УДК 635.21:632.78:595.782

ВЛИЯНИЕ СУБЛЕТАЛЬНЫХ ДОЗ БИОПРЕПАРАТОВ НА ГЕНЕТИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ ПОПУЛЯЦИЙ КАРТОФЕЛЬНОЙ МОЛИ ПО ЛОКУСУ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ

Григорьев С.Г., м.н.с., Ивашов А.В., к.б.н., доцент, Мельничук С.А., м.н.с.,
Симчук А.П., к.б.н., доцент

Симферопольский государственный университет

ВВЕДЕНИЕ

Одним из составляющих в борьбе с вредителями сельского хозяйства является контроль состояния популяции определенного вредителя. Он включает контроль плотности, плодовитости, выживаемости, соотношения полов и т.д. Одним из важных параметров контроля является контроль генетической структуры популяции. Наряду с морфологическими фенами широко используются биохимические маркеры генов (изоферменты) [1, 2, 3].

В генетическом отношении популяции картофельной моли представлены особями различных генотипов, которые различаются по приспособленности в зависимости от условий окружающей среды, в том числе и по устойчивости к таким биотическим факторам, как бактериальные и вирусные заболевания [2]. Не вызывает сомнения, что различные патогены влияют на насекомых избирательно и, соответственно, эффективность различных препаратов должна зависеть от генетической структуры популяции насекомого.

В настоящей работе анализируются следующие ферментные локусы личинок картофельной моли: эстераза, супероксиддисмутаза и алкогольдегидрогеназа. Эти ферменты были выбраны в связи с их участием в детоксикационных системах организма, что очень важно для исследования связей организмов, составляющих популяцию, с факторами окружающей среды.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Из материала, собранного в природе, была сформирована лабораторная популяция картофельной моли. По 100 особей каждого пола были помещены в популяционную камеру объёмом 50 литров, содержащую 3 кг клубней картофеля в качестве кормового ресурса. Кормовой ресурс обновляли после окончания каждой генерации. После третьей генерации устанавливалась стабильная численность популяции, которая в среднем составляла 2500 особей. Начиная с третьего поколения, из модельной популяции отбирали по 200 особей для основания лабораторных популяций, которые в дальнейшем использовались для проведения экспериментов.

В целом исследования проводились в 8-ми экспериментальных популяциях (эксперименты проводили в двукратной повторности). Контролем служила лабораторная популяция картофельной моли, полученная ранее. В каждый экспериментальный садок закладывали картофель одного сорта, обработанный сублетальной дозой того или иного препарата (дозы определены в предварительных опытах). Затем в садки помещались куколки картофельной моли из постоянной лабораторной популяции. Цикл развития популяции длился в пределах 1-1.5 месяцев.

Выявление множественных форм фермента картофельной моли проводили методом диск-электрофореза, при котором в качестве разделяющей среды применялся полиакриламидный гель и буферная система Дэвиса-Орнстейна [4]. Выявление ферментативной активности проводили по общепринятой методике [5]. Статистический анализ проводили с использованием стандартных методик [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Электрофоретический спектр супероксиддисмутазы картофельной моли содержит одну зону активности, которая проявляет хорошо различимый полиморфизм. Спектр супероксиддисмутазы содержит в целом три полосы, однако у отдельных особей фермент может быть представлен или наиболее быстрой, или наиболее медленной полосой, или всеми тремя полосами вместе. Эта ситуация соответствует модели локуса с кодоминантными аллелями, кодирующими гомодимерный фермент.

Для проверки генетической основы выявленного полиморфизма были поставлены экспериментальные скрещивания виргинных самок и самцов. Каждая пара помещалась в отдельный садок, а после откладки яиц обе родительские особи замораживались и хранились до отрождения личинок, которые по достижении четвертого возраста анализировались методом энзим-электрофореза совместно с родительскими особями. Полученные данные обрабатывались методами математической статистики и сравнивались с соответствующими моделями наследования. Результаты анализа представлены в табл. 1.

Анализ полученных данных свидетельствует, что исследуемая зона ферментативной активности является маркером локуса Sod, поскольку ни в одном из вариантов χ^2 критерий не оказался достоверным. Этот локус использовался в дальнейшей работе для изучения влияния биопрепаратов на генетическую структуру экспериментальных популяций картофельной моли.

Генетический анализ частот генотипов локуса супероксиддисмутазы в контрольных популяциях показал наличие естественного отбора типа сверхдоминирования (табл. 2). Об этом свидетельствует избыток гетерозигот по сравнению с ожидаемым их числом, исходя из равновесия Харди-Вайнберга, а также характер изменения частот генотипов в течение развития личинок от первого до пятого возраста. Однако, это характерно только для плотной популяции насекомого, т.е. отбор эффективен только в условиях жесткой конкуренции за пищевой ресурс.

Данные по влиянию биопрепаратов на генетическую структуру популяций насекомого по локусу, кодирующему супероксиддисмутазу, представлены в таблицах 3, 4. Анализ этих данных показал, что генетический эффект обработок выявляется в основном в плотных популяциях, тогда как из всех разряженных популяций достоверные отклонения частот, по сравнению с контролем (личинки 4-го возраста), были обнаружены только в одном варианте.

Так же как и в контроле, в опыте обнаруживается действие естественного отбора, также зависимого от плотности экспериментальных популяций, но что особенно интересно, эффект биопрепаратов совпадает с эффектом естественного отбора по направлению и усиливает последний. Этот феномен может быть легко объяснен тем, что ослабленные в процессе конкурентной борьбы особи, несущие неприспособленные генотипы (в данном случае, гомозиготные), по-видимому, должны быть в большей степени подвержены инфекции.

Проведенными исследованиями установлено, что в лабораторных условиях сублетальные дозы биопрепаратов в генетическом отношении действуют на популяции картофельной моли селективно, приводя к существенному изменению генетической структуры популяций вредителя.

Генетический эффект биопрепаратов совпадает по направлению с действующим в лабораторных популяциях насекомого отбором и усиливает эффективность последнего, изменяя частоты генотипов в том же направлении, что и отбор, но в еще большей степени.

Таблица 1.– Анализ наследуемости полиморфных зон супероксиддисмутазы картофельной моли

Предполагаемые генотипы		
Sod		
Родительские	Потомства	χ^2
		df =1
1. sf × ss	105ss:133ff	0.9
2. ff × ff	258 ff	0
3. ff × ff	235 ff	0
4. ss × ss	328 ss	0
5. sf × ss	218sf:194ss	1.38
6. sf × ss	196sf:173sf	0.68
7. sf × ss	138sf:126ss	0.54
8. ss × ss	274 ss	0
9. sf × ss	126sf:148ss	0.77

χ^2 критерий оценивает достоверность отклонений расщепления в потомстве от ожидаемого из уравнения Харди-Вайнберга.

Таблица 2.–Частоты аллелей и генотипов локуса Sod у личинок первого возраста (**L_1**) исходной популяции и у личинок четвертого возраста (**L_4**) в плотной и разреженной контрольных популяциях

Аллель, генотипы	Контроль							
	L_1		**L_4** плотный			**L_4** разреженный		
	Частоты	χ_1^2	Частоты	χ_1^2	χ_2^2	Частоты	χ_1^2	χ_2^2
Повторы 1		df = 1		df = 1	df = 2		df = 1	df = 2
F	0.403		0.377			0.375		
FF	0.158 (0.162)	0.05	0.108 (0.142)	6.71	7.41	0.140 (0.144)	0.07	0.71
FS	0.490 (0.481)	0.31	0.535 (0.469)	7.43	1.12	0.535 (0.471)	0.01	0.45
SS	0.352 (0.351)	0.001	0.357 (0.388)	1.94	0.04	0.357 (0.384	0.06	1.30
		———		———	———		———	———
$N_i\Sigma\chi^2$	700	0.361	800	16.08	8.57	550	0.14	2.46
P		>0.05		<0.001	<0.02		>0.05	>0.05

df - число степеней свободы; χ^2_1 - тест на соответствие частот равновесию Харди-Вайнберга; χ^2_2 - тест на достоверность отличий частот от таковых в исходной популяции (**L_1**).

Таблица 3.–Частоты аллелей и генотипов локуса Sod у личинок четвертого возраста (**L_4**) в плотной и разреженной экспериментальных популяциях, обработанных биопрепаратом

	Вариант 1 (Лепидоцид)							
	Плотная				Разреженная			
	L_4				**L_4**			
	Частоты	χ_1^2	χ_2^2	χ_3^2	Частоты	χ_1^2	χ_2^2	χ_3^2
Повторы 1		df = 1	df = 2	df = 2		df = 1	df = 2	df = 2
F	0.386				0.381			
FF	0.083 (0.148)	10.04	9.84	1.41	0.127 (0.145)	0.62	1.33	0.23
FS	0.606 (0.474)	13.50	5.34	2.22	0.508 (0.472)	0.83	0.07	0.45
SS	0.311 (0.377)	4.11	1.16	1.57	0.365 (0.383)	0.27	0.09	0.36
		———	———	———		———	———	———
$N_i\Sigma\chi^2$	348	27.56	16.34	5.20	283	1.72	1.49	1.04
P		<0.001	<0.001	>0.05		>0.05	>0.05	>0.05
Повторы 2		df = 1	df = 2	df = 2		df = 1	df = 2	df = 2
F	0.395				0.403			
FF	0.085 (0.156)	13.31	11.63	1.31	0.138 (0.162)	1.11	0.58	0.01
FS	0.627 (0.478)	19.29	8.21	4.04	0.533 (0.481)	1.94	0.61	0.48
SS	0.288 (0.366)	6.96	3.21	3.98	0.329 (0.356)	0.70	0.34	2.14
		———	———	———		———	———	———
$N_i\Sigma\chi^2$	420	39.56	23.05	9.33	311	3.75	1.53	2.63
P		<0.001	<0.001	<0.01		>0.05	>0.05	>0.05

df - число степеней свободы; χ^2_1 - тест на соответствие частот равновесию Харди-Вайнберга; χ^2_2 - тест на достоверность отличий частот от таковых в исходной популяции (**L_1**). ; χ^2_3 - тест на достоверность отличий частот от таковых в контрольной популяции личинок четвертого возраста (**L_4**).

Таблица 4.–Частоты аллелей и генотипов локуса Sod у личинок четвертого возраста (L_4) в плотной и разреженной экспериментальных популяциях, обработанных биопрепаратом

	Вариант 2 (Дендробациллин)							
	Плотная				Разреженная			
	L_4				L_4			
	Частоты	χ^2_1	χ^2_2	χ^2_3	Частоты	χ^2_1	χ^2_2	χ^2_3
Повторы 1		df = 1	df = 2	df = 2		df = 1	df = 2	df = 2
F	0.411				0.413			
FF	0.092 (0.169)	16.13	9.43	0.76	0.132 (0.171)	2.94	1.09	0.11
FS	0.629 (0.484)	13.38	8.87	4.46	0.561 (0.485)	3.96	1.76	3.34
SS	0.279 (0.347)	5.77	4.32	6.93	0.307 (0.345)	1.50	1.38	4.13
$N_i\Sigma\chi^2$	450	41.27	22.62	12.15	327	8.4	4.23	7.58
P		<0.001	<0.001	<0.01		< 0.01	>0.05	<0.05
Повторы 2		df = 1	df = 2	df = 2		df = 1	df = 2	df = 2
F	0.386				0.393			
FF	0.076 (0.149)	14.50	13.40	2.81	0.129 (0.154)	1.17	1.08	0.14
FS	0.619 (0.474)	17.14	7.03	3.28	0.528 (0.477)	1.52	0.44	1.36
SS	0.305 (0.377)	5.37	1.55	2.05	0.434 (0.368)	0.36	0.03	1.04
$N_i\Sigma\chi^2$	386	37.0	21.98	8.14	270	3.05	1.55	2.54
P		<0.001	<0.001	<0.02		>0.05	>0.05	>0.02

df - число степеней свободы; χ^2_1 - тест на соответствие частот равновесию Харди-Вайнберга; χ^2_2 - тест на достоверность отличий частот от таковых в исходной популяции (L_1). ; χ^2_3 - тест на достоверность отличий частот от таковых в контрольной популяции личинок четвертого возраста (L_4).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гааль Э., Медьеши Г., Верецкеи Л. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. – М.: Мир, 1982. – С. 74 - 113; 295 - 296.
2. Глазко В.И. Биохимическая генетика овец. – Новосибирск:Наука, 1985. – 167 с.
3. Голубцов А.С. Внутрипопуляционная изменчивость животных и белковый полиморфизм. – М.: Наука, 1988. – 165 с.
4. Корочкин Л.И., Серов О.Л., Пудовкин А.И. и др. Генетика изоферментов. – М.: Наука, 1977. – 275 с.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия.- М.: Высш. шк, 1980.- 293 с.
6. Солбриг О., Солбриг Д. Популяционная биология и эволюция. – М.: Мир, 1982. – 488 с.