

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 595.752.2

DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-2-210-216

Поступило в редакцию 21.03.2017

Received 21.03.2017

Н. В. Воронова, М. М. Воробьева, С. В. Буга*Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь***ВЗАИМОСВЯЗЬ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭКОЛОГИИ И БИОЛОГИИ ВИДА У ТЛЕЙ
С ВАРИАБЕЛЬНОСТЬЮ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ***(Представлено академиком М. Е. Никифоровым)*

Аннотация. В работе приведены результаты сравнительного анализа варибельности нуклеотидных последовательностей генов COI, COII и *cyt b* у тлей (Aphidoidea) из разных экологических групп, а также реализующих различные варианты биологических циклов. Показано, что виды, относящиеся к полифагам с субкосмополитным распространением, являющиеся анологическими на большей части ареала, демонстрируют наибольший уровень варибельности последовательности генов COI, *cyt b* в сравнении с тлями из других эколого-биологических групп.

Ключевые слова: тли, Aphidoidea, генетическая варибельность, COI, COII, *cyt b*

Для цитирования: Воронова, Н. В. Взаимосвязь особенностей экологии и биологии вида у тлей с варибельностью митохондриальных генов / Н. В. Воронова, М. М. Воробьева, С. В. Буга // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 2. – С. 210–216. DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-2-210-216

Nina V. Voronova, Maria M. Varabyova, Sergej V. Buga*Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus***THE INTERACTION BETWEEN THE ECOLOGICAL AND BIOLOGICAL TRAITS OF SPECIES IN APHIDS
AND THE MITOCHONDRIAL GENE VARIABILITY***(Communicated by Academician Mikhail Ye. Nikiforov)*

Abstract. The results of comparative analysis of genetic variability of COI, COII, and *cyt b* genes in aphids (Aphidoidea), which differ in ecology and a type of life cycle, are shown in the paper. It is found out that species being anolocyclic polyphagous with subcosmopolite distribution have the highest level of genetic variability of COI and *cyt b* nucleotide sequences comparing to aphids from other ecological and biological groups.

Keywords: aphids, Aphidoidea, genetic variability, COI, COII, *cyt b*

For citation: Voronova N. V., Varabyova M. M., Buga S. V. The interaction between the ecological and biological traits of species in aphids and the mitochondrial gene variability. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 2, pp. 210–216 (in Russian). DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-2-210-216

Введение. Настоящие тли – таксон насекомых, способный служить уникальной моделью для изучения микроэволюционных процессов, что обусловлено набором экологических и репродуктивных особенностей, отличающих тлей от большинства других животных. Надсемейство Aphidoidea включает не менее 5000 видов [1], большинство из которых характеризуется достаточно строгой специализацией в отношении круга растений, которые они могут использовать в качестве кормовых (растений-хозяев), полифенией, двудомностью и облигатным чередованием собственно полового размножения и нескольких циклов партеногенетического размножения, предшествующих ему [2; 3]. Такой биологический цикл вместе с необходимостью «переключения» метаболизма, закономерно сопровождающего смену растения-хозяина у двудомных видов тлей, и жестким естественным отбором на каждом этапе реализации биологического цикла, если не превращает, то приближает этих насекомых к тому, что может быть названо идеальной моделью для изучения эволюционных процессов у животных «в реальном времени» [4].

Возможность сравнить процессы, происходящие на уровне геномов или белок-кодирующих генов у животных, кардинально различающихся такими особенностями биологии и экологии,

как тип размножения, широта ареала, уровень пищевой специализации, представляется крайне интересной с точки зрения изучения того, как именно реализуется эволюция на молекулярном уровне и какие внешние факторы влияют на ее скорость. До сих пор нет удовлетворяющего исследователей ответа на вопрос, какими молекулярными процессами обеспечивается или сопровождается биологический прогресс и, напротив, биологическая стагнация. Хотя очевидно, что различия в экологии и биологии видов определяют силу и направление естественного отбора, действующего на популяции и, как следствие, на вид в целом, влияя также и на скорость закрепления мутаций [5], нередко в работах, выполненных на животных разных таксонов, одним и тем же экологическим факторам придается роль «молекулярно-эволюционных драйверов» или, напротив, они определяются как факторы, замедляющие молекулярную эволюцию таксона. Противоречие в получаемых результатах в этом случае может быть обусловлено отсутствием достаточно полных данных о нуклеотидных последовательностях генов животных, задействованных в конкретном исследовании. В то же самое время нельзя исключить возможность, что характер влияния конкретных биологических или экологических черт на скорость молекулярной эволюции в разных таксонах может действительно различаться, поскольку естественный отбор это сложный, многокомпонентный процесс, причем факторы, определяющие его силу и характер, могут иметь как синергическое, так и противоположно направленное действие.

За последние годы в Международных базах данных нуклеотидных последовательностей был накоплен большой массив информации, позволяющей проводить масштабные сравнения ортологических генов животных из разных таксонов. Это дало возможность в нашей работе оценить наличие и характер влияния конкретных особенностей биологии и экологии видов тлей на изменчивость нуклеотидных последовательностей гена COI, относящегося к числу высоко консервативных молекулярных маркеров и функционально не связанного с оцениваемыми параметрами биологии и экологии изучаемых видов тлей [6].

Материалы и методы исследований. В работе были использованы 7133 нуклеотидные последовательности митохондриальных генов COI, COII и *cyt b* 40 видов тлей, относящихся к 5 семействам: Aphididae, Eriosomatidae, Calaphididae, Chaitophoridae и Lachnidae. Последовательности были расшифрованы авторами (14 видов тлей) или получены из базы данных BOLD (Barcoding of life datasystem) и GenBank NCBI. Все виды тлей, нуклеотидные последовательности которых были использованы в работе, на основании литературных данных разделены на группы в зависимости от широты ареала (субкосмополиты и виды с ограниченным распространением) [7], широты пищевой специализации (полифаги, олигофаги и монофаги) [8; 9] и особенностей биологического цикла (голоциклические и анологичические) [2; 8] (рис. 1).

При этом в процессе формирования выборок проводили контроль точки коллектирования каждого конкретного образца (нуклеотидные последовательности которого включались в вы-

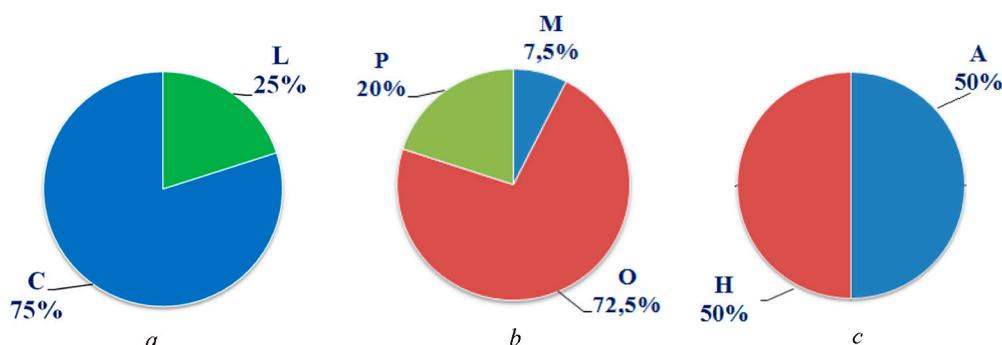


Рис. 1. Диаграмма, отражающая количественное соотношение видов тлей, относящихся к каждой группе в зависимости от широты ареала (a), спектра кормовых растений (b) и варианта биологического цикла (c): L – тли с ограниченным распространением; C – тли с широким (субкосмополитным) распространением; M – монофаги; O – олигофаги; P – полифаги; A – анологичические; H – голоциклические

Fig. 1. The diagram shows the quantitative ratio of the species from each group, according to the width of their areal (a), host-plants spectrum (b), and biological cycle type (c): L – aphids with limited areal; C – aphids with wide (subcosmopolitan) areal; M – monophagous; O – oligophagous; P – polyphagous; A – anholocyclic; H – holocyclic

борку) по картам, представленным в системе BOLD, с тем, чтобы минимизировать вероятность включения в выборку серийных последовательностей, полученных для клонов. В итоге все последовательности каждого вида тлей были получены от образцов, коллектированных в географически удаленных точках мирового ареала вида.

Поскольку число последовательностей, доступных для каждого вида тлей, существенно различалось, для устранения эффекта размера (полноты) выборки на получаемые результаты на основе реальной выборки нуклеотидных последовательностей для каждого вида тлей мы создали по 3 искусственно смоделированные выборки рандомизированно выбранных последовательностей – 18 в каждой реплике, с которыми в дальнейшем проводили расчеты.

В программе MEGA7 провели выбор лучшей модели нуклеотидных замещений, после чего рассчитали внутривидовые генетические дистанции методом максимального правдоподобия (Maximum likelihood) с использованием трехпараметрической модели Тамуры (T92). Сравнение внутривидовых генетических дистанций у тлей из разных групп провели методом многофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Статистически значимыми считали результаты, для которых $p \leq 0,01$.

Результаты и их обсуждение. На основе гена COI было получено 6990 значений парных внутривидовых генетических дистанций. При этом среднее значение внутривидовой генетической дистанции в группе полифагов было равным $0,00395 \pm 0,00014$, при $p < 0,001$ (здесь и далее первый показатель является средним значением, второй – стандартной ошибкой среднего). У олигофагов и монофагов этот показатель был несколько ниже: $0,00306 \pm 0,00009$ и $0,00168 \pm 0,00009$ соответственно, при $p < 0,001$. При разбиении общей выборки на виды, для которых двуполое размножение в конце сезона является обязательным, и виды, являющиеся аномоциклическими на большей части ареала, т. е. те, для которых характерен круглогодичный партеногенез, оказалось, что у аномоциклических видов среднее значение внутривидовой генетической дистанции равно $0,00522 \pm 0,00014$, в то время как у голоциклических – $0,00149 \pm 0,00004$, при $p < 0,001$. При сравнении видов с космополитным и субкосмополитным распространением с видами, ареал которых ограничен территорией одного континента, оказалось, что субкосмополитные виды демонстрируют более высокий уровень вариабельности последовательности COI на видовом уровне, нежели виды с ограниченным распространением: $0,00353 \pm 0,00009$ и $0,00147 \pm 0,00005$ соответственно, хотя эти различия не являлись статистически значимыми ($p > 0,05$).

Для того чтобы установить, какие конкретно особенности биологии и экологии видов у тлей связаны с высокой дисперсией значений внутривидовой генетической дистанции, был проведен многофакторный дисперсионный анализ с учетом тех же трех факторов: широта спектра кормовых растений, широта ареала и наличие аномоциклических популяций в общем пуле популяций вида. В результате оказалось, что спектр кормовых растений, а точнее, его широта ($p = 0,000$;

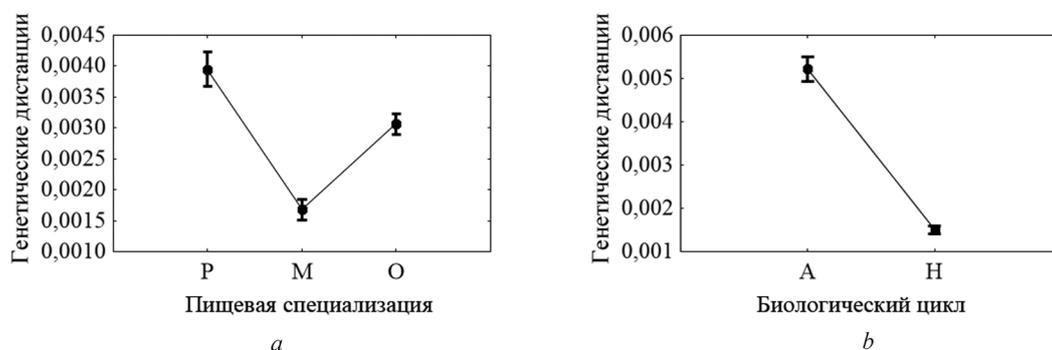


Рис. 2. Средневзвешенные значения парных внутривидовых генетических дистанций, рассчитанные на основе анализа последовательностей гена COI, у тлей с разными спектрами кормовых растений (а) и вариантами биологического цикла (б): Р – полифаги; М – монофаги; О – олигофаги; А – аномоциклические; Н – голоциклические

Fig. 2. Weighted averages of paired intraspecific genetic distances, based on analysis of the COI gene sequences, of aphids with different host-plant spectrum (a) and biological cycle type (b): Р – polyphagous; М – monophagous; О – oligophagous; А – anholocyclic; Н – holocyclic

$F = 54,423$ между монофагами, олигофагами и полифагами) и особенности биологического цикла ($p = 0,000$; $F = 729,90$ между голоциклическими и анологическими) вносят вклад в формирование внутривидового полиморфизма COI у тлей (рис. 2).

При анализе внутривидовых генетических дистанций, рассчитанных на основе последовательности COI, каких-либо зависимостей обнаружено не было. Значения парных внутривидовых генетических дистанций между группами не различались ни по средним значениям, ни по их дисперсии. Однако по результатам анализа нуклеотидных последовательностей гена *cyt b* (90 значений парных внутривидовых генетических дистанций) также оказалось, что полифаги обладали более высоким уровнем генетической вариабельности ($0,00661 \pm 0,00085$) в сравнении с олигофагами ($0,00249 \pm 0,00113$), а анологические ($0,00583 \pm 0,00074$) – в сравнении с голоциклическими ($0,00267 \pm 0,00149$). Различия, выявленные как между полифагами и олигофагами, так и между анологическими и голоциклическими оказались статистически значимыми ($p < 0,001$ в обоих случаях). К сожалению, из-за ограниченности выборки последовательностей *cyt b* не удалось сформировать группу монофагов, а также группу видов с ограниченным распространением. Тем не менее, результаты многофакторного дисперсионного анализа находились в соответствии с данными, полученными для последовательности COI (рис. 2).

Следует отметить, что, несмотря на то что в работе использовались нуклеотидные последовательности, принадлежащие видам из 5 различных семейств тлей, наиболее многочисленными во всех выборках были представители семейства Aphididae, поскольку это наиболее крупное и прогрессивное семейство тлей, и именно к Aphididae относится большинство опасных вредителей сельскохозяйственных культур (что и является причиной их наилучшей изученности). В качестве дополнительной проверки полученных нами данных мы создали новые выборки, объединяющие только тлей семейства Aphididae, что, как мы полагаем, исключило потенциальное влияние особенностей изменчивости последовательностей митохондриальных генов в разных таксонах тлей, если таковое существует. Среди тлей семейства Aphididae мы также выделили группы в соответствии с особенностями пищевой специализации, ареалов и биологических циклов. Оказалось, что среди Aphididae тли с субкосмополитным распространением характеризуются более высоким уровнем внутривидового полиморфизма гена COI, в сравнении с видами с ограниченным распространением ($0,00427 \pm 0,00011$ и $0,00133 \pm 0,00006$ соответственно, при $p < 0,001$), а анологические – в сравнении с голоциклическими ($0,00503 \pm 0,00016$ и $0,00212 \pm 0,00006$ соответственно, при $p = 0,00$). Тли с широкими спектрами кормовых растений (полифаги и олигофаги) обладали более высоким уровнем генетической вариабельности, выраженной в значениях рассчитанных парных генетических дистанций ($0,00395 \pm 0,00009$), чем тли с узкими спектрами кормовых растений (монофаги) ($0,00114 \pm 0,00009$). Различия, выявленные между сравниваемыми выборками, оказались статистически значимыми ($p < 0,001$).

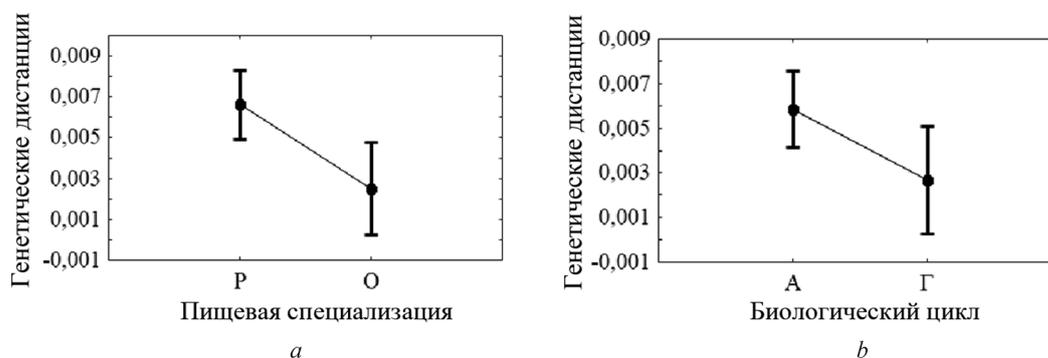


Рис. 3. Средневзвешенные значения парных внутривидовых генетических дистанций, рассчитанные на основе анализа последовательностей гена *cyt b*, у тлей с разными спектрами кормовых растений (а) и вариантами биологического цикла (б): Р – полифаги; О – олигофаги; А – анологические; Г – голоциклические

Fig. 3. Weighted averages of paired intraspecific genetic distances, based on analysis of the *cyt b* gene sequences, of aphids with different host-plant spectrum (a) and biological cycle type (b): Р – polyphagous; О – oligophagous; А – anholocyclic; Г – holocyclic

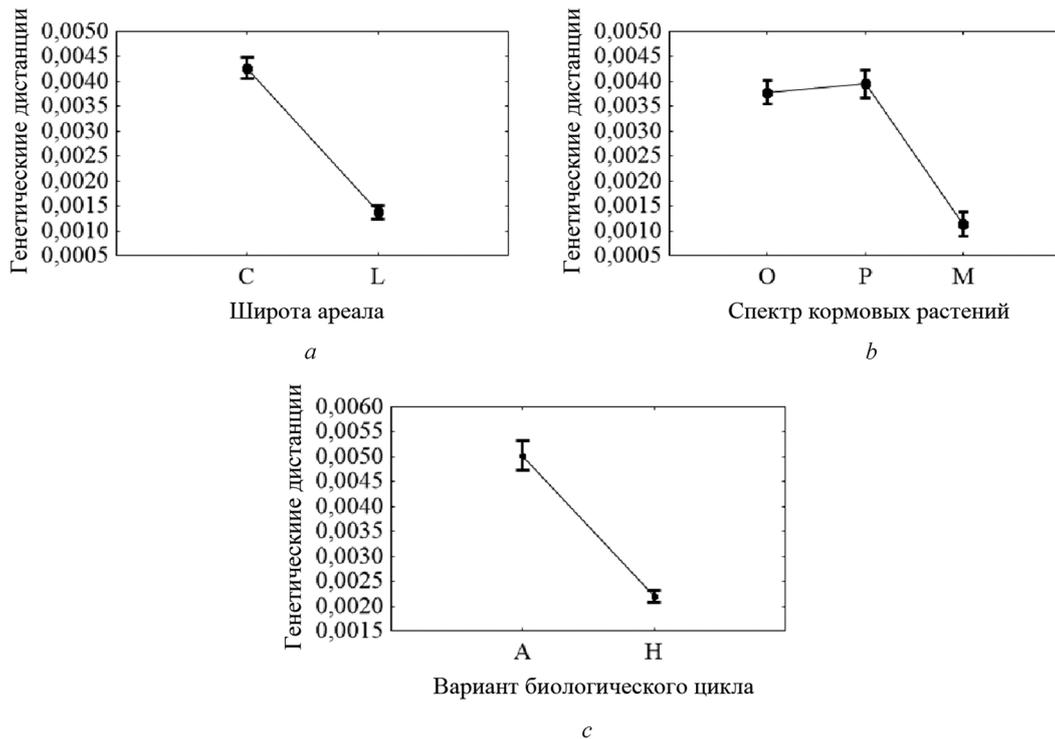


Рис. 4. Средневзвешенные значения парных внутривидовых генетических дистанций, рассчитанные на основе анализа последовательностей гена COI, у тлей с разной шириной ареала (a), спектров кормовых растений (b) и вариантами биологического цикла (c): C – космополиты; L – локально распространенные; O – олигофаги; M – монофаги; P – полифаги; A – анологичные; H – голоциклические

Fig. 4. Weighted averages of paired intraspecific genetic distances, based on analysis of the COI gene sequences, of aphids with different width of the areal (a), host-plant spectrum (b) and biological cycle type (c): C – cosmopolitans; L – locally areal; O – oligophagous; M – monophagous; P – polyphagous; A – anholocyclic; H – holocyclic

По результатам многофакторного дисперсионного анализа, ширина ареала ($p = 0,000$; $F = 21,21$ между субкосмополитными и ограниченно распространенными видами), ширина спектра кормовых растений ($p = 0,000$; $F = 32,16$ между полифагами, олигофагами и монофагами) и варианта биологического цикла ($p = 0,000$; $F = 179,77$ между анологичными и голоциклическими) связа-

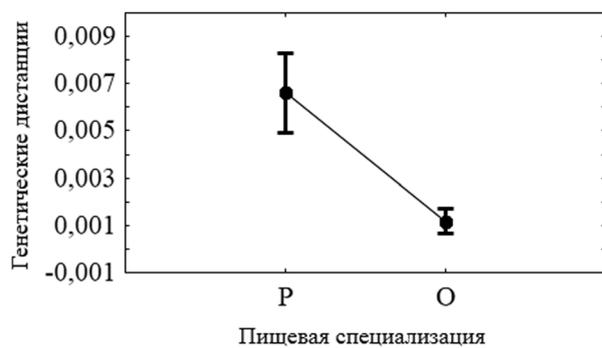


Рис. 5. Средневзвешенные значения парных внутривидовых генетических дистанций, рассчитанные на основе анализа последовательностей гена *cyt b*, у тлей с разными спектрами кормовых растений: O – олигофаги; P – полифаги

Fig. 5. Weighted averages of paired intraspecific genetic distances, based on analysis of the *cyt b* gene sequences, of aphids with different host-plant spectrum: O – oligophagous; P – polyphagous

ны с уровнем внутривидового полиморфизма у тлей семейства Aphididae, таким же образом, как это было показано для выборки, содержащей представителей пяти разных семейств Aphidoidea (рис. 3).

Вариабельность генов COII и *cyt b* у тлей, принадлежащих к семейству Aphididae, также различалась. На основе сравнения значений парных внутривидовых генетических дистанций, рассчитанных для последовательностей гена *cyt b*, были выявлены статистически значимые различия между полифагами и олигофагами ($p = 0,01$; $F = 6,87$) (рис. 4); причем полифаги обладали более высоким уровнем внутривидового генетического полиморфизма гена *cyt b*, в сравнении с олигофагами ($0,00661 \pm 0,00085$ и $0,00118 \pm 0,00025$ соответственно, при $p = 0,00$), так же, как это было показано для общей выборки.

В семействе Aphididae виды, являющиеся анолоциклическими на большей части ареала, также демонстрировали более высокие значения парных внутривидовых генетических дистанций между последовательностями *cut b*, в сравнении с голоциклическими ($0,00583 \pm 0,00074$ и $0,00042 \pm 0,00021$ соответственно, при $p = 0,00$). Значения внутривидовых генетических дистанций, рассчитанных по последовательности гена COII, так же, как и в общей выборке, каких-либо различий между экологическими и биологическими группами тлей не демонстрировали (рис. 5).

Заключение. Сравнительный анализ парных внутривидовых генетических дистанций позволил заключить, что полифаги с субкосмополитным распространением, являющиеся на большей части ареала анолоциклическими, демонстрируют более высокий уровень внутривидового генетического полиморфизма последовательностей митохондриальных генов в сравнении с тлями других групп. Или, говоря иначе, средние значения парных внутривидовых генетических дистанций, рассчитываемых по генам COI и *cut b*, во многом определяются особенностями биологии и экологии, характерными для конкретного вида тлей.

Благодарности. Исследования выполнены при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договоры № Б17МС-025, Б17-081).

Acknowledgements. The research was carried out with the financial support of Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grants no. Б17МС-025, Б17-081).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes / R. G. Footitt [et al.] // *Molecular Ecology Resources*. – 2008. – Vol. 8, N 6. – P. 1189–1201. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2008.02297.x
2. Буга, С. В. Дендрофильные тли Беларуси / С. В. Буга. – Минск: БГУ, 2001. – 98 с.
3. Ortiz-Rivas, B. Combination of molecular data support the existence of three main lineages in the phylogeny of aphids (Hemiptera: Aphididae) and the basal position of the subfamily Lachninae / B. Ortiz-Rivas, D. Martinez-Torres // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 2010. – Vol. 55, N 1. – P. 305–317. DOI: 10.1016/j.ympev.2009.12.005
4. Evolutionary and genetic aspects of aphid biology: A review / D. F. Hales [et al.] // *Eur. J. Entomol.* – 1997. – Vol. 94, N 1. – P. 474–487.
5. Vilcinskis, A. *Biology and ecology of aphids* / A. Vilcinskis. – Germany: CRC Press Taylor & Francis Group, 2016. – 282 p.
6. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates / O. Folmer [et al.] // *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. – 1994. – Vol. 3, N 5. – P. 294–299.
7. Fauna Europaea [Electronic resource]. – 2013. – Mode of access: <http://www.fauna-eu.org>. – Date of access: 25.11.2017.
8. Aphids on the World's Plants: An online identification and information guide [Electronic resource]. – 2012. – Mode of access: <http://www.aphid.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1159459>. – Date of access: 15.11.2017.
9. Holman, J. *Host plant catalog of aphids. Palaearctic region* / J. Holman. – Berlin: Springer Science, 2009. – 1216 p.

References

1. Footitt R. G., Maw H. E. L., Dohlen C. D., Hebert P. D. N. Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes. *Molecular Ecology Resources*, 2008, vol. 8, no. 6, pp. 1189–1201. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2008.02297.x
2. Buga S. V. *Dendrophilous aphid of Belarus*. Minsk, BSU Publ., 2001. 98 p. (in Russian).
3. Ortiz-Rivas B., Martinez-Torres D. Combination of molecular data support the existence of three main lineages in the phylogeny of aphids (Hemiptera: Aphididae) and the basal position of the subfamily Lachninae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2010, vol. 55, no. 1, pp. 305–317. DOI: 10.1016/j.ympev.2009.12.005
4. Hales D. F., Tomiuk J., Woehrmann K., Sunnucks P. Evolutionary and genetic aspects of aphid biology: A review. *European Journal of Entomology*, 1997, vol. 94, no. 1, pp. 474–487.
5. Vilcinskis A. *Biology and ecology of aphids*. Germany, CRC Press Taylor & Francis Group, 2016. 282 p.
6. Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, vol. 3, no. 5, pp. 294–299.
7. Fauna Europaea (2013). Available at: <http://www.fauna-eu.org/> (accessed 25 November 2017).
8. Aphids on the World's Plants: An online identification and information guide (2012). Available at: <http://www.aphid.speciesfile.org/Common/basic/Taxa.aspx?TaxonNameID=1159459> (accessed 15 November 2017).
9. Holman J. *Host plant catalog of aphids. Palaearctic region*. Berlin, Springer Science, 2009. 1216 p.

Информация об авторах

Воронова Нина Владимировна – канд. биол. наук, доцент. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: voronoff@list.ru.

Воробьева Мария Михайловна – аспирант. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: varabyovamaryia@mail.com.

Буга Сергей Владимирович – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: aphids@tut.by.

Information about the authors

Voronova Nina Vladimirovna – Ph. D. (Biology), Assistant Professor. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: voronoff@list.ru.

Varabyova Maria Mikhailovna – Postgraduate student. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: varabyovamaryia@mail.com.

Buga Sergej Vladimirovich – D. Sc. (Biology), Professor, Head of the Department. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: aphids@tut.by.