

Использование хромосомных признаков в интегративной таксономии и филогенетике паразитических перепончатокрылых (Hymenoptera)

Use of chromosomal characters in integrative taxonomy and phylogenetics of parasitoid Hymenoptera

В.Е. Гохман
V.E. Gokhman

Ботанический сад Московского государственного университета, Ленинские горы, 1/12, Москва 119234 Россия. E-mail: vegokhman@hotmail.com.

Botanical Garden, Moscow State University, Leninskie Gory 1/12, Moscow 119234 Russia.

Ключевые слова: хромосомы, кариотипы, интегративная таксономия, филогенетика, паразитические перепончатокрылые, наездники.

Key words: chromosomes, karyotypes, integrative taxonomy, phylogenetics, parasitoid Hymenoptera, parasitic wasps.

Резюме. Благодаря интенсивному накоплению данных о структуре кариотипа паразитических Hymenoptera, происходящему в последние годы, становится очевидным, что хромосомные признаки могут успешно применяться в интегративной таксономии этой группы, позволяя, в частности, выявлять криптические виды наездников. Более того, изменчивость структуры хромосомных наборов паразитических перепончатокрылых может не только интерпретироваться в филогенетическом аспекте, но и непосредственно использоваться для реконструкции их филогенеза.

Abstract. Due to an intensive accumulation of data on the karyotype structure of parasitoid Hymenoptera during recent years, the successful use of chromosomal characters in integrative taxonomy of this group, including detection of cryptic species of parasitic wasps, therefore becomes obvious. Moreover, structural variation of chromosome sets of parasitoid Hymenoptera can not only be interpreted in terms of phylogeny, but also used for phylogenetic reconstruction.

Введение

Паразитические перепончатокрылые, или наездники — весьма богатая видами таксономически сложная и практически важная группа насекомых. Хотя к настоящему времени уже описано более 80 тысяч видов паразитических Hymenoptera [Huber, 2017], в мировой фауне их, вероятно, насчитывается не менее миллиона [Quicke, 1997]. Многие наездники имеют существенное экономическое значение, поскольку они паразитируют на различных насекомых и других членистоногих, включая важнейших вредителей сельского и лесного хозяйства [Gauld, Bolton, 1988; Godfray, 1994]. Ныне исследованы хромосомные наборы около 500 видов паразитических перепончатокрылых [Gokhman, 2015a], что, таким образом, составляет всего порядка 0,05 % от их возможного числа. Тем не менее, имеющиеся данные

свидетельствуют о том, что изучение кариотипов наездников может быть успешно использовано для целей таксономии и филогенетики этой группы [Gokhman, 2009, 2015b]. Настоящая работа представляет собой краткий обзор исследований в указанной области, причём в этом обзоре особое внимание уделяется новым данным и обобщениям, полученным и опубликованным в последние годы.

Использование хромосомных признаков в интегративной таксономии наездников

Основные проблемы видовой таксономии паразитических перепончатокрылых прежде всего обусловлены относительно высокой степенью морфологического сходства между родственными видами, особенно по сравнению со многими другими группами насекомых [Gokhman, 2017]. Более того, эта ситуация в силу определённых причин зачастую усугубляется сложностью таксономической интерпретации различий между близкими формами наездников, особенно в случае их развития на разных хозяевах [Gokhman, 2016]. В подобных условиях необходимо использовать подходы интегративной таксономии, подразумевающие целенаправленное комплексное использование различных методов для определения границ между близкими видами [Radial et al., 2010; Schlick-Steiner et al., 2010]. Одним из таких методов является хромосомный анализ, поскольку особенности структуры кариотипа также можно рассматривать в качестве морфологических признаков, по крайней мере в широком смысле [Gokhman, 2017]. Кроме того, хромосомные признаки в основном дискретны и, следовательно, могут надёжно маркировать генетически изолированные формы [Gokhman, 2009]. Наконец, необходимость использования ука-

занных особенностей косвенно подтверждается резким ростом числа работ по видовой таксономии наездников, основанных на данных молекулярной генетики. Основное преимущество такого подхода, очевидно, заключается в том, что молекулярно-генетические признаки, как и хромосомные, не подвержены существенной модификационной изменчивости, которая заметно усложняет распознавание и разграничение близких видов [Gokhman, 2017].

К настоящему времени известно более двух десятков групп близких видов паразитических Нупенортега, различающихся по особенностям структуры кариотипа [Gokhman, 2009, 2016]. Полученные данные показывают, что использование методов анализа хромосомных наборов для целей таксономии наездников наиболее эффективно в группах с высоким уровнем межвидовых различий по хромосомным признакам, как, например, в семействах хальцид Aphelinidae, Encyrtidae, Eupelmidae и Eurytomidae [Gokhman, 2009]. В частности, обнаружено, что кариотипы двух популяций (точнее, криптических видов) *Encarsia sophia* (Girault et Dodd, 1915) (Aphelinidae) с одинаковыми хромосомными числами ($2n = 10$), обитающих в Испании и Пакистане, существенно различаются по центромерному индексу и относительной длине некоторых хромосом, а также по хромосомной локализации ядрышкового организатора [Giorgini, Baldanza, 2004]. Достоверные различия по величине центромерного индекса одной из хромосом также выявлены между афелинидами *Aphelinus hordei* Kurdjumov, 1913 и *A. kurdjumovi* Mercet, 1930, а также у обоих этих наездников по сравнению с остальными представителями комплекса *A. varipes* (Förster, 1841), для всех видов которого характерно $n = 4$ [Gokhman et al., 2017a]. Наконец, только что опубликованное интегративно-таксономическое исследование европейских наездников-эвпельмид, относящихся к подроду *Macroneura* рода *Eupelmus* [Fusu, 2017], продемонстрировало, что каждый из двух вновь описанных представителей этой группы, *Eu. barai* Fusu, 2017 и *Eu. vladimiri* Fusu, 2017, ранее соответственно смешивался с *Eu. vesicularis* Retzius, 1783 и *Eu. impennis* Nikol'skaya, 1952, хотя для первого из них характерно $2n = 12$, для последнего — $2n = 18$, а для остальных — $2n = 10$.

С другой стороны, использование хромосомного анализа для целей систематики паразитических перепончатокрылых возможно и в тех группах, где структура кариотипа ранее считалась сравнительно однообразной, в том числе в семействе Pteromalidae [Gokhman, 2015b]. В частности, оказалось, что под названием *Anisopteromalus calandrae* (Howard, 1881) скрываются два всеветно распространённых синантропных вида с различными хромосомными числами ($n = 5$ и 7), причём один из них, *A. quinarius* Gokhman et Baur, 2014, был описан как новый для науки [Baur et al., 2014]. Аналогично этому, в комплексе *Lariophagus distinguendus* (Förster, 1841) из того же семейства выявлены два близких вида, разли-

чающихся по числу хромосом ($n = 5$ и 6). В отличие от предыдущих, однако, эти виды при определённых условиях способны давать по крайней мере гибриды первого поколения, структура кариотипа которых является промежуточной по сравнению с хромосомными наборами родительских видов [Gokhman, 2016].

Примечательно, что молекулярно-генетические методы, которые, пожалуй, являются наиболее популярными среди всех современных методик, используемых в систематике наездников, в настоящее время всё ещё требуют заметно более существенных затрат времени и материальных средств, чем хромосомные исследования, по крайней мере на уровне обычной окраски хромосом [Gokhman, 2009]. Более того, особенности структуры кариотипа иногда позволяют более успешно разделять близкие виды паразитоидов, чем, например, такие сравнительно медленно эволюционирующие последовательности, как участок D2 28S рибосомной ДНК (рДНК) [Giorgini, Baldanza, 2004; Fusu, 2017].

Особенности структуры кариотипа и филогенетика паразитических перепончатокрылых

Переходя к вопросу об использовании хромосомных признаков для реконструкции филогенеза наездников, необходимо отметить, что возможности подобного использования без дополнительного привлечения сведений о морфологии, биологии и других особенностях паразитических перепончатокрылых сами по себе обычно ограничены таксонами небольшого объёма и относительно невысокого ранга (например, группами близких видов) [Gokhman, 2009]. Это прежде всего объясняется тем, что с увеличением объёма изучаемых таксонов заметно возрастает возможность гомоплазии по особенностям структуры кариотипа, т.е. по аналогичным хромосомным перестройкам, параллельно происходящим в различных филогенетических ветвях [Gokhman, 2009]; иными словами, такая ситуация представляет собой яркий пример так называемой девальвации признаков [Rasnitsyn, 2002].

Тем не менее, в настоящее время известен ряд примеров успешного использования хромосомных признаков для реконструкции филогении паразитических Нупенортега. Одним из таких примеров может служить филогенетическое древо некоторых эвритомид, паразитирующих на мухах-пестрокрылках семейства Tephritidae [Gokhman, Mikhailenko, 2008]. Так, для большинства наездников, относящихся к роду *Eurytoma* (Eurytomidae), характерно $n = 10$, однако у всех изученных видов, заражающих тегритид, число хромосом существенно ниже за счёт последовательных хромосомных слияний: $n = 7$, 6 и 5 у *Eu. robusta* Mayr 1878, *Eu. serratulae* (Fabricius, 1798) и *Eu. compressa* (Fabricius, 1794) соответственно. К тому же первый из этих видов является единственным иссле-

дованным представителем группы *robusta*, а два других — группы *compressa* (= *tibialis*) [Zerova, 2010], т.е. данные наездники обособлены от остальных изученных видов *Eurytoma* не только по структуре кариотипа, но и по совокупности морфологических и биологических особенностей. Таким образом, по крайней мере часть этих признаков (включая хромосомные слияния) можно рассматривать в качестве апоморфий, определяющих топологию полученного древа.

С другой стороны, особенности структуры кариотипа паразитических перепончатокрылых также могут быть использованы для решения обратной задачи, т.е. исследования эволюции хромосомных наборов этой группы с привлечением филогенетических реконструкций, построенных по морфологическим, молекулярно-генетическим и другим аналогичным признакам. Например, относительно низкое число хромосом ($n = 3-4$), очевидно, представляет собой синапоморфию двух семейств хальцид — Perilampidae и Eucharitidae [Gokhman, 2005; Santos et al., 2015], поскольку специалисты-систематики давно считают их сестринскими группами (см., например: [Gokhman, 2013]). Здесь необходимо отметить, что достоверность вышеуказанных эволюционных построений напрямую зависит от надёжности используемых филогенетических реконструкций. В частности, на видовом уровне нам удалось провести подобное исследование [Gokhman et al., 2017a] лишь тогда, когда в нашем распоряжении оказалось филогенетическое древо нескольких групп видов рода *Aphelinus*, построенное по результатам практически полного секвенирования генома данных видов. Более того, в данном случае сведения о структуре кариотипа этих наездников были дополнены информацией о размерах их геномов, полученной с использованием как методов цитометрии, так и геномного секвенирования.

Перспективным также представляется использование в филогенетическом анализе признаков наличия/утраты или хромосомной локализации ряда последовательностей ДНК. Среди таких признаков, например, можно назвать кластеры рДНК. Сравнительное исследование представителей различных семейств паразитических перепончатокрылых показало, что количество сайтов рДНК у этих насекомых варьирует от одного до шести в гаплоидном наборе и в целом изменяется пропорционально числу хромосом [Gokhman et al., 2014], хотя от этого правила существуют определённые отклонения. В частности, изменчивость по данному признаку (один или два кластера на гаплоидный кариотип) отмечена в пределах рода *Trichogramma* (Trichogrammatidae) [Gokhman et al., 2017b], для всех изученных представителей которого известно $n = 5$. Более того, когда количество этих сайтов было изучено с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) у трёх вышеуказанных видов рода *Eurytoma*, оказалось, что у *Eu. robusta* и *Eu. serratulae* с $n = 7$ и 6 выявлено по единственному кластеру рДНК на гаплоидный кариотип, а у *Eu. compressa* с $n = 5$ — два подобных

кластера [Gokhman et al., 2014].

Необходимо отметить, что, на первый взгляд, данные по сайтам рДНК у видов *Eurytoma* находятся в некотором противоречии с информацией, полученной по результатам обычной окраски хромосом. Дело здесь, однако, в том, что кластеры рДНК у *Eu. serratulae* и *Eu. robusta*, судя по всему, находятся на двух разных метацентрических хромосомах [Gokhman et al., 2014]. Оба эти сайта вместе с несущими их хромосомами, очевидно, представлены в кариотипе *Eu. compressa*, и, следовательно, такое состояние является анцестральным для обсуждаемой группы, а каждый из двух первых видов, видимо, в ходе эволюции утратил один из указанных кластеров.

Сайты рДНК у наездников под действием специфических флуорохромов обычно выявляются как области, интенсивно окрашиваемые хромомиицином A_3 , и при этом не окрашиваемые DAPI ($CMA_3^+/DAPI$), что свидетельствует о преобладании в их составе ДНК, обогащенной ГЦ-парами оснований (см., например: [Gokhman et al., 2016]). Интересно, что у подавляющего большинства изученных представителей семейства Eulophidae, как и у многих других хальцид, в гаплоидном наборе выявлен единственный кластер рДНК [Bolsheva et al., 2012], однако у *Trichospilus diatraeae* Cherian et Margabandhu, 1942 с $2n = 14$, обитающего в тропиках и субтропиках, $CMA_3^+/DAPI$ -сегменты выявлены в теломерных участках всех хромосом [Gokhman et al., 2017b].

Вероятно, достаточно перспективными признаками для использования в филогенетическом анализе отряда перепончатокрылых также являются особенности структуры последовательностей ДНК, расположенных в теломерах — концевых участках хромосом. Ещё не так давно казалось, что для всех представителей отряда Hymenoptera характерны теломерные повторы типа TTAGG [Frydrychová et al., 2004]. В действительности, вплоть до последних лет в указанном отношении были изучены только жалающие перепончатокрылые (Aculeata), причём лишь те из них, которые относятся к надсемействам Formicoidea и Apoidea, т.е. пчёлы и муравьи. В исследованиях автора, проведённых с помощью FISH, однако, было показано, что повторы указанного типа, видимо, отсутствуют у всех наездников [Gokhman et al., 2014]. Более того, мотивы типа $(TTAGG)_n$ не найдены и у остальных Aculeata, т.е. данные повторы, судя по всему, вообще не характерны по крайней мере для стебельчатобрюхих перепончатокрылых (Aroscrita) в целом, повторно возникая (вероятно, также независимо) у представителей Apoidea и Formicoidea [Menezes et al., 2017].

Заключение

Благодаря интенсивному накоплению данных о структуре кариотипа паразитических Hymenoptera, происходящему в последние годы [Gokhman, 2015b], становится очевидным, что хромосомные признаки

могут успешно применяться в интегративной таксономии этой группы, позволяя, в частности, выявлять криптические виды наездников [Gokhman, 2017]. Более того, изменчивость структуры хромосомных наборов паразитических перепончатокрылых может не только интерпретироваться в филогенетическом аспекте, но и непосредственно использоваться для реконструкции их филогенеза.

Благодарности

Данная работа частично поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований (15-04-07709).

Литература

- Baur H., Kranz-Baltensperger Y., Cruaud A., Rasplus J.-Y., Timokhov A.V., Gokhman V.E. 2014. Morphometric analysis and taxonomic revision of *Anisopteromalus* Ruschka (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) — an integrative approach // *Systematic Entomology*. Vol.39. No.4. P.691–709.
- Bolsheva N.L., Gokhman V.E., Muravenko O.V., Gumovsky A.V., Zelenin A.V. 2012. Comparative cytogenetic study on two species of the genus *Entedon* Dalman, 1820 (Hymenoptera: Eulophidae) using DNA-binding fluorochromes and molecular and immunofluorescent markers // *Comparative Cytogenetics*. Vol.6. No.1. P.79–92.
- Frydrychová R., Grossmann P., Trubac P., Vítková M., Marec F. 2004. Phylogenetic distribution of TTAGG telomeric repeats in insects // *Genome*. Vol.47. No.1. P.163–178.
- Fusu L. 2017. An integrative taxonomic study of European *Eupelmus* (*Macroneura*) (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eupelmidae), with a molecular and cytogenetic analysis of *Eupelmus* (*Macroneura*) *vesicularis*: several species hiding under one name for 240 years // *Zoological Journal of the Linnean Society*. Vol.181. P.519–603.
- The Hymenoptera. 1988. Gauld I., Bolton B. (Eds). Oxford: Oxford Univ. Press. XI + 332 p.
- Giorgini M., Baldanza F. 2004. Species status of two populations of *Encarsia sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera: Aphelinidae) native to different geographic areas // *Biological Control*. Vol.30. P.25–35.
- Godfray H.C.J. 1994. Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton: Princeton Univ. Press. XI + 475 p.
- Gokhman V.E. 2005. New chromosome records for the superfamily Chalcidoidea (Hymenoptera) // *Cytologia*. Vol.70. No.3. P.239–241.
- Gokhman V.E. 2009. Karyotypes of parasitic Hymenoptera. Dordrecht: Springer Science + Business Media B.V. XIII + 183 p.
- Gokhman V.E. 2013. Parallel pathways of karyotype evolution in the superfamily Chalcidoidea (Hymenoptera) // *Russian Entomological Journal*. Vol.22. No.3. P.177–179.
- Gokhman V.E. 2015a. Chromosomal analysis: an effective research tool in phylogenetics and taxonomy of parasitoid Hymenoptera // *Kavkazskii Entomologicheskii Byulleten*. Vol.11. No.1. P.71–73.
- Gokhman V.E. 2015b. Comparative karyology of parasitic Hymenoptera: between the past and the future // *Trudy Russkogo Entomologicheskogo Obshchestva*. Vol.86. No.2. P.31–40. [In Russian].
- Gokhman V.E. 2016. On some approaches for estimating local species richness of parasitoid Hymenoptera // *Evrasiatskii Entomologicheskii Zhurnal* (Euroasian Entomological Journal). Vol.15. Suppl.1. P.43–47.
- Gokhman V.E. 2017. Dimensions and borderlines of parasitoid Hymenoptera species: A paradigm shift? // *Zhurnal Obshchei Biologii*. Vol.78. No.5. P.37–45. [In Russian].
- Gokhman V.E., Anokhin B.A., Kuznetsova V.G. 2014. Distribution of 18S rDNA sites and absence of the canonical TTAGG insect telomeric repeat in parasitoid Hymenoptera // *Genetica*. Vol.142. No.4. P.317–322.
- Gokhman V.E., Bolsheva N.L., Govind S., Muravenko O.V. 2016. A comparative cytogenetic study of *Drosophila* parasitoids (Hymenoptera, Figitidae) using DNA-binding fluorochromes and FISH with 45S rDNA probe // *Genetica*. Vol.144. No.3. P.335–339.
- Gokhman V.E., Kuhn K.L., Woolley J.B., Hopper K.R. 2017a. Variation in genome size and karyotype among closely related aphid parasitoids (Hymenoptera, Aphelinidae) // *Comparative Cytogenetics*. Vol.11. No.1. P. 97–117.
- Gokhman V.E., Mikhailenko A.P. 2008. Karyotypic diversity in the subfamily Eurytominae (Hymenoptera: Eurytomidae) // *Folia biologica* (Kraków). Vol.56. No.3–4. P.209–212.
- Gokhman V.E., Pereira F.F., Costa M.A. 2017b. A cytogenetic study of three parasitic wasp species (Hymenoptera, Chalcidoidea, Eulophidae, Trichogrammatidae) from Brazil using chromosome morphometrics and base-specific fluorochrome staining // *Comparative Cytogenetics*. Vol.11. No.1. P.179–188.
- Huber J.T. 2017. Biodiversity of Hymenoptera // *Footitt R.G., Adler P.H. (Eds): Insect biodiversity: science and society*. 2nd edition. Oxford etc.: Wiley Blackwell. P.419–461.
- Menezes R.S.T., Bardella V.B., Cabral-de-Mello D.C., Lucena D.A.A., Almeida E.A.B. 2017. Are the TTAGG and TTAGGG telomeric repeats phylogenetically conserved in aculeate Hymenoptera? // *The Science of Nature*. Vol.104. Paper 85.
- Padial J.M., Miralles A., De la Riva I., Vences M. 2010. The integrative future of taxonomy // *Frontiers in Zoology*. Vol.7. Paper 16.
- Quicke D.L.J. 1997. Parasitic wasps. London: Chapman & Hall. XVII + 470 p.
- Rasnitsyn A.P. 2002. Evolutionary process and methodology of systematics // *Trudy Russkogo Entomologicheskogo Obshchestva*. Vol.73. P.1–108. [In Russian].
- Santos I.S., Delabie J.H.C., Costa M.A., Mariano C.S.F., Silva J.G. 2015. First description of the karyotype of a eucharitid wasp (Hymenoptera, Chalcidoidea, Eucharitidae) // *Comparative Cytogenetics*. Vol.9. No.4. P.607–612.
- Schlick-Steiner B.C., Steiner F.M., Seifert B., Stauffer C., Christian E., Crozier R.H. 2010. Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity // *Annual Review of Entomology*. Vol.55. P.421–438.
- Zerova M.D. 2010. Palaearctic species of the genus *Eurytoma* (Hymenoptera, Chalcidoidea, Eurytomidae): Morphological and biological peculiarities, trophical associations and key to determination // *Vestnik Zoologii*. Vol.24. P.1–203. [In Russian].

Поступила в редакцию 6.10.2017