

На правах рукописи

Эль Хашаш Арафа Элсайд Абд Эльалим

**ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ТРОФИЧЕСКИЕ СВЯЗИ DIPTERA,
ПАРАЗИТОВ ГЕМИПТЕРОИДНОГО КОМПЛЕКСА**

Специальность: 4.1.3. Агрохимия,
агрочвоведение, защита и карантин растений

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва 2022

Работа выполнена в агробиотехнологическом департаменте Аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (АТИ РУДН)

Научный руководитель:

кандидат биологических наук,
Научный сотрудник лаборатории №8
ФГБНУ Института проблем передачи
информации им. А.А. Харкевича РАН

Шестаков Лев Сергеевич

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук,
профессор, заведующий кафедрой
зоологии и паразитологии, ФГБОУ ВО
«Воронежский государственный университет»

Голуб Виктор Борисович

кандидат биологических наук,
младший научный сотрудник,
Лаборатория почвенной зоологии и общей энтомологии,
ФГБУН Институт проблем экологии и
эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук

Яцук Александра Алексеевна

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Всероссийский научно-исследовательский институт орошаемого земледелия» (г. Волгоград)

Защита диссертации состоится «26» декабря 2022 г. в 12-00 часов на заседании диссертационного совета ПДС 2021.002 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) по адресу: 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.8 корп.2, 423 аудитория

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке в УНИБЦ (Научной библиотеке) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) по адресу: 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.6 и на сайте <https://www.rudn.ru/science/dissovet>.

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета ПДС 2021.002
кандидат сельскохозяйственных наук

Введенский Валентин Валентинович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Паразитические мухи семейства Tachinidae являются одним из важных естественных факторов, ограничивающим численность многих насекомых - вредителей сельскохозяйственных культур. Поскольку многие виды являются полифагами, то их присутствие в биоценозе может быть фактором, препятствующим проникновению инвазивных видов вредителей в новые регионы. Знание трофических связей и таксономического состава паразитических двукрылых в разных регионах мира позволит прогнозировать возможность проникновения вредителей в новые регионы и предсказывать возникновение вспышек численности. Виды-полифаги, поражающие широкий спектр хозяев могут быть использованы для разработки экологически безопасных мер борьбы.

Степень разработанности темы.

Не смотря на широкую распространенность и значимость как энтомофагов Tachinidae систематика внутри таксона постоянно подвергается переработке и требует разработки дополнительных методов исследования. Сравнительный материал для молекулярных методов исследования стал доступен относительно недавно и в настоящий момент требуется уточнение какие маркеры могут быть наиболее перспективными для использования, а какие - наиболее консервативными. Изучение трофических связей в системе паразит-хозяин и взаимное влияние внутри этой системы, в частности, снижение паразитом экономического ущерба, причиняемого насекомыми-фитофагами активно развивающаяся область исследований. В связи с активным перемещением товаров, посадочного материала и готовой продукции сельскохозяйственных растений, а так же новыми методами культивирования в новых регионах многие виды Hemiptera, ранее не считавшиеся вредителями начинают наносить значительный экономический урон. В связи с этим изучение и сравнительный анализ фауны и биологии этих насекомых требует постоянной ревизии. Так в настоящем исследовании были обнаружены новые для египта таксоны надвидового ранга.

В последние год-два отмечается значительный исследовательский интерес к методам контроля численности вредителей, основанных на биологических подходах контроля численности. Разрабатываются методики изучения взаимоотношений вредителей и энтомофагов, как внутри агроценозов, так и в прилегающих стациях. Однако, изучение использования энтомофагами коммуникационных сигналов жертвы при поиске и распознавании, образовании скоплений и как метода контроля численности в основном остается за кадром. На некоторых видах псиллид и цикадок показано, что данные методы могут быть высокоэффективны в поле. Однако, работы по изучению роли вибрационных сигналов в системе Tachinidae-Pentatomidae, за исключением работ автора диссертации, в настоящее время отсутствуют.

Целью работы было изучить таксономический состав паразитических мух семейства Tachinidae (для оценки филогенетических отношений внутри семейства с использованием морфологических и молекулярных данных), уточнить таксономическое положение неоднозначных таксонов: Strongygaster, Thelaira, Goniini, Siphonini, Microphthama и Voriini). Изучить трофические и экологические связи с клопами-фитофагами. Оценить перспективы использования этих данных при разработке биологических мер борьбы и прогнозирования внедрения инвазивных видов вредителей на новые территории.

Для решения были поставлены следующие задачи:

1. Изучить таксономический состав Tachinidae паразитирующих на клопах-щитниках на территории России и Египта.
2. Изучить трофические и экологические связи Tachinidae и Pentatomidae в России на и Египте на примере комплекса видов паразитирующего на вредителях сои и кукурузы в этих регионах. Сопоставить списки видов для оценки возможной инвазии в новые регионы.
3. Оценить насколько эффективным барьером для инвазивных вредителей могут быть местные виды Tachinidae.
4. Оценить перспективы разработки безопасных методов защиты растений на основе полученных данных о экологии и коммуникации Tachinidae.
5. Провести экспериментальную проверку эффективности экологически безопасных методов контроля численности вредителей в поведенческих экспериментах в лабораторных условиях и оценить их эффективность.

Объект исследования.

На сегодняшний день в России при большом обороте сельскохозяйственной продукции, импорте посадочного материала и из-за смещения границ ареалов в связи с климатическими изменениями отмечаются новые случаи успешных инвазий новых видов клопов-вредителей, таких как мраморный клоп (*Halyomorpha halys*). Целью настоящего исследования было найти способы и методы оценки естественных барьерных механизмов, ранней диагностики в биоценозах и эффективные методы безопасного контроля численности, основанные на взаимодействии с естественными энтомофагами на примере Tachinidae.

Предмет исследования.

Новый материал полужесткокрылых - вредителей растений и их паразитов собран и проанализирован. Разработаны новые методы для идентификации и систематизации тахинид и контроля численности Hemiptera в период с 2018 по 2022 г.

Научная новизна работы:

- 1- Впервые проведено сравнительное филогенетическое исследование Египетской и Российской фауны тахинид. Использован совместный анализ на основе морфологических и молекулярных данных.
- 2- Впервые изучены поведенческие реакции, возникающие у мух на сигналы потенциальной жертвы. Показано, что сигналы жертвы повышают поисковую активность мух на растении и могут использоваться, как фактор привлечения энтомофагов на растение.
- 3- Впервые изучено влияние активности мух на поведение потенциальной жертвы. Полученные данные могут быть использованы для разработки нового типа ловушек и повышения эффективности уже имеющихся вариантов.

Теоретическая и практическая значимость работы:

- Результаты исследований вносят вклад в изучение биоразнообразия, поведения и филогенетических отношений Tachinidae.
- Изучение паразит-хозяинных отношений Tachinidae расширяет круг знаний о паразитарных системах, их составные элементы и функции.
- Выявление видов Tachinidae, перспективных в качестве энтомофагов некоторых вредителей из семейства Pentatomidae (отряда полужесткокрылых) (например, *Nezara viridula*), позволит более эффективно разрабатывать методы биологической защиты растений.
- Разработка безопасных методов контроля численности важна для развития как традиционных, так и новых методов защиты сельскохозяйственных растений.

Методология и методы исследования.

Для сбора живого материала применялись общепризнанные методы коллекционирования в различные типы стационарных ловушек (например ловушка Малеза). Для молекулярного анализа использовали последовательности гена COI (мт ДНК) как традиционный маркер для выявления филогенетических отношений в пределах семейства Tachinidae. Выравнивание последовательностей и анализ выполняли в программе MEGAX (Kumar et al., 2018) Матрица данных была построена с использованием Winclada v.1.00.08 (Nixon, 2002). Анализ проводился с помощью программы TNT v.1.1 (Goloboff и др., 2003). Для записи сигналов применяли лазерный виброметр PDV 100 (Polytec, Germany). Для регистрации акустической компоненты сигнала запись параллельно велась на акустический микрофон (4191, 1/2 inch; Bruel & Kjaer, Naerum, Denmark). Созданные на основе записанных сигналов стимулы предъявляли при помощи вибростенда 4810, (Bruel & Kjaer).

Положения, выносимые на защиту:

- Сравнительный анализ таксономического положения различных таксонов Tachinidae при помощи как традиционных морфологических, так и молекулярных методов.
- Изучение таксономического состава Tachinidae (Diptera), паразитирующих на Pentatomidae (Hemiptera) вредителях сои и кукурузы в России и Египте.
- Анализ трофических связей Tachinidae – Pentatomidae на примере видов из России и Египта.
- Влияние вибрационных сигналов полужесткокрылых на поведение Tachinidae.
- Изучение эффективности искусственных вибрационных стимулов для привлечения мух-энтомофагов на растения.
- Оценка перспектив использования коммуникационных сигналов Hemiptera при разработке приёмов биологической защиты растений от клопов-фитофагов.

Степень достоверности и апробация результатов.

Полученные результаты опубликованы в рецензируемых изданиях, включенных в списки ВАК, Scopus и др. Практические методы контроля численности опробованы в условиях *in vivo*. Результаты были апробированы на ряде конференций: Elhashash, A. "Phylogenetic Analysis of the Parasitoid Flies (Tachinidae, Diptera) based on Morphological Data." Теоретические и прикладные проблемы АПК, 2021, №4 (50). С. 44-47. ;Elhashash A.E. and Shestakov L. S. Outline of Classification of Tachinidae: Сборник статей. Том 1 Международная научная конференция молодых учёных и специалистов, посвящённая 160-летию В.А. Михельсона, Москва, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Июнь, 2020 г.– с. 18-20.; El-Hashash A.E. and Badrawy H.B.M. A Review of the Egyptian Species of the Genus *Nemestrinus* Latreille (Diptera, Nemestrinidae). Сборник Материалов XI Всероссийский диптерологический симпозиум (с международным участием). Воронеж, 24–29 августа 2020 г. С. 281-281.; Elhashash A.E. Taxonomic Structure of Family Tachinidae in Light Wiegth Molecular Studies. Международной научной конференции, посвященной 155-летию РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ВЫПУСК 293 (ЧАСТЬ IV), Москва 2021. 4 декабря 2020 г. С. 63-65.; Elhashash Arafa и Lev Shestakov. Cladistic Analysis Based On Morphological Data of Parasitoid Tachinid Flies (Tachinidae, Diptera). XIII Международная научно-практическая конференция молодых ученых «Инновационные процессы в сельском хозяйстве». Москва, РУДН. 22-23 Апреля 2021 г. С. 114-117.

Личный вклад автора. Диссертационная работа является результатом многолетних исследований автора (2018-2022 гг.). Автор участвовал в постановке проблемы,

формулировке цели и задач, в планировании и проведении исследований, в получении исходных данных, их анализе, обсуждении и обобщении, а также в разработке теоретических положений. Результаты апробированы автором а ряде конференций, и при подготовке публикаций.

Список литературы

Список литературы включает 129 источников, в основном на английском языке, включая исследовательские статьи, монографии, материалы конференций, онлайн и оффлайн ресурсы.

Апробация результатов.

Результаты работы опубликованы в 6 научных статьях 2 из которых представлено в международных базах данных (Scopus - 2.), 4 из них включены в список ВАК и базы данных РИНЦ, 5 оригинальных исследований представлено на научных конференциях (4-х международных и 1 всероссийской).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 121 страницах. Состоит из введения, основной части, содержащей 6 таблиц, 20 рисунков, заключения, списка литературы и приложения.

Благодарности

Автор благодарит коллектив агробиотехнического департаментна АТИ за большую помощь и поддержку в решении технических и административных вопросов, необходимых для проведения исследований, а так же за поддержку и ценные советы. Автор выражает признательность научному руководителю за консультации, предоставленные материалы и оборудование, а так же, помощь на всех этапах работы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Двукрылые семейства Tachinidae распространены всесветно и имеют важное значение как паразиты многих групп насекомых, поэтому изучение их экологии и систематики вызывает большой интерес у многих авторов. Все тахиниды являются паразитами насекомых и некоторых других групп животных. Приспособления к паразитизму внутри семейства настолько специфические, что для систематики тахинид использовались и данные о репродуктивных стратегиях самок (Herting, (1957). Различие экологических стратегий оставляет открытым ряд важных вопросов, связанных с разными стратегиями размножения. Например, на что ориентируются самки при откладке яиц: на само кормовое растение или на стимулы, оставляемые на растении потенциальным хозяином такие как феромоны, гидрокарбоны кутикулы, изменение химического состава растения при повреждении фитофагом или акустические и визуальные стимулы. Подобные данные могли бы быть использованы в следующих работах не только как дополнительные признаки для различения близких таксонов, но и в практических целях. Ответы на эти вопросы во многом остаются неизвестными.

В настоящее время традиционные методы мониторинга и контроля численности вредителей становятся менее эффективными. При длительном применении инсектицидов насекомые могут вырабатывать к ним устойчивость и их приходится применять в более высоких концентрациях, что сказывается на качестве и безопасности продукции. Существует мнение, что продукция, произведенная с применением большого количества пестицидов может служить одной из причин возросшего количества онкологических заболеваний и аллергических реакций. Многие виды тахинид успешно использовались в качестве агентов биологической борьбы для сокращения популяций инвазивных насекомых (Greathead, 1986; Stireman, 2002b; Stireman and Singer, 2003). Основными хозяевами Phasiinae являются клопы, многие из которых являются экономически значимыми вредителями. Есть данные, что фазиины также могут атаковать инвазивных вредителей таких как *Halyomorpha halys*, (Aldrich et al. 2006) и *Megacopta cribraria* (Golec et al. 2015). Некоторые авторы считают, что многие фазиины более чувствительны к сигналам своего хозяина, чем сами хозяева (Aldrich et al, 1989).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ МЕТОДЫ

2.1. Морфологический Анализ

Сбор живого материала был необходим для получения репрезентативной выборки видов из четырех подсемейств (Dexiinae, Exoristinae, Phasinae, Tachininae) и 30 родов в 20 трибах. (всего было проанализировано 126 экземпляров) Всего было использовано 42 таксона: 40 видов для внутригруппового сравнения и два как внешние группы: Calliphoridae (один вид), Polleniidae (один вид).

Методики сбора: ручной сбор при помощи энтомологического сачка, сбор в стационарные ловушки (ловушка Малеза, ловушки с фиксирующей жидкостью). Выведение мух из зараженных особей клопов, собранных на растениях.

Регионы сбора: Россия (Московская область) (Серпухов, 54.885697° N, 37.511053° E) (Всходы, 54.9745° N, 37.5444° E) (Данки, 54.915668, 37.568996) с июня по конец августа 2020 г.г., Египет (Ашмун, Монофия, 30.3059° N, 31.1021° E) октябрь - ноябрь 2020 г., Панама (17. Май, 2019, Nueva California (8°50'45.7"N,82°41'25.8"W) (Табл. 1).

Для сравнительного таксономического анализа на взрослых особях был отобран 121 морфологический признак (на основе предыдущих филогенетических исследований и данных автора). Все признаки считались неупорядоченными (Fitch, 1971). Матрица данных была построена с использованием Winclada v.1.00.08 (Nixon, 2002). Анализ проводился с помощью программы TNT v.1.1 (Goloboff и др., 2003).

2.2. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ:

Для молекулярного анализа использовали последовательности гена COI (мт ДНК) как традиционный маркер для выявления филогенетических отношений в пределах семейства Tachinidae. (Табл. 1). 73 нуклеотидные последовательности были взяты из базы NCBI. Выравнивание последовательностей и анализ выполняли в программе MEGAX (Kumar et al., 2018).

2.3. Трофические связи (Tachinidae-Pentatomidae):

Образцы Pentatomidae были собраны методом кошения энтомологическим сачком и вручную на посадках сельскохозяйственных культур (сои и кукурузы). Для изучения трофических взаимоотношений (Tachinidae-Heteroptera) (паразит-хозяин) было собрано 54 экземпляра клопов из Египта (14 образцов) и России (40 образцов). (Табл.2).

Зараженных личинок выращивали в лаборатории до момента выхода паразитоида. Для выкармливания использовали кормовое растение на котором были собраны насекомые. Каждую инфицированную особь Heteroptera мы помещали в небольшие контейнеры с веточкой кормового растения и ежедневно проверяли. Клопов из которых были выведены паразитические двукрылые сохраняли в коллекции для идентификации.

Взрослых тахинид фиксировали в этилацетате и готовили к идентификации. Паразитические двукрылые были идентифицированы с использованием определителей (Tschorsnig and Herting, 1994, Tschorsnig and Richter, 1998), часть видов Heteroptera была идентифицированы Шестаковым Л. С.

Кроме того, было отмечено количество зараженных клопов и общее количество клопов каждого вида для расчета уровня паразитизма.

2.4. Коммуникация и ориентация в системе паразит-хозяин.

Для изучения коммуникации в системе Tachinidae-Pentatomidae мы использовали разработанную ранее методику записи и анализа коммуникационных сигналов насекомых и разработки искусственных стимулов.

Таблица 1. Список таксонов, включенных в филогенез

Семейство	Подсемейство	Триба	Род	Вид номера	Место сбора
Tachinidae	Dexiinae	Dexiini	<i>Estheria</i>	1 вид	Россия, Данки
Tachinidae	Dexiinae	Dufouriini	<i>Rondania</i>	2 вида	Россия, Данки
Tachinidae	Dexiinae	Voriini	<i>Athrycia</i>	2 вид	Россия, Серпухов
Tachinidae	Dexiinae	Voriini	<i>Thelaira</i>	1 вид	Россия, Вскоды
Tachinidae	Dexiinae	Voriini	<i>Voria</i>	1 вид	Россия, Вскоды
Tachinidae	Exoristinae	Blondelliini	<i>Admontia</i>	1 вид	Россия, Серпухов
Tachinidae	Exoristinae	Eryciini	<i>Bactromyia</i>	1 вид	Россия, Серпухов
Tachinidae	Exoristinae	Eryciini	<i>Prooppia</i>	1 вид	Россия, Вскоды
Tachinidae	Exoristinae	Eryciini	<i>Drino</i>	1 вид	Египет, Монофия
Tachinidae	Exoristinae	Goniini	<i>Elodia</i>	1 вид	Россия, Вскоды
Tachinidae	Phasiinae	Cylindromyiini	<i>Cylindromyia</i>	2 вида	Россия, Вскоды и Египет, Монофия
Tachinidae	Phasiinae	Gymnosomatini	<i>Gymnosoma</i>	1 вид	Россия, Вскоды
Tachinidae	Phasiinae	Gymnosomatini	<i>Ectophasia</i>	1 вид	Россия, Вскоды
Tachinidae	Phasiinae	Phasiini	<i>Phasia</i>	2 вида	Россия, Вскоды
Tachinidae	Phasiinae	Leucostomatini	<i>Leucostoma</i>	3 вида	Россия, Данки и Египет, Монофия
Tachinidae	Tachininae	Macquartini	<i>Macquartia</i>	2 вида	Россия, Данки, Египет.
Tachinidae	Tachininae	Minthoini	<i>Mintho</i>	1 вид	Египет, Монофия
Tachinidae	Tachininae	Nemoraeni	<i>Nemoraea</i>	1 вид	Россия, Вскоды
Tachinidae	Tachininae	Siphonini	<i>Goniocera</i>	1 вид	Россия, Серпухов
Tachinidae	Tachininae	Siphonini	<i>Peribaea</i>	1 вид	Россия, Данки И Египет, Монофия
Tachinidae	Tachininae	Siphonini	<i>Siphona</i>	1 вид	Россия, Серпухов
Tachinidae	Tachininae	Siphonini	<i>Actia</i>	1 вид	Россия, Данки
Tachinidae	Tachininae	Loewiini	<i>Loewia</i>	1 вид	Россия, Серпухов
Tachinidae	Tachininae	Ernestini	<i>Synactia?</i>	1 вид	Россия, Данки
Tachinidae	Tachininae	Leskini	<i>Bithia</i>	2 вида	Россия, Серпухов
Tachinidae	Tachininae	Strongygastrini	<i>Strongygaster</i>	1 вид	Россия, Вскоды
Tachinidae	Tachininae	Tachinini	<i>Nowickia</i>	2 вида	Россия, Вскоды
Tachinidae	Tachininae	Tachinini	<i>Unidentified</i>	1 вид	Панама, Nueva California
Tachinidae	Tachininae	Megaprosopini	<i>Dexiosoma</i>	1 вид	Россия, Серпухов
Tachinidae	Tachininae	Megaprosopini	<i>Microphthalma</i> нов. регис.	2 вида	Египет, Монофия

Таблица 2. Количество и места сбора Pentatomidae, зараженных Tachinidae

Вид	Количество	Регион сбора	Дата сбора	Тип с/х культуры
<i>Nezara viridula</i>	14	Египет (Монофия)	Июль	кукуруза
<i>Dolycoris baccarum</i>	21	Россия (Рязанская область)	Июнь и Август	соя
<i>Aelia acuminata</i>	19	Россия (Рязанская область)	Июнь и Август	соя

Для записи сигналов применяли лазерный виброметр PDV 100 (Polytec, Germany). Портативный лазерный виброметр PDV 100 разработан в том числе и для регистрации низкоамплитудных вибраций живых объектов. Его преимущества, заявленные производителем, по сравнению с другими типами датчиков: минимальное влияние на объект, высокая защита от помех; возможность измерять механические колебания сложной формы на больших расстояниях от объекта измерения (до 100 м, в реальном применении - несколько метров); отсутствие искажения сигнала в зависимости от параметров внешней среды (Л.С. Шестаков, А. Эль Хашаш, 2020 г.; Л.С. Шестаков, А. Эль Хашаш, 2021 г.).

Однако, в некоторых условиях лазерный виброметр использовать затруднительно, например для записи сигналов в густом переплетении растений или при плохих погодных условиях в полевых условиях. В таких случаях применяли головку звукоснимателя ГЗК-661. При этом лазерный виброметр нужен для анализа количественных характеристик сигналов, что необходимо для дальнейшей разработки тестовых стимулов.

Для регистрации акустической компоненты сигнала запись параллельно велась на акустический микрофон (4191, 1/2 inch; Bruel & Kjaer, Naerum, Denmark), расположенный на расстоянии до 10 см от насекомых. Частота дискретизации сигнала во всех случаях 44.1 кГц. Измерение параметров сигналов проводилось в программе CoolEdit (США, Syntrillium).

Созданные на основе записанных сигналов стимулы предъявляли при помощи вибростенда 4810, (Bruel & Kjaer) (рис. 1). Эта модель вибростенда может генерировать сложный сигнал в частотном диапазоне от 0 Гц до 18 кГц, что полностью покрывает частотный диапазон вибраций насекомых.

Видеотипирование поведения во время экспериментов проводилось на: видеокамеру Sony HDR-CX405 и системную камеру Sony Alpha Nex-3N + макрообъектив Sony SEL 30M35.

Для содержания культуры насекомых использовались террариумы Hagen EhoTerra 30x30x45см. В качестве грунта использовали обеззараженную в течении 5 минут при температуре 90 градусов кокосовую стружку. Температура во время содержания 24-26 С.



Рисунок 1 – Методика регистрации сигналов и стимуляции модельными стимулами.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Морфологический Анализ

На основе морфологических данных была восстановлена монофилия семейства Tachinidae (клада А) (рис. 2) на основе нескольких синапоморфий (ариста голая; анатергит голый; подскутуллум сильно выпуклый).

Все подсемейства являются монофилетическими группами (Dexiinae, Exoristinae, Phasinae), кроме параполифилетических Tachininae. Подсемейства сгруппированы как [(Phasiinae + Dexiinae) + Exoristinae] (клада G) + Tachininae (клада F, кроме вида *Admontia* sp.). Phasiinae (клада O) единственное подсемейство, все трибы и роды которого являются монофилетическими группами, кроме Phasiini (представитель рода *Phasia*).

В результате морфологического исследования впервые в Египте зарегистрировано триба Megaprosopini, род *Microphthalma*, по видам *Microphthalma europaea* Egger, 1966 (Diptera: Tachinidae: Tachininae)

Вид диагноза: Волоски на щеках черные (рис. 3. (B)); ноги черные с желтыми голенями (рис. 10 (D)); с 4 плечевыми (постпронотальными) щетинками рис. 3. (A), 3 акростихальными (acr) щетинками перед швом, 4 дорсоцентральными (dc) щетинками за швом (рисунок) и короткой преалярной щетиной (рис. 3. (A)). (Tschorsnig and Herting, 1994).

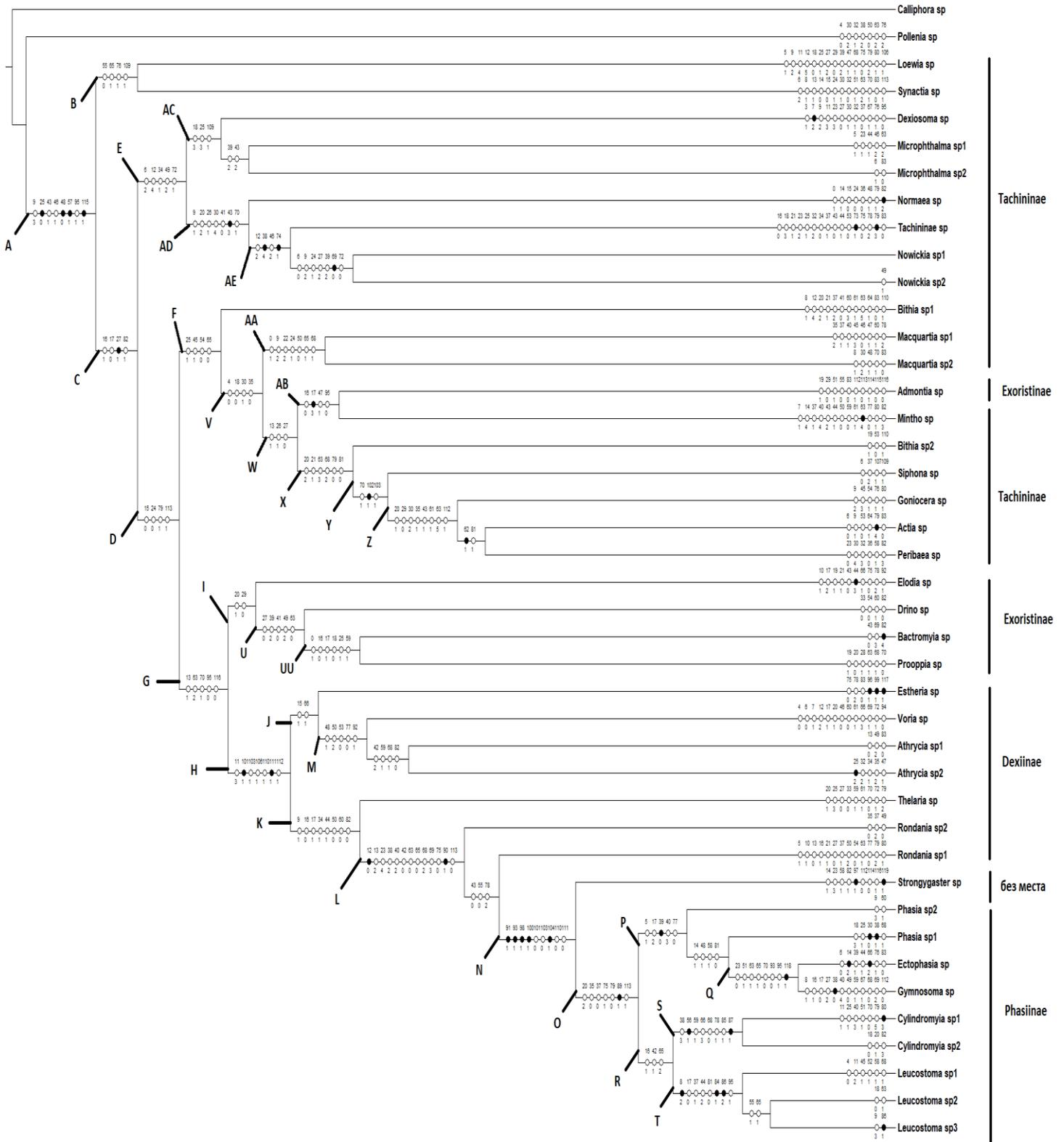
Исследованные материалы: Монофия (Египет) (2 ♂♂ и 2 ♀♀). (Хранится в частной коллекции Эль Хашаша).

Хозяева: различные Scarabaeidae (например, роды *Amphimallon*, *Cetonia*, *Melolontha*, *Oryctes*, *Polyphylla*) (Tschorsnig and Herting, 1994; Tschorsnig, 2017).

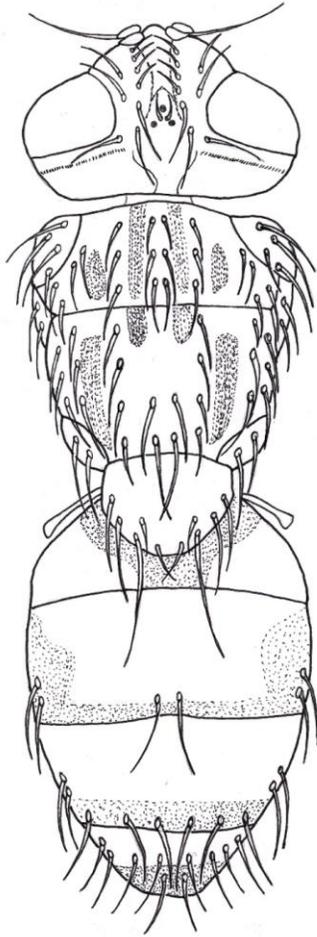
Считается естественным врагом *Amphimallon majale*, *Anisoplia austriaca*, *Cetonia aurata*, *Heteronychus arator* и *Melolontha melolontha*.

Тахиниды - важная группа паразитоидов на личиночной стадии, и все их хозяева принадлежат к членистоногим, почти исключительно к другим насекомым, включая важных насекомых-вредителей в сельском и лесном хозяйстве. Таким образом, в Египте было зарегистрировано 73 вида тахинид, принадлежащих к 42 родам, 15 трибам и 4 подсемействам (Steyskal and El-Bialy, 1967; Fathy Negm, 1989) (неопубликованная докторская диссертация); Elhawagry, 2018). В нашем исследовании мы обнаружили новый для Египта вид - *Microphthalma europaea* (Tachininae: Megaprosopini). Представители этого рода и трибы описаны для Египта впервые.

Рисунок 2 – Кладограмма, построенная с помощью метода МР (Maximum Parsimony). В качестве внешней группы взяты *Pollenia sp.* и *Calliphora sp.*. На ветвях – белые круги гомоплазические признаки, а черные круги аутапоморфные признаки.



A



B

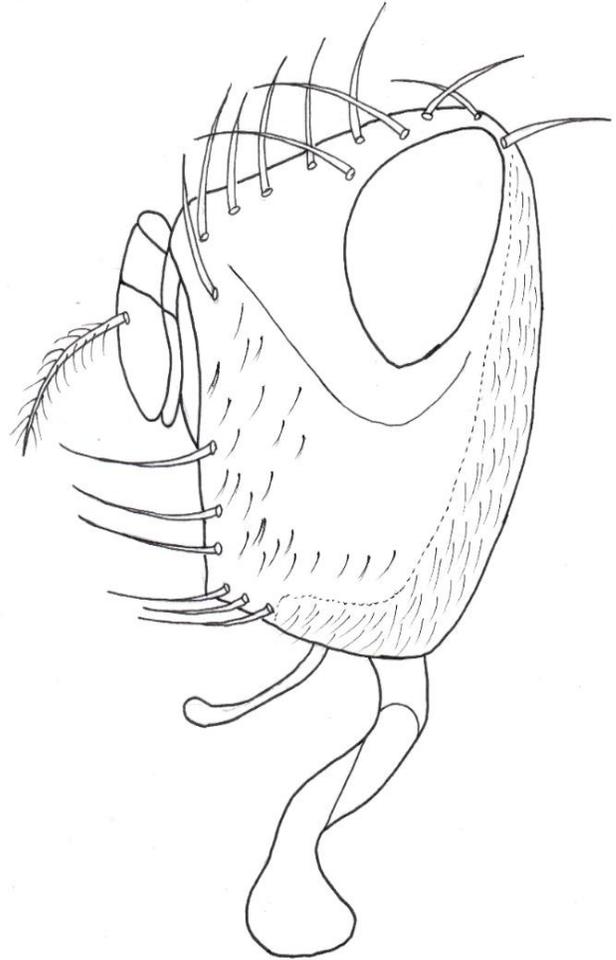


Рисунок 3 – *Microphthalma europa*: (А) Габитус самка; (В) Голова

3.2. Молекулярный Анализ

1- В отличие от всех филогенетических исследований, проведенных ранее, мы обнаружили, что Phasiinae сгруппированы как сестринская группа с частью Tachininae.

2- В обоих анализах (ML и NJ) (рис. 4, 5) с использованием гена COI все подсемейства являются полипарафилетическими, за исключением Phasiinae. Большинство триб, использованных в этом исследовании, являются монофилетическими, а *Cylindromyini* и вид *Gymnosoma nudifrons* находятся за пределами фазииновой клады.

Однако мы использовали несколько таксонов для рода и каждой трибы, но заметили, что использование гена COI не позволяет восстановить (выявить) подсемейства как монофилетические. Между тем, тот же маркер (COI) показал, что большинство родов и триб являются монофилетическими группами (рис. 4, 5):
Трибы: Siphonini, Megaprosopini, Strongygasterini, Leucostomatini, Macquartini, Tachinini (*Nowickia*), Phasiini, Cylindromyini.

Роды: *Macquartia*, *Nowickia*, *Siphona*, *Peribaea*_, *Leucostoma*, *Cylindromyia*, *Phasia*, *Microphthalma*, *Strongygaster*, *Admontia*_, *Bithia*, *Leowia*.

Будущие работы, изучающие высшие таксоны тахинид, выиграют от наличия дополнительных таксонов и большего количества новых и информативных генов и сочетания с морфологическими признаками. Будущие исследования могут включать реклассификацию Tachininae в монофилетические группы.

Некоторые гены генерируют лучшую информацию (CAD, LGL, MAC, MCS), чем другие (COI, 18S, 28S, EF1 α), и это должно повлиять на выбор генов для использования в будущем.

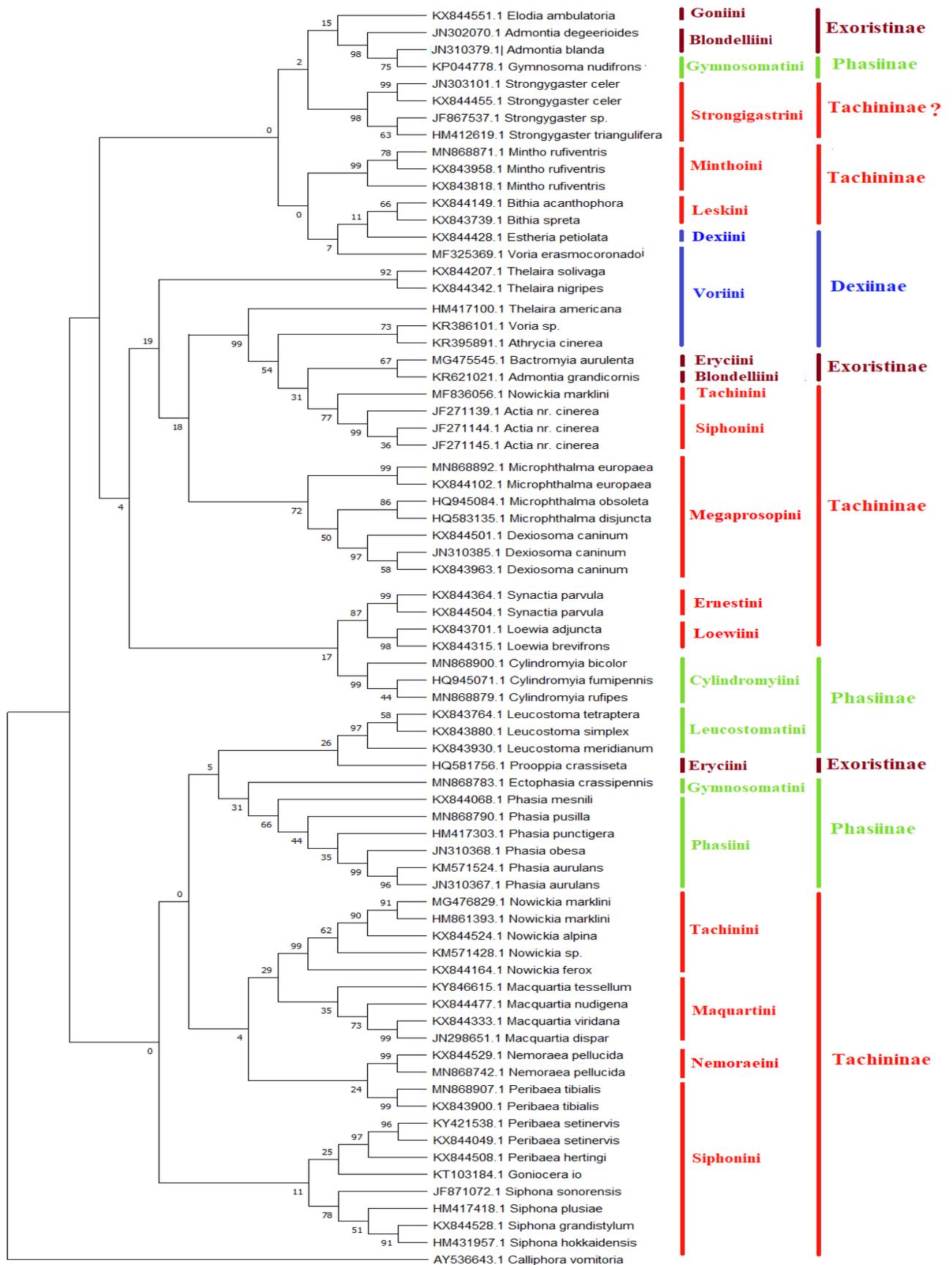


Рисунок 4 – Кладограмма, построенная с помощью метода Maximum-likelihood.

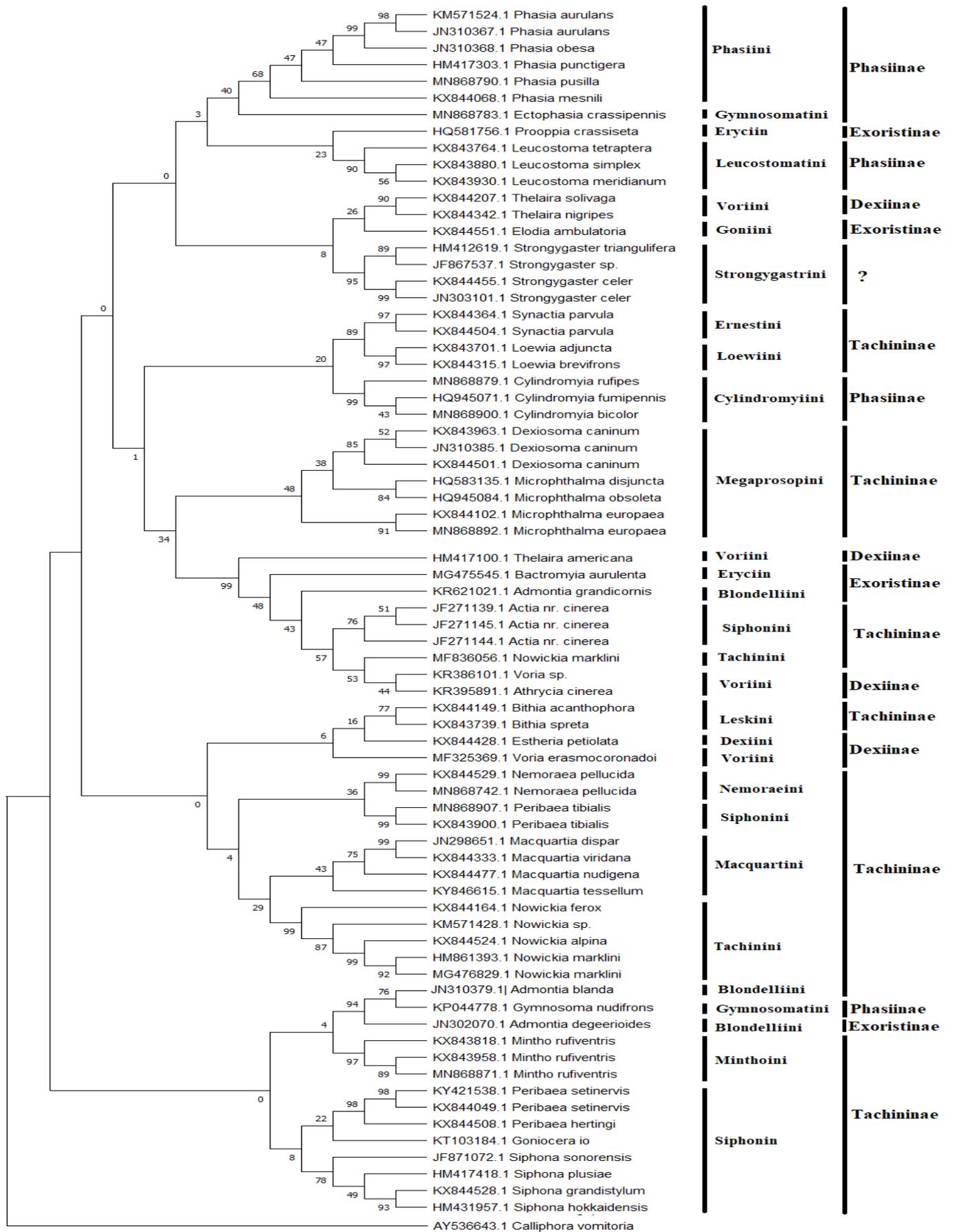


Рисунок 5 – Кладограмма, построенная с помощью метода Neighbor-Joining.

3.3. Трофические связи (Tachinidae-Pentatomidae):

Для изученных в нашей работе видов выявлены следующие трофические связи (рис 6 и 7):

Aelia acuminata (L.) На посевах сои в Рязанской области активно заражаются *Cylindromyia* sp., были обнаружены паразиты *Cylindromyia bicolor* и *Cylindromyia auriceps* на том же хозяине. Кроме того, от того же хозяина (*Aelia acuminata*) был получен *Gymnosoma* sp.

Dolycoris baccarum Linnaeus - на посевах сои в Рязанской области чаще всего заражается *Cylindromyia intermedia* (Meigen, 1824). Наши данные согласуются с результатами других авторов (Аксененко Е.В., Гапонов С.П. 2012, Каменкова К.В., 1956), сообщивших, что *Cylindromyia intermedia* паразитирует на *Dolycoris baccarum* в Краснодарском крае (Россия) и Воронежской области (Россия) соответственно. На том же хозяине (*Dolycoris baccarum*) мы экстрагировали паразита *Ectophasia* sp. Также Аксененко Е.В., 2013 наблюдал *Ectophasia crassipennis* на этом вредителе (*Dolycoris baccarum*) в зоне Центрально-Черноземного региона.

Nezara viridula на посевах кукурузы заражается в основном *Trichopoda pennipes* (Fabricius, 1781) (El-Hawagry M.S.A. et al. 2020). Следует отметить тот факт, что первая регистрация в Египте (*Trichopoda pennipes*) на этом хозяине было по El-Hawagry M.S.A. et al. 2020 и наше исследование подтверждает их регистрацию этой парой в Египте.

N. viridula во многих странах является важным вредителем посевов сои и многих других культур. Потенциальную опасность этот вид представляет в основном в странах с мягким климатом и на юге России, но по мере развития растениеводства имеется большая вероятность проникновения в новые регионы. В данном случае одним из важных моментов, препятствующим возникновению вспышек численности вредителя на новых местообитаниях является наличие потенциальных хищников и паразитов из числа видов-полифагов, способных нивелировать его массовое размножение на этапе вселения.

Исследованы паразитарно-хозяинные отношения фазий (Phasiinae:Tachinidae) с полужесткокрылыми сем. Pentatomidae. Почти для всех видов паразитов, эти результаты подтверждают их способность предотвращать массовое размножение вредителей на сельскохозяйственных культурах (Каменкова К. В., 1956; Аксёненко Е. В., Гапонов С. П. 2012; Аксененко Е. В., 2013; El-Hawagry M. S. A. et al. 2020). Как правило паразитические виды-полифаги уже присутствуют в естественных биоценозах и, теоретически, могут быть эффективным барьером для проникновения опасных карантинных вредителей в новые, не характерные для них, станции с посадочным материалом и другими способами. А при проникновении - сдерживать массовое размножение и развитие вспышек численности. Поэтому изучение трофических связей и видового состава паразитоидов имеет не только

теоретический, но и важный практический аспект для построения дальнейших прогнозов по динамике численности насекомых.

Таблица 3. Трофические связи (Tachinidae-Pentatomidae) (место, дата сбора, степень заражения).

Паразитоид	Хозяин	Дата сбора	с/х культура	Регион сбора	степень заражения
<i>Trichopoda pennipes</i> (Fabricius, 1781)	<i>Nezara viridula</i> (Linnaeus, 1758)	Июль	кукуруза	Египет (Монофия)	7.14%
<i>Cylindromyia</i> sp.	<i>Aelia acuminata</i> (Linnaeus, 1758)	Июнь	соя	Россия (Рязанская область)	5.26%
<i>Gymnosoma</i> sp.	<i>A. acuminata</i> ,	Август	соя	Россия (Рязанская область)	5.26%
<i>Cylindromyia intermedia</i> (Meigen, 1824)	<i>Dolycoris baccarum</i> (Linnaeus, 1758)	Август	соя	Россия (Рязанская область)	14%
<i>Ectophasia</i> sp.	<i>Dolycoris baccarum</i>	Июнь	соя	Россия (Рязанская область)	9.52%



Рисунок 6 – Образцы зараженных Pentatomidae: (1) *Dolycoris baccarum* (2) *Aelia acuminata* (3) *Nezara viridula*



Рисунок 7 – Tachinidae, выведенные из зараженных образцов Pentatomidae (1) *Cylindromyia* sp. (2) *Cylindromyia intermedia* (3) *Ectophasia* sp. (4) *Gymnosoma* sp.

3.4. Анализ вибрационных сигналов.

Реакция Tachinidae на искусственные стимулы. Был проведен анализ вибрационных сигналов нескольких видов клопов с целью проверки возможности их использования для модификации поведения в системе хищник-жертва и перспектив применения в разработке методов контроля численности.

Наши более ранние работы показали, что самцы *P. rufipes* L. издают два основных типа вибрационных сигналов - конкурентные (Рис.8.1-2) и призывные (Рис.8.3-4).

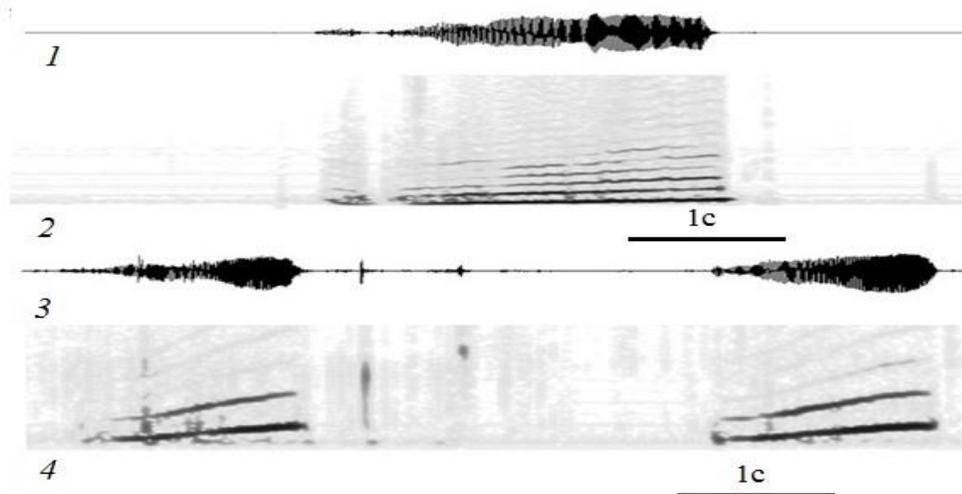


Рисунок 8 – Осцилограммы(1,3) и сонограммы (2,4) конкурентного (1-2) и призывного (3-4) сигналов самца *Pentatoma rufipes*.

У самок обнаружен сигнал протеста (Рис. 9.1-3), издаваемый в ответ на попытку нежелательной копуляции. Конкурентные сигналы самцов состоят из серии непродолжительных пульсов. Они издаются при агонистических взаимодействиях самцов и могут как сопровождаться прямым контактом так и без него. Призывные сигналы издаются как одиночно, так и в смешанных по полу группах и не сопровождаются агонистическим поведением.

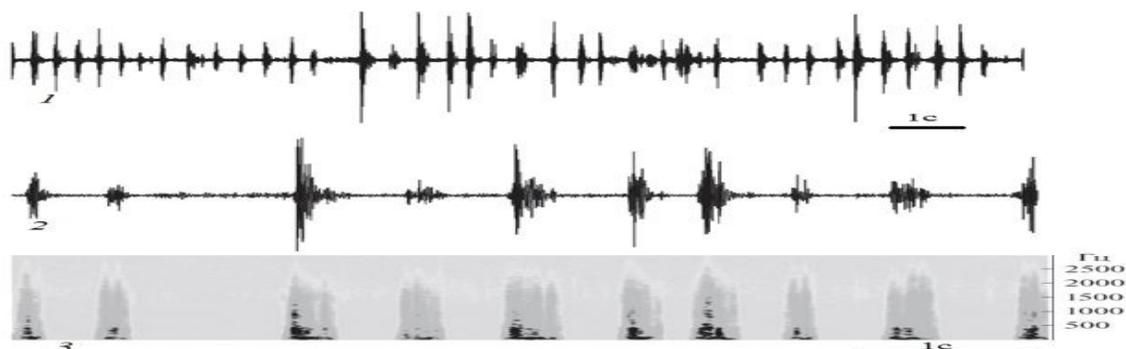


Рисунок 9 – Осцилограммы(1,2) и сонограмма (3) дизруптивного сигнала самки *Pentatoma rufipes*.

Для стимуляции были использованы и призывные и конкурентные (N=15) сигналы. Оценивали два основных поведенческих ответа самок тахин на стимул - латентный период от начала применения стимула до старта активного движения в сторону потенциальной жертвы (источника сигнала), % успешных подходов к источнику стимула. Контроль - отсутствие стимула (N=15).

Латентные периоды в эксперименте (наличие стимула) и в контроле (отсутствие стимула) достоверно различались (*U*-критерий Манна-Уитни ; $p < 0,05$) (Рис.10). При подаче стимула на растение мухи переходили из состояния покоя в состояние активного перемещения по растению. В контроле насекомые в основном сидели на растении, либо перемещались на незначительные расстояния. При этом процент положительных ответов на стимулы был значительно выше чем в контроле (*U*-критерий Манна-Уитни ; $p < 0,05$). Латентный период до начала активности в отсутствии стимула, наоборот, был значительно больше (*U*-критерий Манна-Уитни ; $p < 0,05$).

Достоверных различий в количестве подходов к источнику стимула при трансляции призывного и конкурентного сигнала не выявлено. Однако, заметна тенденция увеличения количества подходов при проигрывании призывного сигнала (62 и 48 % соответственно).

Значительные отличия в латентных периодах в контроле и при стимуляции показывает, что коммуникационные сигналы клопов могут иметь значение для привлечения не только потенциального полового партнера или при агонистических внутривидовых взаимодействиях, но и при межвидовых взаимодействиях хищника и жертвы.

В предыдущей работе показано, что искусственное предъявление дизруптивных сигналов самки *P. rufipes* эффективно препятствует копуляции уже сложившихся пар, чем снижает численность насекомых на растении (Шестаков,

2020). Эти данные хорошо согласуются с результатами, полученными на других группах насекомых. Так на листоблошках показано, что трансляция дизруптивных сигналов самцов снижает численность насекомых на растении винограда (Avosani, 2020). Этот эффект связан с невозможностью успешной коммуникации и

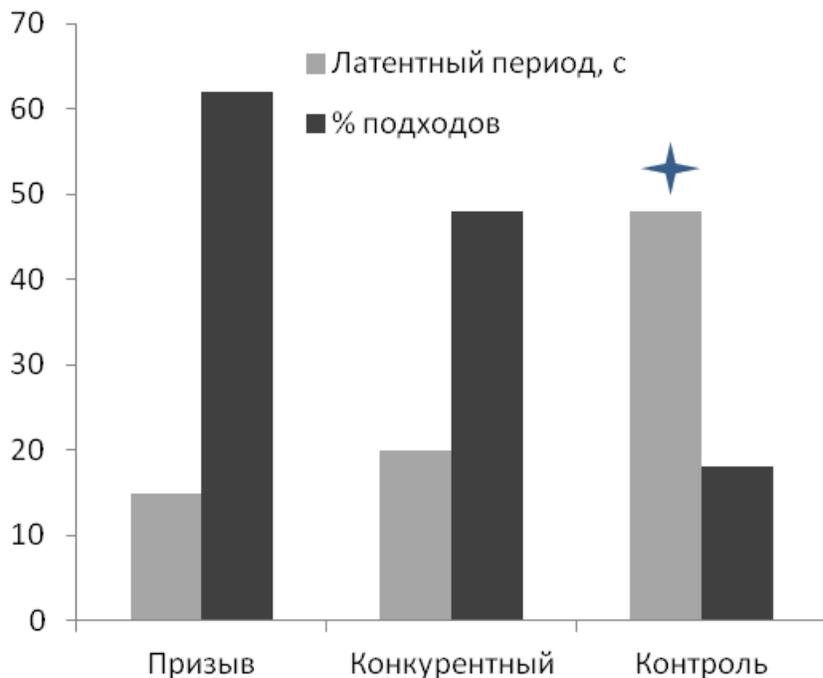


Рисунок 10 – Латентные периоды (с) до начала движения и % успешных

подходов к источнику стимула у самок *Pentatoma rufipes*.

нарушением поиска и распознавания самцов и самок из-за помех, создаваемых транслируемым стимулом. Применение вибрационных стимулов может эффективно менять поведение некоторых видов насекомых на растении (Djemaï et al., 2001, de Groot et al., 2010). Предполагается, что растение перестает быть комфортным субстратом для насекомых в виду невозможности успешной коммуникации на нем.

Применение привлекающих стимулов так же может быть весьма эффективным. Многие животные могут использовать один и тот же тип сигнала в разных поведенческих ситуациях, т.е. сигнал может быть полифункциональным. Так сигнал агрессии используемый при агонистических взаимодействиях самцов, теоретически, может нести находящимся рядом самкам информацию о видовой принадлежности самцов и их готовности к спариванию.

В нашем эксперименте оба типа сигналов эффективно привлекали потенциального хищника к источнику стимула по сравнению с контролем. Таким образом вибрационные сигналы могут использоваться не только как дополнительный фактор привлечения вредных насекомых в различные типы ловушек : клеевые, феромонные, но и для привлечения на растение потенциальных

энтомофагов. Данные других авторов подтверждают вывод, что сигналы жертвы могут привлекать на растение потенциальных хищников и паразитов (Virant-Doberlet et al., 2019). Использование искусственных сигналов вредителей могло бы заранее привлекать на растение поедающих их хищников и, тем самым, предотвращать массовые вспышки численности.

Мы считаем, что в условиях перехода к безопасному органическому земледелию акустические методы контроля могли бы стать хорошей альтернативой пестицидам или дополнительным инструментом, наряду с феромонными, механическими ловушками и бактериальными препаратами.

Нами были выделены следующие основные типы двигательных актов: взлет, ходьба, прыжок на месте, замирание на месте, кручение на месте, чистка антенн, чистка крыльев, так же измеряли латентные периоды от момента подачи сигнала до начала перемещения (рис. 11). Общая длительность большинства поведенческих актов достоверно не отличалась в контроле и при демонстрации стимулов. Однако в случае предъявления призывного сигнала мухи достоверно больше перемещались по растению и замирали, прижавшись к субстрату (рис. 11). Латентные периоды от момента начала подачи сигнала так же отличались. В контроле мухи значительно дольше оставались без движения и в целом меньше перемещались по арене.

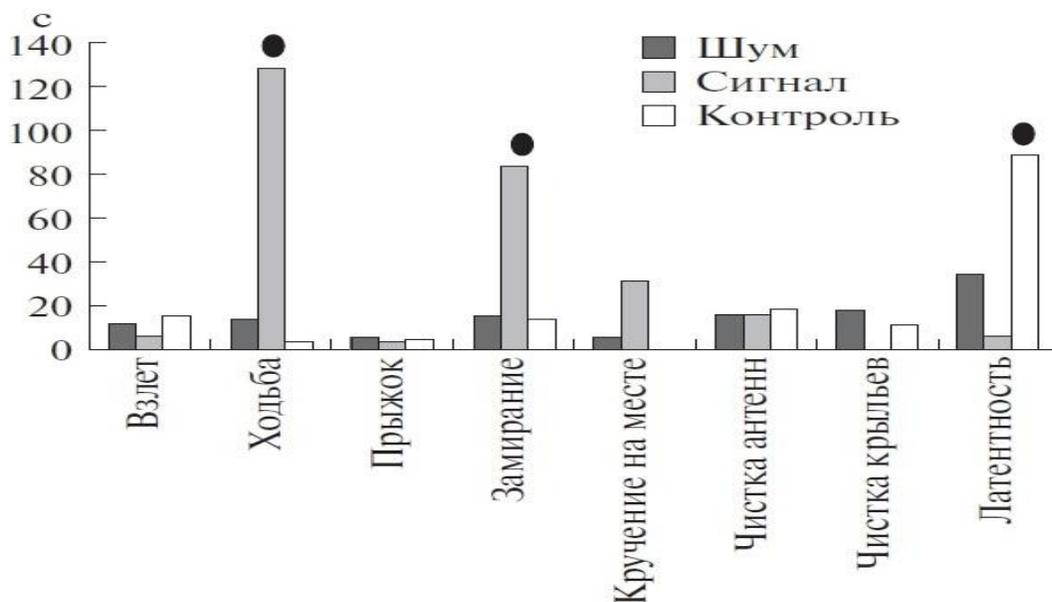


Рисунок 11 – Общая длительность поведенческих актов поисковой активности Tachinidae при предъявлении призывного сигнала потенциальной жертвы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

- По морфологическим данным показано, что Tachinidae являются монофилитической группой, кроме пара-полифилитических Tachininae.
- Молекулярный анализ по гену COI показывает, что все подсемейства Tachinidae являются полипарафилитическими, за исключением Phasiinae являются монофилитическими. Что говорит о необходимости использовать дополнительные маркеры.
- Впервые для Египта зарегистрирован таксон Megaprosopini.
- Проведен сравнительный анализ трофических связей Tachinidae и Pentatomidae вредителей сои и кукурузы в России и Египте.
- Изучены поведенческие реакции, возникающие у мух на сигналы потенциальной жертвы. Показано, что при предъявлении сигналов жертвы мухи достоверно чаще подходят к источнику стимула.
- В нашем эксперименте сигналы клопов эффективно привлекали потенциального хищника к источнику стимула по сравнению с контролем.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- 1- Полученные в результате работы данные могут быть использованы при разработке приёмов биологической защиты растений от клопов-фитофагов.
- 2- Сведения о трофических связях, распространении и биотопическом распределении Tachinidae необходимы для выявления среди них перспективных видов - энтомофагов.
- 3- Полученные данные могут быть использованы для разработки нового типа ловушек и повышения эффективности уже имеющихся вариантов.
- 4- Вибрационные сигналы видов-вредителей могут использоваться как дополнительный фактор привлечения на растение потенциальных энтомофагов.

Список работ. Опубликованных по теме диссертации.

Статьи в изданиях, индексируемых Scopus и Web of Science

- 1- Elhashash Arafa and Lev Shestakov. Overview of Tachinid Parasitoids Classification (Tachinidae, Diptera). Research on Crops 21 (2): С. 415-423 (2020).
- 2- El-Hashash AE, Badrawy HBM, Ibrahim AM-E. A review of tangle- veined flies (Nemestrinidae, Diptera) in Egypt. ZooKeys. (2021). 1071: 11-42. <https://doi.org/10.3897/zookeys.1071.70743>

Статьи в изданиях из списка ВАК

- 1- Elhashash, A. "Phylogenetic Analysis of the Parasitoid Flies (Tachinidae, Diptera) based on Morphological Data." Теоретические и прикладные проблемы АПК, 2021, №4 (50). С. 44-47.
- 2- Arafa Elhashash. Molecular Analysis of Parasitoid Flies Tachinidae. RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries. 2022; 17(1): С 48-61.

иные публикации

- 1- Шестаков Л. С. и Эль Хашаш А. С. Роль Акустических и вибрационных сигналов Во Взаимоотношениях Паразитических Двукрылых Сем. Tachinidae и Клопов-Щитниковенсорные Системы, 2020, Том 34, № 1, С. 14–18.
- 2- Шестаков Л. С. И Эль Хашаш А. Перспективы Использования Данных О Вибрационной Коммуникации Для Разработки Безопасных Методов Контроля Численности Насекомых. Сенсорные Системы, 2021, Том 35, № 1, С. 39–43.

Материалы научных конференций

- 1- Elhashash A.E. and Shestakov L. S. Outline of Classification of Tachinidae: Сборник статей. Том 1 Международная научная конференция молодых учёных и специалистов, посвящённая 160-летию В.А. Михельсона, Москва, РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Июнь, 2020 г.– с. 18-20.
- 2- El-Hashash A.E. and Badrawy H.V.M. A Review of the Egyptian Species of the Genus Nemestrinus Latreille (Diptera, Nemestrinidae). Сборник Материалов XI Всероссийский диптерологический симпозиум (с международным участием). Воронеж, 24–29 августа 2020 г. С. 281-281.
- 3- Elhashash A.E. Taxonomic Structure of Family Tachinidae in Light Wieght Molecular Studies. Международной научной конференции, посвященной 155-летию РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ВЫПУСК 293 (ЧАСТЬ IV), Москва 2021. 4 декабря 2020 г. С. 63-65.
- 4- Elhashash Arafa и Lev Shestakov. Cladistic Analysis Based On Morphological Data of Parasitoid Tachinid Flies (Tachinidae, Diptera). XIII Международная научно-практическая конференция молодых ученых «Инновационные процессы в сельском хозяйстве». Москва, РУДН. 22-23 Апреля 2021 г. С. 114-117.

АННОТАЦИЯ

ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ТРОФИЧЕСКИЕ СВЯЗИ DIPTERA, ПАРАЗИТОВ ГЕМИПТЕРОИДНОГО КОМПЛЕКСА

Изучен таксономический состав трофические и экологические связи Tachinidae паразитирующих на клопах-щитниках на территории России и Египта на примере комплекса видов паразитирующего на вредителях сои и кукурузы в этих регионах на основе сравнительного анализа морфологических и молекулярных данных. Новые методы анализа позволили выявить ранее не зарегистрированные в Египте таксоны – триба Megaprosopini. Проведена ревизия филогенетических связей внутри семейства Tachinidae. Выявлены новые надежные признаки для диагностики спорных таксонов внутри группы. Фаунистический анализ показал, что ряд видов полифагов встречается на территории обоих регионов и, теоретически, может быть барьером для инвазивных видов вредителей, таких как *Nezara viridula*. Показано, что искусственные стимулы, созданные на основе сигналов Hemiptera, эффективно привлекают мух-энтомофагов к источнику сигнала, усиливают их поисковую активность. Изучены реакции Hemiptera на сигналы энтомофагов. Полученные результаты показывают перспективность использования данных о коммуникации насекомых для разработки экологически безопасных методов контроля численности вредителей.

SUMMARY

TAXONOMIC STRUCTURE AND TROPHIC RELATIONSHIPS OF DIPTERA, PARASITES OF THE HEMIPTEROID COMPLEX

The taxonomic composition, trophic and ecological relationships of Tachinidae parasitizing on stink bugs in Russia and Egypt have been studied on the example of a complex of species parasitizing on pests of soybeans and kururuza in these regions based on a comparative analysis of morphological and molecular data. New methods of analysis made it possible to identify taxa not previously registered in Egypt – the Megaprosopini tribe. A revision of phylogenetic relationships within the Tachinidae family has been carried out. New reliable signs for the diagnosis of controversial taxa within the group have been identified. Faunal analysis has shown that a number of polyphage species are found on the territory of both regions and, theoretically, can be a barrier to invasive pest species such as *Nezara viridula*. It is shown that artificial stimuli created on the basis of Hemiptera signals effectively attract entomophage flies to the signal source and enhance their search activity. Hemiptera reactions to entomophage signals have been studied. The results obtained show the prospects of using insect communication data for the development of environmentally safe methods of pest population control.