

На правах рукописи

ЯЦУК АЛЕКСАНДРА АЛЕКСЕЕВНА

**МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЗЛА-
КОВЫХ МУХ РОДА *MEROMYZA* MEIGEN, 1830
(DIPTERA, CHLOROPIDAE)**

03.02.05 – «ЭНТОМОЛОГИЯ»

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва 2019

Работа выполнена в лаборатории почвенной зоологии и общей энтомологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт проблем
экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук.

Научный руководитель: доктор биологических наук

Сафонкин Андрей Феликсович

Официальные оппоненты:

Веденина Варвара Юрьевна

доктор биологических наук, главный научный сотрудник,
и.о. заведующего лаборатории обработки сенсорной информации
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт проблем передачи информации им. А. А. Харкевича
Российской академии наук

Чурсина Мария Александровна

кандидат биологических наук, преподаватель 51 кафедры
Военного учебно-научного центра Военно-воздушных сил
«Военно-воздушная академия имени профессора Н.Е. Жуковского
и Ю.А. Гагарина»

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова
Российской академии наук

Защита состоится _____ 2020 г. в __:__ на заседании диссертационного совета
Д 002.213.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт
проблем экологии и эволюции РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский пр., д. 33., в
конференц-зале Отделения биологических наук Российской академии наук.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке Отделения
биологических наук Российской академии наук по адресу: 119071, Москва, Ленинский
пр., д. 33, на сайте ИПЭЭ РАН по адресу www.sev-in.ru и на сайте ВАК РФ по адресу
vak.minobrnauki.gov.ru.

Автореферат разослан _____ 2020 г.

Учёный секретарь Диссертационного совета
кандидат биологических наук

Кацман Елена Александровна

Введение

Одной из ключевых задач современной эволюционной биологии является выявление факторов и процессов, приводящих к образованию новых видов. Дизруптивный отбор, включающий как поведенческие механизмы, так и географическую изоляцию, разделяет вид на обособленные группы, характеризующиеся своими комплексами признаков. В дальнейшем, стабилизирующий отбор, по, например, репродуктивному поведению, наоборот, поддерживает целостность новых видов (Картавцев, 2013). У насекомых существует комплекс поведенческих признаков, включающий пре-, копуляционные и посткопуляционные механизмы, определяющие не только успех репродукции, но и межвидовой изоляции (Сафонкин, 2011). На уровне копуляции изоляция часто связана с морфологией копулятивного аппарата (Sirota, 2003), поскольку его структура является одним из ведущих компонентов «консервации» видов (Shapiro, Porter, 1989). В связи с этим, изучение общих закономерностей изменения формы гениталий, корреляционных связей между изменениями формы полового аппарата и дивергенцией видов, уточнение диапазонов их изменчивости имеет большую теоретическую, в том числе для решения вопросов микроэволюции, и практическую значимость, в частности, для решения вопросов систематики.

При исследовании морфологических структур часто применяется метод морфометрического анализа, так как визуальное описание различий не позволяет количественно оценить изменчивость признака. Морфометрический анализ позволяет оценить величину изменчивости любой анатомической структуры, выделить наиболее важные признаки, определяющие внутривидовые и межвидовые различия, определить направление их изменений и установить последовательность их вовлечения в процесс дивергенции. Для выявления возможных путей эволюции, связанных с репродуктивным поведением, полученные закономерности морфологической изменчивости полового аппарата сопоставляются с филогенетическими связями исследуемой группы насекомых. Так у двукрылых на примере дрозофил проводились попытки изучения тонких механизмов формообразования половых органов самцов в процессе дивергенции видов (Куликов, Мельников и др., 2001).

Мухи рода *Meromyza* Meigen, 1830 представляются хорошим модельным объектом для исследования закономерностей в изменениях морфологических признаков в эволюции группы, поскольку их видовые различия определяются как признаками внешней морфологии так и хорошо выраженными элементами генитального аппарата самцов.

Род *Meromyza*, относится к семейству Chloropidae Rondani, 1856, являющемуся на открытых станциях едва ли не самой массовой группой двукрылых (Нарчук, 1987). Имаго меромиз приурочены к открытым станциям с низким травостоем, где одновременно встречается несколько разных видов (Лескова, 1952, 1953, Пантелеева, 1989), из которых 3-4

относятся к массовым (Сафонкин, Триселева и др., 2015). Использование одинаковых биоценозов разными видами предполагает существование механизмов репродуктивной изоляции, не связанных с экологическими или географическими преградами. Одним из таких механизмов может быть особая морфология полового аппарата самцов.

К настоящему времени выделено более 90 видов меромиз и на основе комплекса морфологических признаков разработана их систематика. В конце прошлого века несколькими авторами было начато изучение их филогенетических взаимоотношений на межвидовом уровне (Федосеева, 2003б, Нарчук, Федосеева, 2010, 2011, Hubicka, 1970), но результаты этих исследований были противоречивыми.

Известно, что род *Meromyza* преимущественно голарктический (Нарчук, Федосеева, 2010, 2011). За пределами Голарктики обитают лишь единичные виды. Ареалы большинства видов находятся в пределах бореальной части Палеарктики (Нарчук, Федосеева, 2011). К настоящему моменту у многих видов насекомых была обнаружена географическая изменчивость различных морфологических структур (Арнольди, 1939, AYTEKIN et al., 2007, Demari-Silva et al., 2014), в том числе размера и формы эдегуса (Kataev, 2012). Микроэволюционные процессы внутри популяций могут лежать в основе изменений важных морфологических признаков, определяя направления видообразования. Но в литературе нет данных, свидетельствующих о том, что у меромиз существуют популяционные различия по комплексу внешних признаков, а возможные межпопуляционные различия полового аппарата самцов по ареалу ранее не изучались.

Кормовые растения личинок меромиз относятся только к семейству Poaceae (Нарчук, Федосеева, 1982). Они повреждают не менее 20 видов злаков (Нарчук, Федосеева, 2010). Некоторые меромизы перешли на питание культурными злаками, в связи с чем, мухи этого рода имеют немаловажное значение как вредители сельскохозяйственных культур.

Все это подчеркивает необходимость более подробного изучения данной группы двукрылых в аспекте их эволюции и филогении.

Цели и задачи.

Цель работы заключается в комплексной оценке внутри и межвидовых различий злаковых мух рода *Meromyza* на основе изменчивости их морфологических признаков и генетического разнообразия.

Перед нами стояли следующие задачи:

– Определить диапазоны изменчивости размерных характеристик и закономерности формообразования генитального аппарата самцов на уровне видов и популяций.

– Оценить диапазоны изменчивости таксономически важных внешних признаков мезонотума и щупиков на уровне видов и популяций.

– Установить внутри и межвидовые отношения злаковых мух рода *Meromyza* с помощью молекулярно-генетического анализа.

– Установить возможные закономерности и корреляции между морфологической изменчивостью внешних признаков, генитального аппарата самцов и генетическим разнообразием злаковых мух рода *Meromyza* на уровне видов и популяций.

Новизна

Впервые на основе значительного объема материала проведен сравнительный анализ 26 видов злаковых мух рода *Meromyza*, включающий анализ изменчивости признаков внешней морфологии и генитального аппарата самцов и, для 24 видов, молекулярно-генетической изменчивости по гену COI мтДНК.

В результате работы впервые установлены статистически достоверные диапазоны изменчивости формы и размеров постгонитов и признаков внешней морфологии, на которых во многом основана идентификация видов.

На основе полученных морфологических и молекулярно-генетических данных меромизы впервые разделены на 8 кластеров. По этим кластерам впервые изучены микроэволюционные закономерности изменения формы постгонитов между видами меромиз и выявлена зависимость их размеров от степени близости видов к предковым гаплотипам. Выявлены типы изменчивости формы постгонитов, определяющие видовое разнообразие по данному признаку.

На примере голарктического вида *M. saltatrix*, евро-сибирского *M. nigriseta* и дауро-монгольского *M. acuminata* впервые установлены диапазоны изменчивости признаков внешней морфологии и генитального аппарата самцов на уровне популяций. Установлены критерии изменчивости генитального аппарата самцов, разделяющие популяции. Впервые выявлены внутри- и межпопуляционные закономерности генетического разнообразия *M. saltatrix*.

Теоретическое и практическое значение.

Результаты работы вносят вклад в исследование механизмов видообразования, связанного с эволюцией полового аппарата.

Результаты работы вносят вклад в изучение морфологии, филогении и эволюции злаковых мух рода *Meromyza*.

Изучение изменчивости элементов внешней морфологии и морфологии генитального аппарата самцов позволяет установить пределы возможности их использования в качестве диагностических признаков.

Использованный в работе подход может быть применен для изучения эволюционных связей внутри семейства Chloropidae и других близкородственных групп насекомых.

Положения, выносимые на защиту.

1) Диапазоны изменчивости площади передних отростков постгонитов в отличие от диапазонов изменчивости признаков внешней морфологии позволяют достоверно различить виды.

2) Филогенетическое древо меромиз с выделением 8 кластеров согласуется с морфологией их постгонитов. Внутри каждого кластера наблюдается уменьшение размеров переднего отростка постгонита у эволюционно более молодых видов по сравнению с видами, близкими к предковым гаплотипам.

3) Четыре типа изменчивости постгонитов меромиз, определяющие три направления эволюции их формы, характеризуют различия между видами, в том числе, два из них – между популяциями.

Личный вклад автора.

Автором лично был проведен комплексный анализ морфологии 26 видов меромиз в том числе методами линейной и геометрической морфометрии. Автор принимал активное участие в сборе и определении материала, исследовании образцов молекулярно-генетическими методами и написании статей, представляющих результаты данного исследования. Статистический анализ данных был проведен лично автором, за исключением анализа популяций вида *M. saltatrix*. Анализ собственных и литературных данных и их интерпретации, сопоставления и выводы сделаны автором лично.

Апробация работы.

Результаты работы были представлены на Шестой школе-конференции молодых сотрудников и аспирантов ИПЭЭ. г. Москва, 2014; Десятой международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии – 2014» г. Гродно; Десятом Всероссийском Диптерологическом Симпозиуме г. Краснодар, 2016; Седьмой школе-конференции «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых» ИПЭЭ. г. Москва, 2016.

Публикации: по теме диссертации опубликовано 4 статьи, 3 из них – в реферируемых журналах из списка ВАК, и 4 тезиса в сборниках материалов научных конференций.

Структура и объем диссертации. Основной текст диссертации изложен на 133 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 3 глав, заключения, выводов и списка литературы. Диссертация также включает в себя приложения, изложенные на 63 страницах. Работа содержит 174 таблицы и 91 рисунок. Список литературы включает 201 источник, в т.ч. 81 на иностранных языках.

Содержание работы.

Глава 1. Обзор литературы.

В главе приводится обзор данных по морфологии, фаунистике, биологии и экологии изучаемой группы злаковых мух. Их анализ показал, что у данной группы двукрылых должны существовать механизмы межвидовой изоляции, не связанные с экологическими или географическими преградами, поскольку половое поведение нескольких видов осуществляется одновременно в одних и тех же биотопах. Внутрипопуляционная структура меромиз, филогенетические взаимоотношения, диапазоны изменчивости элементов морфологии изучены недостаточно, а комплексный подход, включающий такие методы исследования как линейная морфометрия, геометрическая морфометрия и молекулярно-генетические методы, позволяющий решить поставленные в работе задачи, ранее не применялся.

Глава 2. Материал и методы.

Данная работа основана на изучении 26 видов мух рода *Meromyza*: *M. athletica* Fed., 1974, *M. acuminata* Fed., 1964, *M. brevifasciata* Fed., 1974, *M. cognata* Fed., 1964, *M. conifera* Fed., 1971, *M. femorata* Macq., 1835, *M. inornata* Beck., 1910, *M. jacutica* Fed., 1979, *M. maculata* Fed., 1964, *M. meigeni* Nart., 2006, *M. mosquensis* Fed., 1960, *M. nigriseta* Fed., 1960, *M. nigriventris* Macq., 1835, *M. nigrofasciata* Hend., 1938, *M. ornata* Wd., 1817, *M. pallida* Fed., 1964, *M. palposa* Fed., 1960, *M. pluriseta* Pet., 1961, *M. pratorum* Mg., 1830, *M. saltatrix* L., 1761, *M. sibirica* Fed., 1961, *M. stackelbergi* Fed., 1967, *M. triangulina* Fed., 1960, *M. tshernovae* Fed., 1971, *M. variegata* Mg., 1830, *M. zachvatkini* Fed., 1960. Мы принимаем вид *M. meigeni* как синоним *M. laeta* Mg., 1838 (Nartshuk, 2006).

Сбор материала. Материал был собран в различных областях России и сопредельных стран: в Вологодской (июль, 2011, 2012 г) и Московской областях (все лето 2011, 2012, 2015 г.), в Республике Карелия (июль, 2014), на Южном Урале (июнь, 2014), в Республике Крым (июнь, 2015), в Балтийском регионе (окрестности Калининграда (июнь, 2016) и в Польше). Материал из Саратовской области (июнь, 2013), Польши (июнь, 2013) и Монголии (июнь, 2011, 2012) предоставлен А. Ф. Сафонкиным, Т. А. Триселевой, Н. А. Акентьевой.

Межпопуляционная изменчивость была исследована у 3-х модельных видов: восточнопалеарктического дауро-монгольского степного *M. acuminata*, широко распространенного палеарктического евро-сибирского *M. nigriseta* и голарктического *M. saltatrix*. Экземпляры *M. acuminata* при исследовании изменчивости окраски щупиков были разделены на особей из агроценозов и природных стадий. Экземпляры *M. saltatrix* из балтийских

сборов были разделены по морфологическому признаку – наличию/отсутствию черных щетинок на нижней поверхности щек.

Обработка материала. Все собранные злаковые мухи были разделены на молодых и зрелых имаго, по полам и определены до вида по определителям Нарчук, Федосеева, (1982), Федосеева (2003) и Нарчук, Федосеева (2010).

Анализ линейной морфометрии. С помощью микроскопа Keyence VHX-1000 с объективом VH-Z100R/W при увеличении 1000 было получено около 1000 фотографии внешней боковой стороны постгонитов для 26 видов меромиз (таб. 1) и проведены их измерения. Для упрощения описания формы мы подразделяем передний отросток постгонита на две части: основную и выступающую (рис. 1). Были исследованы высота (H_1) и длина (L_1) основной и выступающей (H_2 , L_2) частей переднего отростка постгонита, общая площадь ($S_{\text{общ}}$), периметр (P), площади основной (S_1) и выступающей (S_2), высота заднего отростка постгонита (H_3).

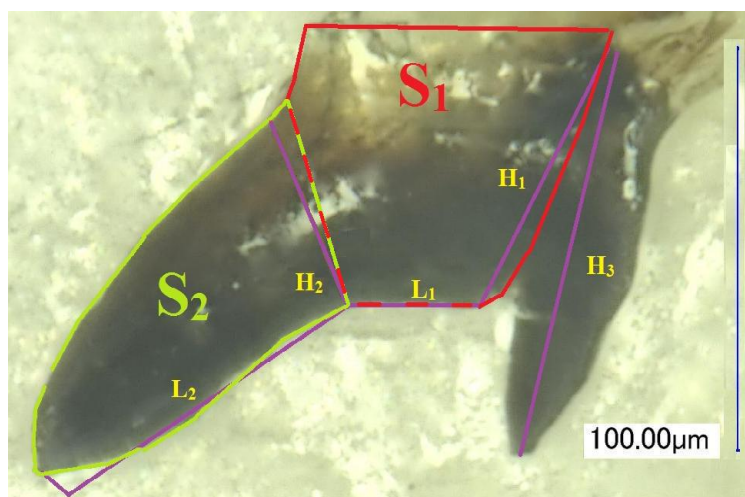


Рис. 1. Схема измерения постгонитов. Обозначения см. текст.

Анализ геометрической морфометрии. Геометрическая морфометрия была проведена с использованием пакета программ TPS (Rolf, 2001a, 2001b) и MorphoJ (Klingenberg, 2010). Для оцифровки формы в программе tpsDig2 было расставлено 20 точек, отражающих контур переднего отростка постгонита. При необходимости проводились повторные оцифровки контура для оценки ручной погрешности. Всего было обработано около 300 фотографий для 26 видов (таб. 1). Для оценки различий между популяциями в MorphoJ был проведен анализ канонических переменных (Canonical variate analysis) и анализ главных компонент (Principal component analysis) с наложением филогенетического дерева, построенного в программе MrBayes, на пространство форм. Визуализация различий проведена с помощью дискриминантного анализа и в программе tps relative warps с помощью

метода тонких пластин. Для статистической оценки степени различий использовано расстояние Махаланобиса (при проведении всех анализов кросс-валидация была с 10000 интеграций).

Анализ внешних морфологических признаков. Для анализа были взяты важные для идентификации видов меромиз внешние признаки – цвет и длина полос среднеспинки и окраска щупиков. Использовался только сухой материал. С помощью методов линейной морфометрии длины среднеспинки, щитка и полос на них были исследованы у 18 видов меромиз (таб. 1). Фотографии (более 500) были получены на микроскопе МСП-1 с камерой ТС-300 при увеличении х60. Измерения признаков проведены с помощью окулярмикрометра и в программе Keyence VHX-1000. Цвет полос исследован на ~3000 экземплярах меромиз из 24 видов (таб. 1).

Для исследования изменчивости цвета щупиков в качестве примера был взят вид *M. acuminata*, характеризующийся высокой изменчивостью данного признака (Федосеева, 1964, Нарчук, Федосеева, 1982). Исследовано 1525 экземпляров: 228/471 экз. самцов и 216/610 экз. самок из природных стаций/агроценозов.

Молекулярно-генетический анализ. Для молекулярно-генетических исследований брали сухой и спиртовой материал мух. Выделение ДНК проводили набором реактивов «Diatom DNA prep 200» согласно протоколу с некоторыми изменениями: для лучшей экстракции образцы проб оставляли в термостате при 55 °, перемешивая, на ночь. В реакцию амплификации брали по 0,1 мкг выделенной тотальной ДНК. Амплификация проводилась в 20 мкл с использованием 4 мкл набора для ПЦР X5 MasterMix с добавлением SmartTAQ полимеразы, 4 мкл полученного раствора ДНК, по 2 мкл прямого и обратного праймера. Праймеры: CI-J-2183 (5' СААСАТТТАТТТТГАТТТТТТТТGG 3') и TL2-N-3014 (5' ТССААТГСАСТААТСТGCCАТАТТА 3') (Simon et al., 1994, Kruse, Sperling, 2002), реакцию проводили в следующем режиме: начальная стадия денатурации при 92 С - 2 мин (1 цикл); отжиг с понижением температуры : 92 С - 10сек, 58 С -46 С - 10 сек, 72 С - 2 мин (2 цикла); 92 С - 10 сек, 45 С - 10 сек, 72 С - 2 мин (29 циклов); 72 С - 10 мин (1 цикл) (Scheffer, Winkler, 2008). ПЦР осуществлялась при помощи амплификатора "Tetrad2" (BIO-RAD). Очистку продукта амплификации проводили методом осаждения раствором этилового спирта с добавлением 5М ацетата натрия. Электрофорез и чтение нуклеотидных последовательностей продукта амплификации выполняли на автоматическом сиквенаторе ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems) с использованием набора реактивов BigDye Terminator kit 3.1 (Applied biosystems). Анализируемый фрагмент составлял 770 п. н. второй половины гена COI. Было получено 93 сиквенса участка COI у 24 видов мух (таб. 1). При исследовании популяций было получено 42 сиквенса для вида *M. saltatrix*. Обработку

хроматограмм последовательностей проводили в программе BioEdit 7.0.5.3. (Hall, 1999). Для построения дендрограммы и медианной сети применялась программа MEGA 5.0. (Tamura et al., 2007) с использованием методов максимального правдоподобия (Maximum Likelihood (ML)), присоединения соседей (Neighbor-joining (NJ)), Network ver. 4.6.1.1 (Bandelt et al., 1999), ARLEQUIN ver. 3.5 (Excoffier, Lischer, 2011), MrBayes ver.3.0 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003). В качестве внешней группы был взят: *Campiglossa pygmaea* Novak 1974 из ГенБанка (ссылка: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (номер в ГенБанке: HM062547.1) и *Cryptonevra flavitarsis* Meigen, 1830 (собственный анализ).

Таблица 1. Морфологические и генетические критерии, используемые в работе (n – число экземпляров меромиз).

Вид (популяция)	Линейные размеры постгонитов (n)	Форма постгонитов (n)	Линейные размеры полос (n)	Цвет полос (n)	Участок COI (n)
<i>M. acuminata</i> (Орхонская, Салхитская)	73 (42, 21)	10	75 (50, 25)	388 (364, 24)	5
<i>M. athletica</i>	2	4	-	-	2
<i>M. brevifasciata</i>	2	2	2	6	1
<i>M. cognata</i>	4	5	-	16	-
<i>M. conifera</i>	40	10	49	70	1
<i>M. femorata</i>	22	5	25	51	4
<i>M. inornata</i>	21	5	25	187	6
<i>M. jacutica</i>	2	2	-	2	4
<i>M. maculata</i>	2	2	-	3	-
<i>M. meigeni</i>	4	3	10	43	1
<i>M. mosquensis</i>	22	5	25	66	4
<i>M. nigriseta</i> (Московская, Вологодская, Уфимская)	100 (31, 21, 20)	10	93 (25, 25, 25)	199 (73, 70, 56)	3
<i>M. nigriventris</i>	23	5	25	49	2
<i>M. nigrofasciata</i>	21	5	25	262	2
<i>M. ornata</i>	2	2	-	-	1
<i>M. pallida</i>	2	2	-	41	2
<i>M. palposa</i>	5	2	7	9	1
<i>M. pluriseta</i>	24	5	25	109	2
<i>M. pratorum</i>	24	5	17	38	1
<i>M. saltatrix</i>	184 (Московская - 52, Вологодская - 14, Уфимская - 10, Южно-уральская - 23, Крымская - 18, Петрозаводская - 14, с о. Кизи - 8, Монгольская - 23, Балтийская со щетинками - 4, Бал-	30	147 (Московская - 25, Вологодская - 15, Уфимская - 25, Карельская - 25, Монгольская - 15, Балтийская - 25)	1212 (Московская - 269, Вологодская - 13, Уфимская - 245, Карельская - 96, Монгольская - 18, Балтийская - 563)	42

	тийская без щетинок - 18)				
<i>M. sibirica</i>	10	6	24	40	1
<i>M. stackelbergi</i>	2	2	-	8	1
<i>M. triangulina</i>	4	4	-	6	1
<i>M. tshernovae</i>	16	10	16	3	1
<i>M. variegata</i>	20	5	24	65	4
<i>M. zachvatkini</i>	4	5	11	16	1

Статистическая обработка материала проведена с помощью программ Statistica 8 и Statistica 10 (StatSoft, Inc., США). Были применены следующие анализы: дискриминантный анализ (в качестве показателя уровня вклада переменной в разделительную силу модели используется λ_p (Partial lambda)). В качестве показателя уникальности признака – R^2 (1-Toler.), корреляционный анализ, анализ однофакторная ANOVA с апостериорным сравнением средних (post-hoc) тестом Тьюки, кластерный анализ, критерий Стьюдента. При необходимости были проведены анализы для непараметрических данных и биномиальный тест. Для анализа популяций *M. saltatrix* были использованы анализы MANOVA и однофакторная ANOVA с post-hoc тестом Фишера при $P < 0.05$ в программе Biosystem office (Petrosyan, 2014) как более мощные тесты.

Глава 3. Изменчивость признаков внешней морфологии у мух рода *Meromyza*.

3.1. Линейные размеры полос среднеспинки и щитка.

Высокая изменчивость признаков внешней морфологии, являющихся важными определительными признаками у мух рода *Meromyza*, отмечалась многими авторами. До начала использования генитального аппарата для определения видовой принадлежности меромиз было описано всего 6 видов в Европейской части и велись многочисленные споры о синонимичности некоторых из них (Федосеева, 1960а). К настоящему моменту в роде описано 95 видов, а признаки внешней морфологии продолжают использоваться в определительных ключах (Нарчук, Федосеева, 2010). Нами были впервые установлены границы изменчивости ряда признаков. Длина среднеспинки варьирует в диапазоне от 572,5 мкм у вида *M. meigeni* до 746,8 мкм у *M. acuminata*, а ее изменчивость у видов в среднем составляет 6%. Длины щитка находятся в пределах от 182,5 мкм у вида *M. palposa* до 257 мкм у *M. sibirica*, а ее изменчивость у видов в среднем составляет 11%. Длины средней полосы среднеспинки - от 464,7 мкм у вида *M. meigeni* до 742,8 мкм у *M. sibirica* и *M. acuminata*, а ее изменчивость у видов в среднем составляет 9%. Длины полосы на щитке - от 42,3 мкм у вида *M. femorata* до 223,6 мкм у *M. pluriseta*, а ее изменчивость у видов в среднем составляет 45%. Дискриминантный анализ показал, что вероятность правильного определения видов с помощью данных показателей составляет 29%. Значимых различий

между самками и самцами не было выявлено. По отношениям длины средней полосы среднеспинки к длине среднеспинки и длины полосы на щитке к длине щитка от других видов достоверно отличаются ($\lambda_w=0,120966$, $p<0,000$, $df=563$) только 5 видов с короткими или полностью исчезающими полосами: *M. meigeni*, *M. inornata*, *M. femorata*, *M. variegata*, *M. brevifasciata*.

3.2. Окраска полос среднеспинки и щитка.

Окраска полос это один из наиболее часто используемых признаков внешней морфологии при определении меромиз. Одними из самых распространенных вариантов оказались: однотонная темная окраска полос, и темные полосы среднеспинки с более светлой полосой на щитке, темные полосы со светлым пятном в начале средней полосы среднеспинки. Наиболее часто у самцов (16 видов) встречался черный вариант окраски полос и черные полосы среднеспинки и коричневая полоса на щитке (14 видов), а у самок - черный вариант окраски полос (13 видов) и черные полосы мезонотума с коричневым пятном в начале средней полосы среднеспинки (12 видов). Частота встречаемости преобладающих вариантов окраски полос среднеспинки у самок и самцов совпадала у видов *M. nigriseta*, *M. nigrofasciata*, *M. pluriseta*, *M. saltatrix*. Варианты окраски полос не зависели от зрелости имаго. У большинства видов варианты окраски перекрываются и отличить от других удастся лишь единичные виды. Для видов *M. acuminata*, *M. conifera*, *M. cognata*, *M. femorata*, *M. jacutica*, *M. meigeni*, *M. nigriseta*, *M. pallida*, *M. pluriseta*, *M. pratorum*, *M. saltatrix*, *M. sibirica* найдены новые варианты окраски полос. По ширине диапазона окраски виды можно разделить на 4 группы: 1 (окраска варьирует от черной до рыже-коричневой с исчезающими участками полос) - *M. nigriventris*, *M. conifera*, *M. inornata*, *M. meigeni*, *M. mosquensis*, *M. variegata*; 2 (окраска преимущественно черная с коричневыми участками) - *M. stackelbergi*, *M. triangulina*, *M. jacutica*, *M. palposa*, *M. pluriseta*, *M. zachvatkini*, *M. nigriseta*, *M. nigrofasciata*, *M. pratorum*, *M. sibirica*; 3 (окраска средней полосы среднеспинки и полосы на щитке меняется от черной до коричневой) - *M. cognata*, *M. acuminata* и *M. saltatrix*, *M. brevifasciata*. 4 (окраска меняется от коричневой до рыжей) - *M. femorata* и *M. pallida*.

3.3. Цвет щупиков на примере вида *M. acuminata* Fed.

У некоторых видов рода *Meromyza*, таких как *M. inornata*, *M. variegata*, *M. pratorum* известна изменчивость цвета щупиков. Для установления диапазонов и уровня такой изменчивости было исследовано несколько популяций вида *M. acuminata*, щупики которого могут быть как полностью темными, так и полностью светлыми.

Было показано, что все типы окраски щупиков встречались и у взрослых, и у недавно отродившихся имаго. У наибольшего числа экземпляров самок и самцов щупики

были окрашены наполовину. Частота встречаемости более темной окраски щупиков была выше у самок (7.44%), чем у самцов (0.98%) ($p < 0,000$), а светлой – наоборот (у самок: 11.2%, у самцов: 39.8%) ($p < 0,002$). При этом, в природных стациях, в отличие от агроценозов, у самцов (33.44% к 39.52%, $p < 0.03$) и самок (4.88% к 11.34% , $p < 0.05$) уменьшалось количество особей со светлыми щупиками. Связи между цветом щупиков и окраской полос среднеспинки, возрастом имаго и опушенностью обнаружено не было.

Глава 4. Морфология постгонитов в аспекте филогенетических взаимоотношений внутри рода *Meromyza*.

4.1. Анализ морфологии постгонитов.

На примере представителей разных отрядов насекомых было предположено, что структуры генитального аппарата служат для консервации видов, предотвращая межвидовое скрещивание и определяя успех копуляции особей (Shapiro, Porter, 1989, Sirot, 2003). В некоторых случаях было показано существование коэволюции половых аппаратов самок и самцов (Сафонкин, 2010, Yassin, Orgogozo, 2013). Постгониты меромиз отличаются большим разнообразием формы. Они считаются самым надежным определительным признаком у данной группы. При копуляции постгониты входят внутрь копулятивной сумки самки и по физиологической роли относятся к активным «внутренним элементам» полового аппарата. На своей поверхности они несут сенсорные поры и щетинки. В свете всех этих фактов постгониты должны играть ведущую роль в межвидовой изоляции меромиз.

Ранее виды меромиз на основании подходов классической систематики были разделены в соответствии с их морфологическими признаками на несколько групп. Федосеева и Нарчук выделяли 3 группы, используя морфологию постгонитов (Федосеева, 2003б, Нарчук, Федосеева, 2011), Губицкая, используя морфологию постгонитов, форму эдеагуса и другие морфологические признаки, - 4 группы (Hubicka, 1970). В целом, большинство выделенных групп были сборными. Например, виды *M. variegata* и *M. mosquensis* очень похожи между собой по морфологии постгонитов, но в классификации Губицкой они входили в разные группы. В тоже время у *M. mosquensis* и *M. saltatrix* очевидны большие различия по морфологии постгонитов, но Федосеева и Нарчук (Нарчук, Федосеева, 2011) включили их в одну группу.

Мы проанализировали морфологию постгонитов 26 видов меромиз и, основываясь на форме постгонитов, уровне их склеротизованности, наличии заворота и способе присоединения заднего отростка постгонита к переднему разделили их на 8 групп: группа Pratorum: *M. jacutica*, *M. conifera*, *M. ornata*, *M. pratorum* и *M. brevifasciata*, Zachvatkini - *M. zachvatkini*, *M. palposa* и *M. triangulina*, Saltatrix - *M. pallida*, *M. saltatrix*, *M. nigrofasciata*, *M. acuminata*, *M. stackelbergi*, *M. tshernovae*, *M. sibirica* и возможно *M. maculata*, который

во многом похож на *M. athletica*, Meigeni - *M. meigeni*, *M. variegata*, *M. femorata* и *M. mosquensis*, Pluriseta - *M. pluriseta*, *M. nigriseta*, *M. cognata*. *M. nigriventris*, *M. inornata* и *M. athletica* образуют отдельные группы Nigriventris, Inornata и Athletica.

4.2 Закономерности в изменчивости размеров постгонитов на уровне видов.

Известно, что различные направления изменений морфологии полового аппарата самцов имеют разную значимость в процессе дивергенции видов (Kulikov et al., 2004). Различия морфологии постгонитов определяются как их формой, так и их размерами. Применяя метод линейной морфометрии, можно сравнивать объекты на основе их линейных размеров, выявляя наиболее важные параметры, и решать филогенетические проблемы, как, например, это было сделано на мухах из семейства Dolichopodidae (Chursina et al., 2014, Чурсина и др., 2015).

Анализ размерных характеристик постгонитов меромиз показал, что выделенные нами морфометрические показатели коррелируют ($p < 0.05$) между собой, что говорит о важности изменений каждого показателя. Наиболее значимыми из них являются: H_2 ($\lambda_p = 0.138$; $F = 138$, $p < 0.000$, $R^2 = 0.02$), $S_{\text{общ}}$ ($\lambda_p = 0.887$; $F = 2.8$, $p < 0.000$, $R^2 = 0.9$) и H_3 ($\lambda_p = 0.18$; $F = 100.7$, $p < 0.000$, $R^2 = 0.19$). С помощью данных критериев дискриминантный анализ позволяет правильно определить виды с вероятностью 98%. Морфометрическое дерево, построенное на основе этих размерных характеристик с помощью кластерного анализа, разделяет меромиз на 4 группы (1 - *M. acuminata*, *M. zachvatkini*, *M. palposa*, *M. cognata*, *M. meigeni*, *M. femorata*, *M. mosquensis*, *M. nigriseta*, *M. pluriseta*, *M. nigriventris*, *M. triangulina*, *M. sibirica*; 2 - *M. inornata*, *M. variegata*, *M. jacutica*, *M. stackelbergi*, *M. tshernovae*, *M. conifera*, *M. ornata*, *M. nigrofasciata*; 3 - *M. saltatrix*, *M. brevifasciata*, *M. athletica*, *M. maculata*, *M. pallida*), 4 - вид *M. pratorum*. Однако данная дендрограмма не согласуется с результатами исследования морфологии постгонитов в разделе 4.1.

Группы, выделенные с помощью анализа морфологии в разделе 4.1, дискриминантный анализ может правильно определить с вероятностью 91%. Наиболее значимыми показателями при этом являются: S_2 ($\lambda_p = 0.947$; $F = 4.5$, $p < 0.000$, $R^2 = 0.9$) и H_3 ($\lambda_p = 0.348$; $F = 153.2$, $p < 0.000$, $R^2 = 0.82$).

Разные результаты кластеризации меромиз по морфологическим характеристикам постгонитов определяют необходимость применения комплексного подхода с включением как морфологических, так и современных молекулярно-генетических методов при анализе филогенетической структуры рода.

4.3 Филогения рода на основе молекулярно-генетического анализа.

С помощью молекулярно-генетического анализа у меромиз было выделено 8 кластеров, которые соответствовали выделенным в разделе 4.1 по морфологии постгонитов 8

группам: кластер «saltatrix», в который входят *M. pallida*, *M. saltatrix*, *M. nigrofasciata*, *M. acuminata*, *M. stackelbergi*, *M. tshernovae* и *M. sibirica*; «meigeni», включающий *M. meigeni*, *M. variegata*, *M. femorata* и *M. mosquensis*; «pratorum» – *M. jacutica*, *M. conifera*, *M. ornata*, *M. pratorum* и *M. brevifasciata*; «zachvatkini» - *M. zachvatkini*, *M. palposa* и *M. triangulina*; «pluriseta» - *M. nigriventris* и *M. pluriseta*; кластеры «nigriseta», «inornata» и «athletica», включающие в себя лишь *M. nigriseta*, *M. inornata* и *M. athletica* соответственно (рис. 2).

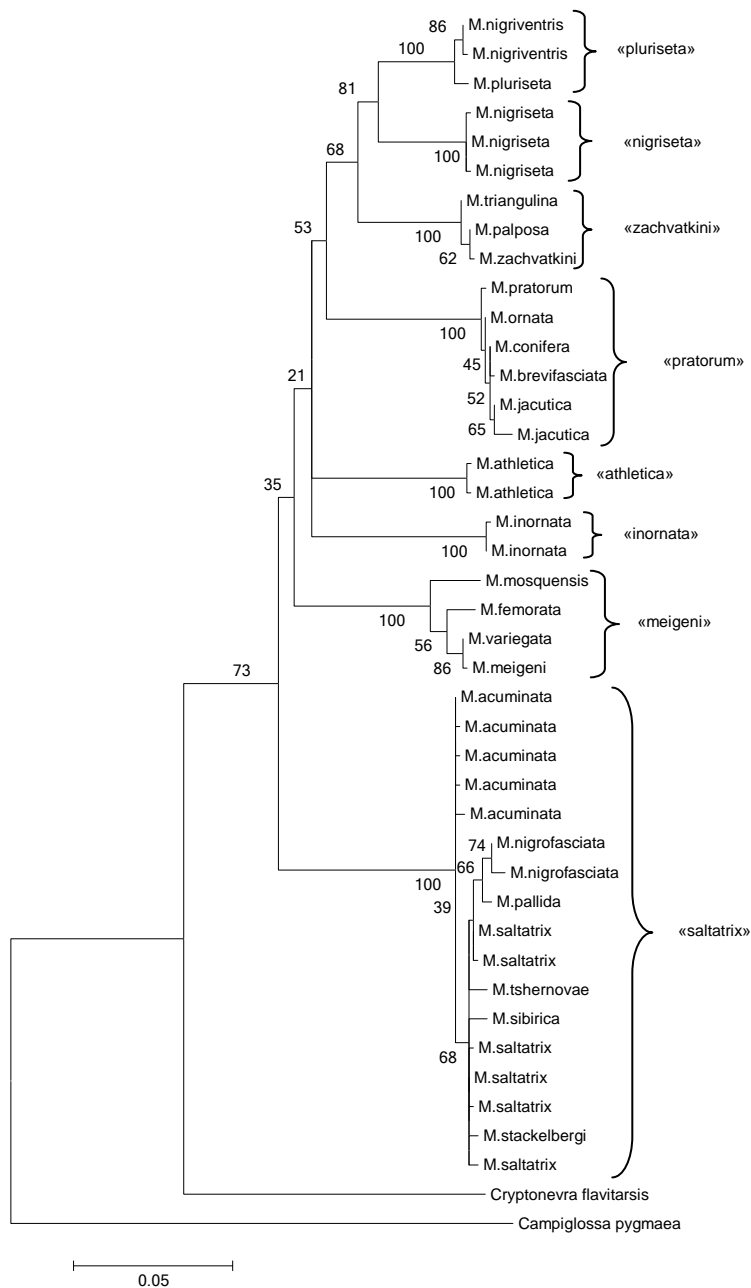


Рис. 2. Дендрограмма, построенная с помощью метода ML. В качестве внешней группы взяты *Campiglossa pygmaea* и *Cryptonevra flavitarsis*. Фигурными скобками выделены кластеры. Цифры в узлах – результаты бутстреп-анализа. Шкала – генетическая дистанция между гаплотипами.

Соответствие морфологических и молекулярно-генетических данных фактологически подтверждает то, что кластеризация рода по признакам переднего отростка постгонитов действительно связана с микроэволюцией группы.

Исследование кластеризации (рис. 3) показало, что виды *M. zachvatkini*, *M. pluriseta*, *M. nigriventris* и *M. nigriseta*, предположительно, наиболее близкие к предковым гаплотипам рода. Мы предполагаем, что предковые формы видов из этих кластеров дали начало остальным.

4.4 Закономерности в изменчивости размеров постгонитов на уровне кластеров.

Для определения направления изменений размеров постгонитов по 8 кластерам в процессе эволюции рода исследован вклад их линейных характеристик. Дискриминантный анализ показал, что вероятность правильного определения данных кластеров составляет 92%, что говорит о более правильном подходе к разделению меромиз на группы по сравнению с предложенным в разделе 4.1. Наиболее значимыми признаками были L_2 ($\lambda_p=0.727$; $F=30.7$, $p<0.000$, $R^2=0.73$), H_2 ($\lambda_p=0.918$; $F=7.3$, $p<0.000$, $R^2=0.76$), P ($\lambda_p=0.643$; $F=45.5$, $p<0.000$, $R^2=0.9$), $S_{\text{общ}}$ ($\lambda_p=0.759$; $F=26.0$, $p<0.000$, $R^2=0.92$) и H_3 ($\lambda_p=0.281$; $F=208.6$, $p<0.000$, $R^2=0.86$). Основываясь на этих показателях и анализе морфологии постгонитов, можно успешно предсказать к какому филогенетическому кластеру будет относиться анализируемый вид. В дальнейшем в работе мы использовали филогенетическое древо меромиз, построенное на основе молекулярных данных и дополненное результатами анализа размерных характеристик постгонитов.

$S_{\text{общ}}$ представляется наиболее обобщенным критерием, поскольку, как было показано в главе 4.2, все признаки коррелируют между собой. По размерам $S_{\text{общ}}$ передних отростков постгонитов можно выделить 3 группы кластеров ($\lambda_w=0.19476$; $p<0.000$). С небольшой $S_{\text{общ}}$: «pluriseta», «nigriseta», «zachvatkini» (≤ 4470 мкм²), со средней: «meigeni» и «inornata» (от 6039 до 8490 мкм²), с большой: «saltatrix», «pratorum», «athletica» (≥ 11376 мкм²). Виды *M. zachvatkini*, *M. nigriseta*, *M. pluriseta*, *M. nigriventris*, лежащие в основе эволюционного дерева меромиз, обладают небольшими по размеру (рис. 3), узкими, слабо склеротизованными передними отростками постгонитов. Это позволяет предположить, что эволюция размеров передних отростков постгонитов вначале шла в направлении увеличения их площади. Следовательно, для предковых форм рода *Meromyza* были характерны небольшие размеры общей площади постгонитов и периметра, площади выступающей части и высоты заднего отростка постгонита.

Виды внутри каждого кластера так же хорошо отличаются по размерам постгонитов друг от друга ($\lambda_w=0.000004$; $p<0.000$) (рис. 3), но, в отличие от вышеуказанной межкластерной стратегии, внутри каждого кластера наблюдается уменьшение размеров пе-

реднего отростка постгонита у более молодых видов по сравнению с видами, близкими к предковым гаплотипам кластеров (за исключением кластера «meigeni», где размеры постгонитов меняются от первоначального увеличения к уменьшению). Так, например, внутри кластера «zachvatkini» из всех трех видов, входящих в него, именно *M. zachvatkini* характеризуется самой большой площадью постгонитов.

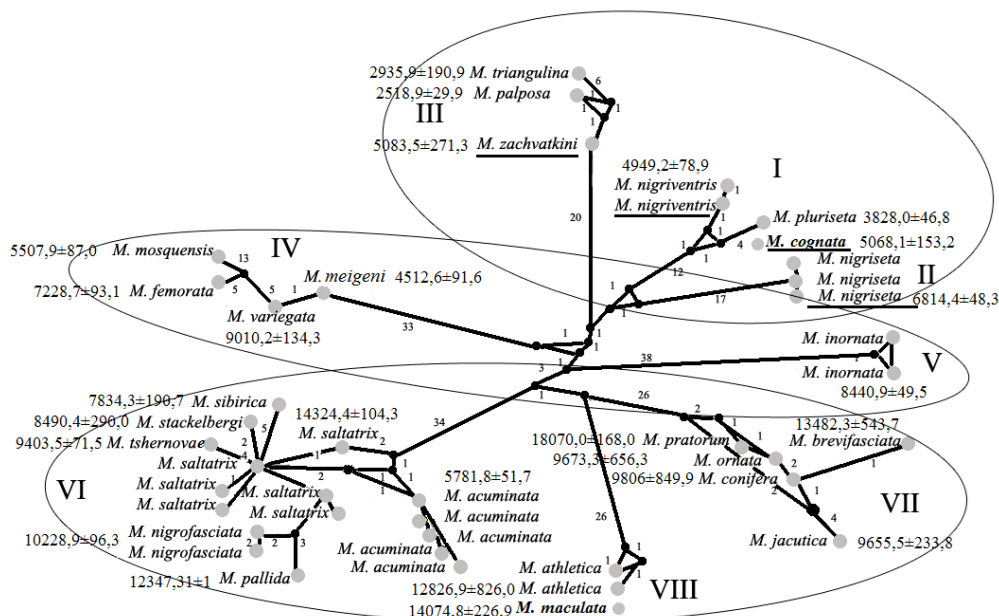


Рис 3. Медианная сеть, построенная с помощью программы Network с указанием общей площади постгонитов для каждого вида ($X_{cp} \pm Sx_{cp}$ мкм). Кластеры: I - «pluriseta», II - «nigriseta», III - «zachvatkini», IV - «meigeni», V - «inornata», VI - «saltatrix», VII - «pratorum», VIII - «athletica». Цифры на ветвях – число нуклеотидных замен. Серые круги – гаплотипы видов. Черные круги – предковые гаплотипы. Овалами отмечены группы кластеров с близкими морфометрическими характеристиками. Подчеркиванием выделены виды, наиболее близкие к предковым гаплотипам рода.

4.5 Закономерности в изменчивости формы постгонитов.

Метод геометрической морфометрии позволяет сравнивать форму объектов независимо от их размеров, что было использовано для изучения изменчивости в разных таксономических группах животных и растений (Павлинов, 2000). В нашем исследовании с помощью данного метода было показано, что форма постгонитов действительно несет в себе филогенетический сигнал. Кластеры меромиз разделяются на основании трех типов изменчивости. I тип изменчивости, который описывается первой компонентой (объясняющей 42.7% вариации), показывает изменение формы нижнего края, меняющегося от выпуклого к вогнутому (рис 4.1). II тип, который описывается второй компонентой (21.7%),

демонстрирует увеличение выступающей части относительно основной, происходящее из-за синхронного растяжения верхнего и нижнего краев (рис 4.2). III тип изменчивости, описываемый третьей компонентой (19.7%), демонстрирующий увеличение основной части из-за расширения линии прикрепления и высоты этой части постгонита (рис 4.3). Таким образом, наиболее важным показателем является изменчивость нижнего края. Анализ показал, что по рассмотренным критериям полностью совпадающих кластеров нет.

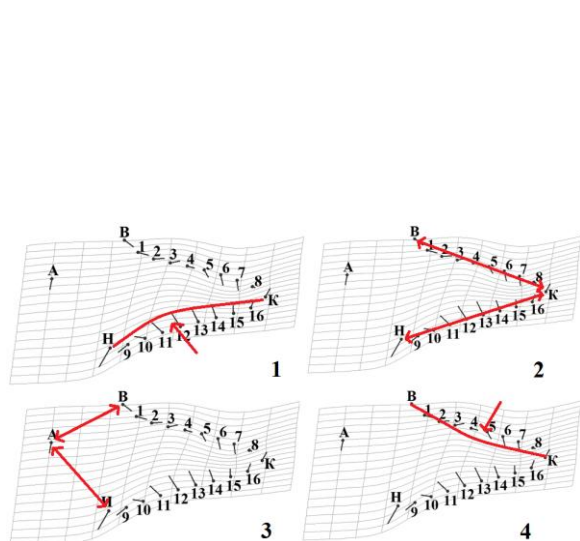


Рис. 4.

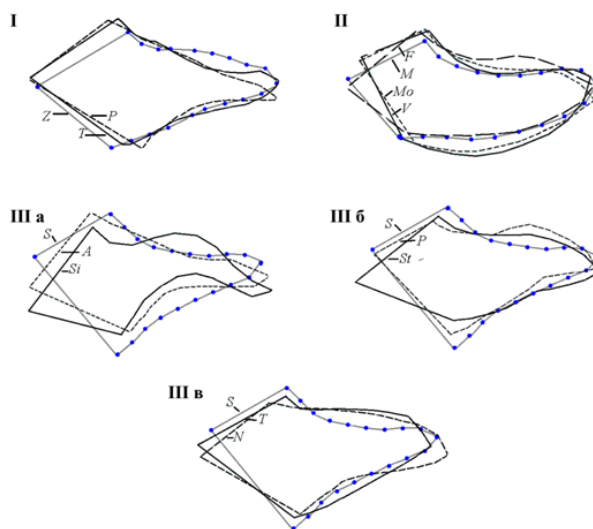


Рис. 5.

Рис 4. Схематическое изображение трансформационной решетки, отражающей общее изменение формы переднего отростка постгонита. Расстояние между реперными точками: А – В – линия прикрепления постгонита к гипандрию, В – К – верхний контур, Н – К – нижний контур. Линиями показаны типы изменчивости: рис. 3.1 – I тип, 3.2 – II тип, 3.3 – III тип, 3.4 – VI тип.

Рис. 5. Сопоставление контуров переднего отростка постгонита, полученных с помощью дискриминантного анализа и отражающих изменение его формы между более молодыми видами и видами, близкими к гипотетическим предкам в кластерах «zachvatkini» (I), «meigeni» (II), «saltatrix» (III). Виды. I: Z – *M. zachvatkini*, P – *M. palposa*, T – *M. triangulina*. II: M – *M. meigeni*, Mo – *M. mosquensis*, F – *M. femorata*, V – *M. variegata*. III: S – *M. saltatrix*; III а: A – *M. acuminata*, Si – *M. sibirica*; III б: P – *M. pallida*, St – *M. stackelbergi*; III в: N – *M. nigrofasciata*, T – *M. tshernovae*.

На уровне видов внутри каждого кластера к этим трем типам изменчивости добавляется четвертый VI тип (рис 4,4) (в разных кластерах на него приходится от 7% до 71% вариации), демонстрирующий изменчивость верхнего края постгонита. Он играет веду-

щую роль при разделении видов, близких по форме постгонитов, внутри кластеров (например, *M. zachvatkini* и *M. triangulina*, *M. tshernovae* и *M. saltatrix* (рис. 3)).

На примере кластеров «*meigeni*», «*saltatrix*» и «*zachvatkini*» были исследованы общие пути изменения формы постгонитов от видов, близких к гипотетическим предкам кластеров, к более молодым видам. 4 типа изменчивости контура определяют 3 направления общего изменения формы передних отростков постгонитов в процессе эволюции мериомиз. 1- выступающая часть становится узкой и направленной вниз. В кластере «*zachvatkini*» данная тенденция отмечена у *M. triangulina* и *M. palposa* по сравнению с *M. zachvatkini*, в кластере «*saltatrix*» у *M. sibirica* и *M. acuminata* по сравнению с *M. saltatrix*. 2- конец выступающей части направлен вниз. В кластере «*saltatrix*» у *M. nigrofasciata* и *M. stackelbergi*, в кластере «*meigeni*» - у *M. femorata* и *M. mosquensis* по сравнению с *M. meigeni*. 3- выступающая часть расширяется и укорачивается. В кластере «*saltatrix*» - у *M. pallida* и *M. tshernovae*, в кластере «*meigeni*» - у *M. variegata* (рис. 5).

Таким образом, метод геометрической морфометрии позволил дать оценку закономерностям и направлениям в изменчивости формы передних отростков постгонитов в процессе эволюции злаковых мух.

4.6 Общие закономерности изменений морфологии постгонитов в процессе эволюции рода.

Для выявления общих принципов изменчивости постгонитов были сопоставлены результаты исследования морфологии постгонитов с помощью методов линейной и геометрической морфометрии. Показано, что виды внутри каждого кластера, как и кластеры с самой маленькой $S_{\text{общ}}$ переднего отростка постгонитов отделяются от остальных с помощью I типа изменчивости. С самой большой $S_{\text{общ}}$ - за счет II типа. Разделение видов и кластеров со средними вариантами $S_{\text{общ}}$ на межкластерном уровне происходит за счет III типа изменчивости, а на внутривидовом - за счет IV типа.

По-видимому, первый этап микроэволюционных преобразований постгонитов связан с изменением его нижнего края. Степень изгиба нижнего края определяет размер площади всего постгонита. В дальнейшем происходило увеличение площади до максимально возможных размеров за счет растяжения верхнего и нижнего краев.

4.7 Особенности в изменчивости комплекса морфологических признаков у видов злаковых мух на уровне кластеров.

С помощью методов линейной морфометрии уточнена возможность разделения выделенных кластеров по признакам внешней морфологии. Дискриминантный анализ показал, что вероятность правильного определения кластеров составляет 52%. По соотношениям длины средней полосы на среднеспинке к длине среднеспинки и длины полосы на

щитке к длине щитка отличаются только кластеры «*inornata*» и «*meigeni*». У видов, входящих в них, самые короткие полосы среднеспинки и щитка. По длине среднеспинки от других кластеров отличались «*zachvatkini*», за счет самого маленького размера этого признака (583,6мкм), и «*pratorum*», за счет самого большого (736,3мкм). Группу кластеров с большими размерами показателей составляют «*saltatrix*» и «*pratorum*», группу с маленькими - «*zachvatkini*». Остальные кластеры занимают промежуточное положение. Таким образом, большинство кластеров нельзя отличить друг от друга с помощью исследованных признаков внешней морфологии.

При сопоставлении результатов исследования размеров постгонитов и признаков внешней морфологии меромиз было показано, что корреляция между ними отсутствует. Группы видов, выделенные на основе размерных показателей и окраски признаков внешней морфологии, не соответствовали таковым, выделенным на основе размерных характеристик постгонитов. Это говорит о том, что исследованные признаки внешней морфологии формируются независимо от изменений морфологии полового аппарата самцов.

Глава 5. Морфо-генетическое разнообразие в популяциях злаковых мух рода *Meromyza*.

5.1 Закономерности в изменчивости постгонитов и генетическое разнообразие в популяциях злаковых мух.

Микроэволюционные преобразования морфологических структур, определяющих межвидовую изоляцию, начинаются на уровне популяций, что подтверждается многими исследованиями (Арнольди, 1939, Буш, 2011 и др.). Для выявления микроэволюционных закономерностей в изменениях морфометрических характеристик передних отростков постгонитов представляется актуальным исследование диапазонов их изменчивости в популяциях меромиз *M. saltatrix*, *M. nigriseta* и *M. acuminata*.

Как показал дискриминантный анализ, основные различия между популяциями у видов *M. acuminata* ($\lambda_p=0.938$; $F=4.6$, $p<0.082$, $R^2=0.5$) и *M. nigriseta* ($\lambda_p=0.808$; $F=7.8$, $p<0.000$, $R^2=0.28$) описывает соотношение L_1/L_2 , т.е. показатель вытянутости постгонита. Кроме того у *M. nigriseta* различия между всеми популяциями отмечены так же по соотношению H_2/L_2 , критерию узости переднего отростка постгонита ($\lambda_w=0.364742$; $p<0.000$). В разделении популяций *M. saltatrix* принимают участие соотношение H_2/L_2 ($\lambda_p=0.9$; $F=2.0$, $p<0.000$, $R^2=0.46$), S_1 ($\lambda_p=0.704$; $F=7.9$, $p<0.000$, $R^2=0.1$) и S_2 ($\lambda_p=0.868$; $F=2.8$, $p<0.000$, $R^2=0.1$) ($\lambda_w=0.39$; $p\leq 0.01$). Размер площади постгонитов закономерно уменьшается с запада на восток палеарктической части ареала *M. saltatrix*. Внутри каждой географической популяции при наличии естественных барьеров для перемещения есть свои особенности. Так у островной карельской популяции есть достоверные различия размеров

постгонитов с соседней материковой популяцией (14036.10 ± 275.40 и 14659.52 ± 150.12 , соответственно), а у горной уральской популяции - с предгорной уфимской, соответственно, 14384.50 ± 190.81 и 13851.70 ± 339.44 ($\lambda_w=0.39$, $F=6.4$, $P \leq 0.01$).

Морфо-генетический анализ популяций *M. saltatrix* выявил различия, связанные с широтой их распространения и изолированностью. Особи данного вида разделяются на 2 гаплогруппы, в одну из которых входят только некоторые экземпляры из Балтийского региона, а во вторую – все остальные (рис. 6). У мух из балтийской гаплогруппы вероятно был длительный период низкой численности и длительной изоляции, предположительно связанный с периодами оледенений и сохранением данной группы на юге ареала с последующим распространением в Балтийском регионе и воссоединением с представителями второй гаплогруппы. Изоляцию данной популяции подтверждают не только генетические, но и морфологические особенности особей. Экземпляры из балтийской гаплогруппы отличаются большим количеством черных щетинок по нижнему краю щек и большой площадью постгонитов, что сближает их с самцами из южной части ареала.

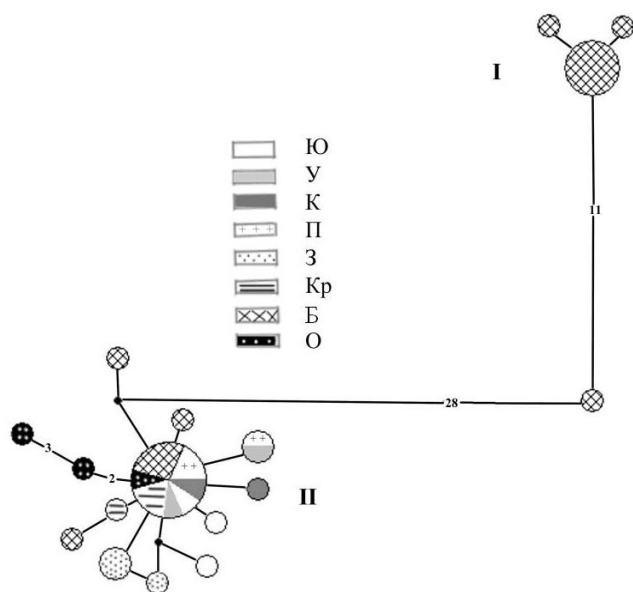


Рис. 6. Медианная сеть гаплотипов злаковых мух *Meromyza saltatrix*, построенная на основании фрагмента гена COI мтДНК. Цифры на ветвях – количество нуклеотидных замен, без цифр – одна замена. Круги – гаплотипы видов, черными точками отмечены предковые гаплотипы. Гаплотипы: О – пойма р. Орхон, Монголия, З - Звенигородская биостанция МГУ, П - окрестности г. Петрозаводска, К - о. Кизи, Ю - Южно-уральский природный заповедник, У - пойма р. Белая, г. Уфа, Кр – Крым, Б – Балтийский регион. I и II – гаплогруппы.

Популяции, как и виды, разделяются с помощью тех же (I или II) типов изменчивости. Показатель L_1/L_2 играет роль в разделении популяций у видов с небольшой общей площадью постгонитов. Он отражает изменчивость нижнего края (изменчивость I типа). Показатели S_1 , S_2 , H_2/L_2 разделяют популяции у видов с максимальным размером постгонитов. Эти показатели связаны с растяжением контура выступающей части (изменчивость II типа).

Выявленные большие различия у популяций вида *M. saltatrix* могут быть связаны с удаленностью популяций друг от друга. Аналогичная ситуация отмечена для *M. nigriseta*. Между популяциями *M. acuminata* из-за отсутствия серьезных географических преград различия только намечаются.

5.2. Изменчивость признаков внешней морфологии в популяциях злаковых мух.

Для уточнения различий по признакам внешней морфологии у меромиз на уровне популяций были определены диапазоны изменчивости длины и окраски полос.

Дискриминантный анализ показал, что общая вероятность правильного определения популяций составила 54%.

У *M. saltatrix* и *M. nigriseta* на уровне популяций наиболее часто встречались те же варианты окраски полос, что и на видовом уровне. Разница в преобладающей окраске полос между самцами и самками в каждой популяции у данных видов была незначительная ($p < 0.05$). Например, у *M. saltatrix* самцов/самок с черной полосой на щитке в московской (55%/70%) и польской (62%/52%) популяциях больше, чем с коричневой (35%/27% и 26%/38% соответственно). У *M. nigriseta* самцов/самок с коричневым пятном в начале средней полосы в уфимской (68%/61%) и вологодской (52%/44%) популяциях было больше, чем с полностью черными полосами (32%/29% и 36%/36% соответственно).

На примере популяций *M. acuminata* показано, что при совпадении единичных вариантов окраски полос уровень разнообразия у самок и самцов, собранных в одном месте различался каждый год. Корреляция между вариантами окраски полос и щупиков отсутствует.

Как и на уровне видов, на уровне популяций не было обнаружено корреляции между изменчивостью линейных характеристик постгонитов и признаков внешней морфологии, а так же окраски полос среднеспинки. Уровень изменчивости длины полосы на щитке высокий во всех популяциях (*M. acuminata* – 48%, *M. nigriseta* – 17%, *M. saltatrix* – 34%) по сравнению с изменчивостью других характеристик.

Заключение.

Комплексный подход на основе молекулярно-генетического анализа и методов классической линейной и геометрической морфометрии позволяет уточнить границы из-

менчивости признаков морфологии, определяющих видовое разнообразие. Проведенное исследование состояло из двух этапов: поиска филогенетических связей и анализа закономерностей изменения проанализированных признаков в процессе микроэволюции группы.

Успех спаривания и ограничение межвидового скрещивания во многом определяется структурой полового аппарата самцов. Достоверные различия между видами в установленных нами пределах изменчивости постгонитов подтверждают это предположение. Выявленная большая изменчивость признаков внешней морфологии показывает их второстепенную роль при половом поведении и для межвидовой изоляции. Выделенные по признакам морфологии постгонитов 8 групп меромиз согласуются с филогенетическими группами, выделенными на основе гена COI. Это свидетельствует о том, что выявленные морфологические особенности полового аппарата самцов сформировались в результате естественного отбора в процессе эволюции группы. Микроэволюционные изменения полового аппарата самцов начинаются на уровне популяций. Эволюция на видовом уровне шла за счет изменений, как формы, так и линейных размеров постгонитов, приводя к возникновению внутриродовых группировок.

Подводя итоги работы, хочется отметить, что полученные результаты раскрывают общие закономерности изменения формы физиологически активных элементов генитального аппарата самцов, корреляционные связи между изменениями формы полового аппарата и дивергенцией видов.

Выводы.

1) Комплексный подход на основе методов классической линейной и геометрической морфометрии и молекулярно-генетического анализа показал роль значимого элемента полового аппарата самцов (постгонитов) в микроэволюционных процессах формирования структуры внутри и межвидовых отношений рода *Meromyza* в аспекте репродукции.

2) На 26-ти видах злаковых мух рода *Meromyza* установлены диапазоны изменчивости постгонитов по 8 размерным характеристикам, различающим виды с вероятностью 98%. Корреляция между размерными показателями постгонитов и мезонотума отсутствует. По форме постгонитов, уровню их склеротизованности, способу присоединения заднего отростка к переднему, наличию заворота род разделен на 8 групп («inornata», «athletica», «pratorum», «saltatrix», «meigeni», «nigriseta», «pluriseta» и «zachvatkini»).

3) На основе анализа локуса COI мтДНК выделено 8 кластеров, согласующихся с выделенными на основе морфологии постгонитов группами. Внутри каждого кластера (за исключением кластера «meigeni») наблюдается уменьшение размеров переднего отростка

постгонита у эволюционно более молодых видов по сравнению с видами, близкими к предковым гаплотипам.

4) Микроэволюционные преобразования репродуктивного аппарата самцов меромиз определяются 4 типами изменчивости контура постгонитов: 1 – контура нижнего края, 2 – выступающей части, 3 – основной части, 4 – контура верхнего края. Преобразование постгонитов в популяциях происходит по 1 или 2 типу изменчивости. Изменения контура определяют 3 направления эволюции формы передних отростков постгонитов: выступающая часть становится узкой и направленной вниз; конец выступающей части направлен вниз; выступающая часть расширяется и укорачивается.

5) Для 18-ти видов злаковых мух рода *Meromyza* установлены диапазоны изменчивости окраски полос среднеспинки и диапазоны изменчивости длин среднеспинки, щитка, средней полосы среднеспинки, полосы на щитке. Данные показатели перекрываются у большинства видов и популяций, что не позволяет их использовать как самостоятельные определительные признаки. Степень окраски щупиков связана с полом, но соотношение вариантов окраски различается в агро- и биоценозах.

6) В популяциях широко распространенного в Евразии вида *M. saltatrix* размер постгонитов закономерно уменьшается с запада на восток ареала, но при этом остается в диапазоне изменчивости, характерном для данного вида. На основе анализа локуса COI мтДНК у *M. saltatrix* выделено 2 гаплогруппы, скоррелированных с 2 фенотипами: узкорегиональная балтийская и общая для всего остального ареала.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

- 1) Сафонкин А.Ф., Триселева Т.А., Яцук А.А., Акентьева Н.А., 2016. Эволюция постгонитов злаковых мух рода *Meromyza* (Diptera: Chloropidae) // Зоологический журнал. Т.95, №11. С. 1334 – 1342.
- 2) Яцук А.А., Сафонкин А.Ф., 2018. Закономерности изменения формы постгонитов мух рода *Meromyza* (Diptera: Chloropidae) // Журнал общей биологии. Т.79, №1. С. 18 – 27.
- 3) Сафонкин А. Ф., Триселева Т.А., Яцук А.А., Петросян В.Г., 2018. Морфологическое и молекулярно-генетическое разнообразие голарктического *Meromyza saltatrix* (L., 1761) (Diptera: Chloropidae) в Евразии // Известия РАН. Серия биологическая. № 4. С. 352 – 361.
- 4) Сафонкин А.Ф., Триселева Т.А., Яцук А.А., 2015. Особенности биотопического распределения злаковых мух *Meromyza* // Уфа.: Сборник трудов Южно-Уральского государственного природного заповедника. Вып. 2. С. 131 – 137.

Публикации в сборниках тезисов научных конференций.

- 1) Яцук А.А., 2014. Широта морфологической изменчивости у близкородственных видов рода *Meromyza* (Diptera, Chloropidae) // М.: Т-во научных изданий КМК. Материалы VI

молодежной школы-конференции ИПЭЭ РАН «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых». 23-25 апреля 2014 г. ИПЭЭ РАН. С. 218.

2) Яцук А.А., 2014. Эволюция морфологической изменчивости постгонитов у мух рода *Meromyza* (Diptera, Chloropidae) // Гродно: Учреждение образования «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы». Материалы X международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии» в 2-х частях. Часть 2; 1-3 октября 2014 г. Гродно, ГрГУ им. Я. Купалы. С. 77 – 78.

3) Яцук А.А., 2016. Изучение генитального аппарата злаковых мух (Diptera: Chloropidae, *Meromyza*) с использованием методов линейной и геометрической морфометрии // Краснодар: Издательско-полиграфический центр Кубанского гос. ун-та. Сборник материалов X Всероссийского Диптерологического Симпозиума (с международным участием). 23-28 августа 2016 г. Краснодар, Кубанский гос. ун-т. С. 355 – 359.

4) Яцук А.А., 2016. Исследование злаковых мух рода *Meromyza* (Diptera: Chloropidae) с помощью морфометрических методов // М.: Т-во научных изданий КМК. Материалы VII молодежной школы-конференции ИПЭЭ РАН «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых». 27-28 октября 2016 г. Москва, ИПЭЭ-МГУ. С. 290 – 293.