

На правах рукописи

**Махов
Илья Андреевич**

**ПЯДЕНИЦЫ (LEPIDOPTERA, GEOMETRIDAE) БАЙКАЛЬСКОГО
РЕГИОНА: АНАЛИЗ ВИДОВОГО СОСТАВА И СОЗДАНИЕ
БИБЛИОТЕКИ ДНК-БАРКОДОВ**

1.5.14. Энтомология (биологические науки)

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Санкт-Петербург – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Научный руководитель: доктор биологических наук,
Лухтанов Владимир Александрович

Официальные оппоненты: **Горбунов Олег Григорьевич**
доктор биологических наук, Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, ведущий научный сотрудник

Кириченко Наталья Ивановна
доктор биологических наук, Сибирский Федеральный университет, старший научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук

Защита состоится «11» октября 2022 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета 24.1.026.01 на базе Зоологического института РАН по адресу: 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки Зоологический институт Российской академии наук <http://www.zin.ru/boards/24.1.026.01/theses.html>

Автореферат разослан «____»

2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Овчинникова Ольга Георгиевна

Общая характеристика работы

Актуальность работы. Пяденицы – одно из наиболее крупных семейств чешуекрылых, насчитывающее в мировой фауне около 24 000 описанных видов и распространённых практически всесветно, за исключением полярных регионов. Многие виды пядениц могут выступать удобным объектом для эколого-биогеографических исследований (Holloway, 1986), другие – важны в экономическом отношении, являясь серьезными вредителями лесных экосистем, сельскохозяйственных культур и садово-парковых насаждений (Kudler, 1978; Zhang, 1994; Hausmann, 2001). Во многих регионах мира всё ещё необходимо проведение первичных фаунистических исследований, в том числе и в России ввиду её огромной территории и слабой изученности многих труднодоступных областей.

Настоящая работа посвящена изучению пядениц Байкальского региона, территории, включающей Иркутскую область и Республику Бурятия. Необходимость тщательного исследования региона обусловлена следующими причинами. Во-первых, этот регион недостаточно изучен в отношении фауны пядениц. Во-вторых, озеро Байкал в 1996 году вошло в список объектов Всемирного Наследия ЮНЕСКО, в связи с чем сохранение и мониторинг самого озера, и окружающих его экосистем стали приоритетными задачами для биологов. В-третьих, Байкальский регион представляет большой интерес с точки зрения биогеографии, так как в его пределах проходят границы распространения многих организмов.

Ставший почти неотъемлемым инструментом в современных таксономических и фаунистических исследованиях ДНК-баркодинг, по мнению многих специалистов, в комбинации с классическим анализом морфологии позволяет существенно увеличить степень надежности видовой идентификации и, как следствие, наиболее детально и точно выявлять фауну многочисленных и таксономически сложных групп организмов. Именно такой интегративный подход применён в данной работе при анализе видового состава региональной фауны.

Степень разработанности темы исследования. Несмотря на то, что фаунистические списки региона неоднократно публиковались и обновлялись (Вийдалепп, 1987; Васильева, 1989; Белова, 2000; Берлов, Берлов, 2006; Гордеева, Гордеев, 2007), регулярно появляются сведения о новых для Прибайкалья находках (Василенко, 2003; Василенко, Гордеева, 2004; Василенко, 2007б; Миронов, Белова, 2015; Махов, 2015; Гордеева, 2016). Наиболее полный опубликованный к настоящему времени список видов региона, включающий 349 видов, представлен в Каталоге чешуекрылых России (Беляев, Миронов, 2019).

Здесь важно отметить, что зачастую те или иные видовые списки содержат какое-то количество сомнительных указаний, что может быть связано с неточными определениями или с тем, что некоторые виды приведены по указаниям в более ранних и менее надёжных источниках. Таким образом, определения многих видов

представляются в разной степени достоверными, и их точность порой трудно оценить, не изучив оригинальные коллекционные материалы. Во многом эти неточности и ошибки связаны с почти полным отсутствием определительных ключей для пядениц, обитающих в регионе. Существует лишь несколько разрозненных источников, содержащих определительные ключи для российских пядениц: Стекольников, 1996; Вийдалепп, 2005; Миронов, 2005; Василенко, 2014. Эти работы охватывают только несколько групп: подсемейство Sterrhinae и четыре рода в составе Larentiinae. Ключи для определения видов из других подсемейств, представленных в Сибирской фауне (все Ennominae, Archiearinae и Geometrinae, а также большая часть Larentiinae) отсутствуют.

Помимо прочего, молекулярно-генетические исследования пядениц в Сибири практически не проводились: собрана лишь небольшая библиотека митохондриальных ДНК-маркеров алтайских пядениц (Huemer et al., 2016), тогда как из прибайкальского региона ДНК-баркоды получены для единичных видов.

Цель и задачи работы. Цель данного исследования: с использованием интегративного подхода уточнить видовой состав и выявить таксономическую и хорологическую структуру пядениц Байкальского региона.

Достижение этой цели предполагало выполнение следующих **задач**:

1. Провести критический анализ литературных источников, посвящённых фауне Geometridae Байкальского региона.
2. Изучить все доступные коллекционные материалы по пяденицам, собранным в исследуемом регионе.
3. Сделать полевые сборы свежего материала, пригодного для молекулярно-генетического анализа.
4. Провести морфологический анализ уже известных и впервые обнаруженных в регионе видов с последующим созданием определительных ключей и атласа гениталий для всех (по возможности) видов в Байкальском регионе.
5. Получить молекулярные ДНК-баркоды для всех (по возможности) представителей региональной фауны и сравнить их с уже опубликованными данными.
6. На примере пядениц Байкальского региона протестировать основные гипотезы, объясняющие феномен «один морфологический кластер – два дифференцированных ДНК-баркода».
7. Составить дополненный и уточнённый список видов пядениц Байкальского региона.
8. Провести ареалогический анализ региональной фауны пядениц.

Научная новизна исследования. Составлен полный, критически переработанный список видов семейства Geometridae Байкальского региона. Для фауны России отмечено два новых вида: *Eupithecia impolita* Vojnits, 1980 и *Charissa beljaevi* Erlacher, Marrero et Erlacher, 2017, ещё 6 видов впервые были отмечены в фауне Байкальского региона. В Иркутской области зарегистрировано 25 новых для

области видов, в Бурятии – 10 видов, новых для республики. Предложены следующие таксономические изменения: родовое название *Scardostrenia* Sterneck, 1928, восстановлено из синонимии с *Proteostrenia* Warren, 1895 и сведено в синонимы с *Hypoxystis* Prout, 1915; установлено две новых комбинации: *Hypoxystis reticulata* (Sterneck, 1928), **comb. nov.** и *Nebula korschunovi* (Viidalepp, 1976), **comb. nov.** Обнаружен вид, по всей видимости, новый для науки: *Acasis (Pseudacasis)* sp. Составлены определительные ключи для родов пядениц, насчитывающих в регионе более 1 вида. Впервые создана библиотека ДНК-баркодов пядениц Байкальского региона, которая включает 633 нуклеотидных последовательности фрагмента гена *COI* для 312 видов (86 % состава фауны). Для 17 из них ДНК-баркоды получены впервые.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты фаунистических исследований были использованы при подготовке Каталога чешуекрылых России (2019). Составленные определительные ключи и атлас гениталий могут стать справочными материалами для студентов биологических специальностей, начинающих лепидоптерологов, работников региональных особо охраняемых природных территорий. Собранный библиотека ДНК-баркодов может послужить источником генетических данных для таксономических ревизий и крупных филогеографических исследований, а также позволит проводить видовую идентификацию Geometridae с территории исследования на основе одного лишь ДНК-баркодинга. При этом идентификацию можно производить не только по имаго, но и по любым преимагинальным стадиям, а также по фрагментам тела насекомого. Использование библиотеки баркодов в работе с преимагинальными стадиями может существенно упростить установление кормовых связей пядениц, так как в этом случае исчезает необходимость получать из личинок имаго, по которому производится определение.

Положения, выносимые на защиту.

1. Составленные в ходе работы определительные ключи, основанные на признаках строения генитальных структур, в совокупности с библиотекой ДНК-баркодов позволяют осуществлять надежную видовую идентификацию пядениц региона.

2. Сравнение гениталий и ДНК-баркодов байкальских популяций с описанными в литературе гениталиями и опубликованными баркодами из европейских и восточноазиатских популяций позволяет в ряде случаев подтвердить их конспецифичность. В других случаях такое сравнение, наоборот, позволяет выявить различия и на этом основании высказать предположение о том, что байкальские популяции были либо определены неверно, либо являются ещё неописанными таксонами (видами).

3. Для симпатричных кластеров морфологически сходных групп особей, резко дифференцированных по ДНК-баркодам, совместное использование четырёх групп признаков: (1) морфологии гениталий, (2) изменчивости молекулярных митохондриальных маркеров, (3) изменчивости молекулярных ядерных маркеров и

(4) наличие/отсутствие инфицированности внутриклеточным паразитом *Wolbachia* позволяет выявить природу такого митохондриального полиморфизма.

4. Сравнительное богатство фауны региона обусловлено его расположением на границе евро-сибирской и сибирско-дальневосточной лепидоптерофаун, а также сложной орографической структурой, благодаря чему в регионе сочетаются термофильные степные фаунистические элементы, холодолюбивые высокогорные и широко распространённые бореальные и температурные виды пядениц.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность определений пядениц обусловлена их сравнением с исследованными соискателем типовыми материалами, хранящимися в Зоологическом институте РАН, и обилием исследованного сравнительного материала из разных точек России и Палеарктики. Кроме того, достоверность определений малоизвестных видов была подтверждена ведущими российскими и зарубежными специалистами по пяденицам, а также дополнительно проверена с помощью ДНК-баркодинга. Достоверность всех опубликованных результатов исследования подтверждена независимыми рецензентами, в том числе ведущими специалистами по пяденицам и молекулярной генетике чешуекрылых.

Результаты исследования были представлены на: XXVI Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва, 8–12 апреля 2019 г.); Международной конференции "XXI European Congress of Lepidopterology" (Италия, Кампобассо, 3–7 июня 2019); XXVIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва, 12–23 апреля 2021 г.). Также результаты исследований были представлены на Всероссийской конференции «Наука СПбГУ – 2020» (Санкт-Петербург, 24 декабря 2020 г.) и XXVII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва, 10–27 ноября 2020 г.).

По теме диссертации опубликовано 11 работ. Из них в изданиях, рекомендованных ВАК РФ – 6, включая 5 в журналах, индексируемых Web of Science Core Collection и Scopus; 4 – тезисы.

Структура и объем диссертации. Работа состоит из двух томов. Первый том включает в себя введение, 4 главы, заключение, выводы, список литературы. Второй том включает 6 приложений. Глава 1 представляет литературный обзор и включает разделы с описанием физико-географических условий исследуемого региона, исторический очерк изучения пядениц в регионе и краткий обзор существующих библиотек ДНК-баркодов чешуекрылых. В главе 2 представлены материалы и методы, использованные в работе. В главе 3 изложены полученные результаты; глава 4 посвящена их обсуждению. Основная часть работы изложена на 165 страницах и содержит 30 рисунков. Список литературы включает 414 наименований, из которых 141 на русском языке и 273 на других языках.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность В. А. Лухтанову за научное руководство, помощь и поддержку в ходе подготовки диссертации; искренне благодарит Е. А. Беляева (ФНЦ Биоразнообразия наземной

биоты Восточной Азии ДВО РАН, г. Владивосток) и В. Г. Миронова (Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург) (далее: ЗИН РАН) за помощь в определении ряда видов и ценные консультации. Особую благодарность автор выражает научному коллективу ресурсного центра «Хромас» Санкт-Петербургского государственного университета: М. С. Вишневской, М. М. Кулак, А. Ф. Сайфитдиновой, С. А. Галкиной и А. В. Радаеву за неоценимую помощь в работе и моральную поддержку. Автор благодарит В. И. Гусарова за предоставленную возможность работы в молекулярной лаборатории Музея Естественной Истории Университета Осло; Ф. В. Константинова (ЗИН РАН) и М. А. Сальницкую (Тюменский государственный университет, г. Тюмень) за ценные советы и всестороннюю помощь. Автор искренне благодарит сотрудников лаборатории систематики насекомых ЗИН РАН: С. Ю. Синёва за предоставленную возможность работы с коллекционными фондами ЗИН РАН, А. Ю. Матова за возможность использования его фотоаппаратуры, А. В. Стекольников за помощь в освоении стереомикроскопического оборудования и А. В. Гагарину за ценные консультации и помощь в обработке молекулярных данных.

Автор признателен О. А. Аненхонову (г. Улан-Удэ), М. К. Дементьевой, Е. В. Софроновой, А. П. Софронову, В. В. Чепиноге (Иркутск), Д. В. Казакову (г. Тюмень) за плодотворное сотрудничество и организацию полевых исследований; Э. Я. Берлову, В. Г. Шиленкову, А. В. Косареву (г. Иркутск), А. В. Филиппову (г. Улан-Удэ) и С. А. Князеву (г. Омск) за предоставленные материалы. Автор также благодарен Т. В. Гордеевой за предоставленную возможность работы с коллекционным фондом БНЦ СО РАН (г. Улан-Удэ), С. В. Василенко за помощь в обработке материалов коллекции ИСиЭЖ СО РАН (г. Новосибирск) и Е. Ю. Городиловой (ресурсный центр «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Санкт-Петербургского государственного университета) за секвенирование образцов ДНК. Отдельную признательность автор выражает кураторам проекта Russian Travel Geek Артёму Акшинцеву и Тине Рыбаковой (г. Москва) за организацию экспедиции «Зун-Гол» в Восточный Саян, её участникам и горному гиду Сергею Зубкову.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 19-34-90008, 18-04-00263, 18-04-00944, 18-05-00557) и Российского научного фонда (проект № 19-14-00202).

Содержание работы

1 Обзор литературы

1.1 Физико-географический очерк Байкальского региона

В разделе на основе литературных сведений (Сидоренко, 1968, Пешкова, 1972; Ладейщиков, 1977; Белов и др., 2002; Шодотова и др., 2007; Конспект флоры Иркутской области (сосудистые растения), 2008; Бояркин, Бояркин, 2011; Лиштва,

2012; Шимараев, 2012) составлена природная характеристика, в которой кратко рассмотрены рельеф, геологическое строение, климат и растительность исследуемого региона.

1.2 История изучения пядениц Байкальского региона

В подглаве дан обзор истории изучения семейства в Байкальском регионе от наиболее ранних упоминаний отдельных видов, датированных серединой XIX века (Eversmann, 1848, 1851, 1852), до самых последних исследований пядениц в регионе (Гордеева, Гордеев, 2020). Весь этот временной отрезок разделён на три периода: дореволюционный этап накопления фрагментарных данных, период активного изучения вредителей с конца 20-х по конец 70-х гг. XX в. и период интенсивного исследования локальных фаун (1970–2000-е годы).

1.3 Библиотеки ДНК-баркодов чешуекрылых и их роль в изучении региональных фаун

Рассмотрены основные этапы формирования региональных и международных библиотек ДНК-баркодов, которые охватывают Палеарктические фауны Lepidoptera. Подробно описана история создания библиотек ДНК-баркодов для фауны Rhopalocera, Macroheterocera и Gelechiidae Европы; Papilionoidea Средней Азии и Малайзии, Gelechiidae Кореи, Geometridae Северной Индии. Дан краткий обзор глобальных баз данных по отдельным таксонам (род *Lymantria* Hbn., группа видов *Elachista bifasciella* Tr. и семейство Zygaenidae).

2 Материал и методы

Авторские сборы были проведены в 67 локациях Байкальского региона, из них 27 в Иркутской области, и 40 – в Бурятии. Помимо авторских сборов, в работе были использованы материалы коллекций ЗИН РАН, Биолого-почвенного факультета Иркутского государственного университета (Иркутск), Бурятского научного центра СО РАН (Улан-Удэ) и Сибирского Зоологического музея ИСиЭЖ СО РАН (Новосибирск). Также были исследованы материалы, хранящиеся в личных коллекциях Э. Я. Берлова, В. Г. Шиленкова, А. В. Косарева (Иркутск), А. В. Филиппова (Улан-Удэ) и С. А. Князева (Омск). Количество пунктов сбора пядениц в Байкальской Сибири, которые были включены в анализ, составило 280.

Сбор пядениц проводился стандартными методами с середины апреля по начало сентября в течение 14 лет (2008–2021 гг.) в основном с помощью светоловушки (дрессельная лампа ДРЛ Sylvania HSL-BW 250W E40) и мобильного тканевого экрана. Небольшая доля геометрид была собрана днём с помощью энтомологического сачка. Общий объём собранного материала составил около 6500 экземпляров имаго. Все проанализированные образцы бабочек, собранные автором, хранятся в Зоологическом институте РАН (Санкт-Петербург, Россия).

При изготовлении препаратов гениталий использовался 15 %-ый раствор гидроксида калия (КОН) для мацерации мягких тканей. Для монтирования

постоянных препаратов на предметных стёклах использовался Эупарал или жидкость Фора-Берлезе, для изготовления и изучения временных препаратов использовался глицерин. Определение проводилось с помощью стереомикроскопа Leica MZ16. Фотографии были подготовлены на стереомикроскопе Nikon SMZ 1500 с фотокамерой Nikon D700, часть снимков была получена с помощью стереомикроскопа Nikon SMZ25, фотокамеры Nikon DS-Ri2 и программного обеспечения NIS-Elements BR. Монтаж фотографий осуществлялся с помощью программ Helicon Remote 3.8.1. и Adobe Photoshop CS5.

Выделение ДНК проводилось с помощью колонок и набора реактивов DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Germany), в соответствии с протоколом производителя. Для амплификации ДНК использовались следующие праймеры: для фрагмента *COI* – LCO1490 и HCO2198 (Folmer et al., 1994), а также LepF1 и LepR1 (Hebert et al., 2004b); для фрагмента *GAPDH* – GAPDH-F3 и GAPDH-R3 (Jiang et al., 2017); для фрагмента *RpS5* – RpS5151126F1 и RpS5151126R1 (Jiang et al., 2017); для фрагмента *16S RNA* вольбахии – W-Specf и W-Specr (Werren, Windsor, 2000); для фрагмента *wsp* вольбахии – wsp81F и wsp691R (Braig et al., 1998; Zhou et al., 1998). Все ПЦР-реакции проводились в реакционном объёме 20 µl, содержащем 4 µl буфера ScreenMix-HS, 0,5 µl каждого соответствующего праймера (концентрацией 10 mM), 1 µl (в случае амплификации *COI*) или 2–5 µl (при амплификации ядерных генов) геномной ДНК и 19 (18–15) µl DiH₂O.

Для части образцов (181 проба) амплификация и секвенирование фрагмента гена *COI* осуществлялись в Канадском центре ДНК-баркодинга (Canadian Centre for DNA Barcoding, Biodiversity Institute of Ontario, University of Guelph) по стандартным методикам (DeWaard et al., 2008). Часть образцов (185 проб) была отсекувенирована в компании StarSEQ GmbH, г. Майнц (Германия). Основная часть проб (ген *COI*, маркеры *Wolbachia*) была отсекувенирована в Центре молекулярных и клеточных технологий Научного Парка Санкт-Петербургского государственного университета. Секвенирование ядерных маркеров было проведено компанией Евроген (Москва). Все полученные последовательности ДНК были загружены в GenBank.

Филогенетический анализ проводился с использованием программ MEGA7 (тест на оптимальную модель нуклеотидных замен и подсчёт нескорректированных генетических *p*-дистанций), BioEdit и CodonCode Aligner (выравнивание сиквенсов и устранение ошибок секвенирования), MrBayes 3.2.7 (проведение Байесовского анализа), FigTree 1.4.4 (визуализация филогенетических реконструкций), Network 10 (построения сетей гаплотипов методом «median joining»).

3 Морфологическое исследование и ДНК-баркодинг

3.1 Результаты исследования морфологии гениталий

Были изучены все 360 видов пядениц, которые на данный момент зарегистрированы в регионе. В процессе их исследования был впервые изучен и описан генитальный аппарат малоизвестного вида *Scardostrenia reticulata* Stern. (оригинальная комбинация), что позволило подтвердить его ассоциацию с родом *Hypoxystis* Prt. (Рис. 1: А).

У нескольких близкородственных видов впервые выявлены довольно устойчивые различия в строении гениталий: формализованы и проиллюстрированы отличительные признаки в гениталиях обоих полов между *Thalera chlorosaria* Graes. и *Th. fimbrialis* Sc., между *Isturgia kaszabi* Vojn. и *I. murinaria* Den. et Schiff., между *Horisme falcata* A.B.-H. и *H. scotosiata* Gn., а также в гениталиях самца между *Chlorissa viridata* L. и *Ch. obliterata* Wlk. (Рис. 2). Предпосылками к более тщательному изучению строения гениталий последней пары видов выступили результаты ДНК-баркодинга прибайкальских *Chlorissa*, которые показали генетическую разницу между популяциями из Предбайкалья (Иркутская область) и Бурятии. Пересмотр этих материалов позволил установить, что границы ареалов *Ch. viridata* и *Ch. obliterata* предположительно пролегают по оз. Байкал и его горному обрамлению.



Рисунок 1 – Имаго пядениц. А – *Hypoxystis reticulata*, самка; В – *Rheumaptera neocervinalis*, самец

Были обнаружены возможные гибридные формы двух близких видов *Idaea serpentata* Hfn. и *I. dohlmanni* Hedem. (Рис. 3), с территории их предположительной симпатрии. Выявлена внутривидовая изменчивость в строении гениталий *Scopula immutata* L. и *Dysgnophos turfosa* Wehrli. В случае с *Dysgnophos* удалось показать, что отдельные варианты внутривидовой изменчивости ранее в разных работах принимались за дискретные видоспецифичные признаки.

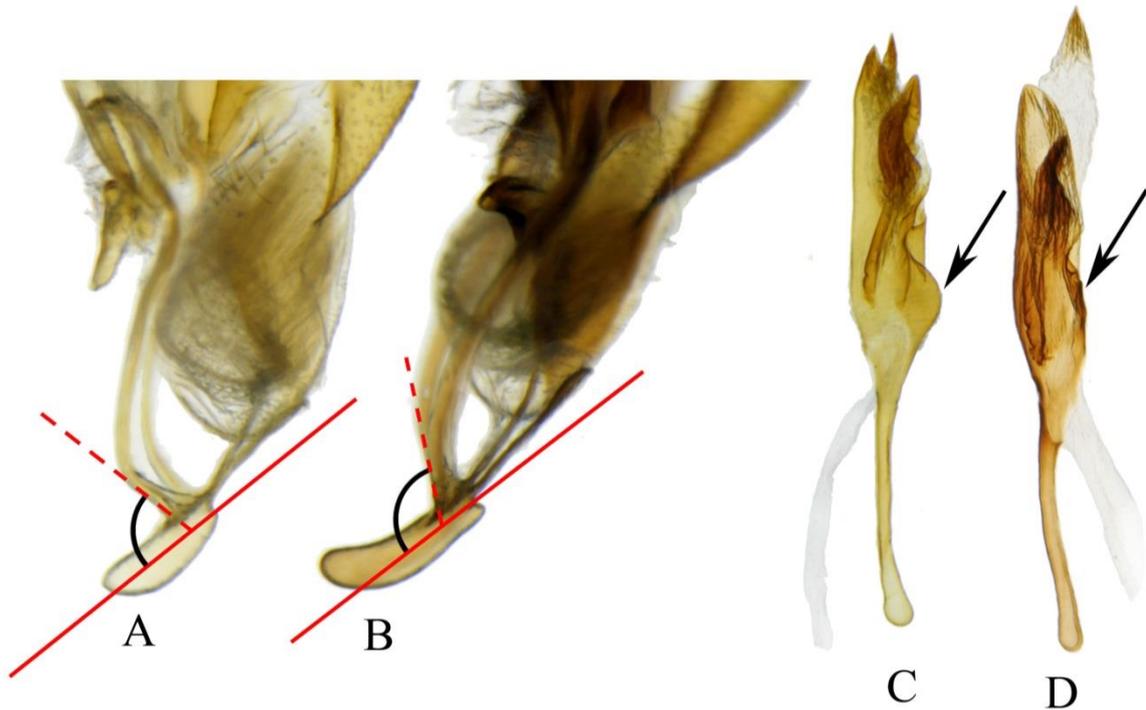


Рисунок 2 – Отличительные признаки в гениталиях самцов прибайкальских видов рода *Chlorissa* Stephens, 1831. А, С – *Ch. obliterata*; В, D – *Ch. viridata*. Стрелками показаны отличительные признаки в строении эдеагуса.

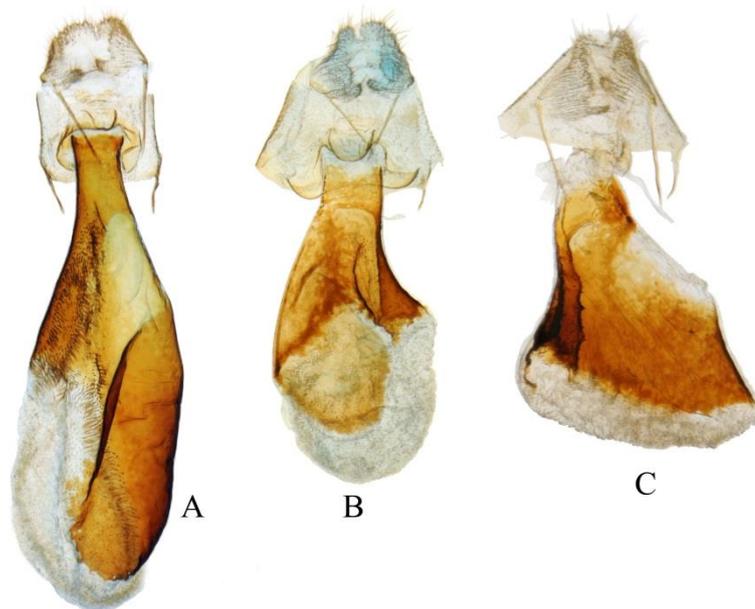


Рисунок 3 – *Idaea dohlmanni* и *I. serpentata*, гениталии самок (bursa copulatrix). А – *I. dohlmanni*; В – вероятный гибрид *I. dohlmanni* × *I. serpentata*; С – *I. serpentata*.

3.2 ДНК-баркоды в таксономии и видовой диагностике прибайкальских пядениц

Нами было обработано 633 образца прибайкальских пядениц, принадлежащих к 312 видам. Впервые ДНК-баркоды получены для следующих

видов пядениц: *Phigalia djakonovi* Molt., *Aspitates curvaria* Ev., *Pseudobaptria corydalaria* Graes., *Xanthorhoe aridela* Prt., *Euphyia coangulata* Prt., *Solitanea defricata* Pglr., *Zola terranea* Butl., *Rheumaptera neocervinalis* Inoue, *Horisme scotosiata* Wil., *Asthena corculina* Butl., *Eupithecia insignioides* Wehrli, *Eu. nobilitata* Stgr., *Cleta jacutica* Viid., *Holarctias rufinularia* Stgr., *Scopula aequifasciata* Chr., *S. agutsaensis* Vsl. и *S. impersonata* Wlk. 97 % изученных ДНК-баркодов оказались видоспецифичными, то есть отличными по нуклеотидному составу от баркодов близких видов. В большинстве случаев эти различия превышали уровень в 2–3 % (более чем 13–17 нуклеотидных позиций из 658 изученных).

Мы использовали функцию Identification Engine, реализованную на платформе BoLD Systems, и инструмент BLAST, реализованный в GenBank, для сравнения всех полученных нами сиквенсов с имеющимися в публичном доступе последовательностями. Во многих случаях наши определения не совпали с опубликованными, и мы проверили исходные данные для опубликованных образцов, баркоды которых оказались максимально сходными с нашими. Были изучены изображения экземпляров-ваучеров и данные об их местонахождении. В результате было выявлено 28 ошибочных определений. На основании исправления некоторых ошибочных определений, нам удалось уточнить ареал для *Comibaena atoenaria* Obth.: установлено, что ареал этого вида также включает Китай.

Анализ ДНК-баркодов позволил обнаружить устойчивые различия в последовательности COI у четырёх пар видов-двойников: *Macaria alternata* Den. et Schiff. – *M. shanghaiaria* Wlk.; *Isturgia murinaria* Den. et Schiff. – *I. kaszabi* Vojn.; *Chlorissa viridata* L. – *Ch. obliterata* Wlk.; *Rheumaptera cervinalis* Sc. – *Rh. neocervinalis* Inoue. При этом виды *Ch. obliterata* и *Rh. neocervinalis* (Рис. 1: В) впервые зарегистрированы в Сибири только благодаря ДНК-баркодингу.

В ходе анализа собранной библиотеки баркодов было выявлено 11 видовых пар, в которых баркоды не позволяют достоверно идентифицировать вид, полностью (или почти полностью) совпадая у двух этих близких таксонов, либо частично перекрываясь у части популяций. Из этих 11 пар шесть случаев приводятся впервые (в известной нам литературе не упоминаются): *Euphyia unangulata* Hw. – *E. coangulata* Prt.; *Xanthorhoe sajanaria* Prt. – *X. derzhavini* Djak.; *Eupithecia gelidata* Mösch. – *Eu. nanata* Hbn.; *Eu. innotata* Hfn. – *Eu. ochridata* Schtz. et Pnk.; *Cleta jacutica* Viid. – *Cleta perpusillaria* Ev. и *Idaea dohlmanni* Hedem. – *I. serpentata* Hfn. Установлено, что с учетом данных по географическому распространению, только 10 видов, населяющих Байкальский регион, невозможно делимитировать на основании их ДНК-баркодов.

Нами показано, что байкальские популяции ряда видов резко дифференцированы в отношении ДНК-баркодов по сравнению с номинально консpezifичными популяциями из Европы, Турции, Дальнего Востока и Канады и представлены специфическими гаплогруппами. Новые гаплогруппы обнаружены у 9 видов прибайкальских пядениц. Из них для 4 видов генетическая гетерогенность (значительная внутривидовая вариабельность баркодов) ранее уже была отмечена в

литературе, однако установленные нами гаплотипы ранее не были известны. Кроме того, 5 видов: *Yezognophos vittaria* Thnb., *Aspitates gilvaria* Den. et Schiff., *A. taylorae* Butl., *Perizoma hydrata* Tr. и *Eupithecia pernotata* Gn. демонстрируют степень дивергенции митохондриального генома, характерную для самостоятельных, хорошо обособленных видов (генетическая дистанция с известными гаплогруппами превышает порог в 2,7–3,0 %).

3.3 Тестирование гипотез, объясняющих глубокую дивергенцию симпатричных митохондриальных линий сибирских Geometridae

У 6 номинальных видов пядениц в Прибайкалье (*Alcis deversata* Stgr., *A. extinctaria* Ev., *Aspitates gilvaria* Den. et Schiff., *Ectropis crepuscularia* Den. et Schiff., *Thalera chlorosaria* Graes., *Scopula immutata* L.) в пределах одной популяции обнаружено два типа митохондриальных ДНК-баркодов (=митохондриальных гаплогрупп). Феномен присутствия в одной популяции более одного типа митохондриального баркода может теоретически объясняться тем, что симпатрично встречающиеся дифференцированные баркоды представляют ещё нераспознанные **криптические виды**. Также, наблюдаемый паттерн может быть связан с **митохондриальной интрогрессией** от другого вида посредством межвидовой гибридизации. К эффекту «два митохондриальных баркода – один вид» может приводить заражение эндосимбиотической **бактерией Wolbachia**. Кроме того, этот феномен может быть объяснён **вторичным слиянием популяций**, которые долгое время эволюционировали в условиях географической изоляции и накопили генетические различия. Мы провели тестирование перечисленных гипотез для двух из шести перечисленных видов: *Alcis deversata* (дистанция между линиями: 5,2–6,3%) и *Thalera chlorosaria* (дистанция между линиями: 3,6–5,5%).

Был проанализирован массив молекулярно-генетических данных, полученных нами для этих видов, дополненный последовательностями из баз данных GenBank и BoLD. В него вошли последовательности митохондриального гена *COI*, двух ядерных генов: *GAPDH* и *RpS5* упомянутых видов пядениц и двух генов (*16S RNA* и *wsp*) симбиотической риккетсии *Wolbachia*, выделенной из части образцов. Детально изучена морфология этих видов Geometridae на предмет корреляции морфологических признаков с принадлежностью к той или иной гаплогруппе и возможного присутствия криптических видов; учтены экологические предпочтения представителей разных митохондриальных линий.

3.3.1 Контроль в отношении последовательностей неизвестного происхождения и псевдогенов

Анализ полученных сиквенсов *COI* с помощью опции MegaBLAST не подтвердил бактериального или иного происхождения исследуемых последовательностей; все исследованные гаплотипы имели высокое сходство с последовательностями *COI* пядениц. После перевода полученных нами сиквенсов

COI в белковые последовательности не было обнаружено ни инсерционно-делеционных точечных мутаций, ни стоп-кодонов. Анализ АТ % в последовательностях *COI*, которые образуют отдельные клады у обоих изученных видов, не показал значительных отклонений по сравнению с ортологичной митохондриальной ДНК.

3.3.2 Митохондриальные линии *Alcis deversata*, *A. repandata* и *A. extinctaria*

Обнаруженные симпатричные митохондриальные линии *A. deversata* были обозначены нами как Ad-A (кластеризуется с популяциями из Европы, Дальнего Востока России и Китая) и Ad-B (гаплогруппа, эндемичная для Байкальской Сибири).

Анализ ядерных маркеров *GAPDH* (Рис. 4: А) и *RpS5* (Рис. 4: В) не выявил каких-либо корреляций между ними и митохондриальными линиями сибирских *A. deversata*: представители разных митохондриальных линий не формируют ожидаемых кластеров при анализе обоих ядерных маркеров. Подклада, включающая 2 образца из разных митохондриальных линий (Рис. 4: А: Srm4 и Mst10), сформирована гомозиготными по гену *GAPDH* особями.

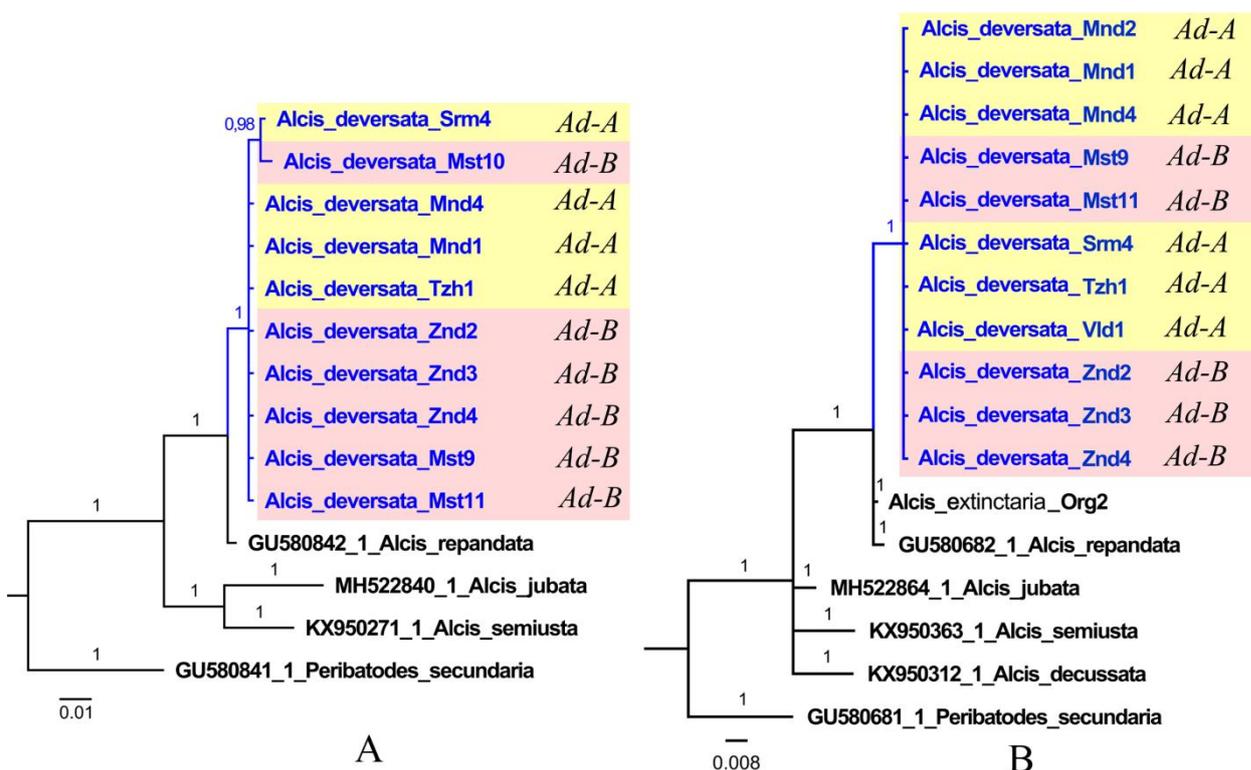


Рисунок 4 – А – Байесовское дерево *Alcis*, основанное на анализе гена глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (*GAPDH*); В – то же, на основе анализа гена рибосомного белка S5 (*RpS5*). Номера над ветвями указывают Байесовскую апостериорную вероятность. Цвет фона соответствует митохондриальным гаплогруппам.

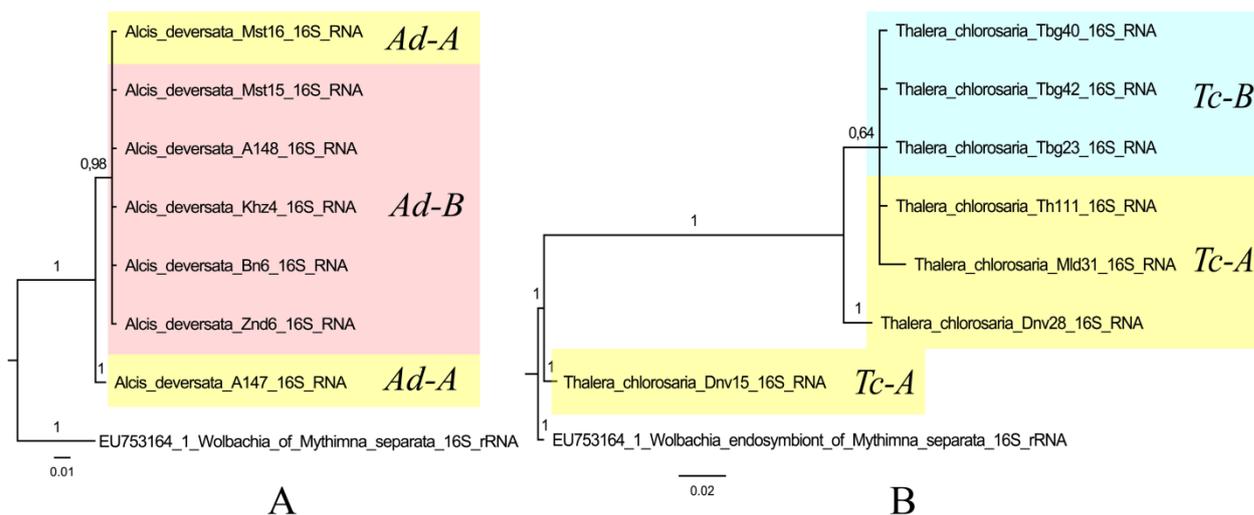


Рисунок 5 – Байесовские деревья, основанные на анализе гена *16S rRNA* вольбахий из прибайкальских пядениц. А – *Alcis deversata*; В – *Thalera chlorosaria*. Числа над ветвями указывают Байесовскую апостериорную вероятность. Цвет фона соответствует митохондриальным гаплогруппам.

На предмет заражения симбионтом *Wolbachia* было протестировано 77 образцов (22 самки и 55 самцов) *A. deversata* путём проведения двух независимых ПЦР-скринингов на ген *16S rRNA* и ген поверхностного белка *Wolbachia* (*wsp*). Инфекция *Wolbachia* обнаружена как в митохондриальной линии Ad-A, так и в Ad-B, следовательно, связи между статусом инфекции и гаплогруппой подтверждено не было. Проверка наличия корреляции между штаммами *Wolbachia* и инфицированной гаплогруппой не выявила связи между ними: представители одной гаплогруппы (Ad-A) оказались в разных высоко поддерживаемых кладах (Рис. 5: А).

Мы также не обнаружили ни морфологических, ни экологических расхождений у носителей выявленных митохондриальных линий: обе линии обнаруживаются в одном месте и в одни и те же даты. Следовательно, ни ландшафтные предпочтения, ни периоды лёта не различаются у линий Ad-A и Ad-B.

Схожий (но не идентичный с *A. deversata*) географический паттерн ДНК-баркодов мы выявили у двух других видов рода *Alcis*: *A. repandata* и *A. extinctaria*. Эти два вида, вероятно, являются викарирующими, населяя соответственно западную и восточную часть Палеарктики. Нами не было обнаружено значительной дифференциации между баркодами *A. extinctaria* и *A. repandaria*, самцы которых, однако, надёжно различаются по строению гениталий. Это говорит в пользу того, что между этими видами в недавнем прошлом могла происходить митохондриальная интрогрессия либо горизонтальный поток генов все еще продолжается.

3.3.3 Митохондриальные линии *Thalera chlorosaria*

Обнаруженные симпатричные митохондриальные линии *Thalera chlorosaria* были обозначены нами как Tc-A (кластеризуется с популяциями из Китая) и Tc-B (гаплогруппа, дистанцированная от гаплогруппы Tc-A на 4,1–5,2 %). С последней гаплогруппой (Tc-B) по результатам Байесовского анализа сгруппировался один североευропейский экземпляр *Th. fimbrialis* Sc. (происходящий из Финляндии), хотя он относится к другому виду.

Филогенетический анализ ядерного гена *GAPDH* показал, что обе митохондриальные линии *Th. chlorosaria* образуют единую кладу с хорошей поддержкой (Рис. 6: А). Ветвь *Th. fimbrialis* имеет такую же хорошую поддержку, следовательно, в целом маркер *GAPDH* позволяет практически однозначно различать эти сестринские таксоны. Паттерн кластеризации последовательностей ядерного маркера *RpS5* значительно отличается от дерева, основанного на *GAPDH* (Рис. 6: В): последовательности *Th. fimbrialis* не образуют отдельной клады, а пять образцов *Th. chlorosaria*, представляющие разные митохондриальные линии, сгруппированы в кластер с высокой поддержкой. Этот кластер сформирован особями, гомозиготными по гену *RpS5*. Таким образом, конгруэнции между этим кластером и митохондриальной ДНК его членов не выявлено.

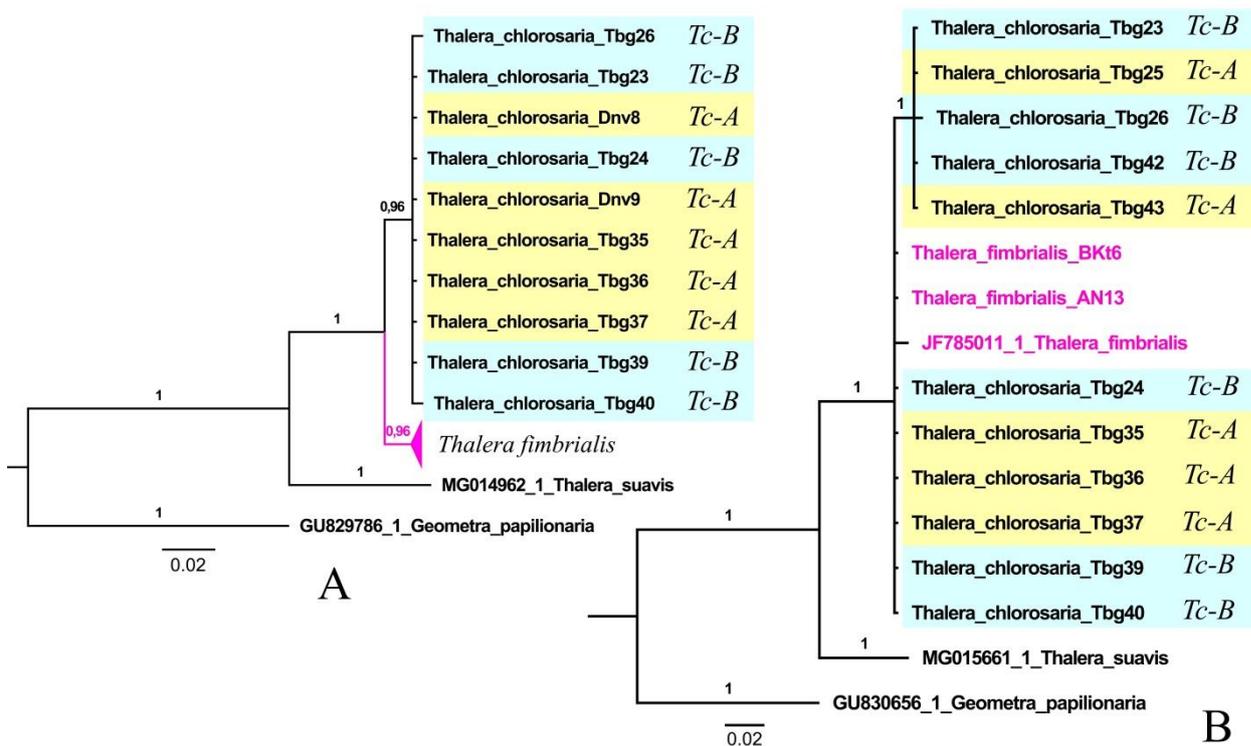


Рисунок 6 – А – Байесовское дерево *Thalera*, основанное на анализе гена глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (*GAPDH*); В – то же, на основе анализа гена рибосомного белка S5 (*RpS5*). Числа над ветвями указывают Байесовскую апостериорную вероятность. Цвет фона соответствует митохондриальным гаплогруппам.

На предмет заражения симбионтом *Wolbachia* было протестировано 55 образцов *Th. chlorosaria* (8 самок и 47 самцов). Инфекция *Wolbachia* обнаружена как в линии Тс-А, так и в Тс-В, следовательно, связи между статусом инфекции и гаплогруппой не обнаруживается. Не было выявлено связи и между разными штаммами *Wolbachia* и гаплогруппами, которые ими инфицированы: представители одной гаплогруппы, Тс-А, оказались в разных высоко поддержанных кладах (Рис. 5: В).

Строение гениталий демонстрирует единообразие во всех наших выборках *Th. chlorosaria*. Нам не удалось найти каких-либо морфологических различий между представителями Тс-А и Тс-В как по внешней морфологии, так и в анатомии гениталий. Экологические предпочтения группы Тс-В не отличаются от предпочтений типичного *Th. chlorosaria*; представители линии Тс-В были собраны только в одной локации вместе с ещё десятью экземплярами гаплогруппы Тс-А. Сроки лёта этих генетических групп совпадают.

Несмотря на то, что результаты исследования митохондриальных линий *A. deversata* и *Th. chlorosaria* не показали необходимости таксономических изменений, этот вывод важен сам по себе. Подобные молекулярно-генетические паттерны (формируемые последовательностями *COI*) *per se* могут ошибочно трактоваться как криптическое видовое разнообразие, что в свою очередь создаёт дополнительный шум при таксономическом анализе и филогенетических построениях и предпосылки для таксономической инфляции.

4 Обсуждение и создание итогового фаунистического списка

4.1 Идентификация видов

Собранная нами библиотека ДНК-баркодов пядениц Байкальского региона делает возможным идентификацию 302 видов, что составляет большую часть региональной фауны (84 %). В ходе её создания были впервые секвенированы последовательности *COI* 17 видов, что вносит вклад в процесс накопления ДНК-баркодов палеарктических Geometridae. Большинство сиквенсов *COI* (290) впервые получено для популяций пядениц, населяющих Байкальский регион.

4.2 Проблема криптических видов

Криптические виды, или виды-двойники, обычно определяют как «морфологически сходные или идентичные, но репродуктивно изолированные природные популяции» (Майр, 1968). Поиск надёжных критериев для разграничения видов-двойников является важной и порой нетривиальной задачей для биологов. Эффективность ДНК-баркодов в отношении разграничения видов-двойников была показана для многих дневных чешуекрылых, а также *Metaheterocera* (Dincă et al., 2011; Hausmann et al., 2011b).

В разделе обсуждаются проблемы разграничения видов-двойников в контексте молекулярно-генетического подхода, возможности и ограничения ДНК-

баркодинга как инструмента для решения этих проблем. На примере 4 видовых пар, проанализированных в ходе исследования, не только показана эффективность ДНК-баркодов в вопросе делимитации конкретных криптических видов, но и в уточнении их распространения (как в случае с *Ch. obliterata* и *Rh. neocervinalis*) и исправлении более ранних определений.

4.3 Проблема «два вида – один баркод»

В ряде случаев морфологически хорошо дифференцированные виды имеют очень сходные или даже идентичные ДНК-баркоды (Kandul et al., 2004; Lukhtanov et al., 2005, 2008; Wiemers, Fiedler, 2007). В ходе нашего исследования было выявлено несколько случаев подобного совпадения или перекрытия ДНК-баркодов у морфологически разных видов. Существует как минимум два объяснения этого феномена. Одно из них состоит в митохондриальной интрогрессии вследствие межвидовой гибридизации. При такой гибридизации митохондрии от одного вида проникают в генофонд другого, что приводит к частичной, а иногда и полной замене митогенома вида-реципиента на вариант вида-донора. Другое объяснение феномена идентичных баркодов сводится к тому, что они принадлежат молодым сестринским видам, разошедшимся в недавнем прошлом, не успевшим дифференцироваться в отношении ДНК-баркодов, но успевшим за это относительно короткое время приобрести заметную морфологическую разницу.

Среди обнаруженных нами видовых пар, которые делят между собой один тип баркода, большая часть случаев, по-видимому, может быть объяснена первым механизмом, предполагающим межвидовую интрогрессию. Об этом свидетельствует как минимум два факта: 1) в других местонахождениях исследуемые виды обладают отличными последовательностями *COI*; 2) пары видов, обладающие одинаковыми митогеномами, демонстрируют более или менее скоординированную морфологическую дивергенцию, характерную для обособленных видов.

Для нескольких видов, однако, более правдоподобным объяснением оказывается их недавняя дивергенция. К молодым видам предварительно можно отнести пару *Idaea dohlmanni* Hedem. и *I. serpentata* Hfn., и пару *Minoa murinata* Sc. и *M. lutea* Schwng. В пользу этого говорит тот факт, что у них пока неизвестно других гаплогрупп. Более того, между видами в этих парах, по-видимому, возможна гибридизация, по крайней мере, между *I. dohlmanni* и *I. serpentata*, о чём косвенно свидетельствуют промежуточные признаки гениталий, обнаруженные нами у экземпляров из Красноярского края (зона предполагаемой симпатрии).

4.4 Проблема «один вид – несколько баркодов»

Помимо феномена идентичности баркодов у разных видов (а также малых межвидовых дистанций), среди *Lepidoptera* известна и обратная ситуация, при которой баркодинговые последовательности демонстрируют значительную

гетерогенность, образуя два (или более) глубоко дифференцированных кластера (гаплогруппы) в пределах одного вида (Elias et al., 2007; Pazhenkova et al., 2015). Наличие множественных гаплогрупп у этих таксонов связывают с независимой митохондриальной эволюцией в изолятах, происходившей в пределах Голарктики на протяжении ледникового (Müller et al., 2019).

Обширные выборки двух видов пядениц, у которых на территории Байкальского региона были обнаружены новые и глубоко дифференцированные митохондриальные линии (*Alcis deversata* Stgr. и *Thalera chlorosaria* Graes.), позволили проверить несколько альтернативных гипотез возникновения этих гаплогрупп. Наш анализ показал, что **псевдогены** (NUMT) и последовательности неизвестного происхождения (например, бактериальные или последовательности паразитических организмов) вряд ли являются причинами обнаруженного полиморфизма. В рамках проверки **гипотезы криптоических видов** у обоих видов не было обнаружено ни морфологической дифференциации разных митохондриальных линий, ни их разделения по экологическим нишам, ни конгруэнтной дифференциации по ядерным маркерам. Наши результаты также не соответствуют предсказаниям **гипотезы анцестрального полиморфизма**: во всех изученных случаях симпатрические линии *COI* сильно дифференцированы и распределены в пространстве весьма неслучайно. Не нашла подтверждений и **гипотеза митохондриальной интрогрессии**: выявленные гаплотипы не обнаружены у близкородственных видов, от которых исследуемые таксоны могли бы получить митохондрии путём межвидовой гибридизации. **Гипотеза о влиянии эндосимбиотической бактерии *Wolbachia*** также не была подтверждена: мы не выявили ассоциации тех или иных гаплогрупп ни с инфекционным статусом, ни с определённым штаммом вольбахии. Наиболее вероятным объяснением митохондриального диморфизма, обнаруженного у *A. deversata* Stgr. и *Th. chlorosaria* Graes., ввиду отвержения всех альтернативных гипотез оказывается **гипотеза вторичного контакта**, предполагающая пространственную изоляцию популяций в прошлом с их последующим вторичным контактом и слиянием (Avice, 2000). Длительная изоляция популяций этих видов в прошлом видится вполне возможной благодаря существованию рефугиумов в Сибири во время плейстоценовых оледенений. Расположение этих рефугиумов хорошо известно в пределах Южной Сибири: часть из них, по-видимому, располагалась в Байкальской рифтовой зоне: Горная Шория, Северо-Восточный Алтай, Юго-Западный Алтай, Западный Саян, западные предгорья Восточного Саяна и Хамар-Дабана (Эпова, 1956; Куминова, 1957; Матюшкин, 1982; Малышев, Пешкова, 1984; Положий, Крапивкина, 1985; Ивановский, 2006).

4.5 Список видов

На основании синтеза данных из литературных источников, полученных нами данных по морфологии имаго и результатов ДНК-баркодинга был составлен дополненный и уточнённый видовой список Geometridae Байкальского региона,

который включил в себя 360 видов. Дополнения и изменения списка прибайкальских пядениц, сделанные в ходе исследования, представлены в табл. 1.

Таблица 1 – Дополнения и изменения фаунистического списка прибайкальских Geometridae. БК – Байкальский регион в целом, РБ – Республика Бурятия, ИО – Иркутская область

Виды, новые для России	Виды, новые для ИО	Виды, исключённые из списка пядениц БР
<i>Charissa beljaevi</i> <i>Eupithecia impolita</i>	<i>Gnophopsodos ravistriolaria</i> <i>Diaprepesilla flavomarginaria</i>	<i>Selenia lunularia</i> <i>Ennomos quercinaria</i> <i>Ourapteryx persica</i> <i>Ourapteryx sambucaria</i> <i>Pungeleria capreolaria</i> <i>Erannis defoliaria</i> <i>Biston strataria</i> <i>Peribatodes rhomboidaria</i> <i>Isturgia roraria</i> <i>Cataclysmes riguata</i> <i>Xanthorhoe annotinata</i> <i>Epirrhoe molluginata</i> <i>Epirrhoe galiata</i> <i>Pennithera firmata</i> <i>Thera cognata</i> <i>Eupithecia impurata</i> <i>Eupithecia irriguata</i> <i>Horisme intricata</i> <i>Idaea deversaria</i> <i>Idaea ochrata</i> <i>Idaea seriata</i> <i>Cyclophora pendularia</i>
Виды, новые для БК	<i>Phigalia djakonovi</i> <i>Narraga fasciolaria</i> <i>Digrammia rippertaria</i> <i>Macaria artesiaria</i> <i>Lithostege farinata</i> <i>Lithostege pallescens</i> <i>Acasis appensata</i> <i>Acasis viretata</i> <i>Scotopteryx transbaicalica</i>	
<i>Abraxas karafutonis</i> <i>Rheumaptera neocervinalis</i> <i>Chloroclystis v-ata</i> <i>Pasiphila debiliata</i> <i>Eupithecia fennoscandica</i> <i>Scopula flaccidaria</i>	<i>Entephria byssata</i> <i>Asthenes amurensis</i> <i>Perizoma bifaciata</i> <i>Eupithecia extensaria</i> <i>Eupithecia thalictрата</i> <i>Horisme scotosiata</i> <i>Horisme falcata</i> <i>Anticollix sparsata</i> <i>Idaea dimidiata</i> <i>Idaea sylvestriaria</i> <i>Scopula agutsaensis</i> <i>Scopula virginalis</i>	
Виды, новые для РБ	<i>Thetidia chlorophyllaria</i> <i>Chlorissa obliterated</i> <i>Apocheima cinerarius</i> <i>Hypoxystis reticulata</i> <i>Scotopteryx acutangulata</i> <i>Eupithecia holti</i> <i>Eupithecia dissertata</i> <i>Eupithecia denotata</i> <i>Eupithecia groenblomi</i> <i>Eupithecia millefoliata</i>	
Виды с уточнённым определением	<i>Scopula agutsaensis</i> <i>Scopula virginalis</i> <i>Scopula floslactata</i> <i>Scopula permutata</i>	
<i>Yezognophos vittaria</i> <i>Lomaspilis nigrita</i> <i>Minoa lutea</i>		Вид, новый для науки <i>Acasis (Pseudacasis) sp.</i>

4.6 Фаунистический обзор

В Байкальском регионе семейство пядениц представлено 5 подсемействами: Archiearinae (3 вида), Ennominae (102), Geometrinae (14), Sterrhinae (49) и Larentiinae (192). Наиболее многочисленные роды: *Eupithecia* Curt. (61 вид), *Scopula* Schr. (25), *Xanthorhoe* Нб. (13), *Idaea* Tr. (12), и *Macaria* Curt. (11). Остальные 146 родов (около 66 % видового состава) представлены менее чем десятью видами. В разделе

приводятся очерки по каждому подсемейству с его краткой характеристикой; обзорами групп, которые были пересмотрены на основании морфологического анализа (в основном строения гениталий) и фаунистические уточнения, сделанные на основе этого анализа.

4.7 Хорологическая характеристика фауны пядениц Байкальского региона

Распространение многих видов пядениц до сих пор остаётся не до конца выясненным, поэтому в настоящее время анализ ареалогической структуры фауны Geometridae может носить лишь предварительный характер. Тем не менее, мы постарались в первом приближении оценить вклад разных ареалогических комплексов в состав региональной фауны, используя систему типизации ареалов, предложенную Городковым (1984).

Обобщая полученные данные, можно заключить, что фауна Geometridae Байкальского региона не отличается высокой оригинальностью: по долготной составляющей в ней преобладают широкоареальные виды (53,7 % от общего числа). Среди них выделяются пяденицы с трансберингийским распространением, они составляют десятую часть всей выявленной фауны. Остальная часть видов (46,3 %) характеризуется ареалами, ограниченными внутриконтинентальными рубежами. В их составе наблюдается заметное преобладание сибирско-дальневосточной ареалогической группы (40 % ограничено ареальных видов) над евро-сибирскими группами ареалов (22,2 % ограничено ареальных видов), что свидетельствует о наиболее тесной связи Прибайкальской фауны с дальневосточной фауной пядениц. Интересно отметить, что обратная картина установлена для фауны Geometridae Якутии, сформированной по большей части евро-сибирскими элементами (Бурнашёва, Беляев, 2011).

В широтном аспекте основную часть фауны Прибайкалья составляют температурные (48 %) и суббореальные виды (31 %), что вполне соответствует географическому положению региона.

Своеобразие фауне пядениц региона придаёт наличие южных видов, проникающих на юг Прибайкалья по суббореальному поясу из Центральной Азии и Монголии, а также присутствие нескольких эндемичных видов Алтае-Саянской горной страны.

Заключение

Несмотря на довольно большой интерес энтомологов к макрочешуекрылым Сибирских регионов, сведения о составе фауны и распространении пядениц в Байкальском регионе оставались неполными. В ходе наших исследований на этой территории удалось обнаружить 2 вида, новых для России; 6 видов, новых для Байкальского региона в целом (населяющих как Иркутскую область, так и Бурятию); 25 видов, не зарегистрированных ранее в Иркутской области и 10 – не отмеченных ранее в Бурятии. Кроме того, найден 1 неизвестный науке вид.

Подготовленный с учётом этих находок аннотированный список видов на сегодняшний день является самым полным для исследуемого региона.

Созданная библиотека ДНК-баркодов позволяет существенно повысить надёжность идентификации прибайкальских пядениц, делает возможным определение преимагинальных стадий и их ассоциацию с кормовыми растениями. Более того, полученные из сибирских образцов митохондриальные маркеры могут быть полезны для будущих популяционных исследований и таксономических ревизий. В то же время, проведённое нами подробное исследование симпатричных глубоко дифференцированных митохондриальных линий двух видов геометрид указывает и на ограничения ДНК-баркодинга как метода видовой диагностики.

До начала наших исследований не существовало определительных таблиц для родов и видов сибирских пядениц, за исключением более или менее пригодных ключей к единичным группам европейской и дальневосточной фауны. В этом контексте для нас было крайне важным разработать определительные ключи для всех видов пядениц, населяющих Байкальский регион, территория которого сопоставима по площади с крупнейшими странами Европы. Качественные иллюстрации генитальных аппаратов практически всех видов, обнаруженных в Байкальском регионе к настоящему моменту, делают возможным надёжное определение пядениц региональной фауны (в том числе таксономически сложных групп). Полученные оригинальные результаты учитывают самые последние таксономические изменения в пределах семейства, а также новые находки, сделанные автором и другими исследователями.

Выводы

1. В результате дополнения и уточнения видового состава Geometridae Байкальского региона установлено, что фауна насчитывает 360 видов из 143 родов и 5 подсемейств. Её сравнительное богатство является следствием комбинации разных фаунистических элементов: широкоареальных транспалеарктических, трансберингийских, евро-сибирских, сибирско-дальневосточных видов, а также более узкоареальных восточносибирских и южносибирских элементов. Своеобразие региональной фауны придают немногочисленные сибирско-туранские и китайско-монгольские виды. В широтном аспекте основную часть фауны составляют температурные и суббореальные виды.

2. На основании анализа ДНК-баркодов и морфологии гениталий пядениц Байкальских популяций подтверждена их конспецифичность с таксонами, исходно описанными из Европы (231 вид), Восточной Азии (52 вида), Сибири (40 видов), Средней Азии (3 вида) и Северной Америки (3 вида); выявлены ошибочные определения (18 видов); предложены таксономические изменения (2 случая) и обнаружен ещё неописанный вид (1).

3. Глубоко дифференцированные митохондриальные гаплогруппы в пределах морфологически сходных групп пядениц могут представлять как

криптические виды, так и варианты внутривидового полиморфизма. Совместное использование четырёх групп признаков: (1) морфологии гениталий, (2) изменчивости молекулярных митохондриальных маркеров, (3) изменчивости молекулярных ядерных маркеров и (4) наличия/отсутствия инфицированности внутриклеточным паразитом *Wolbachia* позволяет выявить природу такого митохондриального полиморфизма.

4. Выявленная глубокая дифференциация митохондриальной ДНК у детально исследованных сибирских *Alcis deversata* и *Thalera chlorosaria*, по-видимому, не отражает наличия криптических видов; эндосимбионт *Wolbachia* в их популяциях не ассоциирован с конкретными митохондриальными гаплогруппами, а сильное расхождение митогенома у обоих видов, скорее всего, связано со вторичным контактом популяций, длительное время эволюционировавших в аллопатрии.

5. Среди палеарктических видов *Alcis* обнаруживаются явные следы недавней митохондриальной интрогрессии: часть популяции *A. repandata* обладает митохондриями *A. extinctaria*.

6. ДНК-баркодинг оказался эффективным инструментом для разграничения в регионе видов-двойников: *Macaria alternata* и *M. shanghaiaria*, *Isturgia murinaria* и *I. kaszabi*, *Chlorissa viridata* и *Ch. obliterata*, *Rheumaptera cervinalis* и *Rh. neocervinalis*, которые практически не различимы по внешней морфологии имаго и слабо дифференцированы по строению генитального аппарата.

7. Ряд видов, населяющих Байкальский регион, не отвечают правилу «один вид – один баркод». У 6 номинальных видов (*Alcis deversata*, *A. extinctaria*, *Aspitates gilvaria*, *Ectropis crepuscularia*, *Thalera chlorosaria* и *Scopula immutata*) в пределах популяции обнаруживается два типа симпатричных митохондриальных ДНК-баркодов (=митохондриальных гаплогрупп). Идентификация этих видов на основе баркодов возможна при наличии обширных библиотек митохондриальных маркеров и знании географического распределения отдельных митохондриальных гаплогрупп.

8. Неразличимые ДНК-баркоды обнаружены в 5 парах видов прибайкальских пядениц. Для надежной делимитации этих видов необходимо привлечение морфологических признаков (рисунок крыльев, строение гениталий).

Список публикаций по теме диссертации.

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК:

Махов, И. А. К фауне *Eurithecia* Curtis, 1825 (Geometridae, Larentiinae) юга Байкальской Сибири / **И. А. Махов** // Евразийский энтомологический журнал – 2015. – Т. 14, Вып. 2. – С. 149–156.

Makhov, I. A. New data on Geometrid moths (Lepidoptera: Geometridae) of the Baikal region, Russia / **I. A. Makhov**, E. A. Beljaev // Far Eastern Entomologist. – 2019. – No. 391. – P. 1–23.

Makhov, I. A. Sympatric occurrence of deeply diverged mtDNA lineages in Siberian geometrid moths (Lepidoptera, Geometridae): cryptic speciation, mitochondrial introgression, secondary admixture or effect of *Wolbachia*? / **I. A. Makhov**, Ye. Yu. Gorodilova, V. A. Lukhtanov // Biological Journal of the Linnean Society. – 2021. – Vol. 134, No. 2. – 342–365.

Makhov, I. A. Additions to the second edition of the Catalogue of the Lepidoptera of Russia: East Siberian regions. Part 1 / **I. A. Makhov** // Entomological Review. – 2021. – Vol. 101, No. 5. – P. 636–646.

Makhov, I. A. Geometridae (Lepidoptera) of the Baikal region: keys to species and an annotated catalogue. Part 1. Ennominae / **I. A. Makhov** // Zootaxa. – 2021. – Vol. 4962, No. 1. – P. 1–125. (Монография).

Makhov, I. A. Geometrid moths (Lepidoptera, Geometridae) of the Baikal region: additions to the species list and results of DNA barcoding / **I. A. Makhov**, V. A. Lukhtanov // Entomological Review. – 2021. – Vol. 101, No. 8. – P. 1154–1172.

Публикации в прочих журналах, трудах, сборниках и материалах конференций:

Махов, И. А. Предварительные данные о видовом составе насекомых заказника «Окунайский» (Лебединые озёра) / **И. А. Махов**, В. Г. Шиленков // Байкальский зоологический журнал. – 2012. – Т. 3, Вып. 11. – С. 18–24.

Махов, И. А. Изучение пядениц (Lepidoptera: Geometridae) на территории Прибайкалья: современное состояние, новые подходы и перспективы / **И. А. Махов** // Материалы Международного молодёжного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2019» / Отв. ред. И. А. Алешковский, А. В. Андриянов, Е. А. Антипов [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2019. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).

Makhov, I. A. Geometrid moths of the Baikal Region: fauna, DNA barcoding and taxonomy / **I. A. Makhov** // XXI European Congress of Lepidopterology. Book of Abstracts. Campobasso, Italy: University of Molise, 2019. – P. 88–89.

Махов, И. А. Глубоко дифференцированные митохондриальные линии сибирских пядениц (Lepidoptera, Geometridae): криптические виды, влияние *Wolbachia* или интрогрессия? / **И. А. Махов** // Материалы Международного молодёжного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2021» / Отв. ред. И. А. Алешковский, А. В. Андриянов, Е. А. Антипов, Е. И. Зимакова. [Электронный ресурс] – М.: МАКС Пресс, 2021. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).

Махов, И. А. Пяденицы (Lepidoptera, Geometridae) Байкальской региона: ДНК-баркодинг и таксономия / **И. А. Махов**, В. А. Лухтанов // Наука СПбГУ – 2020. Сборник материалов Всероссийской конференции по естественным и гуманитарным наукам с международным участием, 24 декабря 2020 года. – СПб.: Скифия-принт, 2021. – С. 340.