

Многомерный анализ морфологии гениталий самцов видов-двойников *Leptidea sinapis* и *L. juvernica* (Lepidoptera, Pieridae): сравнение алтайской и австрийской выборок

The multivariate analysis of morphology of male genitalia of the sibling species of butterflies *Leptidea sinapis* and *L. juvernica* (Lepidoptera, Pieridae): comparison of the Altai and Austrian sampling

П.Ю. Малков, М.А. Копылов, М.Р. Хайдаров
P.Y. Malkov, M.A. Kopilov, M.R. Khaidarov

Кафедра зоологии, Горно-Алтайский госуниверситет, ул. А.Н. Ленкина 1, Горно-Алтайск 649000 Россия. E-mail: malkovi@bk.ru, kopilov.m@mail.ru.

Zoology Department of Gorno-Altai State University, Lenkin str. 1, Gorno-Altai 649000 Russia.

Ключевые слова: виды-двойники, морфологическая изменчивость, *Leptidea sinapis*, *Leptidea reali*, нумерическая таксономия.

Key words: sibling species, morphological variability, *Leptidea sinapis*, *Leptidea juvernica*, numerical taxonomy.

Резюме. Сопоставление алтайских и австрийских экземпляров *Leptidea sinapis* и *L. juvernica* показывает, что абсолютные и относительные размеры структур генитального аппарата самцов подвержены индивидуальной и географической изменчивости. Предложен дискриминантный критерий для разграничения таксонов:

$$y = -9,38 + 0,64 (A/V) + 8,06(S/V) + 3,46 (U/V),$$

где A/V — отношение длины эдеагуса к длине вальвы, S/V — отношение длины саккуса к длине вальвы, U/V — отношение длины ункуса к длине вальвы. Пороговая величина, относительно которой определяется принадлежность особи к тому или иному виду, равна единице (1,00). При получении значения меньше этой величины особь следует относить к *L. sinapis*, при большем значении — к *L. juvernica*.

Abstract. Comparison of Altai and Austrian specimens of *Leptidea sinapis* and *L. juvernica* shows that absolute and relative sizes of structure of the male's genitals are subjected to individual and geographical variability. Discriminant key is offered for differentiation of taxons:

$$y = -9,38 + 0,64 (A/V) + 8,06(S/V) + 3,46 (U/V),$$

where A/V = aedeagus/valve, S/V = saccus/valve, U/V = uncus/valve (in all cases it is of length). Finally, if $y < 1$, it is *L. sinapis*, and if $y > 1$ it is *L. juvernica*.

Дневные бабочки — хорошо изученная группа насекомых особенно в отношении систематики европейских видов. В связи с этим неудивительно, что открытие видов-двойников, близкородственных нередкой и широко распространенной горошковой беляночке *Leptidea sinapis* (Linnaeus, 1758), по мнению ряда авторов было одним из самых ярких событий в систематике дневных бабочек Европы за последнее время (например, [Lorković, 1993; Sachanowicz, 2013 и др.]). Первоначально выявлен хиатус у самок по форме и длине дуктуса, на основа-

нии чего описан криптический вид *L. reali* Reissinger, 1989 (= *lorcovicii* sensu Real, 1988, non Pfeiffer, 1932). Позднее З. Лоркович провёл детальное сравнение самцов и в качестве диагностического признака указал на существенную разницу в длине эдеагуса и саккуса у *L. sinapis* и *L. reali*, при слабой выраженности отличий в окраске крыльев [Lorković, 1993]. Морфологические данные подтвердились анализом митохондриальных маркёров COI и NDI, а также экспериментами по скрещиванию лабораторных особей [Friberg et al., 2008b]. В результате валидность *L. reali* была признана большинством систематиков, в том числе активно работающих на территории азиатской части России [Gorbunov, 2001; Дубатовол и др., 2005 (Dubatolov et al., 2005); Каталог ..., 2008 (Catalogue ..., 2008)]. Последующие молекулярно-генетические исследования показали, что рассматриваемый комплекс в действительности включает не два, а три близкородственных вида, причём *L. reali* населяет только Южную Европу, а на территории Северной Евразии распространены *L. sinapis* и самостоятельный вид, для которого валидно название *L. juvernica* Williams, 1946 [Dincă et al., 2011]. В соответствии с этим ниже для бабочек из Северной Евразии приводятся названия *L. sinapis* и *L. juvernica*, хотя в оригиналах цитированных статей, как правило, фигурируют *L. sinapis* и *L. reali*.

Следует отметить, что проблему их надёжной идентификации до настоящего времени нельзя считать полностью решённой. Анализ доступных авторам статьи конкретных количественных данных по этим видам [Embacher, 1996; Hauser, 1997; Cupedo, Hoen, 2006; Dincă et al., 2011] показывает, что длина эдеагуса и саккуса в разных географических популяциях может варьировать. Ситуация усугубляется тем, что

в многолетних выборках, содержащих, судя по принятым критериям, разные виды, иногда не прослеживается хиатус, причем даже при использовании относительных величин (индексов) [Hauser, 1997]. В целом это свидетельствует о высокой степени неоднородности рассматриваемых криптических видов и необходимости более детального исследования сибирских популяций.

Данные о *L. juvernica* на Алтае фрагментарны. Имеются лишь краткие указания о находках в окрестностях с. Шебалино [Большаков, 2005 (Bolshakov, 2005)] и верховьях Катуня [Kosterin, 2007]. Мало что дала в этом плане и последняя монографическая сводка по Алтаю [Tshikolovets et al., 2009], так как новые данные по этому виду в ней приводятся с пометкой «conditional». В сложившейся таксономической ситуации сведения о *L. sinapis* также требуют пересмотра.

Материалы и методы

Основой для исследования послужила выборка, включающая 51 самца из 6 локалитетов Алтая, условные названия которым даны по близлежащим населённым пунктам: Нижняя Ненинка, 18.06.1998 — 2♂♂, 03.07.1998 — 1♂, 25.07.1998 — 3♂♂; Сайдып, 3.06.1998 — 1♂, 26.07.1998 — 1♂; Кебезень, 26.05.1998 — 3♂♂, 20–21.07.1998 — 6♂♂, 1.08.1998 — 1♂; Горно-Алтайск, 8–16.05.2008 — 26♂♂; Купчегень, 15–22.07.2008 — 3♂♂; Акташ, 29.06.1996 — 4♂♂.

Для анализа морфологии генитального аппарата промерены признаки: A — длина эдеагуса; S — длина саккуса; U — длина ункуса; V — длина вальвы (рис. 1). На их основе вычислены соответствующие отношения (A/S, A/U, A/V, S/U, S/V, U/V). Все промеры сделаны с помощью винтового окуляр-микроскопа. Статистическую обработку осуществляли с помощью метода главных компонент и дискриминантного анализа [Электронный..., 1999 (Electronic ..., 1999)]. Оба метода в последнее время относительно широко применяются при изучении различных аспектов изменчивости дневных чешуекрылых [Tanaka, 1987; Wakeham-Dawson et al., 2003, 2004; Захарова и др., 2006 (Zakharova et al., 2006); Малков, Копылов, 2006 (Malkov, Kopylov, 2006); Малков и др., 2007 (Malkov et al., 2007); Копылов, Малков, 2012 (Kopylov, Malkov, 2012)], так как они позволяют сравнивать объекты по нескольким признакам одновременно. Для сравнительных целей задействованы опубликованные данные о размерах генитального аппарата в смешанных выборках *L. sinapis* и *L. juvernica*, полученные в Австрии из окрестностей городов Линц (n = 36) [Hauser, 1997] и Зальцбург (n = 69) [Embacher, 1996]. К сожалению, в первом литературном источнике отсутствуют сведения о длине ункуса, а во втором — ункуса и вальвы, поэтому многомерный анализ проведён только на авторских материалах.

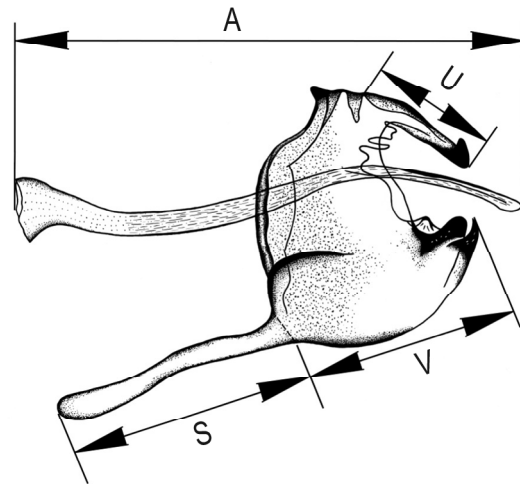


Рис. 1. Схема промеров генитального аппарата самцов *Leptidea*. A — длина эдеагуса; S — длина саккуса; U — длина ункуса; V — длина вальвы.

Fig. 1. Diagram of measurements made on male genitalia of *Leptidea* species. Legend: A — aedeagus, S — saccus, U — uncus, V — valve.

Результаты и обсуждение

Общее представление об изменчивости размеров генитальных структур самцов группы «*sinapis-juvernica*» даёт рис. 2. Из представленной диаграммы видно, что абсолютные размеры эдеагуса и саккуса при анализе смешанных выборок (то есть объединяющих экземпляры, собранные в разные годы в экологических различных условиях) не могут быть диагностически значимыми, поскольку хиатус не проявляется как в алтайской, так и австрийской серии. Обращает на себя внимание несовпадение интервалов изменчивости обоих признаков в сериях, то есть наличие в выборке из Алтая экземпляров с более миниатюрными частями генитального аппарата, а в выборке из Австрии — с более крупными. Однако выявленные значения не являются экстраординарными, поскольку бабочки с небольшими абсолютными размерами частей генитального аппарата также обнаружены, например, на территории Хорватии и Боснии [Lelo, 2002].

Нормирование величины эдеагуса и саккуса длиной вальвы (в неявной форме это происходит при определении «на глаз») приводит к выравниванию распределения алтайской и австрийской выборок (рис. 3). Иными словами среди алтайских бабочек присутствуют особи, совпадающие по конфигурации гениталий с наиболее крупными из австрийских экземпляров, равно как и среди австрийских встречаются особи, совпадающие по конфигурации гениталий с наименее крупными алтайскими. Однако при сопоставлении индексов (отношений) чёткого разрыва, как и при сравнении абсолютных величин, опять-таки не прослеживается, что не позволяет с их помощью однозначно определять бабочек как отно-

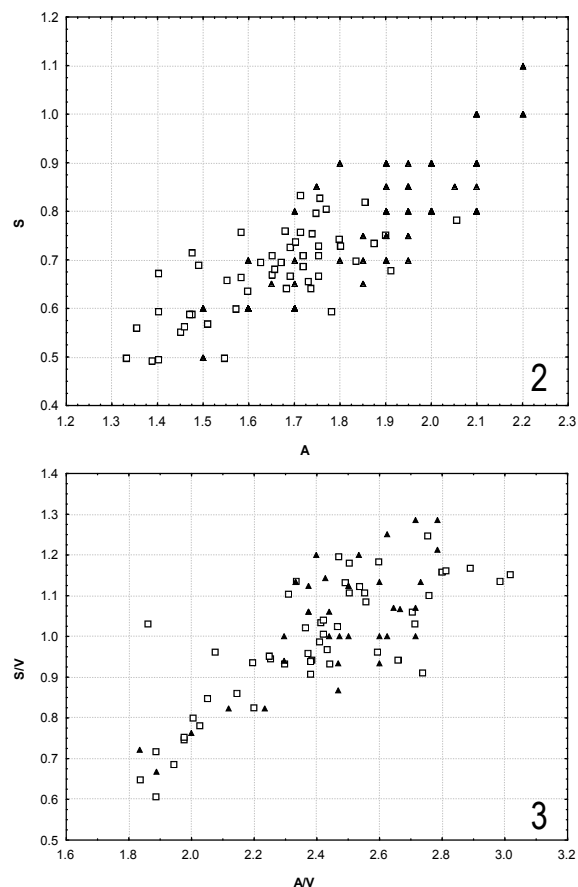


Рис. 2–3. Распределение бабочек группы «*sinapis*–*juvernica*» по длине (в мм) эдеагуса и саккуса (2) и в пространстве относительных величин A/V и S/V (3). Условные обозначения: треугольники — Австрия [Embacher, 1996; Hauser, 1997], прямоугольники — Алтай.

Figs 2–3. Distribution of the group of butterflies «*sinapis*–*juvernica*» for a length (mm) of aedeagus and saccus (2) and in space of relative values A/V and S/V (3). Legend: triangles — Austria [Embacher, 1996; Hauser, 1997], rectangles — Altai.

сящихся к *L. sinapis* или *L. juvernica*.

Лишь при включении в сферу анализа всего комплекса признаков в пространстве первой главной компоненты наличие двух морфологически обособленных групп в алтайской серии становится явным (рис. 4). Хиатус между группами обусловлен многомерным сочетанием признаков A, S, U, A/V, S/V, U/V, которые вносят значимый положительный вклад в первую компоненту (табл. 1). Соответственно экземпляры, расположенные в левой области этой компоненты, по совокупности вышеуказанных признаков отличаются существенно меньшими значениями, что с предметной точки зрения соответствует *L. sinapis*, экземпляры из правой области — *L. juvernica*.

Для оценки дистанции между видами и построения определительного ключа был применен дискриминантный анализ. Как было показано выше, абсолютные размеры структур генитального аппарата подвержены существенной изменчивости, тогда как их относитель-

ные величины остаются более постоянными. Поэтому вычисления проводили только по максимально информативным индексам A/V, S/V и U/V.

Дискриминантный анализ полностью подтвердил обоснованность такого разделения. Дистанция Махаланобиса D^2 между видами, предварительно выделенными методом главных компонент, составила 11,39 ($P < 0,001$) при 100 % корректности идентификации. Это можно считать хорошим результатом. К примеру, у бархатниц *Hipparchia semele* (Linnaeus, 1758) и *H. delattini* Kudrna, 1975 при сопоставлении параметров гениталий самцов дистанция несколько выше ($D^2 = 14,70$), но успешность идентификации только 94 % [Wakeham-Dawson et al., 2004].

В итоге построен следующий дискриминантный (определяющий) критерий, который можно использовать для более надёжной идентификации самцов исследованных видов:

$$y = -9,38 + 0,64(A/V) + 8,06(S/V) + 3,46(U/V).$$

Пороговая величина, относительно которой определяется принадлежность особи к тому или иному виду, равна единице (1,00). При получении значения меньше этой величины особь следует относить к *L. sinapis*, при большем значении — к *L. juvernica*.

В качестве примера определим особь из окрестностей Горно-Алтайска с параметрами A = 1,58, S = 0,67, U = 0,45, V = 0,70. Подставляем имеющиеся значения в дискриминантную функцию: $y = -9,38 + 0,64(1,58/0,70) + 8,06(0,67/0,70) + 3,46(0,45/0,70) = 2,00$.

Полученное значение выше пороговой величины, соответственно, данная особь относится к таксону *L. juvernica*, а не к *L. sinapis* как это можно было бы подумать исходя из первичных данных.

Как видим, реальная ситуация с различием самцов *L. sinapis* и *L. juvernica* несколько сложнее, чем это обычно излагается в определительных таблицах [напр., Lorković, 1993]. По отдельности ни один из признаков не может служить гарантированным диагностическим критерием, так как различия между рассматриваемыми видами проявляются только по комплексу характеристик. Биологический смысл предложенного нами критерия очевиден из его формулы — и эдеагус, и саккус и ункус проявляют тенденцию к большим длинам у *L. juvernica* по сравнению с *L. sinapis*, но не у всех особей эта тенденция проявляется в равной степени в каждой из этих структур, и только совокупный их учёт позволяет надёжно идентифицировать данные виды. Это может означать, что обособленность по типу «замка и ключа» [Maug, 1963] в данном случае оказывает незначительную роль в поддержании репродуктивной изоляции. Представления о различиях в биотопических предпочтениях и кормовых предпочтениях гусениц рассматриваемой группы видов также не находят фактического подтверждения [Friberg et al., 2008a; Friberg, Wiklund, 2009]. Судя по последним исследованиям в Европе, основной механизм их изоляции кроется в поведенческих и биохимических факторах [Friberg et al., 2008b]. Правда, в

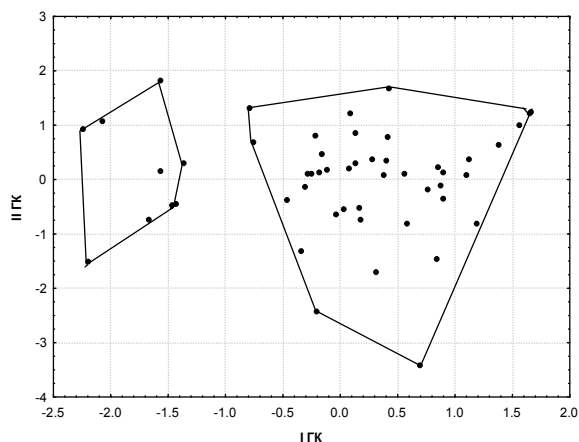


Рис. 4. Распределение бабочек группы «*sinapis–juvernica*» в пространстве I и II главных компонент.

Fig. 4. Distribution of the group of butterflies «*sinapis–juvernica*» in space I and II of principal component.

отдельных частях ареала тот или другой вид демонстрирует тенденцию к стенопопности, однако в целом нередки популяции, населяющие одну стацию и совпадающие по срокам лёта [Большаков, 2003 (Bolshakov, 2003); Костерин и др., 2007 (Kosterin et al., 2007); Ивонин и др., 2009 (Ivonin et al., 2009)]. Совместное обитание прослеживается и по нашим данным, в частности, оба вида отмечены на однородном участке остепнённого луга в окрестностях Горно-Алтайска. Вместе с тем, можно предварительно утверждать, что вид *L. juvernica* в условиях Алтая несколько лучше адаптирован к повышенной влажности, так как в наиболее гумидной Северо-Восточной провинции достоверно обнаружен пока только он.

Сопоставление морфологии крыльев показывает, что весенние экземпляры сравниваемых видов до некоторой степени отличаются и по внешним признакам. *L. juvernica* имеют чуть более вытянутое переднее крыло и слегка заостренный апекс, а также обычно более темную зеленовато-серую окраску низа заднего крыла. Это полностью согласуется с описанием бабочек из Новосибирской области [Ивонин и др., 2009 (Ivonin et al., 2009)]. Бабочки летней генерации *L. sinapis* и *L. juvernica* внешне практически не отличаются.

Приведённый диагностический критерий, основанный на многомерном статистическом анализе, позволяет осуществлять определение самцов *L. sinapis* и *L. juvernica* более надёжно.

Благодарности

Авторы выражают глубокую признательность О.Э. Костерину за ценные советы по улучшению содержания статьи.

Литература

- Bolshakov L.V. 2003. [*Leptidea reali* Reissinger, 1989 (Lepidoptera: Pieridae) — new species for the Medial Zone of European Russia] // Byulleten Moskovskogo obshchestva ispytatelei prirody. Otdel biologicheskii. Vol.108. No.5. P.18–22. [In Russian].
- Bolshakov L.V. 2005. [Variability and problems of intraspecific systematics of *Leptidea reali* Reissinger, 1989 (Lepidoptera: Pieridae) in European Russia and adjacent regions (with discussion of synonymy and new findings of some related species)] // Eversmannia. No.1. P.4–12. [In Russian].
- [Catalogue of the Lepidoptera of Russia]. 2008. Sinev S.Yu. (Ed.). SPb.-M.: KMK Scientific Press. 424 p. [In Russian].
- Cupedo F., Hoen F.W. 2006. *Leptidea sinapis* and *Leptidea reali* (Lepidoptera, Pieridae) in The Netherlands // Entomologische Berichten. No.66. No.4. P.118–123.
- Dincă V., Lukhtanov V.A., Talavera G., Roger V. 2011. Unexpected layers of cryptic diversity in wood white *Leptidea* butterflies // Nature Communications. No.324(2). P.1–8.
- Dubatulov V.V., Streltsov A.N., Sergeev M.G. 2005 [Fam. Pieridae] // Opredelitel nasekomyh Dalnego Vostoka Rossii. Vol.5. Ruchejniki i cheshuekrylye. No.5. Vladivostok: Dalnauka. P.207–234. [In Russian].
- [Electronic Statistic Textbook]. 1999. StatSoft Inc. <http://www.statsoft.ru/home/textbook/default.htm> [In Russian].
- Embacher G. 1996. Beitrag zur Verbreitung und Biologie von *Leptidea sinapis* (Linnaeus, 1758) und *L. reali* Reissinger, 1989 (Lepidoptera: Pieridae, Dismorphiinae) // Arbeitsgemeinschaft Österreichischer Entomologen. No.48. S.107–112.
- Friberg M., Bergman M., Kullberg J., Wahlberg N., Wiklund C. 2008a. Niche separation in space and time between two sympatric sister species — a case of ecological pleiotropy // Evolutionary Ecology. Vol.22. P.1–18.
- Friberg M., Vongvanich N., Borg-Karlson A.-K., Kemp D.J., Merilaita S., Wiklund C. 2008b. Female mate choice determines reproductive isolation between sympatric butterflies // Behavioral Ecology and Sociobiology. Vol.62. P.873–886.
- Friberg M., Wiklund C. 2009. Host plant preference and performance of the sibling species of butterflies *Leptidea sinapis* and *Leptidea reali*: a test of the trade-off hypothesis for food specialisation // Oecologia. Vol.159. P.127–137.
- Gorbunov P.Y. 2001. The butterflies of Russia: classification, genitalia, keys for identification (Lepidoptera: Hesperioidea and Papilionoidea). Ekaterinburg: Thesis. 320 p.
- Hauser E. 1997. *Leptidea sinapis* (Linnaeus, 1758) und *L. reali* Reissinger, 1989: zwei verschiedene Arten? (Lepidoptera, Pieridae) // Beitrage zur Naturkunde Oberosterreichs. No.5. S.65–75.
- Ivonin V.V., Kosterin O.E., Nikolaev S.L. 2009. [Butterflies (Lepidoptera, Diurna) of Novosibirsk Province, Russia 1. Hesperioidea, Papilionoidea, Pieridae] // Evraziatskii Entomologicheskii Zhurnal. Vol.8. No.1. P.85–104. [In Russian].
- Kopylov M.A., Malkov P.Yu. 2012. [Variability of the *Aporia crataegi* (Lepidoptera, Pieridae) Populations in Time and Regional Aspects] // Mir Nauki, Kul'tury, Obrazovaniya. No.6(37). P.486–490. [In Russian].
- Kosterin O.E. 2007. New data on butterfly fauna (Lepidoptera, Diurna) of the Katunskii mountain range (Central Altai) // Altajskii Zoologicheskii Zhurnal. Vol.1. P.24–34.
- Kosterin O.E., Sergeev M.G., Dubatulov V.V. 2007. [Butterflies (Lepidoptera, Diurna) of Akademgorodok] // Zhimulev I.F. (Ed.): Priroda Akademgorodka: 50 let spustya. Novosibirsk: SORAN Publishing House. P.105–133. [In Russian].
- Lelo S. (2002) Variation in exogenous and endogenous (genitalia) characteristics of butterflies of the species *Leptidea sinapis*

- Linnaeus, 1758 (Pieridae, Dismorphiinae) within populations from the area around Sarajevo // *Natura Croatica*. Vol.11. P.293–319.
- Lorkovič Z. 1993. *Leptidea reali* Reissinger, 1989 (= *lorkovicii* Reál, 1988), a new European species (Lepid., Pieridae) // *Natura Croatica*. No.2. P.1–26.
- Malkov P.Yu., Kopylov M.A. 2006. [Interpopulation differentiation of Black-Weined White Butterfly *Aporia crataegi* L. (Lepidoptera, Pieridae) in the Altai] // *Byulleten Operativnoj Nauchnoj Informacii «Vestnik TGU»*. No.107. P.47–53. [In Russian].
- Malkov P.Yu., Kopylov M.A., Lebedeva M.A., Malkov Yu.P. 2007. [Variation in populations of *Pontia daplidice* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera, Pieridae) in Russian Altai] // *Altajskij Zoologičeskij Zhurnal*. Vol.1. P.10–14. [In Russian].
- Mayr E. 1963. *Animal Species and Evolution*. Cambridge: Harvard University Press. 797 p.
- Sachanowicz K. 2013. Separation possibilities and genital measurement variations in two cryptic species of European pierid butterflies, *Leptidea juvernica* Williams, 1946 and *L. sinapis* (Linnaeus, 1758) // *Zoology*. Vol.116. P.215–223.
- Tanaka Y. 1987. Polygenic analyses on morphological characters of *Pieris rapae crucivora* (Pieridae: Lepidoptera). II. Phenotypic, genetic and environmental correlations // *Japanese Journal of Genetics*. Vol.62. P.59–67.
- Tshikolovets V.V., Yakovlev R.V., Kosterin O.E. 2009. The Butterflies of Altai, Sayans and Tuva (South Siberia). Kyiv–Pardubice. 374 p.
- Wakeham-Dawson A., Parker R., John E., Dennis R.L.H. 2003. Comparison of the male genitalia and androconia of *Pseudochazara anthelea acamanthis* (Rebel, 1916) from Cyprus, *Pseudochazara anthelea anthelea* (Hubner, 1924) from mainland Turkey and *Pseudochazara anthelea amalthea* (Frivaldsky, 1845) from mainland Greece (Nymphalidae, Satyrinae) // *Nota Lepidopterologica*. No.25(4). P.251–263.
- Wakeham-Dawson A., Jakšič P., Holloway J.D., Dennis R.L.H. 2004. Multivariate analysis of male genital structures in the *Hipparchia semele-muelleri-delattini* complex (Nymphalidae, Satyrinae) from the Balkans: how many taxa? // *Nota Lepidopterologica* No.27(2/3). P.103–124.
- Zakharova E.Yu., Kulakova O.I., Tatarinov A.G. 2006. [Geographic variability *Coenonympha tullia* (Muller, 1764) in the European North-East of Russia] // *Evrasijskij Entomologičeskij Zhurnal*. Vol.5(2). P.165–172. [In Russian].

Поступила в редакцию 3.2.2014