 5. – Смертность имаго *Leptinotarsa decemlineata* при действии различных концентраций тиаметоксама (препарат «Актара»)

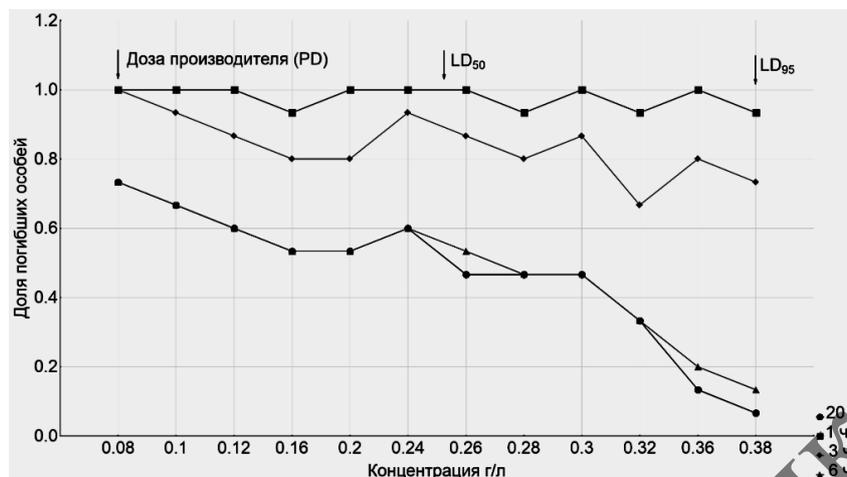


Рисунок 6. – Смертность имаго *Leptinotarsa decemlineata* при действии различных концентраций имидаклоприда (препарат «Имидор»)

Следует отметить, что через 1 ч воздействия ни одна из используемых концентраций тиаметоксама и имидаклоприда не привела к сколько-либо выраженной смертности жуков. Незначимые различия в летальности в зависимости от используемых доз (на уровне тенденций) наблюдались, начиная с 3-го часа воздействия, и только на 6-й час учета в экспериментах с обоими препаратами проявилась выраженная динамика роста смертности при увеличении концентрации инсектицида. LD₅₀ для исследуемой популяции жуков составила 0,07 г/л при действии тиаметоксама и 0,255 г/л при действии имидаклоприда. LD₉₅ была рассчитана как 0,13 и 0,38 г/л для тиаметоксама и имидаклоприда, соответственно.

Расчет эффективности двух инсектицидов из группы неоникотиноидов (расчет смертности) провели по результатам экспериментов, в которых использовали дозу препаратов, рекомендованную производителем. Поскольку смертность жуков в контрольных чашках Петри была равна нулю, расчет смертности приводили без учета данных в контрольной группе. При использовании препарата «Актара, КС» в концентрации 0,03 г/л после 20 ч воздействия выжило 76,67 % жуков (эффективность препарата в указанной концентрации 23,33 г/л). При использовании препарата «Имидор, ВРК» в концентрации 0,08 г/л в аналогичных условиях выжило 74,62 % жуков (эффективность препарата в указанной концентрации 25,38 г/л).

Анализ выживаемости по методу Каплана-Мейера показал, что максимальная смертность жуков в опытных группах приходилась на третий час учета, причем убыль жуков продолжалась до 6-го часа учета, после чего количество нецензурируемых (однозначных) наблюдений приближалось к нулю при использовании обоих препаратов из группы неоникотиноидов (рисунки 7 и 8).

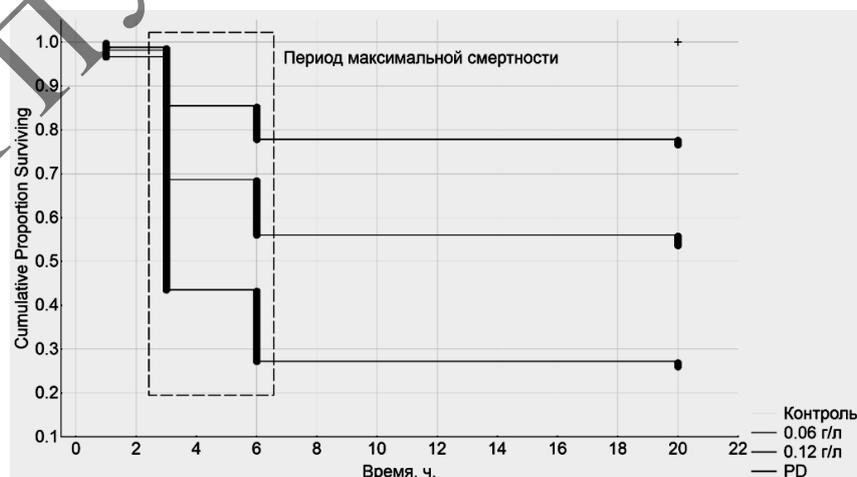


Рисунок 7. – Выживаемость имаго *Leptinotarsa decemlineata* при действии тиаметоксама (Актара)

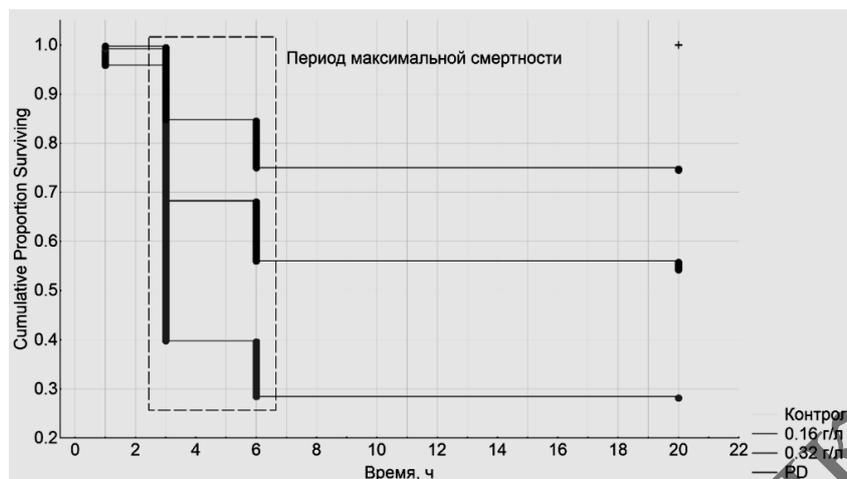


Рисунок 8. – Выживаемость имаго *Leptinotarsa decemlineata* при действии имидаклоприда (Имидор)

Интересно, что при использовании всех трех концентраций инсектицида, включая концентрацию, близкую к LD_{95} , имаго *L. decemlineata*, выжившие через 6 ч после начала эксперимента, не погибли даже при продолжении питания на листьях картофеля, прошедших разовую обработку в течение по меньшей мере 20 ч.

Кроме того, нами установлено, что существует связь между устойчивостью колорадского жука к современным инсектицидам и особенностями окраски их покровов тела (частотой встречаемости определенных морф). Среди анализируемых популяций колорадского жука высокий уровень резистентности к препаратам демонстрировали морфы № 3 и № 6, поскольку именно эти морфы через сутки после контакта с инсектицидом показали высокий процент выживаемости. Морфы № 1 и № 4 погибли в течение 6 ч и лишь единичные особи (только морфы № 1) доживали до окончания эксперимента.

Выводы

Популяции имаго *L. decemlineata*, коллектированные в Брестской и Гомельской областях, характеризуются внутривидовым фенотипическим полиморфизмом рисунка переднеспинки, темени и элитр. В популяциях имаго *L. decemlineata* из Брестской области наиболее представленными формами рисунка центральной части переднеспинки оказались морфы № 1, 4 и 6; рисунка надкрылий – фены V и W/V; рисунка темени – фен o, в то время как в популяциях колорадского жука, коллектированных в Гомельской области, преобладали формы № 1, 3, 6 и 4 (рисунок центральной части переднеспинки); фен W (рисунок надкрылий); фен o (рисунок темени). Достоверных различий фенотипической структуры популяций *L. decemlineata* из Брестской и Гомельской областей по анализируемым рисункам выявлено не было.

Имаго *L. decemlineata*, коллектированные в Гомельской области, в лабораторных условиях демонстрируют большую чувствительность к тиаметоксаму, чем к имидаклоприду, учитывая абсолютную концентрацию вещества. При воздействии различных доз указанных веществ максимальная смертность *L. decemlineata* наблюдалась через 6 ч с момента начала питания, причем особи, не погибшие в течение первых 6 ч, выживали на всем протяжении эксперимента. Кроме того, нами отмечена связь между устойчивостью *L. decemlineata* к инсектицидам и частотой встречаемости определенных морф, в частности, высокий уровень резистентности к препаратам «Актара» и «Имидор» демонстрировали морфы № 3 и № 6.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № Б18АРМГ-002).

СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Интегрированные системы защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков : рекомендации / Нац. акад. наук Респ. Беларусь ; Ин-т защиты растений НАН Беларуси ; под ред. С. В. Сороки. – Минск : Бел. наука, 2005. – С. 230–231.
2. Постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь № 29 от 17.10.2016 г. внесены в «Перечень особо опасных вредителей, болезней растений и сорняков» [Электронный ресурс] / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь. – Минск, 2016. – Режим доступа: http://www.ggiskzr.by/doc/.../osobo_opasnye_vred_17_10_16.doc/. – Дата доступа: 15.10.2019.
3. Изучение фенотипического полиморфизма в популяциях колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) Львовского и Рыльского районов Курской области / Л. А. Бабкина [и др.] // Auditorium. Электронный научный журнал Курского государственного университета. – 2016. – № 4 (12). – С. 10–16.
4. Луполова, Т. А. Фенотипический полиморфизм колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) / Т. А. Луполова, В. Т. Петку, С. С. Скоробогатая // Весн. Мазыр. дзярж. пед. ун-та імя І. П. Шамякіна. – 2019. – № 1(53). – С. 34–42.
5. Landscape genomics of Colorado potato beetle provides evidence of polygenic adaptation to insecticides / M. S. Crossley [et al.] // Molecular Ecology. – 2017. – Vol. 26 (22). – P. 1–17.
6. A model species for agricultural pest genomics: the genome of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) / S. D. Schoville [et al.] // Scientific Reports. – 2018. – Vol. 8(1). – P. 1–19.
7. Abbott, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide / W. S. Abbott // Econ. Entomol. – 1925. – N. 18. – P. 265–267.
8. Положение с резистентностью колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae) к инсектицидам в разных зонах картофелеводства России / Г. И. Сухорученко [и др.] // Вестник защиты растений. – 2010. – № 3. – С. 30–38.

Поступила в редакцию 21.11.2019

E-mail: masch.89@mail.ru; nvoronova@gmail.ru;
helen.a.2013@mail.ru; argerkarina@gmail.com

M. M. Varabyova, N. V. Voronova, A. A. Abakumava, K. V. Arher

POLYMORPHISM OF PATTERN OF THE CENTRAL PART OF THE PRONOTUM, ELYTRA AND CROWN AND THE PHENOTYPIC MANIFESTATION OF RESISTANCE IN LEPTINOTARSA DECEMLINEATA SAY POPULATIONS OF THE SOUTHERN REGIONS OF BELARUS

The populations of *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 of the Southern regions of Belarus are characterized by the intraspecific phenotypic polymorphism. An analysis of the phenotypic structure of populations showed that spatially separated populations of *L. decemlineata* from the Brest and Gomel regions have the similar pattern on the central part of the pronotum, elytra, and crown. There were no statistically significant differences in the frequencies of the analyzed phenes when comparing samples of *L. decemlineata* from different regions.

The adults of *L. decemlineata*, collected in the Gomel region, demonstrate resistance to insecticides under the laboratory conditions. A connection was noted between the resistance of *L. decemlineata* to insecticides and the frequency of occurrence of certain morphs. The high level of resistance to insecticides under the laboratory conditions is shown by morphs No. 3 and No. 6.

Keywords: *Leptinotarsa decemlineata*, phenotypic polymorphism, pronotum, elytra, crown, resistance, neonicotinoids.