

Научная статья  
УДК 632.7.04/.08

**ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ МЕЖДУ  
БЛИЗКОРОДСТВЕННЫМИ ВИДАМИ РОДА *DENDROLIMUS*  
(*LEPIDOPTERA: LASIOCAMPIDAE*) В СИБИРИ  
И ЗА ЕЕ ПРЕДЕЛАМИ**

**Мария Александровна Рязанова<sup>1</sup>, Наталья Ивановна Кириченко<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

<sup>2</sup> Институт леса им. В. Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук, Красноярск, Россия

<sup>1</sup> madam.rayzanova@yandex.ru

<sup>2</sup> nkirichenko@yahoo.com

**Аннотация.** Сибирский шелкопряд *Dendrolimus sibiricus* Tschetverikov, 1908 (*Lepidoptera: Lasiocampidae*) – опасный вредитель хвойных лесов Северной Азии. С помощью ДНК-баркодинга были исследованы молекулярно-генетические характеристики данного вида и прочих представителей рода *Dendrolimus*. В работе обсуждаются сложности ДНК-диагностики видов и возможные ошибки их идентификации по морфологии.

**Ключевые слова:** ДНК-баркодинг, сибирский шелкопряд, *Dendrolimus sibiricus*, близкородственные виды, Сибирь

**Благодарности:** авторы благодарят д-р биол. наук С. Ю. Синева (ЗИН РАН, Санкт-Петербург) и канд. биол. наук Ю. Н. Баранчикова (ИЛ СО РАН, Красноярск) за возможность работы с архивными образцами шелкопрядов. Работа выполнена в рамках проекта РФФ (грант № 22-16-00075).

Original article

**SEARCH FOR MOLECULAR GENETIC DIFFERENCES BETWEEN  
CLOSELY RELATED SPECIES OF THE GENUS *DENDROLIMUS*  
(*LEPIDOPTERA: LASIOCAMPIDAE*) IN SIBERIA AND BEYOND**

**Maria A. Ryazanova<sup>1</sup>, Natalia I. Kirichenko<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

<sup>2</sup> Sukachev Institute of Forest Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia

<sup>1</sup> madam.rayzanova@yandex.ru

<sup>2</sup> nkirichenko@yahoo.com

**Abstract.** The Siberian moth *Dendrolimus sibiricus* Tschetverikov, 1908 (*Lepidoptera: Lasiocampidae*) is a dangerous pest of coniferous forests in Northern Asia. Using DNA barcoding, molecular genetic characteristics of this species and related representatives of the genus *Dendrolimus* were studied. The paper discusses the difficulties of DNA diagnostics of the species and possible errors of their morphology-based identification.

**Keywords:** DNA barcoding, *Dendrolimus sibiricus*, Siberian moth, related species, Siberia

**Acknowledgments:** the authors thank Dr. S.Yu. Sinev (ZIN RAS, St. Petersburg) and Dr. Yu. N. Baranchikov (SIF SB RAS, Krasnoyarsk) for the opportunity to work with archival specimens of *Dendrolimus*. The study was supported by the Russian Science Foundation (grant № 22-16-00075).

Сибирский шелкопряд *Dendrolimus sibiricus* Tschetverikov, 1908 (*Lepidoptera: Lasiocampidae*) – опаснейший вредитель хвойных лесов [1]. При большой численности он значительно ослабляет древостои, которые вскорости становятся мишенью для вторичных вредителей (насекомых-ксилофагов) и лесных пожаров [2]. Ареал вида в России охватывает Урал, Сибирь и Дальний Восток [1]. Сибирский шелкопряд известен также в Пермской области, республиках Удмуртия и Марий Эл [3].

Кроме сибирского шелкопряда в Северной Азии обитают другие виды данного рода. Среди них сосновый шелкопряд *Dendrolimus pini* (Linnaeus, 1758) – вредитель сосны обыкновенной, который помимо Сибири также известен в европейской части России и странах Европы [4]. По внешним признакам (рисунок переднего крыла) сибирский и сосновый шелкопряды практически неразличимы [4].

В дополнение к идентификации насекомых по морфологии в настоящее время все чаще применяют ДНК-баркодинг. Этот метод особенно важен в случае видов, сложно дифференцируемых по морфологии. Вместе с тем, ДНК-баркодинг позволяет идентифицировать виды только при условии наличия референсных (доверительных) сиквенсов (ДНК-баркодов) в молекулярно-генетических базах данных, в частности в BOLD (Barcode Of Life Database, <https://www.boldsystems.org/>) и генбанке (Genbank) [5–7].

Данная работа посвящена поиску молекулярно-генетических различий между близкородственными видами рода *Dendrolimus* на основе секвенирования ДНК-баркодингового фрагмента митохондриального гена цитохромоксидазы I (COI) и использования для анализа открытых данных (ранее опубликованных сиквенсов) из BOLD и генбанка.

Для изучения молекулярно-генетических характеристик близкородственных видов рода *Dendrolimus* нами была сформирована молекулярно-генетическая библиотека на платформе BOLD из оригинальных (полученных нами) ДНК-баркодов и ранее опубликованных другими исследователями. В нее вошло 188 оригинальных и 142 заимствованных сиквенсов. Их

возраст доходил до 133 лет. Из них 155 сиквенсов первоначально были отнесены к *D. sibiricus*, 89 – *D. superans*, 51 – *D. pini*, 9 – *D. punctatus*, 6 – *D. segregatus* и 20 – *Dendrolimus* sp. Анализируемые образцы происходили из разных регионов Европы и Азии (табл. ниже). Архивные образцы были заимствованы для исследований из коллекции лаборатории лесной зоологии Института леса им. В. Н. Сукачева СО РАН (Красноярск) и Зоологического института РАН (Санкт-Петербург).

### Регионы происхождения образцов представителей рода *Dendrolimus* в наших исследованиях

Вид	Страна, регион
<i>D. sibiricus</i>	РОССИЯ. Области: Оренбургская, Челябинская, Томская, Иркутская, Амурская, Сахалинская; края: Пермский, Алтайский, Красноярский, Забайкальский; республики: Хакасия, Тыва, Саха. ЗАРУБЕЖЬЕ. Казахстан, Монголия
<i>D. superans</i>	РОССИЯ. Сахалинская область, Приморский край. ЗАРУБЕЖЬЕ. Китай, Япония
<i>D. pini</i>	РОССИЯ. Области: Тульская, Воронежская, Нижегородская; Красноярский край. ЗАРУБЕЖЬЕ. Великобритания, Италия, Германия, Австрия, Норвегия, Финляндия
<i>D. punctatus</i>	ЗАРУБЕЖЬЕ. Китай, Япония
<i>D. segregatus</i>	ЗАРУБЕЖЬЕ. Япония
<i>Dendrolimus</i> sp.	РОССИЯ. Области: Московская, Свердловская, Амурская; Приморский край. ЗАРУБЕЖЬЕ. Индия

Для оригинальных и заимствованных образцов был осуществлен филогенетический анализ в программе MEGA X с применением метода максимального правдоподобия, двухпараметрической модели Кимуры и бутстрэп-метода (1000 итераций).

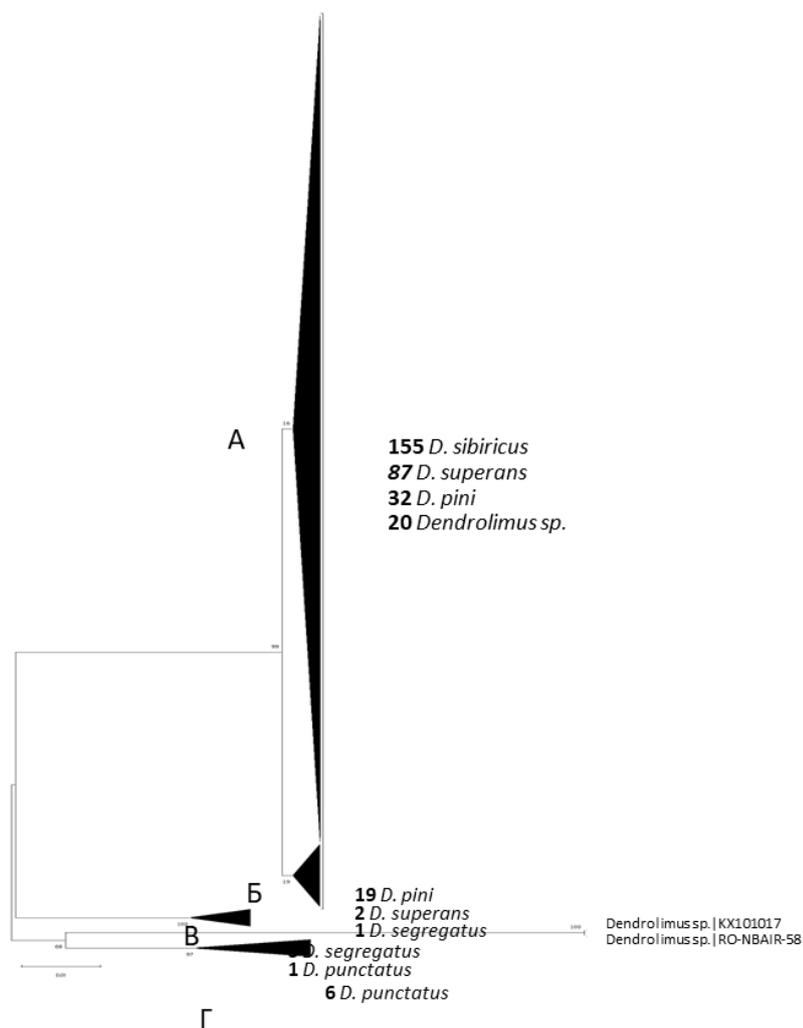
На филогенетическом COI дереве анализируемые представители рода *Dendrolimus* сформировали четыре кластера (рисунок).

Кластер А – самый большой; в его состав вошли 155 образцов *D. sibiricus*, 87 *D. superans*, 32 *D. pini* и 20 образцов *Dendrolimus* sp.

Кластер Б был образован 19 образцами *D. pini*, 2 *D. superans* и 1 *D. Segregatus*.

В кластер В вошли пять образцов *D. segregatus* и 1 *D. punctatus* (вовлечены в исследования для сравнительно аспекта).

Кластер Г был образован шестью образцами *D. punctatus*. Два образца шелкопрядов из Индии, обозначенные на дереве как *Dendrolimus* sp., были указаны в BOLD как *D. punctatus*. Однако на филогенетическом дереве они отделились от кластера *D. punctatus* и расположились на значительном от него расстоянии.



Кластеры: А – *D. sibiricus*, *D. superans*, *D. pini*, *Dendrolimus* sp.; Б – *D. pini*, *D. superans*, *D. segregatus*; В – *D. segregatus*, *D. punctatus*; Г – *D. punctatus*  
 Филогенетическое дерево представителей рода *Dendrolimus*, построенное на основе анализа сиквенсов гена COI мтДНК с применением метода максимального правдоподобия, двухпараметрической модели Кимуры и бутстрэп-метода (1000 итераций)

С молекулярно-генетической дифференциацией *D. sibiricus*, *D. superans* и *D. pini* возникли трудности – образцы этих видов вошли в состав одного кластера (А), и надежно выделить в нем подкластеры, соответствующие видам, не представилось возможным. Есть подозрение, что некоторые образцы были изначально неверно идентифицированы по морфологии. Вместе с тем сложность разделения данных видов по ДНК-баркодам в определенной степени была ожидаема. Сибирский шелкопряд *D. sibiricus* и *D. superans* – филогенетически очень близкие виды. Считается, что *D. sibiricus* эволюционно отделился от *D. superans* недавно [4] и, по всей видимости, выраженных проявлений на уровне ДНК при расхождении видов пока не произошло.

Некоторое удивление вызывала группировка отдельных образцов *D. pini* и *D. sibiricus* в одном кластере. Вместе с тем объяснение этому может крыться в следующем. Ареалы *D. pini* и *D. sibiricus* в Сибири перекрываются [4]. Оба вида привлекаются на феромон сибирского шелкопряда и, по всей видимости, могут образовывать межвидовые гибриды [8]. Идентификация последних по ДНК-баркодам затруднительна. Их определение по внешним признакам (рисунок крыла) и генитальным аппаратам самцов и самок также может представляться крайне сложной задачей.

В заключении, на данном этапе дифференцировать родственные виды рода *Dendrolimus* – *D. sibiricus*, *D. superans*, *D. pini* по ДНК-баркодинговому фрагменту гена COI мтДНК проблематично. Требуются дополнительные исследования и, в первую очередь, ревизия изучаемых образцов по внешней морфологии и, при возможности, по генитальным характеристикам (наиболее надежные признаки, используемые для идентификации родственных видов) для уточнения видовой принадлежности анализируемых образцов шелкопрядов.

## Список источников

1. Рожков А. С. Сибирский шелкопряд. М. : Изд-во АН СССР, 1963. 176 с.
2. Кондаков Ю. П. Массовые размножения сибирского шелкопряда в лесах Красноярского края // Энтомологические исследования в Сибири. Вып. 2. Красноярск : КФ СО РЭО, 2002. С. 25–74.
3. Gninenko Yu. I., Orlinskiy A. D. *Dendrolimus sibiricus* in the coniferous forests of European Russia at the beginning of the twenty-first century. EP-PO/OEPP Bulletin 32. 2002. P. 481–483.
4. Genetic diversity among eight *Dendrolimus* species in Eurasia (Lepidoptera: Lasiocampidae) inferred from mitochondrial COI and COII, and nuclear ITS2 markers / A. Kononov [et. al.] // BMC Genetics 17. 2016.
5. DNA Barcoding for Identification and Detection of Species / R. Mathur [et. al.] // Letters in Applied NanoBioScience. 2022. Vol. 11. Iss. 2. P. 3542–3548.
6. BOLD. The Barcode of Life Data System. Version 4. BOLD Systems, Biodiversity Institute of Ontario. 2023. URL: <http://www.boldsystems.org/> (date of access: 10.02.2024).
7. NCBI – National Center for Biotechnology Information. USA. 2019. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (date of access: 10.02.2024).
8. О внутривидовой и межвидовой химической коммуникации чешуекрылых на примере соснового коконопряда и сибирского шелкопряда (*Dendrolimus pini* L., *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetv. (Lepidoptera, Lasiocampidae)) / Ю. Н. Баранчиков [и др.] // Сенсорные системы. 2007. Т. 21, № 3. С. 246–250.