

Обнаружение популяции *Callophrys chalybeitincta* Sovynski, 1905 (Lepidoptera: Lycaenidae) в Волгоградской области (Россия)

Record of population of *Callophrys chalybeitincta* Sovynski, 1905 (Lepidoptera: Lycaenidae) in Volgograd Region (Russia)

Г.И. Кузнецов¹, Б.В. Страдомский², Е.С. Фомина²
G.V. Kuznetsov¹, B.V. Stradomsky², E.S. Fomina²

¹Ул. Борьбы, 4–24, Волгоград 400006 Россия

²Институт аридных зон ЮНЦ РАН, пр. Чехова, 41, Ростов-на-Дону 344006 Россия

¹Bor'by str., 4–24, Volgograd 400006 Russia. E-mail: gen-mash@mail.ru

²Institute of Arid Zones SSC RAS, Chekhov str., 41, Rostov-on-Don 344006 Russia. E-mail: bvstr@yandex.ru

Ключевые слова: Lepidoptera, Lycaenidae, *Callophrys rubi*, *chalybeitincta*, гениталии, COI и ITS2 последовательности ДНК.

Key words: Lepidoptera, Lycaenidae, *Callophrys rubi*, *chalybeitincta*, genitalia, COI and ITS2 DNA sequences.

Резюме. Проведенные исследования генетических маркеров (COI и ITS2), а также гениталий экземпляров изолированной популяции бабочек рода *Callophrys* в Волгоградской области свидетельствуют о ее принадлежности к виду *C. chalybeitincta* Sovynski, 1905. Популяция проживает симпатрично с *C. rubi* (Linnaeus, 1758).

Abstract. Studies of genetic markers (COI and ITS2) and genitalia of specimens from isolated population of butterflies of the genus *Callophrys* from Volgograd Region (Russia) indicate that it belongs to the species *C. chalybeitincta* Sovynski, 1905. Specimens from the population more similar on external morphology to populations from Astrakhan Region, Pyatigorsk and lower reaches of Don River.

Для Волгоградской области без конкретизации локализации приводится вид *Callophrys chalybeitincta* Sovynsky, 1905 [Gorbunov, 2001; Korb, 2005; Кorb, Большаков, 2011]. В 2010 году в северной части Волго-Ахтубинской поймы на территории области была найдена популяция бабочек рода *C. chalybeitincta* [Кузнецов, 2012]. По внешней морфологии бабочки из этой популяции были сходны с *C. chalybeitincta* из Астраханской области, окрестностей Пятигорска и низовьев реки Дон. Анализ гениталий самок из этой популяции также показал их сходство с *C. chalybeitincta* (рис. 1–4). Для видовой идентификации были проведены молекулярно-генетические исследования.

Материал и методы

Исследованный экземпляр хранится в музее Института аридных зон Южного научного центра Российской академии наук (Ростов-на-Дону). Экземпляру присвоен идентификационный музейный номер.

Материал. 1♀, Россия, Волгоградская обл., Ленинский р-н, с. Бахтияровка, 1.05.2013 (Г.В. Кузнецов), музейный номер ILL172.

Обработку образцов тканей изученных

экземпляров, амплификацию участков митохондриального гена первой субъединицы цитохромоксидазы (COI) ДНК и ядерной некодирующей последовательности internal transcribed spacer 2 (ITS2), а также секвенирование амплифицированных фрагментов проводили аналогично процедурам, описанным ранее [Водолажский, Страдомский, 2008].

Для получения ПЦР-продуктов COI использовали прямой праймер (PolF 5'-TAG CGA AAA TGA CTT TTT TCT A-3') и обратный праймер (PolR2 5'-TTG CTC CAG CTA ATA CAG GTA A-3'), для ITS2 – прямой праймер (PiF 5'-GGG CCG GCT GTA TAA AAT CAT A-3') и обратный праймер (PiR 5'-AAA AAT TGA GGC AGA CGC GAT A-3').

Анализ первичных нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программы BioEdit Sequence Alignment Editor версии 7.0.5.3 [Hall, 1999]. Отличия первичных нуклеотидных последовательностей определялись количественно, с использованием параметрической модели Kimura-2 [Kimura, 1980], и графически представлялись в виде ME-кладограмм.

В качестве сравнительных данных использовались ITS2- и COI-последовательности ДНК видов *C. chalybeitincta* (идентификационные музейные номера ILL084 и ILL095) и *C. rubi* (Linnaeus, 1758) (идентификационный номер ILL080), представленные в базе данных GenBank под номерами JF810410, JF810411, JF810413, JF813096, JF813097 и JF813099.

Результаты и обсуждение

Наши исследования показали, что нуклеотидные последовательности COI гена экземпляров *C. rubi*, *C. chalybeitincta* и *C. chalybeitincta nigra* (Stradomsky, 2005) идентичны между собой, а у экземпляра из Волгоградской области имеют минимальные отличия от всех перечисленных особей и составляют около

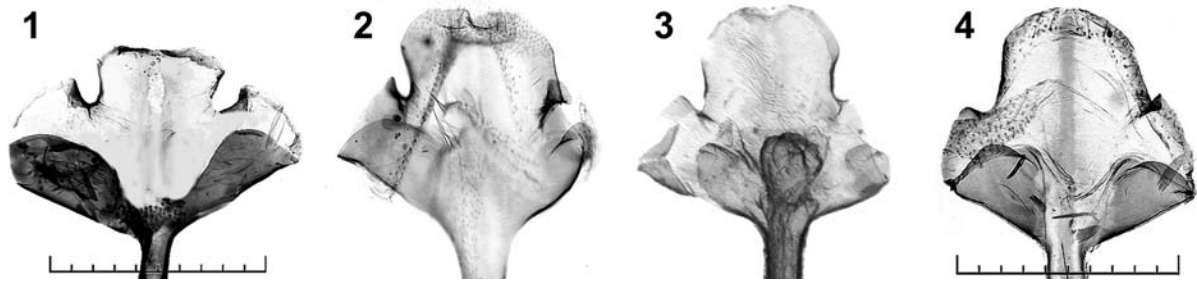


Рис. 1–4. *Callophrys*, гениталии самок.

1 – *C. rubi*; 2 – *C. chalybeitincta*, Волгоградская область; 3 – *C. chalybeitincta nigra*, Ростовская область; 4 – *C. chalybeitincta*, Карачаево-Черкесия.

Figs 1–4. *Callophrys*, female genitalia.

1 – *C. rubi*; 2 – *C. chalybeitincta*, Volgograd Region; 3 – *C. chalybeitincta nigra*, Rostov Region; 4 – *C. chalybeitincta*, Karachay-Cherkessia.

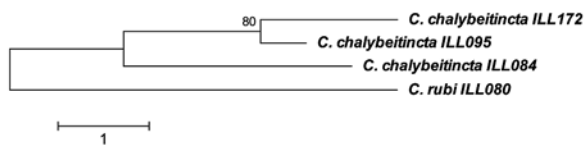


Рис. 5. *Callophrys* spp.: филогенетическое дерево на основе анализа различий ITS2 последовательностей ДНК с применением метода минимальной эволюции (МЕ).

Fig. 5. *Callophrys* spp.: phylogenetic tree based on the Minimum Evolution (ME) method of analysis of distances for ITS2 DNA sequences.

0,7%. Малая вариабельность COI гена в роде *Callophrys* была показана и в более ранних работах [ten Hagen, Miller, 2010; Stradomsky, Vodolazhsky, 2011].

В то же время ядерные последовательности ITS2 *C. rubi* и изученных экземпляров *C. chalybeitincta* имеют между собой весьма значимые различия: 2,7–3%. Изученные экземпляры *C. chalybeitincta* образуют отдельную от *C. rubi* ветвь на кладограмме (рис. 5). Причем последовательности ITS2 *C. chalybeitincta nigra* и *C. chalybeitincta* из Волгоградской области максимально близки друг к другу.

Таким образом, принимая во внимание морфологические и молекулярно-генетические исследования, следует признать, что обнаруженная изолированная популяция *Callophrys* из Волгоградской области принадлежит к виду *C. chalybeitincta*.

Обращает на себя внимание, что популяции *C. chalybeitincta* вне кавказского региона обжили поймы крупных рек. Так, популяция из Волгоградской

области обитает в светлом пойменном лохово-тамарисковом сообществе. Популяции *C. chalybeitincta nigra* заселяют территории луговых степей и разреженных прибрежных рощ в дельте реки Дон.

Литература

- Водолажский Д.И., Страдомский Б.В. 2008. Исследование филогенеза подрода *Polyommatus* (s. str.) Latreille, 1804 (Lepidoptera: Lycaenidae) с использованием маркеров мтДНК. Часть I. *Кавказский энтомологический бюллетень*. 4(1): 123–130.
- Корб С.К., Большаков А.В. 2011. Каталог булавоусых чешуекрылых (Lepidoptera: Papilioniformes) бывшего СССР. Издание второе, переработанное и дополненное. *Эверсманния*. Отд. вып. 2: 1–124.
- Кузнецов Г.В. 2012. Papilionoidea (Lepidoptera) Волгоградской области. *Кавказский энтомологический бюллетень*. 8(1): 127–140.
- Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series No 41*: 95–98.
- Gorbunov P. 2001. The butterflies of Russia: classification, genitalia, keys for identification (Lepidoptera: Hesperioidea and Papilionoidea). Ekaterinburg: Thesis. 320 p.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*. 16: 111–120.
- Korb S.K. 2005. A catalogue of butterflies of the ex-USSR, with remarks on systematic and nomenclature. Nizhny Novgorod. 156 p.
- Stradomsky B.V., Vodolazhsky D.I. 2011. *Callophrys rubi* (Linnaeus, 1758) and *C. chalybeitincta* Sovynski, 1905 (Lepidoptera: Lycaenidae): a comparative analysis of mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Кавказский энтомологический бюллетень*. 7(1): 79–80.
- ten Hagen W., Miller M.A. 2010. Molekulargenetische Untersuchungen der paläarktischen Arten des Genus *Callophrys* Billberg, 1820 mit Hilfe von mtDNA-COI-Barcodes und taxonomische Überlegungen (Lepidoptera: Lycaenidae). *Nachrichten des entomologischen Vereins Apollo*. 30(4): 177–197.

References

- Gorbunov P. 2001. The butterflies of Russia: classification, genitalia, keys for identification (Lepidoptera: Hesperioidea and Papilionoidea). Ekaterinburg: Thesis. 320 p.
- Hagen W. ten, Miller M.A. 2010. Molekulargenetische Untersuchungen der palaarktischen Arten des Genus *Callophrys* Billberg, 1820 mit Hilfe von mtDNA-COI-Barcodes und taxonomische Überlegungen (Lepidoptera: Lycaenidae). *Nachrichten des entomologischen Vereins Apollo*. 30(4): 177–197.
- Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series No 41*: 95–98.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*. 16: 111–120.
- Korb S.K. 2005. A catalogue of butterflies of the ex-USSR, with remarks on systematic and nomenclature. Nizhny Novgorod. 156 p.
- Korb S.K., Bolshakov L.V. 2011. A catalogue of butterflies (Lepidoptera: Papilionoformes) of the former USSR. Second edition, reformatted and updated. *Eversmannia*. Suppl. 2: 1–124 (in Russian).
- Kuznetsov G.V. 2012. Papilionoidea butterflies (Lepidoptera) from Volgograd region. *Caucasian Entomological Bulletin*. 8(1): 127–140 (in Russian).
- Stradomsky B.V., Vodolazhsky D.I. 2011. *Callophrys rubi* (Linnaeus, 1758) and *C. chalybeitincta* Sovynski, 1905 (Lepidoptera: Lycaenidae): a comparative analysis of mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Caucasian Entomological Bulletin*. 7(1): 79–80.
- Vodolazhsky D.I., Stradomsky B.V. Phylogenetic analysis of subgenus *Polyommatus* (s. str) Latreille, 1804 (Lepidoptera: Lycaenidae) based on mtDNA markers. Part I. *Caucasian Entomological Bulletin*. 4(1): 123–130 (in Russian).