

С.К. Корб¹, Л.В. Большаков²

²г. Нижний Новгород, Русское энтомологическое общество (Нижегородское отделение)

¹г. Тула, Русское энтомологическое общество (Тульское отделение)

Молекулярное исследование *Euphydryas alexandrina* (Staudinger, 1887) (Lepidoptera: Nymphalidae)

S.K. Korb, L.V. Bolshakov. A molecular investigation of *Euphydryas alexandrina* (Staudinger, 1887) (Lepidoptera: Nymphalidae).

SUMMARY. A molecular investigation of *Euphydryas alexandrina* (Staudinger, 1887) have been processed. It is shown that in the group *Euphydryas aurinia* (Rottemburg, 1775) the minimal genetic distances within COI sequence for specific division are 1 % but only when the morphologic differences (especially in female genitalia) are good enough.

urn:lsid:zoobank.org:pub:E59EEE88-6104-4AE7-B3D5-AB5214A700AD

В результате молекулярного исследования [Korb et al., 2016] были поддержаны выводы о видовом статусе ряда таксонов, близких к *Euphydryas aurinia* (Rottemburg, 1775) – *E. sibirica* (Staudinger, 1871), *E. laeta* (Christoph, 1893), *E. asiatica* (Staudinger, 1881) [Корб, Большаков, 2011, 2013; Большаков, Корб, 2012, 2013], а также пиренейского *E. beckeri* (Lederer, 1853) и недавно описанного на основании различий в гениталиях самок *E. discordia* Bolshakov et Korb, 2013. Также в значительной степени уточнены представления о европейских подвидах *E. aurinia*. Однако, некоторые считающиеся «хорошими» виды и обособленные региональные популяции этой группы остались не охвачены молекулярным анализом.

Наряду с этим, недавно были проведены молекулярные исследования европейских представителей группы *maturna*, в результате чего подтверждено наличие нескольких подвидов *E. maturna* (Linnaeus, 1758) в горных регионах Европы [Rákósy et al., 2012], а также описан *E. italica* Back, Hausmann, Salk et Weiss, 2015 – вид-двойник *E. maturna* (Linnaeus, 1758) [Back et al., 2015].

Видовой статус *E. alexandrina* (Staudinger, 1887), распространенного в горах Северного и Внутреннего Тянь-Шаня, не должен вызывать сомнений в связи со значительными отличиями по гениталиям самок от всех видов группы *aurinia* [Higgins, 1950; Большаков, Корб, 2012]. Однако проведение молекулярного анализа этого вида в рамках ревизии группы совершенно необходимо, т.к. оно не только даст необходимый сравнительный материал, но также предоставит материал для оценки уровня COI, достаточного для разграничения таксонов этой группы на видовом уровне.

В июле 2015 г. первый автор собрал свежий материал *E. alexandrina*, пригодный для молекулярного анализа: 3 ♂♂, 10.07.2015, Казахстан, хр. Заилийский Алатау, ущ. Большая Алмаатинка вблизи г. Алматы, 1920 м, N43° 06.467' E76° 57.175', leg. С.К. Корб. Этот материал был секвенирован в Канадском агентстве продовольственного контроля (Canadian Food Inspection Agency, Ottawa, Канада) Р. Захири (Dr R. Zahiri) (2 ♂♂) и в Museum Alexander Koenig (Bonn, Германия) А. Хаусманном (Dr A. Hausmann). Инвентарные номера GenBank полученных последовательностей: KT989878, KT989879, инвентарный номер BOLD третьей последовательности GBLAA2659-15. Результаты секвенирования представлены на Рис. 1.

Таксон *alexandrina* формирует отдельный от *asiatica* самостоятельный кластер, различия в последовательности цитохромоксидазы (первая субъединица, 5'-фрагмент) составляют выше 1.25%. С учетом глубоких морфологических отличий от *asiatica* в строении гениталий самок, мы считаем такой уровень отличий в COI достаточным для подтверждения видového статуса *E. alexandrina*.

Интересно, что уровень различий в COI между видами рода *Euphydryas*, не имеющими столь заметных различий в гениталиях самок, оказался в пределах 1.0 – 1.5%; отличия в COI у описанного недавно *E. italica* от близкого *E. maturna* составляют 1.4%. Это в очередной раз свидетельствует о том, что низкие значения различий в COI между морфологически отличающимися таксонами не всегда означают их конспекцифичность. Очевидно, что многие выводы такого рода, сделанные в первые несколько лет «молекулярного бума», потребуют пересмотра.

Проблема правильной оценки уровня различий по тем или иным маркерам ДНК становится все более очевидной: слишком для многих групп пресловутые 2% «не работают». Для некоторых групп достоверно доказан видовой порог различий COI меньше 2%: *Junonia* Hübner, 1816 – 1.5% [Win et al., 2015], *Anartia* Hübner, 1819 – 0,9% [Blum et al., 2003], *Neoxeniades* Hayward, 1938, *Cobalus* Hübner, 1819, *Polycctor* Evans, 1953 – менее 0,1% [Burns et al., 2007], и др. Последняя цит. работа показывает, что хорошо различимые морфологически и экологически виды могут различаться всего на 1 – 3 нуклеотида.

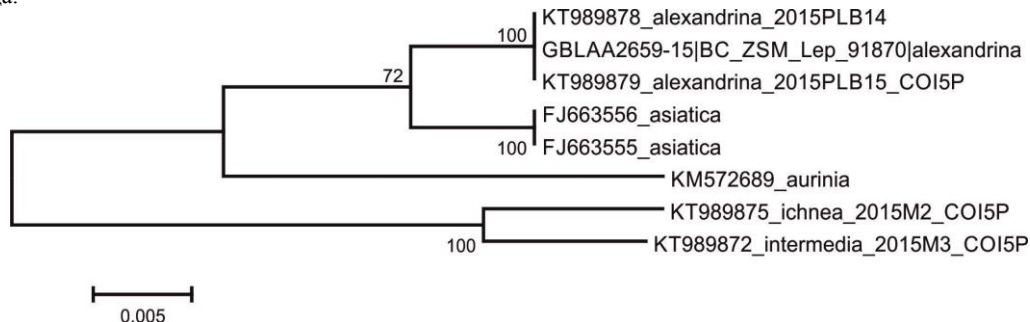


Рис. 1. Фрагмент филогенетического дерева рода *Euphydryas*, ML, параметрическая модель Kimura-2, 10000 бутстреп-репликаций

Необходимость анализа последовательностей с целью выяснения их информационной наполненности для использования в целях систематики поднималась неоднократно [Silva-Brandão et al., 2009; Wiemers, Fiedler, 2007]. Очевидно, что первоначальные принципы использования «штрихкодов» в систематике бабочек [Hebert et al., 2003] в значительной мере устарели и требуют коренного пересмотра не только со стороны «веса» различий тех или иных последовательностей, но также и со стороны использования для построения систем не одного (обычно COI), а нескольких маркеров. Эффективность такого метода неоднократно подтверждалась (см. цитированные выше работы). В недавно вышедшей работе Д.Д. Уилсона [Wilson, 2010], в частности, показано, что наибольшей эффективностью для молекулярно-филогенетических исследований обладают последовательности генов COI (первая субъединица цитохромоксидазы) и 18S (фрагмент 18S РНК), а наиболее популярные последовательности EF1 α (Translation elongation factor 1 α), WG (wingless), CAD (CAD trifunctional enzyme) могут оказаться неэффективными (в частности, показана неэффективность их использования в серии Papilioniformes). Это вполне естественно, так как ядерные гены накапливают изменения значительно быстрее митохондриальных или рибосомальных, и в молодых группах уровень этих изменений может оказаться слишком мал для оценки таксономического статуса. Однако в случае выяснения более достоверных путей филогении значение этих генов нельзя недооценивать.

Таким образом, внутри группы *Euphydryas aurinia* минимальные генетические различия по последовательности COI, достаточные для разделения на видовом уровне, при обязательном наличии морфологических различий (особенно в строении гениталий самок), составляют 1%.

Благодарности. Выражаем сердечную признательность Р. Захири (Dr. R. Zahiri, Canadian Food Inspection Agency, Оттава, Канада) и А. Хаусманну (Dr. A. Hausmann, Zoologische Staatssammlung, Мюнхен, Германия) за секвенирование нашего материала.

Литература

- Корб С.К., Большаков Л.В. 2011. Каталог булавоусых чешуекрылых (Lepidoptera: Papilioniformes) бывшего СССР. Издание второе, переработанное и дополненное / Эверсманния. Энтомологические исследования в России и соседних регионах. Отд. вып. 2. Тула: Гриф и К. 124 с.
- Большаков Л.В., Корб С.К. 2012. К систематике и номенклатуре шашечниц группы *Euphydryas aurinia* (Rottemburg, 1775) из Сибири и Центральной Азии (Lepidoptera: Nymphalidae) // Эверсманния. Энтомол. иссл. в России и соседних регионах. Вып. 31-32. Тула. С. 38–48.
- Back W., Hausmann A., Salk A., Weiss J.-K. 2015. Eine neue Art der Gattung *Euphydryas* Scudder, 1872 aus Nordwest-Italien (Lepidoptera, Nymphalidae) // Atalanta. Vol. 46 (?). P. 111–116
- Blum M.J., Bermingham E., Dasmahapatra K. 2003. A molecular phylogeny of the neotropical butterfly genus *Anartia* (Lepidoptera: Nymphalidae) // Molecular phylogenetics and evolution. Vol. 26 (1). P. 46–55.
- Burns J.M., Janzen D.H., Hajibabaei M., Hallwachs W., Hebert P.D.N. 2007. DNA barcodes of closely related (but morphologically and ecologically distinct) species of skipper butterflies (hesperiidae) can differ by only one to three nucleotides // J. Lepid. Soc. Vol. 61 (3). P. 138–153.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., de Waard J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes // Proc. Royal entomol. Soc. London. Ser. B. Vol. 270. P. 313–321.
- Higgins L.G. 1950. A descriptive catalogue of the palaearctic *Euphydryas* (Lepidoptera: Rhopalocera) // Trans. Royal ent. Soc. London. Vol. 101 (12). P. 435–499.
- Korb S.K., Bolshakov L.V., Fric Z., Bartonova A. 2016. Cluster biodiversity as a multidimensional structure evolution strategy: checkerspot butterflies of the group *Euphydryas aurinia* (Rottemburg, 1775) (Lepidoptera: Nymphalidae) // Syst. Entomol. Vol. 41. P. 441–457.
- Rákósy L., Pecsénye K., Mihali C., Tóth A., Varga Z. 2012. Taxonomic review of *Euphydryas maturna* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera, Nymphalidae) with description of a new subspecies from Dobrogea (Romania) and notes on conservation biology // Acta Zool. Acad. Scien. Hung. ? 52 (2). P. 145–161.
- Silva-Brandão K.L., Lyra M.L., Freitas A.V.L. 2009. Barcoding Lepidoptera: current situation and perspectives on the usefulness of a contentious technique // Neotropical entomol. Vol. 38 (4). P. 441–451.
- Wiemers M., Fiedler K. 2007. Does the DNA barcoding gap exist? – a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae) // Frontiers in Zoology. doi:10.1186/1742-9994-4-8. 16 p.
- Wilson J.J. 2010. Assessing the value of DNA barcodes and other priority gene regions for molecular phylogenetics of Lepidoptera // PLoS ONE. Vol. 5 (5). DOI:10.1371/journal.pone.0010525. 9 p.
- Win N.Z., Choi E.I., Jang D.-J., Park J., Park J.K. 2015. Molecular comparison of the genus *Junonia* (Lepidoptera: Nymphalidae) in Myanmar // Journal of Asia-Pacific Biodiversity. Vol. 8 (4). P. 287–294.

Поступила в редакцию 15.01.2016.

РЕЗЮМЕ. Проведено молекулярное исследование *Euphydryas alexandrina* (Staudinger, 1887). Показано, что в группе *Euphydryas aurinia* (Rottemburg, 1775) минимальные генетические различия по последовательности COI, достаточные для разделения на видовом уровне, при обязательном наличии морфологических различий (особенно в строении гениталий самок), составляют 1%. Библ. 13.