АНОТАЦІЯ

Стецун Г.А. Морфо-функціональна характеристика жала рийних ос родини Crabronidae (Insecta: Hymenoptera) та філогенетична значущість його ознак. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – «Біологія». Інститут зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України, Київ, 2022.

В дисертаційній роботі вивчено морфологію жала рийних ос родини Crabronidae (Insecta: Hymenoptera), досліджено її зв’язок із функціями цього органу та філогенією групи. Раніше морфологія жала Crabronidae була вивчена фрагментарно. Суттєве доповнення морфологічних відомостей про жало видів родини Crabronidae було необхідним для більш системного аналізу його ознак. Ряд морфологічних ознак жала пов’язують із характеристиками здобичі або специфічними функціями цього органу, зокрема абдомінальним транспортуванням здобичі у видів роду *Oxybelus*, але висловлені щодо цього гіпотези суперечать одна одній. Для перегляду цих гіпотез були потрібні більш деталізовані і взаємопорівнювані дані щодо морфології жала. Сучасні дослідження філогенії родини Crabronidae ґрунтуються на молекулярно-генетичних даних, але мають розбіжності між собою і подекуди не беруться до уваги іншими авторами через незадіяння морфологічних даних. Визначення філогенетичної значущості морфологічних ознак жала є способом продемонструвати цінність цього органу як джерела даних для подібних досліджень. Метою роботи було надання морфо-функціональної характеристики жала рийних ос родини Crabronidae (Insecta: Hymenoptera) та визначення філогенетичної значущості його ознак. Для досягнення цієї мети було здійснено порівняльно-морфологічний аналіз будови жала рийних ос родини Crabronidae, досліджено варіабельність рис мікроскульптури скелетних елементів жала окремих представників, визначено морфо-функціональні особливості жала та їхній зв'язок з біологією розглянутих видів ос, а також

досліджено розподіл ознак жала за філогенетичним деревом родини Crabronidae.

Матеріал для дослідження було зібрано дисертанткою особисто, а також отримано із колекцій Інституту зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України (м. Київ, Україна), Центру природничих досліджень (Nature Research Centre, м. Вільнюс, Литва) та кафедри екології і зоології Київського національного університету імені Тараса Шевченка (м. Київ, Україна). Всього було досліджено 26 видів комах, що належать до 17 родів із восьми підродин і чотирьох родин. М'які тканини жала мацерували, а морфологію склеритів досліджували методом світлової мікроскопії та фотографували. Особливості автофлуоресценції кутикули вивчали методом конфокальної лазерної сканувальної мікроскопії, а тонкі деталі скульптури та морфологію сенсил – методом сканувальної електронної мікроскопії. Вимірювання кривизни другої вальви було здійснено за допомогою скрипту в «R: The R Project for Statistical Computing» методами геометричної морфометрії. Вимірювання філогенетичного сигналу здійснювали методом Р. Борхеса зі співавторами (Borges et al., 2019), а філогенетичний аналіз матриці ознак жала проводили у програмі PAUP*.

В результаті було вперше детально досліджено, описано, порівняно між собою та із літературними даними морфологію склеритів жала 26 видів Aculeata. На основі отриманих даних було виділено 53 морфологічні ознаки жала, що мають по два чи більше стани. Сім із цих ознак вперше виділено для Hymenoptera, чотири із них мають стани, раніше не відомі для цього ряду. Також вперше досліджено тонку будову основи вальвілі. Ще 13 ознак вперше виділено для рийних ос і Crabronidae зокрема. Стани ще п'яти ознак описано вперше, хоча самі ознаки були відомі раніше. У чотирьох видів вперше для рийних ос продемонстровано внутрішньовидову варіабельність двох морфологічних ознак жала.

В роботі вперше досліджено автофлуоресценцію кутикули жала. Вперше показано, що композиція склеритів є переважно однорідною в межах одного екземпляра та подібною між видами порівнюваних розмірів. У видів родини

Crabronidae склерити жала утворені переважно слабко склеротизованою кутикулою. Це вказує на те, що композиція кутикули не відіграє ключової ролі у функційних особливостях жала різних видів. Відмінності інтенсивності автофлуоресценції локальних ділянок жала можуть бути пояснені відмінностями в товщині кутикули.

Вперше виміряно кривизну другої вальви жала. Можна припустити, що розподіл локальних значень кривизни вздовж дорзальної і вентральної кривих другої вальви у видів роду *Oxybelus* може впливати на розподіл навантаження в склериті під час транспортування наколотої на нього здобичі. Також висловлено гіпотезу, що під час транспортування наколотої на вальви жала здобичі на його механічну стійкість можуть впливати добре розвинене, проксимально розгалужене дорзальне ребро другого вальвіфера, а також з'єднання між артикулярним відростком другої вальви та артикулярною частиною рострального відростка другого вальвіфера, утворене склеротизованою кутикулою.

Результати наших порівняльно-морфологічних досліджень не підтримують висловлені попередніми авторами (Evans, 1962; Radović, 1985; Gadallah, 2001) функціональні гіпотези про роль зубців на першій вальві, зігнутості другої вальви та наявності апікальних щетинок третьої вальви в утриманні здобичі наколотою на вальви жала.

Хоча методом Р. Борхеса зі співавторами (Borges et al., 2019) нами не показано статистично значущого філогенетичного сигналу категорійних ознак жала, характер накладання цих ознак на спрощену дендрограму, що відображає сучасні погляди на філогенетичні зв'язки між дослідженими групами, а також результати використання їх для кладистичного аналізу (за методом парсимонії) продемонстрували потенційну філогенетичну значущість деяких із них.

За характером накладання ознак жала на дендрограму вперше показано, що стани чотирьох ознак жала можна вважати філогенетично значущими. Стани ще п'яти ознак ми вважаємо синапоморфними/аутапоморфними для окремих досліджених родів та видів. За нашими припущеннями, шість ознак можуть мати обмежену філогенетичну значущість, а 34 стани ознак мають

низьку філогенетичну значущість. Чотири стани ознак було виявлено тільки у зовнішній групі та серед досліджених нами бджіл (представників просунутої внутрішньої групи).

Загалом вивчення жала ос-крабронід продемонструвало складність цього органу, неоднозначність залежностей між формою та функцією, а також філогенетичну значущість його ознак, які істотно, хоча і неповною мірою, підтверджують еволюційні сценарії, побудовані для цієї групи за результатами філогенетичного аналізу молекулярно-генетичних маркерів.

Отримані результати в подальшому можуть бути використані при розробці концепцій біонічних інженерних конструкцій для транспортування вантажів чи проколювання мішеней. Робота може бути використана в ході викладання курсу «Новітні методи в зоології».

Ключові слова: порівняльно-морфологічний аналіз, внутрішньовидова варіабельність, функціональні особливості, розподіл ознак, філогенетичні дослідження, конфокальна лазерна сканувальна мікроскопія, сканувальна електронна мікроскопія, світлова мікроскопія, вимірювання кривизни.

ABSTRACT

Stetsun H. A. Morpho-functional characteristic of the sting of digger wasps of the family Crabronidae (Insecta: Hymenoptera) and phylogenetic significance of its characters. – Qualifying scientific work printed as a manuscript.

The dissertation for a scientific degree of the doctor of philosophy on a specialty 091 "Biology", I. I. Schmalhausen Institute of Zoology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2022.

The dissertation is focused on the morphology of the sting of the family Crabronidae (Insecta: Hymenoptera), its interconnection with the organ's functions, and with the group phylogeny. Previous studies of Crabronidae sting were rather fragmentary. A rigorous assessment of Crabronidae sting characters required an essential extension of knowledge on morphology of this organ. Some morphological characters of Crabronidae sting were hypothesized to be associated with peculiar functions of this organ or traits of the prey. An example of the sting's peculiar function is transportation of impaled prey by *Oxybelus* species. Some of such hitherto proposed hypotheses contradict each other (Gadallah, 2001; Radović & Sušić, 1997). More detailed and intercomparable data on the sting morphology were needed to revise the hypotheses. Recent studies of the phylogeny of the Crabronidae family are based chiefly on molecular data. Their results are partly inconsistent; also, they are sometimes not accepted by some authors due to the omission of morphological data. An assessment of the phylogenetic significance of the sting characters could demonstrate the value of this organ as a source of information for evolutionary research. Therefore, this work aimed to provide a morpho-functional characterization of the sting of wasps of the family Crabronidae (Insecta: Hymenoptera) and to determine the phylogenetic significance of its characters. To achieve this goal, a comparative and morphological analysis of the sting structure of wasps of the family Crabronidae was carried out. Also, the variability of the microsculpture characters of its skeletal elements in some species was investigated. The sting morphological and functional characters and their connection to the biology of the species were assessed.

Besides, the superimposition of sting characters onto the phylogenetic tree of Crabronidae was studied.

The studied material was collected by the PhD-student personally and also obtained from the collections of the I.I. Schmalhausen Institute of Zoology of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine), Nature Research Center (Vilnius, Lithuania), and the Department of Ecology and Zoology of Taras Shevchenko National University of Kyiv (Ukraine). A total of 26 species belonging to 17 genera from eight subfamilies and four wasp families were studied. The soft tissues of the sting were macerated, and the morphology of the sclerites was studied with light microscopy. Autofluorescence of the cuticle was studied by confocal laser scanning microscopy. Fine details of the sculpture and the morphology of the sensilla were studied by scanning electron microscopy. The curvature of the second valvula was measured using a script in "R: The R Project for Statistical Computing" using geometric morphometry methods. Phylogenetic signal between categorical sting traits and phylogeny of Crabronidae was measured using Borges method (Borges et al., 2019). The phylogenetic analysis of the sting characters' matrix was carried out using the PAUP* software.

As a result, the morphology of the sting sclerites of 26 Aculeata species was studied in detail for the first time. Based on the obtained data, 53 morphological characters of the sting, each of which has two or more states, were described. Seven of these characters are characterized for Hymenoptera for the first time, and four of them have the states, which were not previously known for this order. Also, the fine structure of the base of the valvilli was investigated for the first time. Other 13 characters were described for digger wasps and Crabronidae in particular, for the first time. The states of five more characters are described for the first time, although the characters themselves were known previously. Intraspecific variability of two morphological characters of the sting was demonstrated for four wasp species. This is the first registered example of intraspecific variability of the sting characters among digger wasps.

The autofluorescence of the sting cuticle was studied for the first time. Homogeneity of the composition of the sclerites within one specimen and their

similarity between species of comparable sizes was shown for the first time. The sclerite autofluorescence in species of the family Crabronidae corresponds to a less sclerotized cuticle. This indicates that the composition of the cuticle does not play a key role in the functional peculiarities of stings of different species. Differences in the autofluorescence intensity of local areas of the sting can be explained by differences in the cuticle thickness.

The curvature of the second valvula of the sting was measured for the first time. The distribution of local curvature values along the second valvula in species of the genus *Oxybelus* can be assumed to affect the distribution of the load in the sclerite during the transportation of prey impaled on it. We also assume that during the transportation of the impaled prey, the mechanical stability of the sting can be influenced by the well-developed, anteriorly branched dorsal rib of the second valvifer, and the connection between the articular process of the second valvula and the articular part of the rostral process of the second valvifer through the sclerotized cuticle.

The results of the comparative-morphological study do not support the functional hypotheses stated in literature (Evans, 1962; Radović, 1985; Gadallah, 2001) about the role of barbs on the first valvula, the curvature of the second valvula, and the presence of apical setae of the third valvula in the keeping of the prey impaled on the sting.

The method of Borges with co-authors (Borges et al., 2019) does not show the statistically significant phylogenetic signal of categorial sting characters. However, results of the superimposition of these characters on the dendrogram reflecting the modern assessment of the group phylogeny and parsimony analysis of the matrix suggest that some of them are phylogenetically significant.

Patterns obtained with superimposition of the sting characters on the dendrogram show that four character states can be considered phylogenetically significant for the first time. Five more character states we consider being apomorphic/autapomorhic for some studied genera and species. We assume that six character states may have limited phylogenetic significance, and the states of 34

characters have low phylogenetic significance. Four character states were found only in the species of the outgroup and in the studied bee species.

In general, the study of the Crabronidae sting demonstrated the complexity of this organ, the ambiguity of the dependence between its form and function, as well as the phylogenetic significance of its characters, which significantly, although incompletely, confirm the evolutionary scenarios constructed for this group based on the results of the phylogenetic analysis of molecular genetic markers.

The obtained results can be used in the development of concepts of bionic engineering structures for transporting cargo or piercing targets. The work can be used for the course "Modern methods in zoology".

Keywords: comparative morphological analysis, variability, functional characters, character distribution, phylogeny, confocal laser scanning microscopy, scanning electron microscopy, light microscopy, curvature measurement.

Список публікацій здобувача, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

У виданнях, які включені до міжнародних наукометричних баз даних:

1. Matushkina, N. A., & Stetsun, H. A. (2016). Morphology of the sting apparatus of the digger wasp *Oxybelus uniglumis* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera, Crabronidae), with emphasis on intraspecific variability and behavioural plasticity. *Insect Systematics & Evolution*, *47*(4), 347–362. https://doi.org/10.1163/1876312X-47032146 IF(2016)=1,32, Q2 (*особистий внесок: частково збір матеріалу, ручне анатомування, попереднє дослідження, вибір ознак для подальшого дослідження, написання чернетки*)
2. **Stetsun, H.**, Rajabi, H., Matushkina, N., & Gorb, S. N. (2019). Functional morphology of the sting in two digger wasps (Hymenoptera: Crabronidae) with different types of prey transport. *Arthropod Structure & Development*, *52*, 100882. https://doi.org/10.1016/j.asd.2019.100882 IF(2019)=1,90, Q1 (*особистий внесок: збір 2/3 матеріалу, ручне анатомування, світлова, конфокальна лазерна сканувальна мікроскопія, сканувальна електронна мікроскопія половини зразків, вимірювання кривизни другої вальви, написання чернетки)*
3. Stetsun, H., & Matushkina, N. A. (2020). Sting morphology of the European hornet, *Vespa crabro* L., (Hymenoptera: Vespidae) re-examined. *Entomological Science*, *23*(4), 416–429. https://doi.org/10.1111/ens.12438 IF(2020)=1,60, Q2 (*особистий внесок: частково збір матеріалу, світлова мікроскопія, конфокальна лазерна сканувальна мікроскопія, вимірювання кривизни, написання чернетки*)
4. Stetsun, H. (2020). Superimposition of the sting morphological characters on the dendrogram of Apoidea with emphasis on Crabronidae s. str. (Insecta: Hymenoptera): first steps. *Journal of Natural History*, *54*(31–32), 1957–1972. https://doi.org/10.1080/00222933.2020.1837275 IF(2020)=1,01, Q2

Публікації, які засвідчують апробацію результатів дисертації:

1. **Stetsun, G.**, & Matushkina, N. (2013). Sting morphology of the digging wasp *Oxybelus uniglumis* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera, Crabronidae). *VIII з'їзд ГО "Українське ентомологічне товариство,"* 160–161.
2. **Стецун, Г. А**., & Матушкина, Н. А. (2014). Морфология жала роющей осы *Oxybelus uniglumis* (Hymenoptera: Crabronidae). *Матеріали перших зоологічних читань присвячених пам'яті професора Юхима Лукіна*, 60–61.
3. **Стецун, Г. А.**, Чернуха, А. О., & Матушкіна, Н. А. (2014). Порівняльна морфологія жала деяких рийних ос (Hymenoptera: Sphecidae, Crabronidae). *Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції присвяченої 102 річниці від дня народження видатного вченого-ентомолога, доктора біологічних наук, професора Дядечка Миколи Платоновича*, 134–135.
4. Chernukha, A., **Stetsun, G.**, & Matushkina, N. (2015). Comparative morphology of the sting apparatus of some digger wasps (Hymenoptera: Sphecidae, Crabronidae). *Збірник тез XI міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів "Молодь і поступ біології,"* 309–310.
5. Чернуха, А. О., **Стецун, Г. А.**, & Матушкіна, Н. О. (2015). Comparative morphology of the sting apparatus of some digger wasps (Hymenoptera: Crabronidae, Sphecidae). *Тези доповідей конференції молодих дослідників-зоологів*, 38.
6. **Стецун, Г. А.**, & Матушкина, Н. А. (2015). Внутривидовая вариабельность жала роющей осы Oxybelus uniglumis (Hymenoptera: Crabronidae). *Тези доповідей конференції молодих дослідників-зоологів – 2015*, 33.
7. **Стецун, Г. А.** (2016). Порівняльно-морфологічний аналіз жала двох видів рийних ос, *Oxybelus bipunctatus* Olivier, 1812 та *Oxybelus quattuordecimnotatus* Jurine 1807 (Hymenoptera: Crabronidae). *Матеріали XIV міжнародної наукової конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Шевченківська весна: Біологія-2016»*, 189–190.
8. **Стецун, Г.**, & Матушкіна, Н. (2016). Варіабельність жала риючої оси Oxybelus uniglumis (Hymenoptera: Crabronidae). *Збірник тез XII міжнародної*

наукової конференції студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології», 210–211.

9. **Стецун, Г. А.** (2017). Порівняльно-морфологічний аналіз жала деяких родів родини Crabronidae (Insecta: Hymenoptera). *Збірник тез XV міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Шевченківська весна: досягнення біологічної науки»*, 97.
10. **Stetsun, H. A.** (2017). Intraspecific variability of the sting characters in representatives of genus Oxybelus Latreille (Hymenoptera: Crabronidae). *7th International Symposium of Environmental Physiology of Ectotherms and Plants*, 53.
11. **Stetsun, H.**, Rajabi, H., Matushkina, N., & Gorb, S. (2018). Functional morphology of the sting in digger wasps family Crabronidae (Insecta: Hymenoptera) and its significance for the prey transportation. In В. Л. Мєшкова (Ed.), *Збірник тез IX з'їзду Українського ентомологічного товариства* (pp. 161–162).
12. **Стецун, Г. А.**, & Матушкіна, Н. О. (2018). Морфологічний аналіз скелету жала шершня *Vespa crabro* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera: Vespidae). *Тези доповідей конференції молодих дослідників-зоологів – 2018*, 21.
13. **Стецун, Г.**, & Матушкіна, Н. (2019). Морфологія скелету та особливості автофлуоресценції кутикули жала найбільшої оси Європи. *«Шевченківська Весна: Досягнення Біологічної Науки / BioScience Advances»: Збірник тез XVII міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених*, 65–55.
14. **Stetsun, H.**, Rajabi, H., Matushkina, N., & Gorb, S. (2019). Functional morphology of the sting in two digger wasps (Hymenoptera: Crabronidae) with different types of prey transport. *3rd International Conference "Smart Bio,"* 43.
15. **Stetsun, H. A.** (2019). Preliminary superimposition of the sting morphological characters on the phylogenetic tree of Apoidea with emphasis on Crabronidae s. str. (Insecta: Hymenoptera). *Тези доповідей конференції молодих дослідників-зоологів – 2019*, 22.