

ФІЛОГЕОГРАФІЧНИЙ АНАЛІЗ *APALOCHRUS FEMORALIS* ERICHSON, 1840 (COLEOPTERA: MELYRIDAE)

Владислав МІРУТЕНКО¹, Віолета МІРУТЕНКО^{2,3}

У роботі представлено результати молекулярно-генетичного аналізу популяцій виду *Apalochrus femoralis* Erichson, 1840 (Coleoptera: Melyridae, Malachiinae) з різних регіонів України (Одеська та Закарпатська області), а також з Угорщини та Фінляндії. Зроблена спроба з'ясувати ступінь філогенетичної близькості між географічно віддаленими популяціями цього виду. Для аналізу було використано фрагменти гена цитохромоксидази субодиниці I (COI) мітохондріальної ДНК. Побудова філогенетичного дерева методом Neighbor-Joining виявила тісну спорідненість між популяціями з України та Угорщини, що дозволяє припустити їхнє спільне походження – з регіонів західного Причорномор'я або Східних Балкан. Популяція з Фінляндії виявилася чітко відокремленою, що свідчить про її географічну віддаленість та ізоляцію.

Ключові слова: твердокрилі, Malachiinae, молекулярна філогенія, поширення, популяція, GenBank.

¹ Кафедра ентомології та збереження біорізноманіття, Ужгородський національний університет, вул. Волощина, 32, Ужгород, 88000, Україна; e-mail: vladyslav.mirutenko@uzhnu.edu.ua

² Кафедра ботаніки, Ужгородський національний університет, вул. Волощина, 32, Ужгород, 88000, Україна; e-mail: violeta.mirutenko@uzhnu.edu.ua

³ Закарпатський науково-дослідний експертно-криміналістичний центр Міністерства внутрішніх справ України, Слов'янська наб., 25, Ужгород, 88000, Україна.

Phylogeographical analysis of Apalochrus femoralis Erichson, 1840 (Coleoptera: Melyridae) Mirutenko V.¹, Mirutenko V.^{2,3}

The paper presents the results of a molecular genetic analysis of *Apalochrus femoralis* Erichson, 1840 (Coleoptera: Melyridae, Malachiinae) populations from different regions of Ukraine (Odesa and Zakarpattia), Hungary, and Finland. The aim of the study was to assess the phylogenetic relationships between geographically distant populations of the species. A fragment of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (COI) gene was used for the analysis. A phylogenetic tree constructed using the Neighbor-Joining method revealed close genetic relationships among the Ukrainian and Hungarian populations, suggesting a common origin likely in the eastern Black Sea region or the Eastern Balkans. The Finnish population formed a distinct and separate clade, possibly indicating geographical remoteness and isolation.

Key words: beetles, Malachiinae, molecular phylogeny, distribution, population, GenBank.

¹ Department of Entomology and Biodiversity Conservation, Uzhhorod National University, 32, Voloshyna Str., Uzhhorod, 88000, Ukraine; e-mail: vladyslav.mirutenko@uzhnu.edu.ua

² Department of Botany, Uzhhorod National University, 32, Voloshyna Str., Uzhhorod, 88000, Ukraine; e-mail: violeta.mirutenko@uzhnu.edu.ua

³ Transcarpathian scientific research expert and forensic center of the Ministry of Internal Affairs of Ukraine, 25, Slovianska nab., Uzhhorod, 88000, Ukraine.

Вступ

Популяційна філогеографія в останні роки є доволі актуальним напрямком популяційно-еволюційних досліджень. Для твердокрилих такі дослідження також активно проводяться, а їхні результати дозволяють об'єктивно оцінити еволюцію окремих таксономічних груп та спорідненість різних популяцій виду в межах його ареалу (Drag et al. 2018; Kelnarova et al. 2019; Zamoroka 2023; Verezhak, Zamoroka 2024; Zamoroka 2025).

Філогеографія родини Melyridae на прикладі більшості родів досить детально проаналізована у декількох роботах (Bosakova et al. 2012; Gimmel et al. 2019). Однак рід *Apalochrus* Erichson, 1840 (підродина Malachiinae) не був досліджений і проаналізований у даних роботах.

Рід *Apalochrus* Erichson, 1840 (= *Paratinus* Abeille de Perrin, 1891, *Hapalochrus* Agassiz, 1846) представлений 7 видами у фауні Палеарктики (Mayor 2007; Tshernyshev 2015). *Apalochrus*

femoralis Erichson, 1840 є типовим видом роду і найбільш широко поширеним з поміж інших видів – від Великої Британії до Монголії (Mayor 2007). В Україні вид поширений у центральних, східних, південних областях та в Закарпатській області (Mirutenko, Kravchenko 2011). Тут він зустрічається на низинах та пагорбах. Типовими локалітетами виду є ксеротермні біотопи з трав'янистою та чагарниковою рослинністю поблизу водно-болотних угідь. В Закарпатській області вид було вперше відмічено порівняно недавно – у 2014 році (Mirutenko, Mateleshko 2017). Поява його в цьому регіоні ймовірно пов'язана з кліматичними змінами, а саме зі збільшенням середньорічних температур, що, вочевидь, сприяло просуванню його на захід України. Однак в інших областях західного регіону *A. femoralis* не виявлений.

Тому метою даної роботи було встановити ступінь філогенетичної близькості географічно віддалених популяцій *A. femoralis* в Україні, а саме популяцій південних та західних регіонів.

Матеріал і методи

Для аналізу були використані власноруч зібрані екземпляри твердокрилих, а також ваучери, наявні у референтній базі даних GenBank. У якості аутгрупи був використаний *Malachius bipustulatus* L., 1758 (Melyridae, Malachiinae) (Табл. 1).

Філогенетичний аналіз проведено шляхом порівняння нуклеотидних послідовностей субодиниці I гену цитохромоксидази (COI) м-ДНК.

Екстракцію та ампліфікацію ДНК проводили в лабораторії молекулярної систематики Інституту ентомології Біологічного центру Чеської академії наук, м. Чеське Будейовіце. ДНК екстрагували з м'язів задніх кінцівок з використанням набору Genomic DNA Mini Kit (Tissue) та протоколу до даного набору (Geneaid ... 2017). Ампліфікацію проводили з використанням праймерів “PatII” та “JerryR”. Для секвенування зразки були надіслані в “Macrogen Europe” (Amsterdam, Netherlands).

Аналіз, вирівнювання (за алгоритмом ClustalW) та побудову дерев (Neighbor-Joining методом) проводили з використанням програмного продукту MEGA 12.

Результати та обговорення

У результаті проведеного секвенування наших зразків *A. femoralis* ми отримали послідовності з близько 1500 пар основ. У базі даних GenBank наявні ваучери для гена COI цього ж виду тільки трьох зразків з Фінляндії (Roslin et al. 2021). Однак дані зразки представлені тільки 658 парами основ. Така ж кількість пар основ у ваучера *M. bipustulatus*, який ми взяли з бази даних GenBank у якості аутгрупи (International Barcode ... 2019).

Результати філогенетичного аналізу популяцій *A. femoralis* представлені у вигляді філогенетичного дерева на рисунку 1.

За результатами порівняння екземплярів *A. femoralis* з різних популяцій можна бачити, що

Таблиця 1. Зразки для філогенетичного аналізу

Table 1. Samples for phylogenetic analysis

№	Вид	Місце збору, дата	Кількість пар основ	Ваучер (GenBank)
U1	<i>A. femoralis</i>	Україна, Одеська обл., ок. с. Затока; 10.06.2018	1493	
U2	<i>A. femoralis</i>	Україна, Закарпатська обл., ок. с. Тийглаш; 03.07.2018	1453	
H3	<i>A. femoralis</i>	Угорщина, Nyíregyháza, Sóstógyógyfürdő; 30.06.2018	1552	
F4	<i>A. femoralis</i>	Фінляндія, Ostrobothnia media, Siikajoki, Tauvo, Munahietä; 24.06.2015	658	MZ659523.1 (Roslin et al. 2021)
G5	<i>M. bipustulatus</i>	Німеччина; 08.05.2009	658	HQ954544.1 (International Barcode ... 2019)

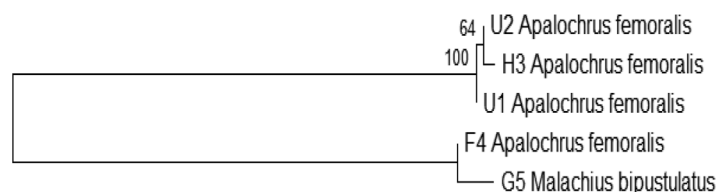


Рис. 1. Філогенетичні взаємозв'язки популяцій *Apalochrus femoralis*

Fig. 1. Phylogenetic relationships between *Apalochrus femoralis* populations

популяції із Закарпатської області України (U2) і Угорщини (H3) є доволі тісно споріднені і утворюють окрему кладу. Однак ця клада має значення бутстреп підтримки 64, що свідчить про помірний рівень достовірності, і, можливо, слід повторно перевірити взаємоспорідненість цих популяцій на більшій кількості зразків.

Ці популяції U2 і H3 групуються з популяцією з Одеської області України (U1), що свідчить про тісний генетичний зв'язок між U1, U2 та H3. Причому значення бутстреп підтримки 100 підтверджує, що ця гілка є «дуже сильна», а результат щодо її спорідненості з U1 і U2 є цілком достовірним, і це вказує на монофілію всіх трьох популяцій. Вочевидь, поширення *A. femoralis* на ці території відбувалося зі спільного центру, яким можуть бути західне Причорномор'я або Східні Балкани.

Фінську популяцію F4 можна охарактеризувати як більш віддалену від кластеру U1, U2, H3. Ймовірно, на віддаленість на даному дереві F4 вплинув той факт, що для аналізу було використано меншу кількість пар основ, ніж для U1, U2 і H3. Проте, на нашу думку, це не могло б суттєво змінити загальну картину, оскільки фінська популяція є значно віддалена і географічно від популяцій в Україні та Угорщині. Однак можливо, що популяція F4 дуже давно ізолювалася від предкового ядра і на сьогодні представляє собою інший підвид, і вирішення цього питання потребує додаткових досліджень.

Аутгрупа G5 відокремлюється раніше всіх інших, підтверджуючи та ілюструючи, що *M. bipustulatus* генетично віддалений від *A. femoralis*, і це підтверджує роль *M. bipustulatus* у якості аутгрупи.

Висновки

Проведений аналіз дозволяє говорити про близьку спорідненість трьох популяцій *A. femoralis* – з Одеської, Закарпатської областей України та Угорщини, а отже, про їхню спільність у походженні, центром якого могли бути регіони західного Причорномор'я або Східних Балкан. Фінська популяція є чітко відокремлена від українських та угорської, що свідчить про певну географічну ізоляцію.

Подяки

Роботи у лабораторії молекулярної систематики Інституту ентомології Біологічного центру Чеської академії наук, м. Чеське Будейовіце проводилися в межах індивідуального грантового проекту «Biodiversity hot spots in Central Europe: identified using the example of beetles' communities» та за фінансової підтримки Міжнародного Вішеградського фонду, за що ми висловлюємо грантодавцю щирі вдячності. Ми також вдячні Др. Лукашу Чіжеку та Др. Лукашу Драгу за сприяння у проведенні досліджень, всебічну підтримку та допомогу у навчанні основам молекулярно-генетичних досліджень.

- BOCAKOVA, M., CONSTANTIN, R., BOCAK, L. (2012) Molecular phylogenetics of the melyrid lineage (Coleoptera: Cleroidea). *Cladistics*, 28, 117–129. DOI: 10.1111/j.1096-0031.2011.00368.x
- DRAG, L., HAUCK, D., RICAN, O., SCHMITT, T., SHOVKOON, D., GODUNKO, R., CURLETTI, G., CIZEK, L. (2018) Phylogeography of the endangered saproxylic beetle *Rosalia longicorn*, *Rosalia alpina* (Coleoptera, Cerambycidae), corresponds with its main host, the European beech (*Fagus sylvatica*, Fagaceae). *Journal of Biogeography*, 45 (12), 1–14. DOI: 10.1111/jbi.13429
- GENEAID BIOTECH Ltd. (2017) <https://geneaid.com/data/files/1605685391109197921.pdf>
- GIMMEL, M. L., BOCAKOVA, M., GUNTER, N. L., LESCHEN, R. B. (2019) Comprehensive phylogeny of the Cleroidea (Coleoptera: Cucujiformia). *Systematic Entomology*, 44(3), 527–558. DOI: 10.1111/syen.12338
- INTERNATIONAL BARCODE OF LIFE (iBOL) (2019) *Malachius bipustulatus* voucher BC ZSM COLA 00306 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/HQ954544.1>
- KELNAROVA, I., JENDEK, E., GREBENNIKOV, V. V., BOCAK, L. (2019) First molecular phylogeny of *Agrilus* (Coleoptera: Buprestidae), the largest genus on Earth, with DNA barcode database for forestry pest diagnostics. *Bulletin of Entomological Research*, 109(2), 200–211. DOI: 10.1017/S0007485318000330
- MAYOR, A. (2007) Family Malachiidae. In: *Catalogue of Palaearctic Coleoptera, Vol. 4* (Lobl I., Smetana A., Eds.), Stenstrup, Apollo Books, p. 416.
- MIRUTENKO, V. V., KRAVCHENKO, A. M. (2011) Faunistic review of the malachiid beetles (Insecta: Coleoptera) of Left-Bank Ukraine. *The Kharkov Entomological Society Gazette*, XIX (2), 31–37.
- MIRUTENKO, V., MATELESHKO, O. (2017) The First records of *Apalochrus femoralis* (Coleoptera, Malachiidae) from the Western Ukraine. *Ukrainska Entomofaunistyka*, 8 (2), 9–10.
- ROSLIN, T., SOMERVUO, P., PENTINSAARI, M., HEBERT, P. D. N., AGDA, J., ... & MUTANEN, M. (2021) *Apalochrus femoralis* voucher ZMUO.026458 cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial. National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MZ659523.1>

- TSHERNYSHEV, S. E. (2015) A review of species of the genus *Apalochrus* Erichson (Coleoptera, Malachiidae). *Zootaxa*, 3941 (3), 358–374, DOI: 10.11646/zootaxa.3941.3.3
- VEREZHAK, N. D., ZAMOROKA, A. M. (2024) Filogeohrafiia rodu tonkokhivistka (*Leptura* Linnaeus, 1758) u Palearktytsi. *Proceedings of Scientific-Practical Conference “XVIII Lviv Entomological School”*. Ivano-Frankivsk – Stara Huta, 14–16, June, 2024, PP. 9–10. (in Ukrainian)
- ZAMOROKA, A. M. (2023) Phylogeny of *Judolia* Mulsant, 1863 (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Vasyl Stefanyk Precarpathian National University*, 10, 63–75. DOI: 10.15330/jpnbio.10.63-75
- ZAMOROKA, A. M. (2025) Phylogenetic and biogeographic reconstruction of *Lamiini sensu lato* (Coleoptera, Cerambycidae) reveals South Gondwanan origin and Panthalasso-Tethyan dispersal pathways. *Biosystems Diversity*, 33 (1), e2510. DOI: 10.15421/012510