RESEARCH ARTICLE UDC 595.789

Contribution to the systematics and nomenclature of the checkerspots of the group Melitaea minerva Staudinger, 1881 (Lepidoptera, Nymphalidae)

S.K. Korb

Russian Entomological Society, Nizhny Novgorod Branch P.O. Box 97, Nizhny Novgorod, 603009, Russia E-mail: stanislavkorb@list.ru

Wing pattern, male genitalia armatures and the COI-gene sequence within the checkerspots of the group *Melitaea minerva* are examined. The lectotypes of *M. asteroida variegata* and *M. asteroida maculata* are designated, it is shown that both taxa belong to *M. minerva* (subspecies of it), but not to *M. asteroida*. Basing on the DNA investigation (COI sequence) I made an assumption that the taxa *M. minerva* and *M. pallas* are conspecific. *M. solona* is not a separate species but forms a group of phenotypes characteristic for both *M. minerva* and *M. asteroida*. The male genitalia features are inapplicable for the species identification within the group *M. minerva*.

Key words: Nymphalidae, checkerspots, nomenclature, systematics, lectotypes, *Melitaea minerva, Melitaea asteroida*.

К систематике и номенклатуре шашечниц группы *Melitaea minerva* Staudinger, 1881 (Lepidoptera, Nymphalidae)

С.К. Корб

Русское энтомологическое общество, Нижегородское отделение а/я 97, Нижний Новгород, 603009, Россия E-mail: stanislavkorb@list.ru

Исследованы крыловой рисунок, строение гениталий самцов и последовательности СОІ шашечниц группы *Melitaea minerva*. Обозначены лектотипы *M. asteroida variegata* и *M. asteroida maculata*, показано, что оба таксона относятся к *M. minerva* как его подвиды, а не к *M. asteroida*. На основании исследования ДНК (последовательность СОІ) делается предположение о конспецифичности таксонов *M. minerva* и *M. pallas*. Таксон *M. solona* не является самостоятельным видом, а представляет сборную группу фенотипов, характерных как для *М. minerva*, так и для *М. asteroida*. Для идентификации видов внутри группы *М. minerva* признаки гениталий самцов непригодны.

Ключевые слова: нимфалиды, шашечницы, номенклатура, систематика, лектотипы, *Melitaea minerva, Melitaea asteroida*.

Введение

Шашечницы (*Melitaea* Fabricius, 1807) – один из наиболее обширных родов палеарктических нимфалид, состоящий, согласно новейшей ревизии (van Oorschot, Coutsis, 2014) и вышедших после нее работ (Korb, 2013, 2016; Korb et al., 2017; Lukhtanov, 2017; Pazhenkova et al., 2015), из 98 видов. Центром видового разнообразия рода является Средняя Азия – здесь зарегистрировано 32 представителя *Melitaea* (Korb, Bolshakov, 2016).

Внутри рода выделяется несколько групп видов (Higgins, 1941; van Oorschot, Coutsis, 2014). Наиболее сложными в таксономическом отношении считаются группы *M. didyma* (Esper, 1778) и *M. phoebe* (Denis et Schiffermüller, 1775) (van Oorschot, Coutsis, 2014). Виды группы *M. minerva* Staudinger 1881, которая, согласно H. Van Oorschot и J.G. Coutsis (2014) разделяется на две подгруппы: подгруппа *M. minerva*, включающая 4 вида, и подгруппа *M. sultanensis* Staudinger, 1886, также состоящая из 4 видов, встречаются в высокогорьях Средней Азии. В понимании К.А. Колесниченко, В.К. Тузова и С.В. Чуркина (Churkin et al., 2000; Kolesnichenko, Churkin, 2003), *M. minerva* и *М. asteroida* – отдельные группы видов шашечниц.

В системе С.В. Чуркина с соавторами (Churkin et al., 2000) группа *M. asteroida* состоит из 3 видов: *M. asteroida*, *M. solona* (Alphéraky, 1881) и *M. ludmilla* Churkin, Kolesnichenko et Tuzov, 2000. В 2013 г. систематика группы была ревизована (Korb, 2013); был сделан вывод о том, что в горах Средней Азии эта группа представлена единственным полиморфным видом, характерным отличием которого является небольшой шиповидный отросток на вентральной поверхности вальвы; старейшим пригодным названием для этого вида является *М. asteroida*. Однако статус некоторых описанных внутри этой группы таксонов до сих пор остается неясным; прояснению статуса этих таксонов посвящена настоящая работа.

Цель исследования

Дать оценку таксономического статуса и определить положение в системе описанных в составе *M. asteroida* в качестве вариаций таксонов *M. asteroida* var. *variegata* Staudinger, 1901 и *M. asteroida* var. *maculata* Staudinger, 1901. Провести оценку изменчивости внешних признаков и гениталий самцов внутри группы *M. minerva*, оценить статус установленных внутри группы видов, сделать предварительную оценку таксономического объема группы по внешним признакам, гениталиям самцов и анализу последовательности COI.

Материалы и методы исследований

С целью изучения индивидуальной изменчивости исследовано более 500 экземпляров из группы *М. minerva* из различных районов Тянь-Шаня; наиболее обширные серии – из Киргизского хр. (ущ. Чон-Куурчак) (102 экз., включающие *М. minerva* и *М. asteroida* в равных пропорциях) и с Таласского хр. (пер. Алабель, 98 экз., *М. asteroida*).

Изучен типовой материал всех таксонов группы *M. minerva*. Типовой материал таксонов этой группы хранится в следующих музеях: Museum für Naturkunde Leibniz-Institut für Evolutions- und Biodiversitätsforschung, Берлин, Германия (далее – ZMHU); Зоологический институт РАН, С.-Петербург, Россия (далее – ЗИН); Государственный Дарвиновский Музей, Москва, Россия (далее – ГДМ); Зоологический Музей Московского Университета, Москва, Россия (далее – ЗММУ).

Произведено секвенирование ДНК (последовательность COI) пяти экземпляров, определенных нами как *М. asteroida* (GWOTS544, GWOTS545) и *М. minerva* (KU358913, GWOTS555, GWOTS556). Использованы следующие последовательности гена COI из базы данных GenBank: FJ462270, FJ462268, FJ663802, FJ663803, FJ462263, FJ462284, FJ663804, FJ663805, FJ663806, относящиеся к таксонам *М. pallas, M. minerva, M. ludmilla, M. solona, M. sultanensis* Staudinger, 1886. Секвенирование производилось на базе проекта BOLD (Ratnasingham, Hebert, 2007) в University of Guelph, Канада.

Номенклатурная справка

[*Melitaea*] *asteroida* var. *variegata* Staudinger, 1901: 33. Типовое местонахождение: «Kuldja» (по лектотипу, см. ниже), «Thian. c. s. (Boro Choro)» (по оригинальному описанию).

Типовой материал. Лектотип *д*, *обозначается здесь*, с этикетками: рукописная (черной тушью) на белой бумаге «v. Variegata», печатная на фиолетовой бумаге «Origin.», рукописная (черной тушью) на коричневой бумаге «Kuldja | Rhbl. 84». Паралектотипы: 2 *д*, первый без географической этикетки, второй с этикеткой «Thibet | Boro Choro | 90 Gr. Gr.».

Место хранения типового материала: ZMHU.

[*Melitaea*] *asteroida* var. *maculata* Staudinger, 1901: 33. Типовое местонахождение: «Thian. or. (alpes prope Chamyl)» (по оригинальному описанию).

Типовой материал. Лектотип σ , обозначается здесь, с этикетками: рукописная (черной тушью) на белой бумаге «v. Maculata | Stgr.», печатная на фиолетовой бумаге «Origin.», рукописная (черной тушью) на коричневой бумаге «Than. or. | 96. Hbhr.». Паралектотипы: 2 \mathfrak{P} , без географических этикеток.

Место хранения типового материала: ZMHU.

Результаты и их обсуждение

Выяснено, что изменчивости подвержены все признаки крылового рисунка: размеры и конфигурация пятен и перевязей, их наличие или отсутствие. Внутри одной популяции обитают особи с крайними фенотипами и имеется весь спектр переходов между ними, например, черные перевязи на верхней стороне крыльев могут почти полностью отсутствовать (рисунок будет представлен только напылением из темных чешуек по жилкам), могут быть выражены полностью (полные ряды пятен в перевязях), могут быть выражены частично (выражены не все перевязи и не все пятна в них; наиболее часто встречающийся тип рисунка). Выделение подвидов по признакам крылового рисунка, с учетом его широкой вариабельности, выглядит неубедительно.

Гениталии самцов внутри группы *М. minerva* в целом весьма схожи (рис. 1–6), различаясь лишь длиной каудальных отростков вальвы: внутри подгруппы *М. minerva* каудальный отросток вальвы в целом длиннее и более тонкий (рис. 1–3), чем внутри подгруппы *М. asteroida* (рис. 4–6). По признакам гениталий самцов обе подгруппы скорее являются самостоятельными видами, чем подгруппами близких видов, поскольку других стабильных различий в строении гениталий, кроме обозначенной длины каудального отростка, нет. Отмечавшиеся некоторыми авторами небольшие различия в строении гениталий самцов (Churkin et al., 2000), послужившие диагностическими для описания *М. ludmilla*, не подтверждаются на серийном материале (исследованы гениталии 23 самцов).

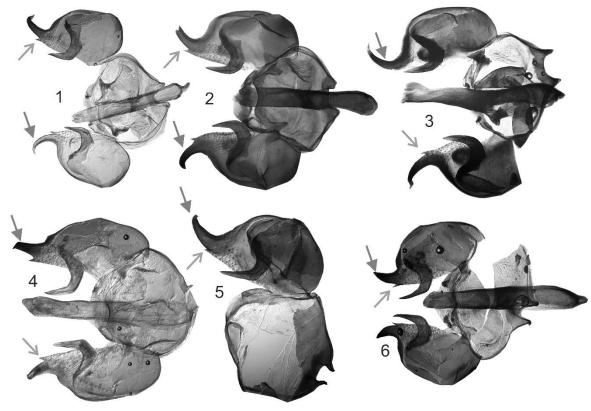


Рис. 1 – 6. Гениталии самцов *Melitaea*. 1: *M. minerva minerva*, лектотип. 2: *M. pallas*, лектотип. 3: *M. minerva palamedes*, хр. Заилийский Алатау. 4: *M. asteroida*, лектотип. 5: *M. asteroida ludmilla*, голотип. *M. asteroida uitasica*, лектотип.

Анализ последовательности СОІ (рис. 7) внутри группы *М. minerva* показывает, что все таксоны группы четко группируются в два кластера: кластер *М. minerva*, в который попадают таксоны *М. minerva*, *М. pallas, М. palamedes*, часть *М. solona*; кластер *М. asteroida*, в который попадают таксоны *М. asteroida*, *М. ludmilla* и часть *М. solona*; кластер *М. sultanensi* находится в базальном положении по отношению к двум другим кластерам, тем самым подтверждая правоту Л.Дж. Хиггинса (Higgins, 1941), включавшего *М. sultanensis* в общую с *М. minerva* группу, и опровергая выводы Х. ван Ооршота и Дж. Г. Кутсиса (van Oorschot, Coutsis, 2014), выделивших близкие к *М. sultanensis* виды в отдельную группу (здесь статус и положение группы *М. sultanensis* не рассматривается). Любопытно что вид, ранее идентифицировавшийся как *М. solona*, относится на кладограмме к двум видам: *М. minerva* и *М. asteroidan*, не формируя собственного кластера. Очевидно, что определить статус истинной *М. solona* можно только с привлечением типового материала и исследованием ДНК близкого к типовому материала; в

тематику этого исследования данная проблема не входит, поэтому обсуждать мы ее не будем. Однако важно отметить, что из ДНК-тестирования следует, что таксон *M. solona* не является самостоятельным видом, а представляет сборную группу фенотипов, характерных как для *M. minerva*, так и для *M. asteroida*.

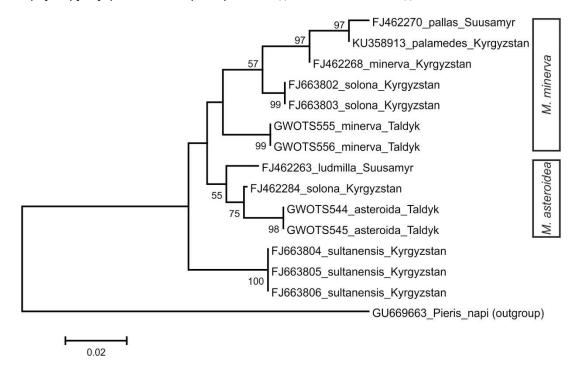


Рис. 7. Кладограмма филогенетических связей в группе М. *minerva*, последовательность COI. Метод максимального сходства, параметрическая модель Тамура-Неи, тест билогении бустрап-методом (10000 бутстрап-репликаций).

На кладограмме обращают на себя внимание большие дистанции между отдельными ветвями, явно относящимися к одному виду. Так, внутри клады *М. minerva* только между последовательностями FJ462270 (*М. pallas*), KU358913 (*М. minerva palamedes*) и FJ462268 (*М. minerva*) дистанции меньше «традиционных» для трактовки как отдельные виды 2% (Lambert et al., 2005); остальные дистанции составляют 3 и более процентов. Такая же ситуация наблюдается и в кладе *М. asteroida*: только дистанция между FJ462284 (*М. solona*) и FJ462263 (*М. ludmilla*) укладывается в 2%, остальные дистанции существенно больше (табл. 1).

Таблица 1 Попарное сходство последовательностей COI внутри группы M. *minerva*, рассчитанное на основе выровненной матрицы из 600 оснований

Nº	Проба ДНК	Значение меры сходства, р-дистанции, %												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	FJ462263_ludmilla_Suusamyr													
2	FJ462268_minerva_Kyrgyzstan	0,050												
3	FJ462270_pallas_Suusamyr	0,068	0,019	9										
4	FJ462284_solona_Kyrgyzstan	0,016	0,047	7 0,064										
5	FJ663802_solona_Kyrgyzstan	0,040	0,023	3 0,040	0,030									
6	FJ663803_solona_Kyrgyzstan	0,040	0,023	3 0,040	0,030	0,000								
7	FJ663804_sultanensis_Kyrgyzstan	0,043	0,053	3 0,057	0,040	0,043	0,043							
8	FJ663805_sultanensis_Kyrgyzstan	0,043	0,053	3 0,057	0,040	0,043	0,043	0,000)					
9	FJ663806_sultanensis_Kyrgyzstan	0,043	0,053	3 0,057	0,040	0,043	0,043	0,000	0,00	0				
10	GWOTS544_asteroida_Taldyk	0,030	0,06	0,071	0,013	0,043	0,043	0,043	0,04	3 0,04	3			
11	GWOTS545_asteroida_Taldyk	0,030	0,06	0,071	0,013	0,043	0,043	0,043	0,04	3 0,04	3 0,00	0		
12	GWOTS555_minerva_Taldyk	0,036	0,033	3 0,050	0,033	0,036	0,036	0,054	0,05	4 0,05	4 0,04	7 0,04	7	
13	GWOTS556_minerva_Taldyk	0,036	0,033	3 0,050	0,033	0,036	0,036	0,054	0,05	4 0,05	4 0,04	7 0,04	7 0,00	0
14	KU358913_minerva_palamedes_Kyrgyzstan	0,061	0,013	3 0,006	0,057	0,033	0,033	0,050	0,050	0,05	0 0,06	4 0,06	4 0,04	3 0,043

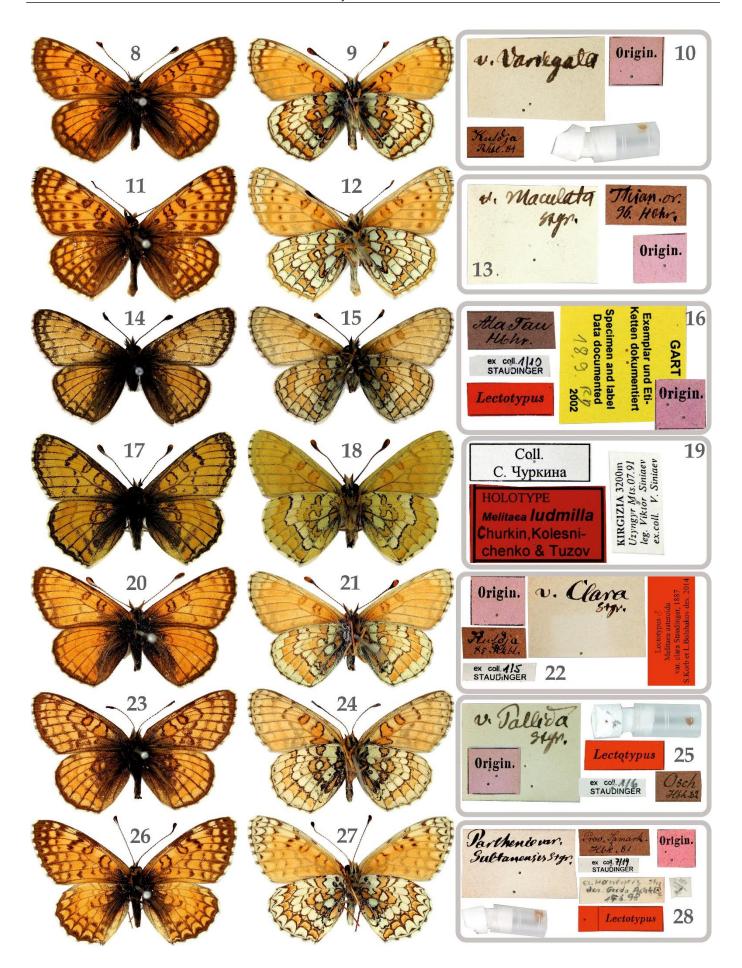


Рис. 8 – 28. Типовые экземпляры *Melitaea*, имаго. 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26 – вид сверху; 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27 – вид снизу; 10, 13, 16, 19, 22, 25, 28 – этикетки. 8 – 10: *M. sultanensis variegata*, лектотип. 11 – 13: *M. sultanensis maculata*, лектотип. 14 – 16: *M. asteroida asteroida*, лектотип. 17 – 19: *M. asteroida lidmilla*, голотип. 20 – 22: *M. asteroida clara*, лектотип. 23 – 25: *M. asteroida pallida*, лектотип. 26 – 28: *M. minerva*, лектотип.

Учитывая результаты ДНК-тестирования, можно заключить, что внутри группы *M. minerva* дистанции между пробами COI, достаточные для разграничения таксонов на уровне видов, должны составлять не менее 4%. Ранее (Pazhenkova et al., 2015) для группы *Melitaea didyma* уже отмечалось, что значения дистанций для видов этого рода достаточно велики (Е.А. Паженкова с соавторами вывели значение 3,9%, что очень близко к нашим 4,0%).

Исходя из исследования ДНК (последовательность COI), статус таксона palamedes ранее был установлен как подвид *М. minerva* (Korb et al., 2017); на основании исследования морфологии было доказано, что выделяемые внутри группы *М. asteroida* виды являются подвидами полиморфного *М. asteroida* (Korb, 2013). Последнее утверждение подтверждается результатами ДНК-тестирования, проведенными в настоящей работе (рис. 7). Статус таксона *М. pallas* нуждается в дополнительной проверке. Типовой материал *М. pallas* мало отличается от *М. minerva*, внешние различия видны только на серийном материале; различия в гениталиях самцов не выходят за границы изменчивости внутри *М. minerva*. Мы не располагаем достаточным количеством последовательностей СОІ надежно идентифицированной *М. pallas* для того, чтобы уверенно утверждать, что отмеченный уровень различий (менее 2%) реален, так как разброс р-дистанций (табл. 1) внутри одного вида достаточно велик. Для определения статуса и положения в системе этого таксона требуются дополнительные исследования.

Исходя из нашего исследования гениталий самцов внутри группы *М. minerva*, делаем заключение, что для видовой дифференциации гениталии внутри этой группы непригодны, или пригодны только с применением статистических методов, поскольку наше заключение «каудальный отросток вида *М. minerva* длиннее и тоньше, чем *М. asteroida*» требует статистического обоснования. Использование этого признака для идентификации видов, с учетом большого количества описанных форм, видится нам как минимум проблематичным.

Виды внутри группы *М. minerva* хорошо различаются по крыловому рисунку. *М. asteroida* на нижней поверхности переднего крыла в апикальной области не имеет белого, белесого или желтоватого поля (рис. 14–24), хорошо выраженного у *М. minerva* (рис. 8–13, 26–28).

По белому полю в апикальной области нижней поверхности переднего крыла (рис. 8–13)) оба рассматриваемых таксона, не смотря на внешнее сходство с *M. asteroida*, относятся к *M. minerva*. ДНК-пробы FJ663802 и FJ462268 представляют оба фенотипа (*maculata* и *variegata*) и ложатся в кластер *M. minerva*. На этом основании эти таксоны относятся к *M. minerva*.

Учитывая уровень различий по последовательности COI, считаем обоснованным выделение обоих этих таксонов в качестве самостоятельных подвидов *M. minerva*: *M. minerva variegata*, **stat.rev**., *M. minerva maculata*, **stat.rev**.

Таким образом, предположительно, на территории гор Средней Азии в группе *М. minerva* имеется только два широко распространенных полиморфных вида: *М. minerva* и *M. asteroida*.

Благодарности

Автор сердечно признателен В. Маю (Dr W. Mey, ZMHU), А.Л. Львовскому и С.Ю. Синеву (ЗИН), А.В. Свиридову (ЗММУ) за предоставление доступа к курируемым ими коллекциям. Автор благодарен коллективу лаборатории BOLD Systems (Guelph, Канада) за секвенирование проб ДНК.

Выводы

- 1. Обозначены лектотипы *M. asteroida variegata* и *M. asteroida maculata*.
- 2. Показано, что гениталии самца не являются надежным признаком для разделения видов внутри группы *М. minerva*.
- 3. Таксоны *M. asteroida variegata* и *M. asteroida maculata* переподчинены в качестве самостоятельных подвидов *M. minerva*. *M. minerva variegata*, **stat.rev.**, *M. minerva maculata*, **stat.rev**.
- 4. Предполагается, что таксон *M. pallas* является подвидом или формой *M. minerva*, для проверки этого предположения требуется дополнительное исследование.
- 5. Установлено, что в группе *М. minerva* для разделения на видовом уровне требуется значение р-дистанции по последовательности COI не менее 4%; это подтверждает аналогичные выводы, сделанные Е.А. Паженковой с соавторами.
- 6. Из ДНК-тестирования следует, что таксон *M. solona* не является самостоятельным видом, а представляет сборную группу фенотипов, характерных как для *M. minerva*, так и для *M. asteroida*.
- 7. Гениталии самцов внутри группы *М. minerva* не являются надежным признаком для идентификации видов.
- 8. Предполагается, что на территории гор Средней Азии в группе *M. minerva* имеется только два широко распространенных полиморфных вида: *M. minerva* и *M. asteroida*.

References

Churkin, S.V., Kolesnichenko, K.A., Tuzov, V.K. (2000). A review of the *Melitaea asteroida* species-group (Lepidoptera, Nymphalidae) with new taxa descriptions. Helios, 1, 61-87.

Higgins, L.G. (1941). An illustrated catalogue of the Palaearctic *Melitaea* (Lep. Rhopalocera). Transactions of the Royal Entomological Society of London, 91, 175-354. https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1941.tb01045.x

Kolesnichenko, K.A., Churkin, S.V. (2003). A review of the *Melitaea minerva* (Staudinger, 1881) species-group (Lepidoptera, Nymphalidae). Helios, 4, 301-341.

Korb, S.K. (2013). Butterflies (Lepidoptera: Papilionoformes) of North Tian-Shan. Part 2. Nymphalidae, Riodinidae, Lycaenidae. Eversmannia, Suppl. 4.

Korb, S.K. (2016). On the status of *Melitaea ala kotshubeji* Sheljuzhko, 1929, *Melitaea didyma enarea* Fruhstorfer, 1916 and *Melitaea enarea gromenkoi* Kolesnichenko, 1999 and the questions of the subspecies systematics inside of this group (Lepidoptera, Nymphalidae). Amurian zoological Journal, 8, 64-72.

Korb, S.K., Bolshakov, L.V. (2016). A systematic catalogue of butterflies of the former Soviet Union (Armenia, Azerbaijan, Belarus, Estonia, Georgia, Kyrgyzstan, Kazakhstan, Latvia, Lituania, Moldova, Russia, Tajikistan, Turkmenistan, Ukraine, Uzbekistan) with special account to their type specimens (Lepidoptera: Hesperioidea, Papilionoidea). Zootaxa, 4160, 324 p. https://doi.org/10.11646/zootaxa.4160.1.1

Korb, S.K., Fric, Z.F., Bartonova, A. (2017). On the status and position of *Melitaea minerva* var. palamedes Groum-Grshimaïlo, 1890 (Lepidoptera: Nymphalidae). SHILAP Revista de Lepidopterología, 45, 17-22.

Lambert, D.M., Baker, A., Huynen, L., Haddrath, O., Hebert, P.D.N., Millar, C.D. (2005). Is a largescale DNA-based inventory of ancient life possible? Journal of Heredity, 96, 279-284. https://doi.org/10.1093/jhered/esi035

Lukhtanov, V.A. (2017). A new species of Melitaea from Israel, with notes on taxonomy, cytogenetics, phylogeography and interspecific hybridization in the *Melitaea persea* complex (Lepidoptera, Nymphalidae). Comparative Cytogenetics, 11, 325-357.https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v11i2.12370

Pazhenkova, E.A., Zakharov, E.V., Lukhtanov, V.A. (2015). DNA barcoding reveals twelve lineages with properties of phylogenetic and biological species within *Melitaea didyma* sensu lato (Lepidoptera, Nymphalidae). ZooKeys, 538, 35-46. https://doi.org/10.3897/zookeys.538.6605

Ratnasingham, S., Hebert, P.D.N. (2007). BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). Molecular Ecology Notes, 7, 355-364. https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x

Van Oorschot, H., Coutsis, J.G. (2014). The genus *Melitaea Fabricius*, 1807 (Lepidoptera: Nymphalidae, Nymphalinae) Taxonomy and systematics with special reference to the male genitalia. Pardubice: Tshikolovets Publications.

Citation:

Korb S.K. (2019). Contribution to the systematics and nomenclature of the checkerspots of the group Melitaea minerva Staudinger, 1881 (Lepidoptera, Nymphalidae). *Acta Biologica Sibirica, 5* (3), 139-145.

Submitted: 10.08.2019. Accepted: 10.09.2019

cross^{ref} http://dx.doi.org/10.14258/abs.v5.i3.6535



© 2019 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).