

ВЕДЕНИНА Варвара Юрьевна

**РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННЫХ АКУСТИЧЕСКИХ
СИГНАЛОВ В МИКРОЭВОЛЮЦИИ САРАНЧОВЫХ
(INSECTA, ACRIDIDAE, GOMPHOCERINAE)**

03.02.07 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Москва 2014

Работа выполнена в лаборатории обработки сенсорной информации
федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института проблем передачи информации им. А.А. Харкевича
Российской академии наук

Официальные оппоненты:

член-корреспондент РАН,
доктор биологических наук, профессор
ЗАХАРОВ-ГЕЗЕХУС Илья Артемьевич
Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова РАН, советник РАН

доктор биологических наук, профессор
МАРКОВ Александр Владимирович,
биологический факультет МГУ
им. М.В. Ломоносова, зав. кафедрой
биологической эволюции

доктор биологических наук, доцент
ЛУХТАНОВ Владимир Александрович,
Зоологический институт РАН, ведущий
научный сотрудник

Ведущая организация: федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский
национальный исследовательский государственный университет»

Защита состоится «__» _____ 2015 г. в __ часов на заседании
диссертационного совета Д 002.238.01 в Институте биологии развития им. Н.К.
Кольцова РАН по адресу: 119334, Москва, ул. Вавилова, д. 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Института
биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН: <http://idbras.ru/>.

Автореферат разослан «__» _____ 2015 года.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат биологических наук



О.В. Бойко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Согласно биологической концепции вида, особи одного вида образуют группы свободно скрещивающихся естественных популяций, репродуктивно изолированные от других таких групп (Майр, 1974). В более поздних версиях концепции Майр допускает наличие некоторого потока генов извне и даже подчеркивает роль гибридизации в видообразовании (Mayr, 1996). Зоны гибридизации нередко называют природными лабораториями, в которых можно исследовать самые различные процессы, происходящие в ходе видообразования (Barton, Hewitt, 1985, 1993; Harrison, 1986, 1993). В частности, исследование гибридных зон помогает выявить порядок установления изолирующих барьеров в процессе видообразования. Естественная гибридизация свидетельствует о неполной репродуктивной изоляции между близкородственными и, как правило, молодыми видами. По результатам экспериментальных работ последних двух десятилетий (Панов, 1989, 1993; Блинов, Крюков, 1992; Крюков, Гуреев, 1997; Jiggins et al., 1997; Rolan-Alvarez et al., 1997; Bailey et al., 2004) гибридизирующие виды часто демонстрируют прекопуляционную, хотя и неполную, изоляцию при полном отсутствии посткопуляционных изолирующих барьеров. Такие виды могут быть прекрасным объектом для исследования механизмов начальных этапов видообразования, а также роли полового отбора в видообразовании, хотя важность и первостепенность этой формы отбора в дивергенции видов пока остается предметом жаростных дебатов.

Акустические сигналы часто служат основным средством сближения половых партнеров. Поэтому эффективность этих сигналов как изолирующих барьеров часто оказывается очень высокой. Кроме того, акустическая коммуникация на близком расстоянии имеет значение при выяснении конкурентных отношений, при уходе за самками, при выращивании потомства и т.д. Причины нарушения изолирующего барьера нередко остаются неясными. Для их исследования необходимо понимать, насколько генетически детерминированы акустические сигналы. Например, у птиц песня формируется в ходе онтогенеза не только на основе врожденной матрицы, но и вокальных моделей, усвоенных в ходе обучения. В отличие от птиц, у прямокрылых насекомых характеристики акустических сигналов полностью генетически детерминированы. Эта особенность делает их удобным объектом для сравнительного анализа акустических сигналов и филогенетических реконструкций с целью выявления движущих сил эволюции в пределах той или иной группы видов. Надо отметить, что на сегодняшний день число работ, в которых проводился подобный анализ, исчисляется единицами.

Генетический анализ брачных сигналов представляет большой интерес для эволюционных биологов, поскольку знание генетической архитектуры этих признаков может существенно помочь в разработке моделей видообразования. Генетическая архитектура определяется как совокупность генов, определяющих фенотипическое проявление количественного признака. Согласно Темплтону (Templeton, 1981), признак меняется в процессе эволюции

относительно медленно и постепенно в случае полигенного наследования, т.к. каждый ген оказывает малое влияние на выражение этого признака (тип I генетической архитектуры). Напротив, признак может меняться скачкообразно и быстро в том случае, если он кодируется одним или малым числом генов большого эффекта, т.е. генов, оказывающих большое влияние на фенотип (тип II генетической архитектуры). Темплтон выделяет также III тип генетической архитектуры, согласно которому в наследовании признака участвуют комплементарные или дублицированные локусы. При таком типе неаллельного взаимодействия сочетание в генотипе доминантных аллелей обоих генов обуславливает появление нового признака. Предполагается, что в этом случае признак также может быстро эволюционировать. Получено немало эмпирических данных, подтверждающих типы I и II наследования, и иллюстрирующих их связь с той или иной моделью видообразования, в то время как механизм наследования по типу III в контексте видообразования значительно меньше исследован и поэтому требует особого внимания.

Саранчовые подсемейства Gomphocerinae являются прекрасной моделью для исследования механизма быстрого видообразования путем полового отбора. Во-первых, среди них известно много близкородственных видов и видов-двойников, различающихся только по акустическим сигналам. Во-вторых, акустические сигналы гомфоцерин могут достигать высокой степени сложности. В-третьих, многие виды-двойники у гомфоцерин могут относительно легко скрещиваться в лабораторных условиях в отсутствие выбора и давать плодовитое потомство. Кроме того, среди близкородственных видов гомфоцерин нередки случаи природной гибридизации, что говорит о недавней и неполной дивергенции этих молодых видов.

Саранчовые подсемейства Gomphocerinae не относятся к модельным объектам. С точки зрения молекулярных биологов они представляют собой очень неудобный объект, т.к. обладают гигантским геномом. Большая величина генома саранчовых во многом объясняется наличием многочисленных дубликаций и/или инвазий, которые не удаляются из генома с достаточной скоростью, как это происходит у многих других организмов с более компактным геномом (напр., Petrov et al., 2000). Этот факт во многом объясняет отсутствие до недавнего времени относительно полной молекулярной филогении Gomphocerinae. Поэтому как анализ филогенетических связей, так и генетический анализ количественных признаков у представителей этого подсемейства, даже с использованием классических генетических методов, представляется очень актуальными. Включение такой трудной для изучения, немодельной группы в число объектов, на которых изучаются механизмы видообразования, можно рассматривать как дополнительное обстоятельство, повышающее актуальность нашей работы.

Цель и задачи исследования. Целью работы было выявление роли генетически детерминированных акустических сигналов в установлении репродуктивной изоляции на начальных этапах видообразования на примере саранчовых подсемейства Gomphocerinae.

В связи с этим были поставлены следующие задачи:

1. Определить последовательность нуклеотидов участка митохондриального гена COI у представителей саранчовых подсемейства Gomphocerinae, выявить родственные отношения и определить время дивергенции видов.
2. Провести сравнительный анализ реконструкции филогенетических связей (на основании анализа гена COI), акустических дистантных (призывных) сигналов и сигналов ближнего действия (ухаживания).
3. Выявить закономерности наследования сложных сигналов ухаживания и определить, насколько характер наследования таких сигналов может способствовать быстрому видообразованию.
4. Исследовать внутривидовую изменчивость акустических сигналов и определить потенциальную роль стабильных и изменчивых параметров сигналов как изолирующего механизма.
5. На примере анализа двух модельных систем (видов, различающихся по сигналам ухаживания, но гибридизирующих в природе) исследовать механизмы пре- и посткопуляционной изоляции в этологических экспериментах и в процессе гибридизации в лаборатории.
6. Охарактеризовать эволюционно-генетические процессы, происходящие в гибридных зонах, посредством анализа клинальной изменчивости акустических сигналов и морфологических признаков.

Научная новизна исследования. На основе анализа последовательности нуклеотидов митохондриального гена COI выявлены древние и молодые группы видов саранчовых подсемейства Gomphocerinae. Сравнение филогенетических реконструкций и биоакустического анализа впервые показало общий тренд к усложнению структуры акустического сигнала на примере саранчовых подсемейства Gomphocerinae. Проведен анализ разных типов акустических сигналов гомфоцерин и показано, что сигналы ближнего действия (ухаживания) эволюционируют быстрее, чем дистантные (призывные) сигналы. Впервые исследованы механизмы наследования сложных сигналов ухаживания на примере видов саранчовых из группы *Chorthippus albomarginatus*. Показано, что характер наследования большинства параметров сигнала ухаживания в группе *Ch. albomarginatus* соответствует типу III генетической архитектуры, при котором в наследовании признака участвуют комплементарные локусы. Такой характер наследования впервые показан для коммуникативных сигналов. Благодаря такому характеру наследования гибридный паттерн песни может иметь новые элементы, не встречающиеся в сигналах родительских видов, а также демонстрировать высокую изменчивость в первом поколении. Показано, что анализ клинальной изменчивости количественных признаков в гибридных зонах необходимо проводить с учетом характера наследования этих признаков. Открыта широкая гибридная зона между видами-двойниками *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* на территории Украины и Молдовы, и проведен комплексный сравнительный анализ этой зоны с узкой гибридной зоной между различными по морфологии видами *Stenobothrus rubicundus* и *S. clavatus* в северной Греции. Сравнение дисперсий и попарных ковариаций количественных признаков (параметров сигнала ухаживания и числа стридуляционных зубчиков) в гибридной зоне между *Ch.*

albomarginatus и *Ch. oschei* свидетельствует не в пользу плейотропии, а в пользу неравновесного сцепления генов.

Теоретическая и практическая значимость. Работа носит фундаментальный характер и посвящена анализу механизмов начальных ступеней видообразования, действующих на поведенческом уровне, и роли гибридизации в видообразовании. Представления об этих механизмах являются необходимыми для оценки биоразнообразия и устойчивости животных сообществ, а также создания эволюционных моделей. Изучение необычных механизмов наследования количественных признаков на немодельном объекте (нестадные саранчовые) имеет большое значение для генетических исследований. Саранчовые также имеют хозяйственное значение. Поскольку они приносят большой урон пастбищам и сельскохозяйственным культурам в период вспышек численности, для ее регулирования необходимо понимание механизмов видообразования и причин нарушения изолирующих барьеров между близкородственными видами саранчовых.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Анализ филогенетических отношений представителей подсемейства Gomphocerinae на основании определения последовательности нуклеотидов митохондриального гена COI позволяет выявить древние и молодые группы видов. Многие виды, относящиеся к родам *Stenobothrus* и *Chorthippus* и различающиеся только по акустическим сигналам, возникли в результате недавней дивергенции.
2. Эволюция акустических сигналов Gomphocerinae идет по пути усложнения амплитудно-временной структуры сигнала и увеличения количества элементов сигнала, независимо и конвергентно. Сигналы ближнего действия (ухаживания) эволюционируют быстрее, чем дистантные (призывные) сигналы.
3. Характер наследования акустического сигнала по типу III генетической архитектуры с участием дуплицированных локусов в наследовании признака объясняет появление новых элементов и повышенный уровень изменчивости в сигналах F1 гибридов; такой характер наследования может способствовать быстрому видообразованию под действием полового отбора.
4. Наследование двух признаков демонстрационных движений ухаживания носит моногенный характер с полным доминированием одного из родительских видов. Такой простой тип наследования объясняет появление сходных зрительных сигналов ухаживания у неродственных видов саранчовых.
5. Сигналы ухаживания могут выступать как в роли изолирующих, так и в роли способствующих гибридизации факторов. Та или иная их роль определяется полифункциональностью сигналов ухаживания.

Личный вклад автора. Автор непосредственно участвовал в проведении всей работы на всех этапах, а именно: сборе материала, записи и анализе сигналов, планировании и проведении поведенческих экспериментов, проведении экспериментов по скрещиванию и выведению гибридов, оценке полученных результатов, статистической обработке и генетическом анализе. Секвенирование и биоинформационный анализ проведен Н.С. Мюге.

Апробация работы. Результаты исследований были представлены на конференциях: International Meetings on Invertebrate Sound and Vibration (Pommersfelden, Germany, 1992; Tours, France, 2008; Columbia, USA, 2011; Glasgow, United Kingdom, 2013); International Congresses of Orthopterology (Montpellier, France, 2001; Antalya, Turkey, 2009; Kunming, China, 2013), Congresses of the European Society for Evolutionary Biology (Leeds, England, 2003; Krakow, Poland, 2005; Uppsala, Sweden, 2007), International Congress of Neuroethology (Japan, Sapporo, 2014), East European Conferences of the International Society for Invertebrate Neurobiology «Simpler Nervous Systems» (Калининград, 2003; Казань, 2006; Москва, 2012), международных семинарах ЕАРАЗ «Беспозвоочные в коллекциях зоопарков и инсектариес» (Москва, 2004; 2010), семинарах ортоптерологов Германии (Mitwitz, 2004; Bursfelde, 2006; Goettingen, 2007), съездах Русского энтомологического общества (Краснодар, 2007; Санкт-Петербург, 2012), конференциях молодых ученых ИТиС (Геленджик, 2010; 2011), конференциях "Современные проблемы биологической эволюции" (Москва, 2007, 2014), Всероссийской конференции по поведению животных (Москва, 2007), а также на семинарах лаборатории обработки сенсорной информации ИППИ РАН.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 49 печатных работ, из них статей в журналах, соответствующих Перечню ВАК – 15, статей в иностранных рецензируемых журналах – 9, тезисов докладов и материалов конференций – 31.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материала и методов, шести глав результатов, обсуждения, списка цитированной литературы и приложений. Содержание диссертации изложено на 204 страницах, включает 18 таблиц и 58 рисунков. Список цитированной литературы состоит из 315 работ.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В данной главе изложены сведения о способах установления репродуктивной изоляции, даны сведения об изолирующих барьерах с упором на акустическую изоляцию, приведены данные о сравнительном анализе филогенетических реконструкций и акустических сигналах в разных группах животных, приведен обзор современных взглядов на теорию полового отбора, описаны известные механизмы наследования брачных сигналов, приведен обзор сведений о роли гибридизации в видообразовании, а также описаны известные гибридные зоны у саранчовых.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Отлов саранчовых проводился в период с 1993 по 2011 г.г. в разных районах Болгарии, Венгрии, Италии, Греции, Германии, Польши, Украины, Молдовы и России. Записаны акустические сигналы 215 самцов, относящихся к 50 видам. Кроме того, при исследовании гибридной зоны между *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* на территории Украины и Молдовы изучены морфологически 460 самцов и акустически 376 самцов из природных

популяций и 116 самцов лабораторных гибридов. В ходе исследования гибридной зоны между *S. clavatus* и *S. rubicundus* записаны сигналы 165 самцов из природных популяций и 38 самцов лабораторных гибридов.

Запись и анализ акустических сигналов

Сигналы большинства самцов (587) записаны в лаборатории при температуре 30-35°C. Для записи стридуляционных движений ног использовали оптико-электронную установку, собранную в лаборатории по методике, разработанной немецкими коллегами. Кусочки светоотражающей фольги наклеивали на наружные дистальные лопасти задних бедер самца. Две камеры были сфокусированы на освещенные кусочки фольги таким образом, что отраженные лучи попадали через систему зеркал на позиционно-чувствительные фотодиоды, встроенные в фотокамеры. Световой луч, попадающий на фотодиод, конвертировался в электронный сигнал и записывался одновременно со звуком. Звуковые сигналы регистрировали с помощью микрофона Брюль и Кьер (Brüel & Kjaer 4191; диапазон воспринимаемых частот 3 Гц – 40 кГц). Запись стридуляционных движений ног и звуков производили одновременно. Сигналы через усилитель и самодельный АЦП поступали на компьютер. Частота оцифровки звуковых сигналов составляла 100 кГц, движений ног – 2 кГц. Сигналы 207 самцов записаны в полевых условиях с помощью микрофона Audio-Technica ATR 25 и портативного магнитофона Elektronika 302-1 или Sharp MD-MT 190H (верхняя граница воспринимаемых частот 14 кГц). В поле температура варьировала в пределах 24-42°C.

Анализ сигналов проводили с помощью программ Turbolab 4.0 (Германия, Bressner Technology) и CoolEdit (США, Syntrillium). В призывных сигналах измерялись только амплитудно-временные параметры, в более сложных сигналах ухаживания измеряли также и спектральные характеристики. В каждом сигнале при возможности проводили по десять измерений каждого параметра. Для статистического анализа сигналов использовали программы Excel и Statistica. Кроме того, поведение ухаживания записывали на видеокамеру Sony DCR-TRV 355E как в полевых условиях, так и в лаборатории; видеозаписи анализировали с помощью программ Adobe Premiere и Virtual Dub.

Молекулярный анализ

Для молекулярно-генетического анализа были использованы образцы 53 самцов, относящихся к 39 видам, собранных из 43 точек Евразии. ДНК изолировали из задних бедер саранчовых, фиксированных в 96% спирте или из сухого материала. ДНК выделяли по ранее предложенному протоколу (Aljanabi, Martinez, 1997).

Амплификацию участка митохондриального гена COI (653 пар оснований) проводили с помощью метода ПЦР с использованием универсальных праймеров LCOI 1490 и HCOI 2198 (Folmer et al., 1994). Амплификацию проводили в 25-мкл буфера (Sileks), содержащего 2.5 mM MgCl₂, 0.8 mM каждого dNTP, 10 пМ каждого праймера, 1 мкл ДНК матрицы и 1.25 ед. Taq-полимеразы (Sileks-M, Москва). Амплификацию начинали с денатурации (2

мин при 95°C), после чего следовало 35 циклов (30 с при 95°C, 1 мин при 48°C и 1.5 мин при 72°C). Амплификация заканчивалась элонгацией (10 мин при 72°C). Продукты ПЦР чистили с помощью Wisard PCR Preps (Promega, Madison, WI, USA). Секвенирование продуктов амплификации проводили с ПЦР праймеров в обоих направлениях с использованием набора ABI PRISMs BigDye Terminator v. 1.1 на секвенаторе ABI PRISM 3100 в соответствии с инструкциями фирмы-изготовителя.

Редактирование полученных последовательностей и сборка контигов осуществлялись с использованием модулей SeqMan и EditSeq пакета DNASTar (DNASTar, <http://www.dnastar.com/>). Для филогенетического анализа были также использованы 11 нуклеотидных последовательностей из Генбанка. Выравнивание последовательностей участка COI было произведено с использованием MUSCLE v. 3.7 (Edgar, 2004).

Филогенетические деревья строились методами объединения соседей (NJ), максимальной экономии (MP), максимального правдоподобия (ML) и Байеса с помощью программ PAUP 4.0b10 (NJ и MP, Swofford, 2003), PhyML (Guindon, Gascuel, 2003) и MrBayes v3.1.2 (Ronquist, Huelsenbeck, 2003). Оценка достоверности дендрограмм, полученных методами MP и ML, проводилась методом бутстреп-анализа при 1000 повторах.

Проведение межвидовых скрещиваний и исследование жизнеспособности гибридов

Для проведения межвидовых скрещиваний между *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* были использованы особи из трех аллопатрических и одной гибридной популяций из Германии, Болгарии, России и Украины. Для проведения скрещиваний 10 девственных самцов одного вида и 10 девственных самок другого вида помещали в один садок (30 × 60 × 40 см) на 3-4 недели при световом режиме 12 ч день/ 12 ч ночь. Суточная температура варьировала от 20 до 25°C. В садок ставили кюветы с влажным песком для откладки яиц. Собранные кубышки помещали во влажный песок в чашки Петри и ставили в холодильник минимум на 5 месяцев при температуре +4°C. Затем кубышки вынимали и держали при комнатной температуре; через 2-4 недели начинался вывод личинок. Таким образом, для получения следующего поколения требовалось минимум 8 месяцев. Личинок первых стадий кормили *Poa annua*, подросших личинок и взрослых особей – *Dactylis glomerata*. Получено гибридное потомство F₁, F₂, потомство от возвратных скрещиваний и F₃.

Для проведения скрещиваний между *S. rubicundus* и *S. clavatus* были использованы особи из трех аллопатрических популяций северной Греции. Было получено гибридное потомство F₁, F₂ и потомство от возвратных скрещиваний. Для проведения скрещиваний каждую пару, состоящую из девственного самца и самки, помещали в отдельный садок (10 × 10 × 15 см) с влажным песком на 1-2 недели. Сбор кубышек и проведение их через искусственную диапаузу был аналогичен описанным выше для *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei*. Личинок и взрослых особей кормили разными видами *Festuca*. Суточная температура была 25°C днем и 16°C ночью.

В ходе скрещиваний *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* также исследовали жизнеспособность гибридов. После вылупления личинок вскрывали кубышки и подсчитывали неоплодотворенные яйца и погибших эмбрионов. Яйца считались неоплодотворенными, если их содержимое было жидким и гомогенным, если яйца были твердыми или засохшими, но без эмбрионов. Суммарное число яиц в кубышках определяли после подсчета вылупившихся и погибших личинок, которых периодически вынимали из садков, и подсчета особей, достигших стадии имаго. Мы допускаем, что часть погибших личинок, особенно I-II возрастов, сразу не удаленных из садков, была съедена и осталась неучтенной.

Этологические эксперименты

Для исследования поведенческих предпочтений в группе *Ch. albomarginatus* 7-14 самок одного вида или одного типа скрещиваний помещали в садок вместе с равным числом самцов разных видов или типов. Каждая серия экспериментов проводилась по 6-8 часов каждый день в течение 10-14 дней. Каждые 20-30 минут производили проверку наличия копулирующих пар. Было проведено 13 серий поведенческих экспериментов с самками из аллопатрических популяций (Германия, Болгария, Венгрия), четырех гибридных популяций, а также F_1 , F_2 гибридами и гибридами от возвратных скрещиваний. Самкам одного типа предоставлялся выбор между равным числом кон- и гетероспецифических самцов.

Для исследования предпочтений в группе *S. rubicundus* самкам из аллопатрических и гибридных популяций, а также самкам лабораторных гибридов проигрывали записанные сигналы ухаживания родительских видов и двух типов гибридов. Самкам также проигрывали отдельные элементы сигнала ухаживания, в частности, элементы призывного сигнала. В экспериментах использовали девственных самок в возрасте 5-10 дней. Ответ самки считался положительным, если она издавала ответный сигнал. Сетчатый садок ($25 \times 12 \times 12$ см) с самкой помещали на расстоянии 20 см от динамика (Soundcraft DT 25 P Conrad). Сигналы проигрывали с помощью программы Audacity (<http://audacity.sourceforge.net/>). Интенсивность предъявляемого сигнала рядом с самкой была сравнима с таковой около ухаживающего самца. Разные типы сигналов предъявляли каждой самке поочередно с паузами в 20 с, не больше 12 раз в день.

Биометрические генетические методы

Эффекты генетических факторов (аддитивные, доминантные и эпистатические) оценивали методом совместного шкалирования с использованием метода взвешенных наименьших квадратов (Mather, Jinks, 1982; Lynch, Walsh, 1998). Вначале проверяли простую аддитивно-доминантную модель, а затем модель с неаллельными взаимодействиями. Для проверки адекватности аддитивно-доминантной модели вычисляли ожидаемые значения A, B, C и их дисперсий:

$$\begin{aligned} A &= 2B_1 - P_1 - F_1 & V_A &= 4V_{B_1} + V_{P_1} + V_{F_1} \\ B &= 2B_2 - P_2 - F_1 & V_B &= 4V_{B_2} + V_{P_2} + V_{F_1} \\ C &= 4F_2 - 2F_1 - P_1 - P_2 & V_C &= 16V_{F_2} + 4V_{F_1} + V_{P_1} + V_{P_2} \end{aligned}$$

где P_1 – это среднее у родителя с большим значением признака, а P_2 – с меньшим. В отсутствии взаимодействий все эти ожидаемые значения становятся равными нулю.

Кроме того, оценивали эффективное (минимальное) число генетических факторов, влияющих на различия в сигналах и числе стридуляционных зубчиков с помощью метода Кастла-Райта:

$$n = (\mu_{P2} - \mu_{P1})^2 / (8\sigma_s^2),$$

где μ – среднее значение для популяции и σ_s^2 – сегрегационная дисперсия.

Сегрегационную дисперсию рассчитывали по формуле из работы Ланде (Lande, 1981):

$$\sigma_s^2 = \sigma_{F2}^2 - ((1/2)\sigma_{F1}^2 + (1/4)\sigma_{P1}^2 + (1/4)\sigma_{P2}^2)$$

Также использовали поправки по Ценгу, оценивая частоту рекомбинации между локусами как $r=0.468$ (гаплоидное число хромосом $M=9$) и функцию изменчивости различий в аллельных эффектах как $z=1.57$ (при нормальном распределении индивидуальных аллельных эффектов) и $z=2$ (при островершинной кривой распределения).

Анализ изменчивости признаков в гибридной зоне

Чтобы оценить степень сходства клин разных признаков в гибридной зоне, проводили полиномиальную регрессию с помощью функции Loess и наложение клин. Для сравнения ширины и центров клин использовали метод регрессии, описанный ранее в работах Бартон и Хьюитта (Barton, Hewitt, 1985) и усовершенствованный Круук (Kruuk, 1997):

$$Y = a + bx + b_2x^2 + b_3x^3$$

Если клины двух признаков имеют одинаковые центр и ширину, то регрессия одного признака на другой даст прямую линию; если клины двух признаков смещены относительно друг друга, то регрессия даст достоверный квадратный коэффициент; если клины имеют разную ширину, то регрессия даст достоверный кубический коэффициент. Такой непрямой метод позволяет избежать погрешностей, связанных с пространственной структурой, которые могут получаться при измерении расстояний в мозаичной гибридной зоне. Для сокращения числа попарных сравнений между семью признаками, мы проводили регрессию каждого признака на число стридуляционных зубчиков. Такой анализ показывал смещение или различия в ширине клины того или иного признака относительно клины числа зубчиков.

В большинстве исследованных гибридных биотопов самцы, которые издавали промежуточные сигналы, были в меньшинстве, и напротив, преобладали самцы, поющие песню родительского типа. Поэтому мы ожидали, что фенотипическая дисперсия будет особенно высока в тех популяциях, где наблюдается бимодальное распределение признаков. Мы считали дисперсии и попарные ковариации количественных признаков отдельно в аллопатрических и гибридных популяциях. Ковариация между признаками может быть результатом неравновесного сцепления генов или плейотропии. Низкая ковариация в аллопатрических популяциях по сравнению с гибридными исключает плейотропию. А высокая ковариация в гибридной зоне свидетельствует в пользу неравновесного сцепления генов и низкой

интрогрессии. В свою очередь, неравновесное сцепление генов может быть результатом отбора против гибридов и/или ассортативного скрещивания.

Глава 3. ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕКОНСТРУКЦИИ И АНАЛИЗ АКУСТИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ В ПОДСЕМЕЙСТВЕ GOMPHOCERINAE

Филогенетический анализ

Филогенетические деревья, построенные разными методами на основании данных изменчивости нуклеотидных последовательностей участка гена COI, имели сходную топологию, за исключением двух позиций (рис. 1). Наиболее базальные кластеры дерева включили в себя трибы *Chrysochraontini*, *Dociostaurini* и *Arcypterini*. Трибы *Arcypterini* и *Chrysochraontini* оказались парафилетическими. Различия между разными видами одного рода достаточно велики в базальных кластерах: уровень генетической дивергенции по гену COI в основном варьировал в пределах 3.6-14.7%. Исключение составили виды из рода *Arcyptera* (1.2%).

Другие кластеры объединили виды, относящиеся к двум трибам: *Stenobothrini* и *Gomphocerini*. Виды рода *Euchorthippus* оказались в основании по отношению ко всем остальным представителям *Gomphocerini*, что свидетельствует о полифилетическом происхождении этой трибы. Виды группы *Ch. parallelus* оказались лежащими базально к трибе *Stenobothrini*, что опять же говорит о полифилии трибы *Gomphocerini*. Триба *Stenobothrini* разделилась на две группы, и примечательно, что виды из одного рода оказались в разных группах. Виды из родов *Omocestus* и *Myrmeleotettix* доминируют в одной группе, тогда как виды рода *Stenobothrus* преобладают в другой группе. Различия между разными видами в родах *Omocestus* и *Myrmeleotettix* оказались больше (1.6-7 %), чем между большинством видов из рода *Stenobothrus* (0.5-1 %).

Кластер, включающий только представителей трибы *Gomphocerini*, разделился на три подкластера. Во-первых, близкородственные виды *Ch. dichrous* and *Ch. dorsatus* объединились вместе, демонстрируя относительно высокое межвидовое различие (5.6 %). Во-вторых, различные виды рода *Chorthippus*, в частности, виды из группы *Ch. biguttulus* (*Ch. biguttulus*, *Ch. bornhalmi*, *Ch. brunneus*, *Ch. maritimus* и *Ch. mollis*), объединились с представителями трех других родов (*G. rufus*, *A. sibiricus* and *S. scalaris*). Наименьшие межвидовые различия в этом подкластере найдены между видами группы *Ch. biguttulus* group (0.3-1.8 %). Наконец, близкородственные виды из группы *Ch. albomarginatus* (*Ch. albomarginatus*, *Ch. oschei*, *Ch. karelini*, *Ch. lacustris* и *Ch. ferdinandi*) образовали третий подкластер. Межвидовые различия в этой группе видов оказались сравнимы с различиями в группе *Ch. biguttulus*. Следует отметить, что различия между некоторыми видами группы *Ch. albomarginatus* оказались меньше, чем между представителями одного вида, взятыми из разных популяций.

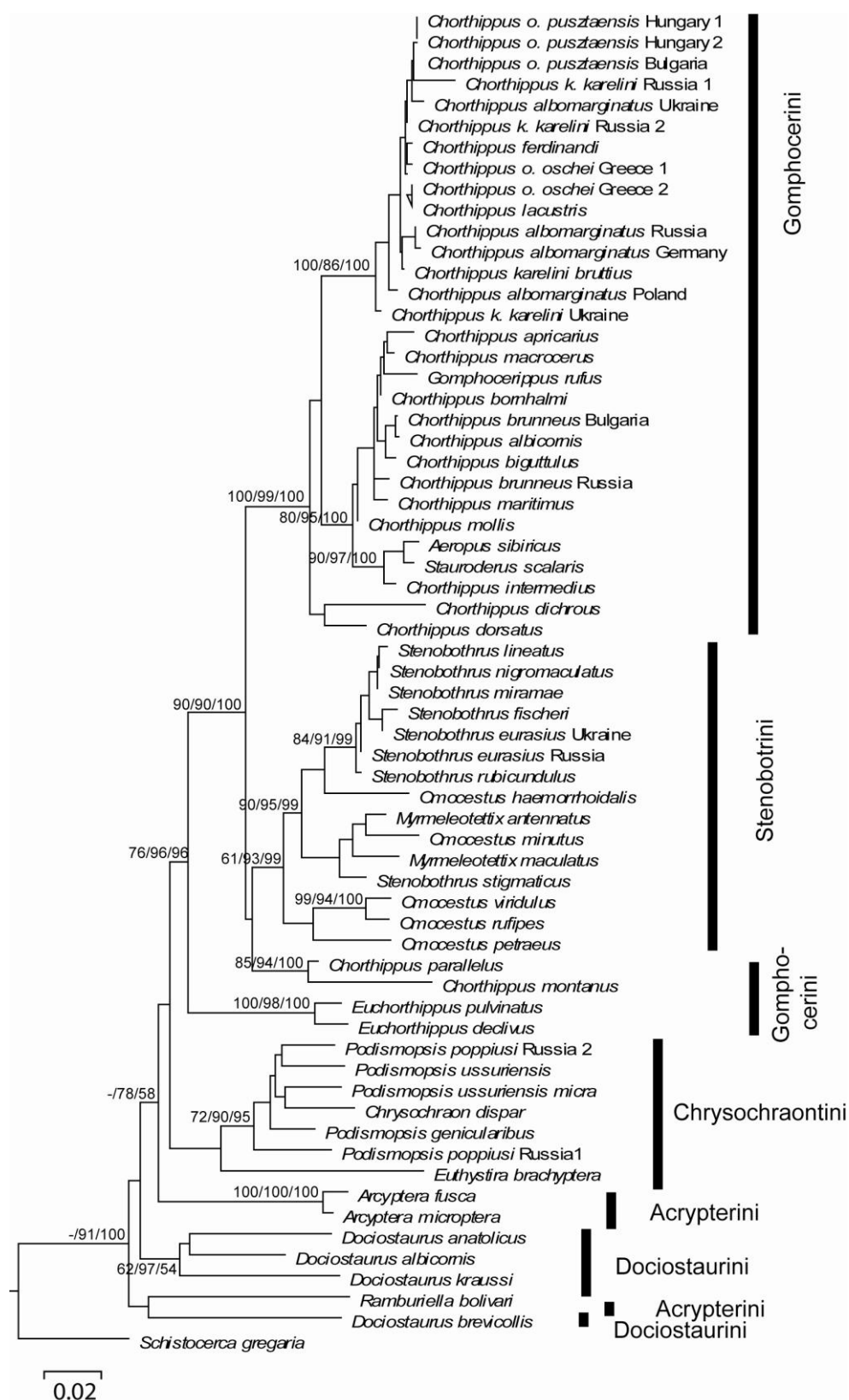


Рис. 1. Филогенетическое дерево Gomphocerinae, построенное методом объединения соседей на основании анализа участка митохондриального гена COI (653 пар оснований). Указан уровень поддержки, полученный методами максимальной экономии (MP), максимального правдоподобия (ML) и Байеса (первое, второе и третье значения соответственно). В двух позициях первое значение отсутствует из-за несоответствия деревьев.

Наши результаты подтверждают ранее полученные данные филогенетических исследований. Например, мы подтвердили полифилетическое происхождение рода *Chorthippus* (Гуляева и др., 2005; Contreras, Chapco, 2006). Эти же авторы продемонстрировали базальное положение рода *Euchorthippus* (рядом с трибой *Chrysochraontini*). По результатам нашего анализа виды рода *Euchorthippus* лежат в основании по отношению ко всем остальным представителям *Gomphocerini* и *Stenobothrini*. Близость *G. rufus* к группе *Ch. biguttulus* была также показана теми же авторами. Очень малые расхождения между несколькими видами *Stenobothrus*, такими как *S. lineatus*, *S. fischeri*, *S. eurasius* и *S. rubicundulus*, также показаны в работе Бергера с соавторами (Berger et al., 2009).

Эволюция паттерна призывного сигнала *Gomphocerinae*

Самые простые паттерны движения ног во время стридуляции гомфоцерин представляют собой либо плавные, синхронные движения ног вверх-вниз (как у *Chrysocharon dispar*, рис. 2), либо плавный подъем вверх и ступенчатое опускание ног (как у *S. stigmaticus*). Эти два самых простых варианта движений ног мы относим к плезиоморфному паттерну. Плезиоморфный паттерн доминировал в базальных кластерах филогенетического дерева и реже встречался в молодых группах (рис. 3).

У представителей триб *Stenobothrini* и *Gomphocerini* можно найти более сложные паттерны движений ног. Например, в сигнале *S. e. eurasius* происходит чередование высокочастотных вибраций ног разной частоты, в результате чего чередуются два звуковых элемента с пульсами разной частоты и амплитуды (рис. 2). В сигнале *Ch. dorsatus* два разных элемента генерируются путем изменения фазового сдвига в движениях двух ног. В сигнале *Ch. mollis* две ноги работают по разным программам; высокоамплитудный пульс генерируется в результате опускания только одной ноги. В сигнале *G. rufus* две ноги производят разное число взмахов в каждой серии, причем ноги меняются ролями от серии к серии.

У видов из разных кластеров можно найти одинаковые способы усложнения сигнала. Например, сигнал, содержащий два элемента, которые издаются в результате чередования ступенчатых движений ног разной частоты, можно найти в родах *Stenobothrus* (*S. eurasius*) и *Stauroderus* (*S. scalaris*). Высокочастотные (60-80 Гц), низкоамплитудные вибрации ног можно найти в сигналах *S. nigromaculatus* и *Ch. albicornis*, тогда как высокочастотные и высокоамплитудные движения издают *M. maculatus* и *Ch. mollis*. В сигналах последних двух видов медленные движения ног вверх-вниз модулируются частотой 50-60 Гц, причем амплитуда высокочастотных вибраций достигает максимума к середине каждой серии и опять уменьшается к концу серии. В результате звуковая серия на осциллограмме имеет форму веретена. В сигналах обоих видов ноги вибрируют строго в противофазе.

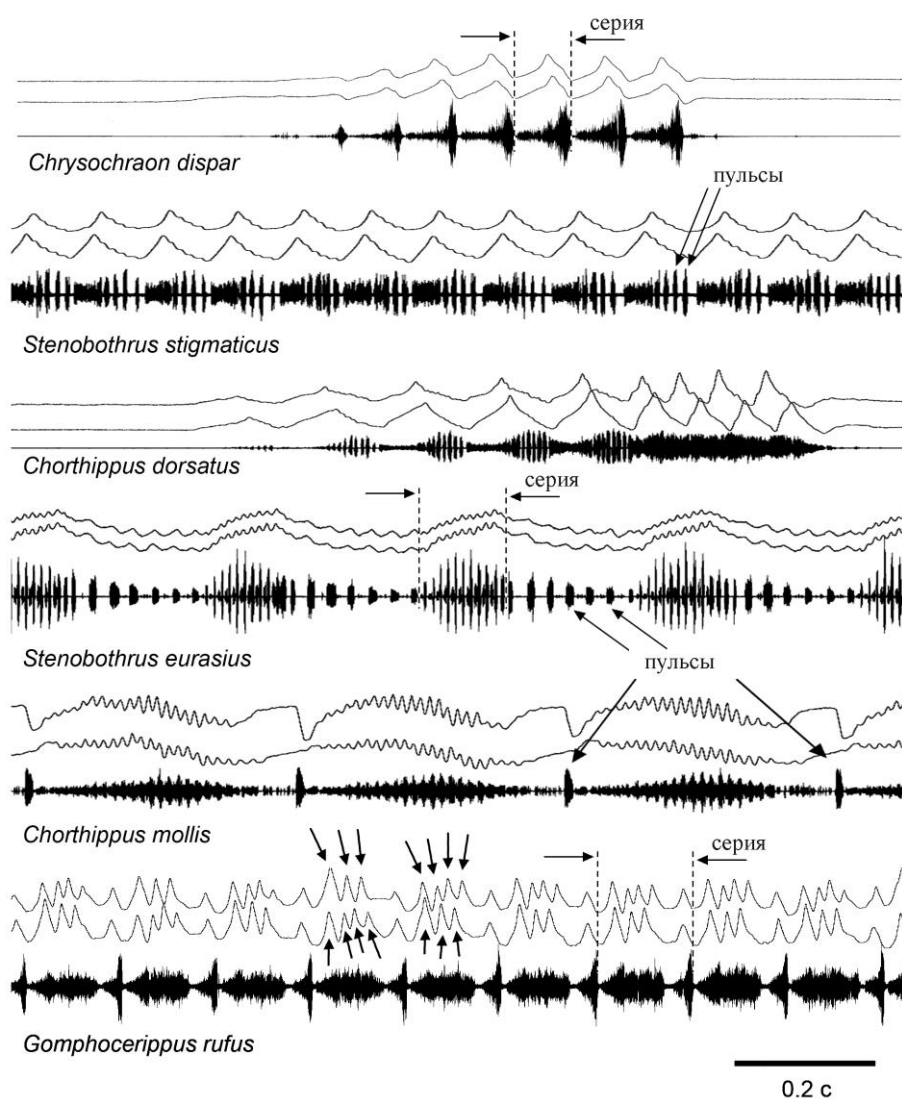


Рис. 2. Осциллограммы призывных сигналов саранчовых подсемейства Gomphocerinae. На каждой осциллограмме две верхних записи – траектории движения ног, нижняя запись – звук. Стрелки на нижней осциллограмме показывают неравное число взмахов правой и левой ног *G. rufus*.

Эволюция сигнала ухаживания Gomphocerinae

Сигналы ухаживания самцов большинства видов, принадлежащих к трибам Chrysochraontini, Dociostaurini и Arcypterini, практически не отличаются от призывных сигналов (рис. 3). Сигналы ухаживания многих видов из трибы Gomphocerini также сильно напоминают призывные сигналы. Напротив, почти у всех видов из трибы Stenobothrini и части видов из трибы Gomphocerini сигналы ухаживания сложнее, чем призывные сигналы. Как правило, они содержат больше элементов, чем призывные сигналы, и сопровождаются визуальными демонстрационными сигналами. Например, в сигнале ухаживания *Ch. albomarginatus* (рис. 4 в, г) три элемента чередуются характерным образом: после чередования 4-7 пар элементов А и В следует элемент С. Элементы А и В генерируются при синхронном движении ног с разной частотой, тогда как элемент С генерируется при движении ног в противофазе, а рисунок движений ног в элементе С гораздо сложнее, чем в элементах А и В. Сигнал *Ch. oschei* (рис. 4 д, е) включает в себя пять элементов: после чередования 15-30 А/В пар следует комплекс из трех элементов, В1-А1-С. Элемент В1 – самый продолжительный и громкий элемент, который издается в результате синхронных высокоамплитудных движений ног с постепенно

увеличивающейся частотой. В начале элемента С следует характерный демонстрационный сигнал - высокоамплитудный взмах задними ногами и голеньями. Затем ноги возвращаются в исходную позицию и вибрируют в противофазе.

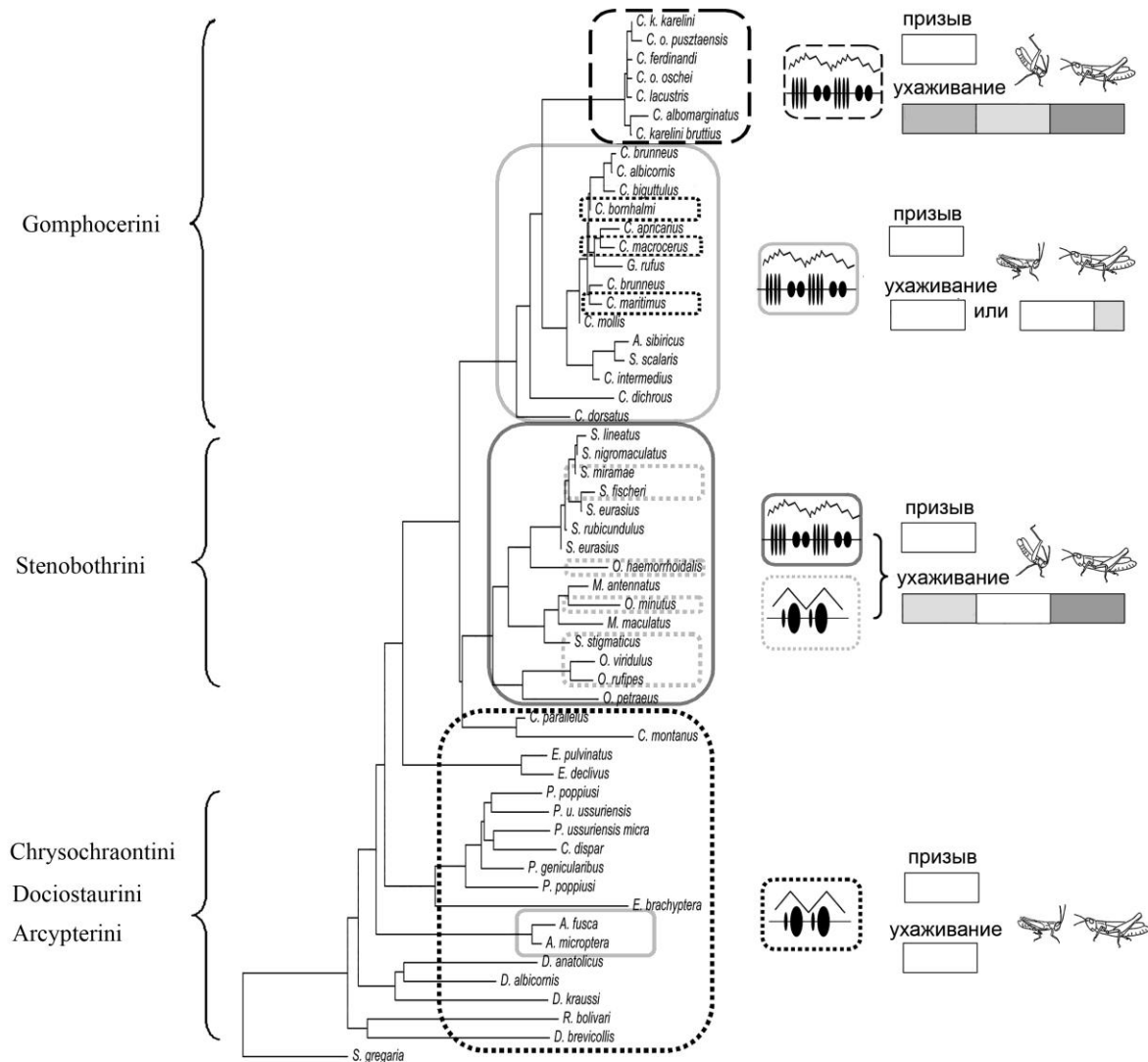


Рис. 3. Сравнение филогенетических реконструкций, проведенных на основании анализа участка митохондриального гена COI, и биоакустики в подсемействе Gomphocerinae. На схемах показаны типы паттернов движений ног (простой и сложный), доминирующие для каждого выделенного кластера дерева; каждый прямоугольник в схемах призывного сигнала и сигнала ухаживания обозначает один элемент; изображения саранчовых обозначают отсутствие или наличие визуальных сигналов ухаживания. Самый верхний кластер филогенетического дерева включает в себя виды из группы *Ch. albomarginatus*.

Следует отметить, что почти у всех видов (за исключением группы видов *Ch. albomarginatus*) можно найти элемент призывного сигнала в составе сигнала ухаживания. При этом характер сочетания элемента призывного сигнала с другими элементами чрезвычайно варьирует между видами. В то же время, усложнение может достигаться в разных группах гомфоцерин сходным

образом (рис. 3). Часто можно найти чередование тихих и громких элементов, как, например, в сигналах *M. antennatus*, *S. rubicundulus*, *S. fischeri* (Stenobothrini) и видов из группы *Ch. albomarginatus* (Gomphocerini). В сигналах очень многих видов синхронные движения ног чередуются с асинхронными, в результате чего происходит чередование звуковых серий с разной частотой повторения пульсов. Еще один способ усложнения сигнала, который прослеживается при анализе ухаживания гомфоцерин – использование демонстрационных визуальных движений разными частями тела. Причем в этом также просматривается сходство между разными группами. Резкие высокоамплитудные взмахи ног производят самцы *O. minutus*, *M. maculatus*, *S. nigromaculatus* (Stenobothrini) и *G. rufus* (Gomphocerini).

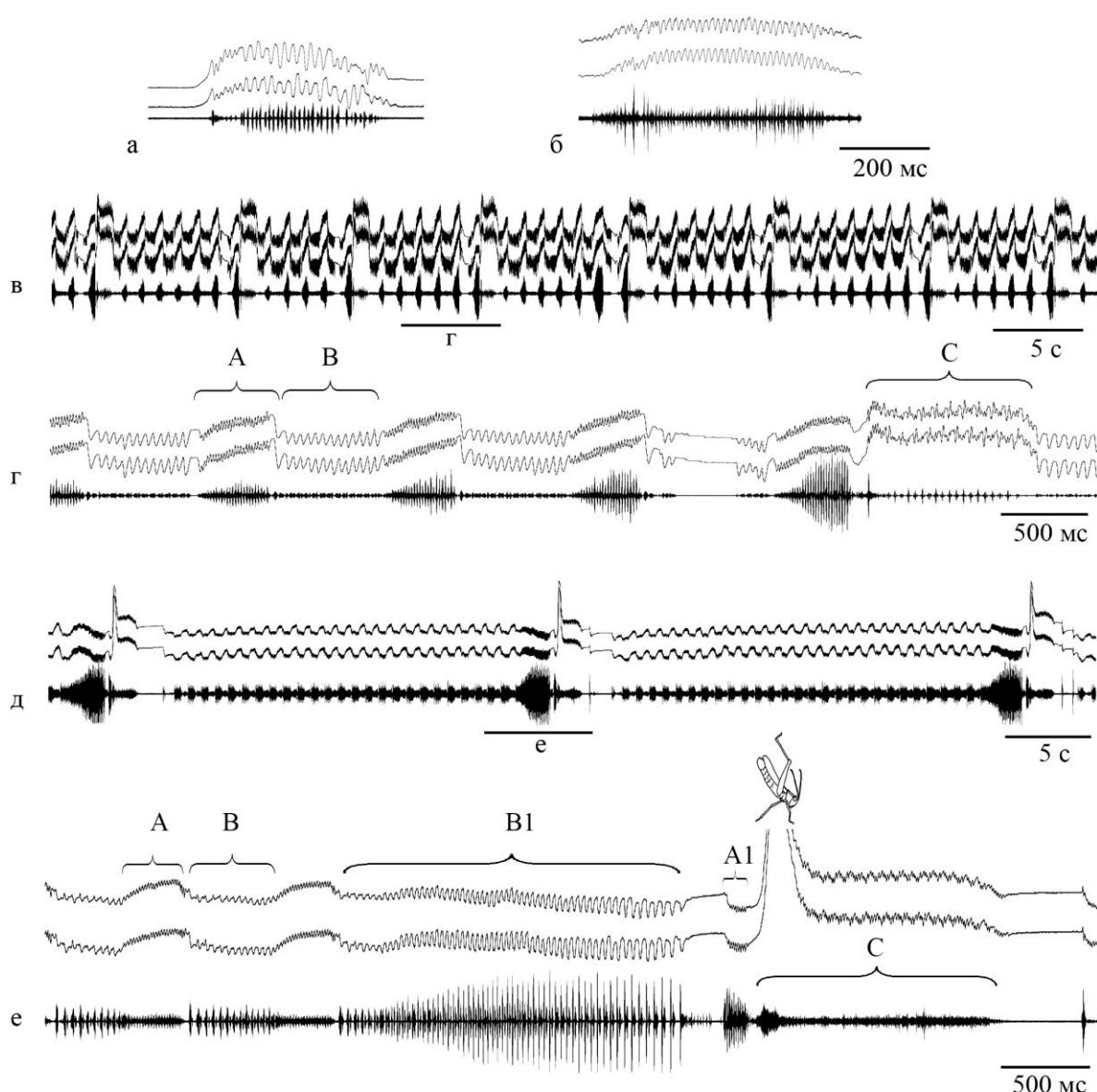


Рис. 4. Осциллограммы призывных сигналов (а, б) и сигналов ухаживания (в-е) *Chorthippus albomarginatus* (а, в, г) и *Ch. oschei* (б, д, е). А, В, В1, А1 и С – элементы сигнала. На каждой осциллограмме две верхних записи – траектории движения ног, нижняя запись – звук. Самец *Ch. oschei* делает характерный взмах задними голеньями в начале элемента С. Фрагменты осциллограмм (в) и (д) представлены при больших скоростях развертки (г) и (е).

Взмахи не только бедрами, но и голеньями можно найти у самцов *S. fischeri*, *S. clavatus*, *Ch. albicornis*, а также видов из группы *Ch. albomarginatus*. Взмахи антеннами можно наблюдать у *S. lineatus*, *M. maculatus*, *M. antennatus*, *G. rufus*, *Ch. lacustris*. Самцы *M. maculatus* и *G. rufus* производят очень специфические движения головой из стороны в сторону в определенный момент ухаживания.

Сравнительный анализ показывает, что призывные сигналы эволюционируют медленнее, чем сигналы ухаживания. Например, у разных видов из трибы *Stenobothrini* паттерн призывного сигнала часто оказывается сходным и относительно простым, тогда как сигналы ухаживания – сложными и сильно различающимися. У видов-двойников из группы *Ch. albomarginatus* призывные сигналы также сходны, тогда как сигналы ухаживания хорошо различаются и достигают высокой степени сложности.

Одновременно с нами был проведен сравнительный анализ молекулярной филогении и биоакустики гомфоцерин еще одной группой исследователей (Nattier et al., 2011). Но, во-первых, исследование было сделано на другом наборе видов, во-вторых, авторы сравнивали лишь два наиболее молодых кластера, *Stenobothrini* и *Gomphocerini*, проигнорировав базальные группы, и, в-третьих, выводы об эволюции гомфоцерин, которые в итоге были сделаны, на наш взгляд, неправомерны, что подробно обсуждается в диссертации.

Таким образом, материал, изложенный в данной главе, позволяет сделать следующие выводы: во-первых, на основании анализа последовательности нуклеотидов митохондриального гена COI выявлены родственные связи внутри подсемейства *Gomphocerinae*, и определены древние и молодые группы видов; во-вторых, сравнительный анализ филогенетических реконструкций и биоакустики показал, что эволюция призывного сигнала *Gomphocerinae* идет в сторону усложнения амплитудно-временной структуры сигнала, независимо и конвергентно; в-третьих, сигналы ближнего действия (ухаживания) эволюционируют быстрее, чем дистантные (призывные) сигналы. Подобно призывным сигналам, эволюция сигналов ухаживания происходит по пути их усложнения, независимо и конвергентно.

Глава 4. ИЗМЕНЧИВОСТЬ АКУСТИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ GOMPHOCERINAE

Сравнение степени внутривидовой изменчивости амплитудно-временных параметров сигналов ухаживания у разных видов саранчовых (*S. lineatus*, *S. nigromaculatus*, *S. fischeri*, *M. maculatus*, *M. antennatus*, *G. rufus*, *Ch. biguttulus*) показало, что наиболее стабильными параметрами у всех исследованных видов являются период повторения серий или пульсов в серии. Паттерн движения ног при генерации серии также относительно стабилен, хотя огибающая серии подвержена определенной изменчивости. Такие параметры как число серий во фразе, длительность и период повторения фразы или длительность и число разных элементов обладают высокой изменчивостью. Таким образом, прослеживается сходство сигнала ухаживания с призывным сигналом: в призывном сигнале период повторения серии также является одним из самых стабильных параметров и считается видоспецифическим признаком (Бухвалова,

Жантеев, 1993; Bukhvalova, 2006; Tishechkin, Bukhvalova, 2009). Наши наблюдения показывают, что в условиях высокой плотности популяции особи противоположного пола могут случайно встретиться друг с другом и самец может, не исполняя призывный сигнал, сразу начать издавать сигнал ухаживания. Таким образом, самка должна уметь распознавать особь своего вида именно в процессе ухаживания. По этой причине сходство стабильных параметров в разных типах сигналов представляется вполне логичными.

Проведенный нами анализ показал, что особенно варьируют те элементы звукового сигнала, которые сопровождаются демонстрационными движениями ног, антенн, головы и т.д. Например, элемент В присутствует в сигналах одних самцов *Ch. biguttulus* и отсутствует в сигналах других. Этот элемент сопровождается высоким подъемом задних ног, что очевидно служит дополнительным зрительным стимулом для самки. Период повторения и число высокоамплитудных взмахов ног при генерации коротких пульсов у *G. rufus* сильно варьирует даже в пределах одного сигнала. У *S. fischeri* длительность элемента С, при издавании которого самец взмахивает голенью и поворачивается всем телом из стороны в сторону, также сильно варьирует, а сам элемент генерируется не регулярно. Изменчивость этих параметров свидетельствует о том, что они могут служить для оценки индивидуальных качеств самца.

Материал, изложенный в данной главе, позволяет сделать следующий вывод: наиболее стабильными обычно оказываются те параметры, которые соответствуют самым низким уровням ритмической организации сигнала; напротив, параметры, соответствующие более высоким ритмическим уровням, обладают более высокой изменчивостью.

Глава 5. ХАРАКТЕР НАСЛЕДОВАНИЯ СИГНАЛОВ УХАЖИВАНИЯ В ГРУППЕ *CH. ALBOMARGINATUS*

Сигналы ухаживания видов-двойников *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* были выбраны нами для проведения анализа наследования по нескольким причинам. Во-первых, их сигналы очень сложны по амплитудно-временной структуре и различаются по многим параметрам. Во-вторых, нами была открыта широкая гибридная зона между этими видами (см. ниже), что подразумевало слабую выраженность посткопуляционных изолирующих барьеров и потенциальную возможность получения гибридов как минимум в двух поколениях.

В сигналах ухаживания этих видов были выделены гомологичные элементы и измерено семь амплитудно-временных параметров (рис. 5). Не смотря на то, что амплитудно-временные характеристики сигналов различаются у двух видов, гомология некоторых элементов сигнала очевидна. Например, в элементе А, равно как и в элементе В, паттерн движения ног сходен у двух видов (рис. 4). Сходство в паттернах С, хоть и меньшее, также прослеживается. Анализ гибридных сигналов показал, что элементы В1 и А1 в сигнале *Ch. oschei* могут быть гомологичны последней паре В/А элементов, предшествующих элементу С в сигнале *Ch. albomarginatus*. Для генетического

анализа были также выбраны элементы демонстрационного сигнала (число самцов, производящих взмах голенью и максимальный угол между бедром и голенью), а также единственный морфологический параметр, по которому различаются два вида (число стридуляционных зубчиков).

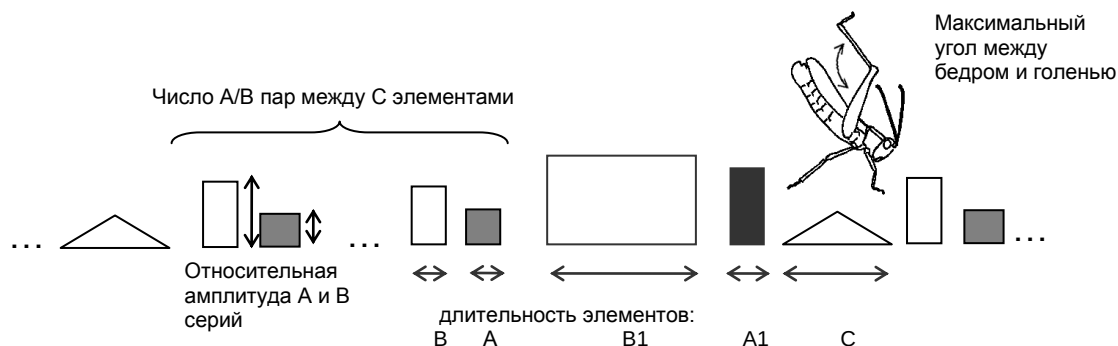


Рис. 5. Схема сигнала ухаживания *Ch. oschei* и параметры, использованные при сравнительном анализе сигналов в группе *Ch. albomarginatus*.

Нами было проведено две серии скрещиваний: *Ch. albomarginatus* из Германии с *Ch. oschei* из Болгарии (ГБ скрещивания) и *Ch. albomarginatus* из России и *Ch. oschei* из Украины (РУ скрещивания). Гибриды от возвратных скрещиваний и F3 гибриды получены лишь в первой серии скрещиваний.

Наследование акустических параметров сигналов

Среди сигналов гибридов первого поколения можно выделить несколько распространенных фенотипов. Один из них содержал две формы элементов А и В, различавшиеся в основном только по длительности. Другая распространенная черта гибридных сигналов заключалась в высокой изменчивости амплитуды серий А даже в пределах одной записи; в то же время, переход от тихих к громким А сериям происходил достаточно резко. Очень часто последний элемент А, предшествующий С элементу, отличался по частоте движений ног от других элементов А, что напоминало А1 элемент сигнала *Ch. oschei*.

В гибридных сигналах обнаружены признаки, не свойственные сигналам родительских видов. Один из таких признаков – повторение комплекса В-А-С несколько раз, практически без чередования А/В пар между С элементами. В результате число А/В пар оказалось достоверно ниже такового в сигналах родительских видов (рис. 6). Длительность серии В1 была достоверно выше в сигнале гибридов, чем в сигнале *Ch. oschei*, родителя с более высоким значением этого параметра. Еще два параметра, длительность элементов А и В, превышали оба родительских значения. Только два параметра, относительная амплитуда В и А серий и длительность элемента А1, имели промежуточные значения между родительскими характеристиками (рис. 6).

В F1 гибридных сигналах изменчивость (как внутри одного сигнала, так и между самцами) по четырем параметрам оказалась значительно выше, чем в сигналах родительских видов. Результаты анализа главных компонент для всех

параметров песни показывают, что разброс значений для F1 гибридов гораздо выше, чем таковой для родительских видов (рис. 7).

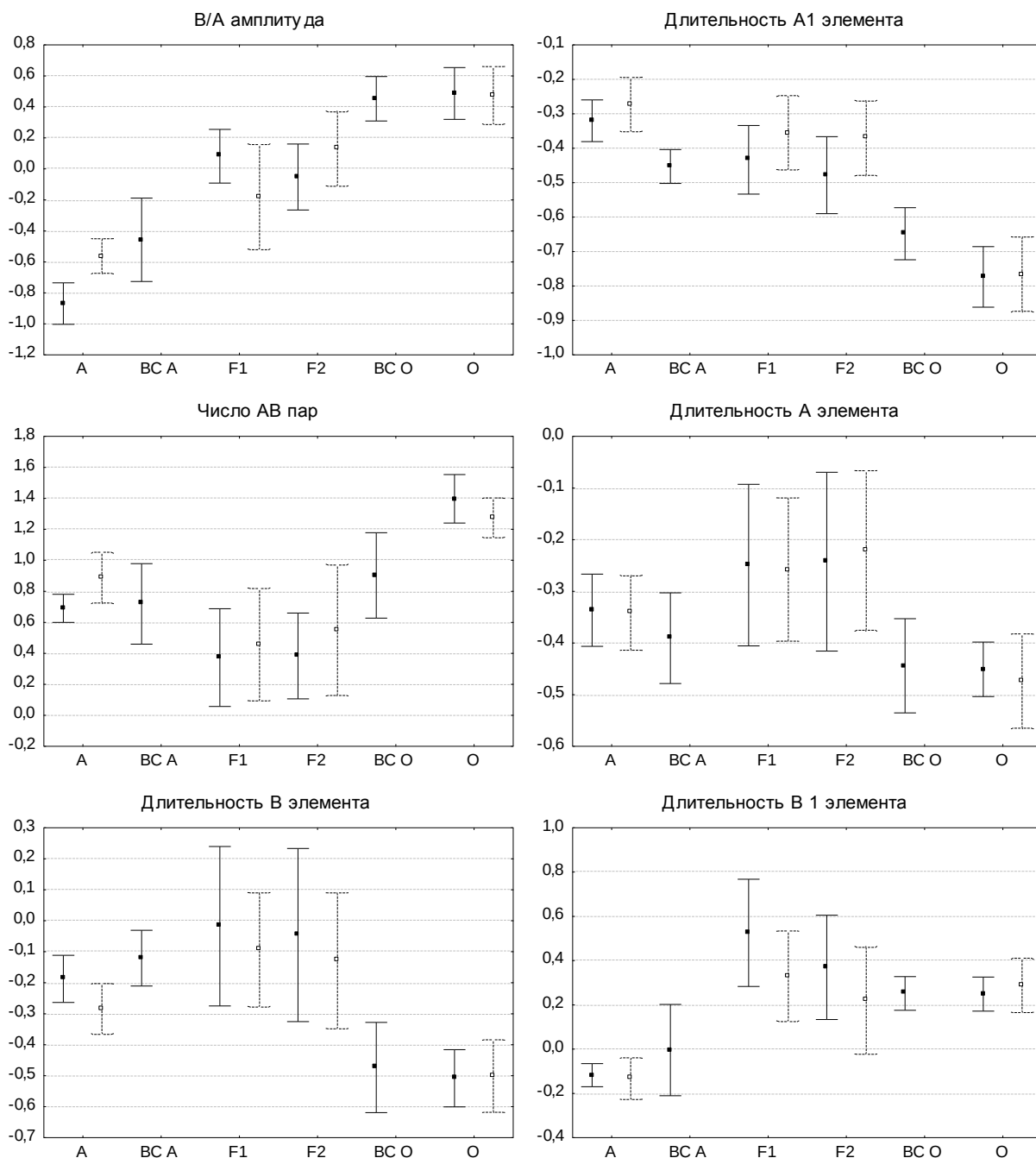


Рис. 6. Средние значения и стандартные отклонения шести параметров песни у *Chorthippus albomarginatus* (A), *Ch. oschei* (O), F1 и F2 гибридов и гибридов от возвратных скрещиваний (BCO, BCA). Скрещивания родительских популяций из Германии (A) и Болгарии (O) показаны сплошными линиями, популяций из России (A) и Украины (O) – пунктиром.

Следует особо отметить, что различия между сигналами реципрокных гибридов по всем семи параметрам оказались недостоверными (критерий Манна-Уитни, $p=0.18-0.88$). Поэтому данные по реципрокным гибридам анализируются и представляются вместе.

Большинство сигналов F2 гибридов были очень похожи на сигналы F1 гибридов, как по средним значениям, так и по степени изменчивости (рис. 6, 7).

Однако среди F2 гибридных сигналов можно найти большее разнообразие фенотипов, чем среди F1 сигналов. Достоверные различия между F1 и F2 гибридами найдены лишь по двум параметрам сигнала (В/А амплитуда и длительность В1 серии) для ГБ скрещиваний и только по одному параметру (В/А амплитуда) для РУ скрещиваний (t -test, $p < 0.05$). В целом изменчивость между самцами оказалась незначительно выше в F2, чем в F1. Однако по числу А/В пар и длительности А элемента изменчивость в F2 оказалась даже ниже, чем в F1 в ГБ скрещиваниях. В РУ скрещиваниях изменчивость по трем параметрам (В/А амплитуда, длительность серий А и А1) была ниже в F2, чем в F1.

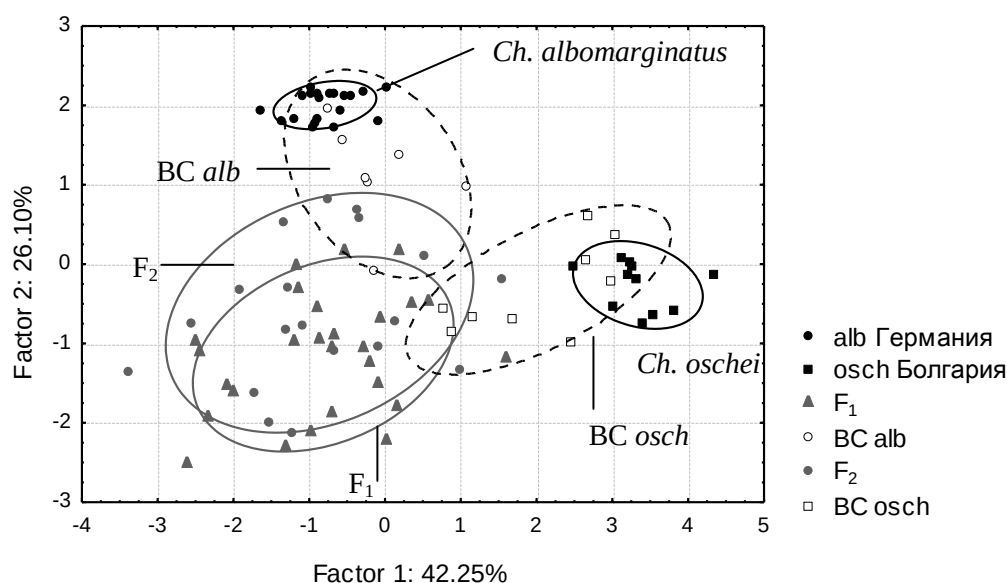


Рис. 7. Результаты анализа главных компонент с использованием семи параметров песни для *Ch. albomarginatus* (Германия), *Ch. oschei* (Болгария) и их гибридов. Показаны значения первой (Factor 1) и второй (Factor 2) компонент.

Значения первой компоненты для F1 гибридов перекрываются со значениями для *Ch. albomarginatus*, тогда как значения второй компоненты для этих гибридов отличны от значений сигналов обоих родительских видов (рис. 7). Поскольку вклад различных параметров сигнала почти в два раза выше в первую, чем во вторую компоненту, то очевидно доминирование элементов сигнала *Ch. albomarginatus* в гибридных сигналах. Различия значений второй компоненты у гибридов и родительских видов отражает присутствие в гибридных сигналах новых элементов.

Значения для большинства параметров в сигналах гибридов от возвратных скрещиваний были сходны с таковыми в сигнале соответствующего родительского вида (рис. 6, 7).

Наследование демонстрационных движений

Все самцы *Ch. oschei* делали характерный взмах задними голеньями в начале элемента С. Средний угол между голенью и бедром составлял 112° (табл. 1). В F1 никто из самцов не делал взмахов голеньями; таким образом, в F1 присутствовал только фенотип *Ch. albomarginatus*. Среди F2 одна четверть

самцов производила взмах, но средний максимальный угол составлял 11°. Гибриды от возвратных скрещиваний с *Ch. albomarginatus* не взмахивали голеньями совсем, а среди гибридов от возвратных скрещиваний с *Ch. oschei* около половины самцов взмахивали голеньями в среднем на угол 45°. Таким образом, мы можем констатировать, что наличие или отсутствие взмаха контролируется одним геном с полным доминированием *Ch. albomarginatus*.

Таблица 1. Взмах голеньями у *Chorthippus albomarginatus* (Германия), *Ch. oschei* (Болгария), у гибридов в F1, F2 и у гибридов от возвратных скрещиваний (BC).

Вид/скрещивание	N	N (%) самцов, демонстрирующих взмах голеньями	Максимальный угол между бедром и голенью, среднее $\pm$ SD (град)
alb Германия	20	0 (0)	-
osch Болгария	11	11 (100)	112 $\pm$ 9
F1	27	0 (0)	-
F2	20	5 (25)	11 $\pm$ 6
BC alb	7	0 (0)	-
BC osch	9	5 (55)	45 $\pm$ 20

В то же время, необходимо отметить одну новую черту у гибридов, которая отсутствовала у родительских видов. Самцы *Ch. oschei* взмахивали голеньями в самом начале С элемента, после чего голени быстро возвращались в исходное положение и ноги вибрировали в противофазе с прижатыми голеньями. Когда гибридный самец делал взмах, голени возвращались в исходное положение только к концу С элемента. В результате ноги с разогнутыми голеньями вибрировали в противофазе, и этот зрительный паттерн принципиально отличался от сигналов обоих родительских видов.

Наследование числа стридуляционных зубчиков

Нами было показано, что родительские виды хорошо различаются как по числу стридуляционных зубчиков, так и по плотности и расположению зубчиков в проксимальной части файла. У самцов *Ch. albomarginatus* из обеих популяций число зубчиков варьировало в пределах 100-120, тогда как у самцов *Ch. oschei* это число варьировало в пределах 160-200. Две аллопатрические популяции *Ch. albomarginatus* достоверно не различались по этому признаку, но популяции *Ch. oschei* различались ($t=2.32$, $p<0.05$). У F1 гибридов число зубчиков было промежуточным между родительскими показателями. Мы не нашли достоверных различий между реципрокными гибридами (критерий Манна-Уитни, $p=0.07-0.16$), и также не нашли различий между F1 и F2 гибридами. У гибридов от возвратных скрещиваний среднее число зубчиков было промежуточным между гибридами и соответствующими родителями.

Результаты генетического анализа

Генетический анализ проведен только для скрещиваний особей из популяции г. Эрлангена (Германия) с особями из популяции около оз. Батак (Болгария), т.к. лишь в этих скрещиваниях обе родительские популяции были

аллопатрическими. Оценки аддитивных и доминантных компонент и тесты адекватности аддитивно-доминантной модели приведены в табл. 2. Почти для всех амплитудно-временных параметров и для числа зубчиков аддитивная компонента была достоверной, тогда как достоверная доминантная компонента была показана для трех параметров сигнала (число А/В пар, В/А амплитуда и длительность В1 элемента).

Таблица 2. Оценка средних, аддитивных и доминантных взаимодействий методом совместного шкалирования (среднее значение и стандартная ошибка) для шести параметров песни и числа стридуляционных зубчиков у *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei*.

	Параметр						
	Число А/В пар	Соотношение В/А амплитуд	Длит-ть элемента А	Длит-ть элемента В	Длит-ть элемента В1	Длит-ть элемента А1	Число зубчиков
Среднее	0.71 (0.16)	-0.05 (0.1)	-0.32 (0.08)	-0.18 (0.13)	0.30 (0.12)	-0.49 (0.06)	145.67 (7.02)
аддитивность	0.35 (0.09)*	0.68 (0.11)*	-0.06 (0.04)	-0.16 (0.06)*	0.18 (0.05)*	-0.23 (0.05)*	39.57 (6.52)*
доминантность	-0.34 (0.16)*	0.14 (0.068)*	0.07 (0.075)	0.17 (0.125)	0.23 (0.119)*	0.06 (0.042)	-0.97 (5.29)
Тесты «шкалирования»							
А тест	0.375 (0.615)	-0.128 (0.581)	-0.195 (0.245)	-0.036 (0.323)	-0.416 (0.481)	-0.153 (0.152)	-13.5 (17.3)
В тест	0.036 (0.654)	0.337 (0.374)	-0.188 (0.246)	-0.421 (0.40)	-0.271 (0.296)	-0.089 (0.20)	2.7 (27.1)
С тест	-1.219 (1.26)	-0.001 (0.96)	0.265 (0.745)	0.537 (1.26)	0.295 (1.06)	0.048 (0.50)	-13.49 (64.9)

Все параметры, кроме числа зубчиков, логарифмированы до проведения анализа. Звездочки обозначают достоверные источники дисперсий, $p < 0.05$.

А, В и С тесты иллюстрируют соответствие аддитивно-доминантной модели.

В данном анализе один параметр, длительность С элемента, из-за очень малых различий между родительскими видами не использовался. Для всех параметров мы получили незначимые величины в А, В и С тестах шкалирования (табл. 2). Следовательно, аддитивно-доминантная модель полностью адекватна. Проверка соответствия модели с неаллельными взаимодействиями не выявила таковых ни для одного из исследованных параметров. Все проверенные неаллельные взаимодействия (гомозигота – гомозигота, гомозигота – гетерозигота, гетерозигота – гетерозигота) были недостоверны.

Недостоверность модели с неаллельными взаимодействиями, полученная для всех амплитудно-временных параметров песни, оказалась неожиданным результатом. Мы ожидали получить такие взаимодействия для тех параметров, для которых показан эффект «сверхдоминирования» у F1 гибридов (рис. 6). Однако следует учитывать, что существуют условия, при которых ни один из использованных нами тестов не может обнаружить неаллельные

взаимодействия (Mather, Jinks, 1982). Для этих параметров также не удалось оценить число генетических факторов с помощью метода Кастла-Райта, т.к. сегрегационная дисперсия часто принимала отрицательные значения. В табл. 3 приведены оценки числа генетических факторов лишь для двух параметров песни и числа зубчиков, т.е. для тех признаков, которые были промежуточными у гибридов. Это число оказалось относительно высоким для всех трех признаков: $N_e=10-19$ для В/А амплитуды, $N_e=5-9$ для длительности А1 элемента, $N_e=8-14$ для числа зубчиков.

Таблица 3. Эффективное число генетических факторов N_e ($\pm$ стандартная ошибка, SE), отвечающих за различия по двум параметрам песни и числу стридуляционных зубчиков между *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei*.

Параметр	Кастл-Райт			Ценг, $z = 1.57$			Ценг, $z = 2$		
	N_e	$\pm$	SE	N_e	$\pm$	SE	N_e	$\pm$	SE
В/А амплитуда	10.78	$\pm$	8.31	14.97	$\pm$	2.61	19.18	$\pm$	2.62
Длит-ть А1 элемента	5.44	$\pm$	4.98	7.27	$\pm$	2.82	9.18	$\pm$	2.87
Число зубчиков	8.22	$\pm$	6.32	11.28	$\pm$	3.07	14.89	$\pm$	3.09

Оба параметра песни логарифмированы до проведения анализа. z – функция изменчивости различий в аллельных эффектах.

Результаты, изложенные в данной главе, позволяют сделать следующий вывод: явление «сверхдоминирования», показанное для большинства исследованных звуковых параметров, и высокая изменчивость песни в F1 позволяет предположить, что наследование сигнала ухаживания у *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* соответствует типу III генетической архитектуры (Templeton, 1981), согласно которому в наследовании признака участвуют комплементарные или дублицированные локусы.

При комплементарном взаимодействии сочетание в генотипе доминантных аллелей обоих генов может привести к появлению нового признака. Феномен появления новых признаков в результате межвидовой гибридизации получил в литературе название трансгрессивной сегрегации или трансгрессии (Slatkin, Lande, 1994; Rieseberg et al., 1999). Считается, что чаще всего трансгрессия происходит в результате рекомбинации аллелей в локусах количественных признаков (quantitative trait loci, QTL) в тех случаях, когда у родительских видов зафиксированы аллели противоположных знаков. В результате у гибридов эффекты аллелей суммируются и приводят к появлению признака с большей или меньшей величиной, чем у обоих родителей. Примечательно, что чем больше расстояние между родительскими видами, тем выше число QTL с зафиксированными аллелями противоположных знаков и тем выше трансгрессия в гибридных поколениях (Stelkens, Seehausen, 2009; Stelkens et al., 2009).

В наших экспериментах, однако, исследовались близкородственные виды. Поэтому более вероятно, что в наследовании параметров ухаживания принимают участие дублицированные локусы. Известно, что у саранчовых очень большой геном (напр., Rees et al., 1978; Westerman et al., 1987).

Считается, что у саранчовых дупликации и/или инвазии транспозонов не удаляются из генома с достаточной скоростью, как это происходит у многих других организмов с более компактным геномом (Hartl, 2000; Petrov et al., 2000). Нуклеотидный полиморфизм, показанный почти для всех исследованных генов у гомфоцерин, может объясняться присутствием множественных и слегка дивергировавших копий одного локуса (Ustinova et al., 2006; Ustinova, Mayer, 2006). По этой причине мы предполагаем, что гомологичные элементы сигналов ухаживания *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* могут контролироваться разными копиями дуплицированных локусов. У гибридов экспрессируются обе родительские копии, что приводит к генерации крайне вариабельного паттерна и эффекту сверхдоминирования. Эта гипотеза, однако, требует проверки с использованием молекулярных методов.

Результаты генетического анализа также позволяют сделать еще один вывод: наследование двух признаков демонстрационных движений ухаживания носит моногенный характер с полным доминированием одного из родительских видов. Следует отметить, что взмахи задними голеньями в процессе ухаживания можно найти в разных группах видов гомфоцерин, как близкородственных, так и далеко удаленных. При таком простом типе наследования признака легко представить, каким образом сходные зрительные сигналы ухаживания появились у неродственных видов саранчовых.

Глава 6. ИЗОЛИРУЮЩИЕ БАРЬЕРЫ МЕЖДУ ГИБРИДИЗИРУЮЩИМИ ВИДАМИ *CHORTHIPPUS ALBOMARGINATUS* И *CH. OSCHEI*

Предпочтения при спаривании в группе *Ch. albomarginatus*

В экспериментах по выявлению предпочтений при спаривании у *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* использовали особей из трех аллопатрических и четырех гибридных популяций. Особенность всех гибридных популяций в контактной зоне между *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* заключалась том, что в этих популяциях всегда доминировал один из родительских песенных фенотипов (см. ниже). При наличии свободного выбора между равным числом кон- и гетероспецифических самцов самки обоих видов как из аллопатрических, так и из гибридных популяций, достоверно чаще (в 80-90 % случаев) копулировали с самцами своего вида или своего песенного фенотипа (биномиальный тест, $p < 0.005$).

Самкам родительских видов предоставляли также выбор между конспецифическими и гибридными самцами. В этих экспериментах самки двух видов различались по избирательности. Гибридные самцы не имели успеха у самок *Ch. oschei* (лишь в 10 % случаев зафиксирована копуляция, $p < 0.001$), но имели успех у самок *Ch. albomarginatus*, сравнимый с успехом конспецифических самцов ($p = 0.172$).

У гибридных самок в F_1 зафиксировано почти равное число копуляций с гибридными самцами и самцами *Ch. albomarginatus*, но достоверно меньшее число копуляций с самцами *Ch. oschei* ($p = 0.013$). У гибридных самок в F_2 число копуляций со всеми типами самцов было почти одинаково и достоверно не

различалось между собой. В экспериментах также участвовали самки от возвратных скрещиваний с *Ch. albomarginatus*; эти самки копулировали одинаково часто с гибридными самцами и самцами *Ch. albomarginatus*, но достоверно реже – с самцами *Ch. oschei*.

Исследование жизнеспособности гибридов в группе *Ch. albomarginatus*

У гибридов в F₁, полученных от РУ скрещиваний, число неоплодотворенных яиц оказалось сравнимо с таковым в F₁ родительских видов. Напротив, у гибридов, полученных от БГ скрещиваний, процент неоплодотворенных яиц был достоверно выше, чем у родительских видов (тест Фишера, $p < 0.05$). В F₂ он был выше, чем у гибридов от возвратных скрещиваний. Число мертвых эмбрионов у родительских видов и гибридов варьировало сходным образом, но различия были недостоверны. Следует подчеркнуть, что более высокая эмбриональная смертность была у тех гибридов, у которых материнским видом были *Ch. oschei*. Наиболее высокий процент МЭ (18%) отмечен у гибридов в F₃. Личиночная смертность у родительских видов в F₁ из разных популяций варьировала в широких пределах (9–33%). В большинстве случаев смертность личинок I – II возрастов была существенно выше смертности личинок III – IV возрастов. В целом нужно отметить тенденцию более высокой личиночной смертности у гибридов, ведущих происхождение от материнских *Ch. oschei*. Максимальное число особей, достигших стадии имаго, хорошо коррелировало с личиночной смертностью: хуже выживали те гибриды, которые имели происхождение от материнского вида *Ch. oschei*. F₁ и F₂ гибриды, происходившие от материнского вида *Ch. albomarginatus*, отличались более высокой жизнеспособностью. У гибридов F₃ (а × о) ГБ ни одна особь не достигла стадии имаго.

Высокая доля неоплодотворенных яиц у F₁ гибридов может иметь разные объяснения. Во-первых, оплодотворение могло не происходить из-за несоответствия рецепторов и специфических белков на поверхности яйцеклетки и сперматозоида. Тогда мы могли бы констатировать генетическую несовместимость *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei*. С другой стороны, самки могли в целом реже спариваться с гетероспецифическими самцами, чем если бы они находились вместе с самцами своего вида, и потому могли иметь недостаток спермы. Наши собственные и литературные данные свидетельствуют о том, что самки гомфоцерин откладывают яйца циклично и независимо от того, происходила копуляция или нет.

Результаты, изложенные в данной главе, позволяют сделать следующие выводы: показаны, во-первых, высокая избирательность самок родительских видов, во-вторых, незначительное снижение жизнеспособности и фертильности гибридов, и в-третьих, потенциальная конкурентоспособность гибридов в привлечении полового партнера. Таким образом, репродуктивная изоляция в контактной зоне между *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* обеспечивается в первую очередь за счет этологических механизмов. Тот факт, что самки из аллопатрических популяций и из гибридной зоны не различались по степени избирательности, позволяет сделать вывод, что в гибридной зоне не происходит усиления этологической изоляции.

Необходимо отметить положительную корреляцию между различной избирательностью самок *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* и различной жизнеспособностью реципрокных гибридов. Самки *Ch. oschei* были наиболее избирательны, и гибридное потомство самок *Ch. oschei* выживало хуже. Напротив, самки *Ch. albomarginatus* были менее избирательны, и гибридное потомство этих самок было более жизнеспособно. Такие результаты могли бы говорить о том, что в гибридной зоне идут процессы усиления изолирующих барьеров: из-за того, что гибридное потомство самок *Ch. oschei* выживает хуже, самки стали более избирательны. Однако, повышенная избирательность самок *Ch. oschei* найдена нами не только в гибридной зоне, но и в зоне аллопатрии, что не соответствует теории усиления изолирующих барьеров.

Как можно объяснить различия в избирательности самок двух видов? Анализ наследования сигналов показал, что гибридный сигнал содержит в себе больше элементов сигнала *albomarginatus*, чем *oschei*. Доминирование *Ch. albomarginatus* в сигнале ухаживания гибридов может свидетельствовать о более древнем происхождении этого вида. Более древние признаки скорее могут оказаться доминантными, тогда как на первой стадии видообразования мутации, вызывающие появление нового признака, скорее могут быть рецессивными.

Глава 7. ИЗОЛИРУЮЩИЕ БАРЬЕРЫ МЕЖДУ ГИБРИДИЗИРУЮЩИМИ ВИДАМИ МЕЖДУ *STENOBOTHRUS* *CLAVATUS* И *S. RUBICUNDUS*

Недавно открытая гибридная зона между двумя видами саранчовых *Stenobothrus clavatus* и *S. rubicundus* в Греции (Elsner et al., 2009; Sradnick, 2010) представляет особый интерес для эволюционных биологов. Гибридизирующие виды не относятся к видам-двойникам, более того, они хорошо различаются по нескольким морфологическим признакам. Они также хорошо различаются по призывным сигналам (в отличие от *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei*) и по сигналам ухаживания. В отличие от *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei*, *S. clavatus* и *S. rubicundus* гибридизируют в очень узкой области, на горе Томарос в северной Греции, причем не встречаются ниже высоты 1300 м над уровнем моря. Таким образом, эту гибридную зону вполне можно отнести к «островным зонам» (island zone), в которых распространение родительских фенотипов, поток генов и частота гибридизации могут происходить особым путем.

Сигналы ухаживания гибридов между *S. rubicundus* и *S. clavatus*

В сигнале ухаживания *S. clavatus* можно выделить четыре части с разной амплитудно-временной структурой. Кроме того, в третьей части самец производит характерные высокоамплитудные взмахи ног и одновременно взмахивает булавовидными антеннами. В сигнале ухаживания *S. rubicundus* отчетливо выделяются три части. Первая часть сигнала издается посредством обычной для гомфоцерин феморо-тегминальной стридуляции, но во второй части стридуляционные движения задних ног чередуются с крыловыми сигналами, когда самец, сидя на субстрате, раскрывает обе пары крыльев и

производит ими громкий треск. Третья часть представляет собой трель пульсов, издаваемую исключительно крыльями.

В сигналах F1 гибридов между *S. clavatus* и *S. rubicundus* зафиксирована более высокая изменчивость, чем в родительских сигналах, и выявлены качественно новые элементы, в частности, повышенная сложность амплитудно-временной структуры. Таким образом, в этой группе видов мы также предполагаем необычный характер наследования некоторых элементов сигнала ухаживания. Но в отличие от группы *Ch. albomarginatus*, в группе *S. rubicundus* причиной повышенной сложности гибридных песен было наложение негомологичных родительских элементов. В этом отношении эти результаты похожи на данные, полученные при скрещивании других двух видов саранчовых, *Ch. biguttulus* и *Ch. mollis* (Helversen, Helversen, 1975).

Подобно гибридам между *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei*, в сигналах гибридов между *S. clavatus* и *S. rubicundus* обнаружено доминирование элементов песни одного из родительских видов, *S. clavatus*. Следует отметить, что сигнал *S. clavatus* несет в себе больше плезиоморфных черт, чем сигнал *S. rubicundus*. Если считать, что доминируют более древние признаки, то мы имеем еще один довод в пользу того, что эволюция сигналов ухаживания гомфоцерин идет по пути усложнения звукового паттерна и демонстрационных движений.

Поведенческие предпочтения в группе *S. rubicundus*

Самки *S. rubicundus* и *S. clavatus* из аллопатрических популяций демонстрировали хорошо выраженные предпочтения при проигрывании четырех типов сигнала ухаживания (критерий Краскела-Уоллиса, $p=0.0000$), а именно, они предпочитали конспецифический сигнал всем остальным предъявляемым стимулам (критерий Манна-Уитни, $p<0.001$). Следует, однако, отметить относительно высокую привлекательность сигнала природного гибрида для самок *S. clavatus* (40%).

Самки, собранные в гибридной зоне, были поделены нами на три группы: из точек, где доминировал сигнал *S. rubicundus*, из точек с доминированием *S. clavatus* и из промежуточных точек, в которых встречались все фенотипы. Самки из аллопатрических популяций достоверно чаще отвечали на конспецифический сигнал, чем на другие типы сигналов (критерий Манна-Уитни, $p<0.05$). Самки из гибридных биотопов типа *clavatus* вели себя аналогично самкам из аллопатрической популяции. Напротив, самки из биотопов типа *rubicundus* были менее избирательны. Самки из промежуточных биотопов гибридной зоны предпочитали сигнал *clavatus* всем другим типам сигнала, хотя различия между ответами на сигналы *clavatus* и *rubicundus* оказались недостоверны. Самки F1 гибридов не выказывали достоверных предпочтений к какому-либо из четырех типов сигнала ухаживания (критерий Краскела-Уоллиса, $p=0.12$). Самки от возвратных скрещиваний с *S. rubicundus* предпочитали сигнал *rubicundus* и реже отвечали на другие типы сигнала ($p<0.01$).

В группе *S. rubicundus* не проводилось подробного анализа жизнеспособности гибридов. В то же время, в результате скрещиваний самок *S.*

clavatus с самцами *S. rubicundus* получены жизнеспособные и фертильные гибриды в массовом количестве; напротив, в результате реципрокных скрещиваний процент выплода личинок из яиц был очень низок. Однако все гибриды между самками *S. rubicundus* и самцами *S. clavatus*, которые достигли взрослого возраста, были также жизнеспособны и фертильны.

В результате, можно сделать следующие выводы: 1) в гибридной зоне между *S. rubicundus* и *S. clavatus* репродуктивная изоляция обеспечивается в первую очередь за счет этологических механизмов; 2) поскольку самки из гибридных точек демонстрировали такую же или даже более низкую избирательность, чем самки из аллопатрических популяций, наши результаты не подтверждают теорию усиления этологической изоляции; 3) доминирование элементов *S. clavatus* в гибридных сигналах, и предпочтение сигнала *S. clavatus* всем другим типам сигнала, показанное в поведенческих экспериментах, свидетельствует о смещении гибридной зоны в сторону этого вида.

Глава 8. КЛИНАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ В ГИБРИДНОЙ ЗОНЕ МЕЖДУ *CH. ALBOMARGINATUS* И *CH. OSCHEI*

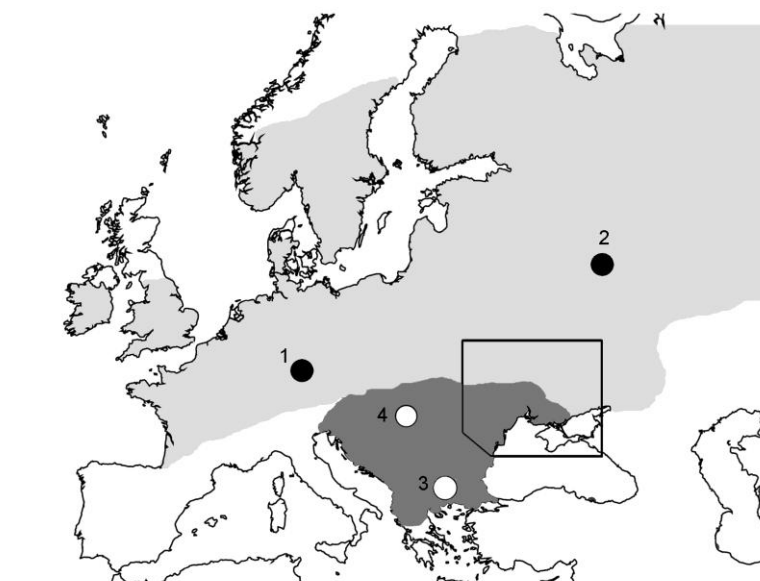
Впервые описана широкая мозаичная гибридная зона между *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* шириной не менее 200 км на территории Украины и Молдовы (рис. 8).

Сигналы ухаживания в гибридной зоне

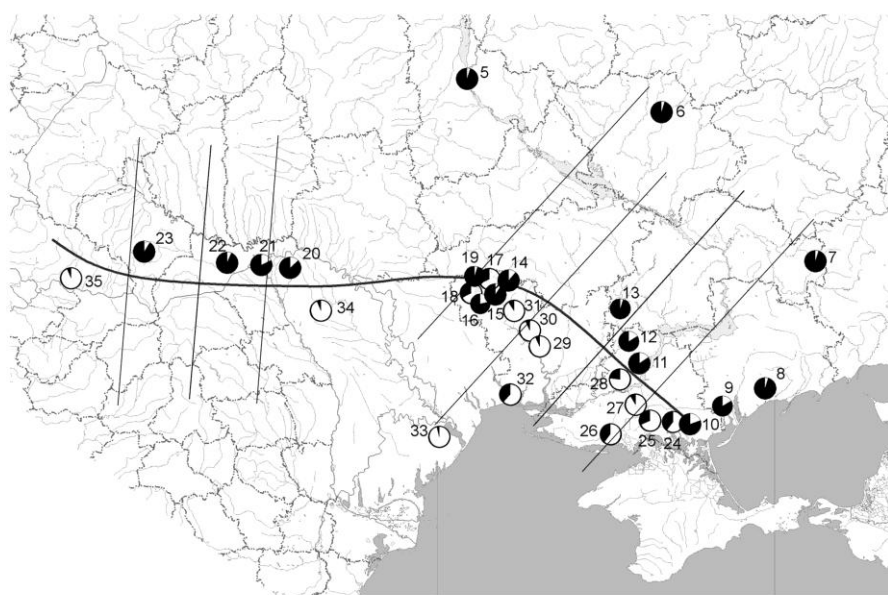
Сигналы ухаживания, записанные в разных точках гибридной зоны, содержали как элементы родительских сигналов, так и промежуточные элементы. В то же время, гибридные сигналы имели новые черты, не встречающиеся в сигналах родительских видов. Во-первых, гибридные сигналы отличались высокой меж- и внутрииндивидуальной изменчивостью. Во-вторых, в некоторых сигналах гибридной зоны проявлялось явление «сверхдоминирования». Например, длительность В1 элемента в гибридном сигнале могла превышать таковую в сигнале *Ch. oschei*, вида с наибольшим значением этого параметра, чередование нескольких А/В пар между С элементами могло совсем отсутствовать (т.е. быть меньше, чем в сигнале *Ch. albomarginatus*, вида с наименьшим значением этого параметра), и т.д. Все эти признаки были ранее найдены в сигналах лабораторных гибридов.

Для пяти параметров сигнала ухаживания был проведен анализ главных компонент. Мы включили в анализ не только природных гибридов, но и ранее исследованных F1 гибридов, полученных от скрещиваний особей из немецкой и болгарской популяций. Вклад большинства параметров в первую компоненту был сильнее, чем во вторую компоненту. Подобно результатам анализа, проведенного на лабораторных гибридах, первая компонента отражает промежуточные свойства гибридов, тогда как вторая – их новые свойства. По результатам анализа природные гибриды разошлись на две группы: гибриды типа *albomarginatus* и типа *oschei*. В большой степени сигналы природных гибридов пересекались с сигналами самцов из зоны аллопатрии, но некоторые из них оказались в кластере с сигналами F1 гибридов. В целом необходимо

подчеркнуть, что среди природных гибридов промежуточные фенотипы оказались в меньшинстве.



a



б

Рис. 8. (а) Карта распространения *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* в Европе и точки сбора аллопатрических популяций (черные – *albomarginatus*, белые – *oschei*); (б) карта гибридной зоны на территории Украины и Молдовы и точки сбора материала (размеры черного и белого секторов в кружках соответствуют встречаемости песенного фенотипа); кривая обозначает приблизительный центр гибридной зоны, тонкие линии – трансекты, использованные в клинальном анализе.

Распределение фенотипов в разных биотопах гибридной зоны

Для анализа распределения фенотипов в разных гибридных биотопах использовали регрессию первой главной компоненты сигнала ухаживания на число стридуляционных зубчиков. Этот анализ показал, что во всех биотопах, как правило, доминирует один из родительских фенотипов. В ряде биотопов один родительский фенотип доминировал, тогда как другой был представлен в единственном числе. Именно поэтому мы разделили гибридные биотопы на два типа: тип *albomarginatus* и тип *oschei*. Некоторые биотопы, расположенные очень близко (на расстоянии около 1 км) друг от друга, имели совершенно разный характер распределения фенотипов, как, например, биотопы 15 и 17. В

некоторых точках выборки разных лет достоверно различались, как, например, в точках 14 и 17. Сравнение выборок разных лет показал сдвиг к родительскому фенотипу.

Сравнение клин разных признаков

Трансекты, использованные для анализа клин, ориентированы перпендикулярно линии, которая была проведена через середину гибридной зоны (рис. 8). Эта линия была нами определена между наиболее близко расположенными точками с разным распределением фенотипов (например, биотопами 15 и 16, 11 и 28, 10 и 24). Все трансекты были суммированы для клинального анализа; аллопатрические популяции были также включены в анализ.

На рис. 9 представлены клины пяти параметров сигнала ухаживания и числа стридуляционных зубчиков. Три параметра (В/А амплитуда, длительность В1 элемента и угол между бедром и голенью во время взмаха) имеют наиболее крутые клины. Для большинства исследованных параметров полученные клины имеют сигмоидную форму, но клина длительности В1 элемента имеет необычную форму, с одним опущенным хвостом (отклонение от экспоненциального роста). Такая форма клины объясняется тем, что длительность В1 элемента у гибридов превышает длительность этого элемента у обоих родительских видов.

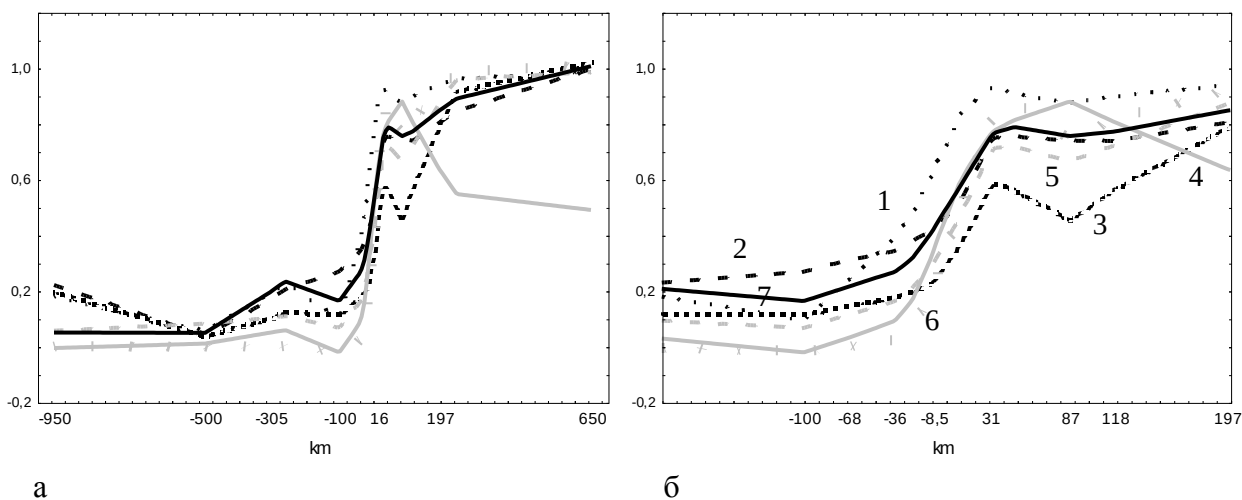


Рис. 9. Клинны пяти звуковых параметров сигнала ухаживания, взмаха голенью и одного морфологического признака (числа зубчиков) в гибридной зоне между *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei*, показанные в двух масштабах. 1- число А/В пар, 2 – В/А амплитуда, 3, 4, 5 – длительность В, В1 и А1 элементов соответственно, 6 – угол между бедром и голенью, 7 – число зубчиков. Самая левая точка – аллопатрическая популяция *albomarginatus*, самая правая – аллопатрическая популяция *oschei*.

Чтобы оценить относительное смещение и ширину клин разных признаков, мы использовали метод регрессии пяти признаков песни и взмаха голенью на число стридуляционных зубчиков. Результаты статистики приведены в табл. 4. Для трех признаков (число А/В пар, длительность В и А1 элементов) мы не нашли достоверных значений ни для квадратного, ни для кубического коэффициентов. Таким образом, клины этих признаков совпадают с клиной числа зубчиков. Три других параметра (В/А амплитуда, длительность В1

элемента и взмах голенью) имели достоверные квадратный и кубический коэффициенты. Однако, если выборки разных лет в точках 14, 15, 17 и 33 рассматривать отдельно, квадратный коэффициент для В/А амплитуды оказывается недостоверным, а для кубического коэффициента $p=0.05$. Таким образом, клины только двух признаков, длительности В1 элемента и угла между бедром и голенью, не совпадают по центрам и ширине с остальными клинами. Эти клины уже, чем остальные, и смещены в сторону *Ch. albomarginatus*.

Таблица 4. Результаты регрессионного анализа шести параметров сигнала ухаживания на число стридуляционных зубчиков в гибридной зоне между *albomarginatus* и *oschei*. Показаны значения квадратичного и кубического коэффициентов (значения p). Жирным шрифтом выделены достоверные значения. Значения во второй строке для каждого параметра посчитаны при раздельном рассмотрении выборок разных лет в точках 14, 15, 17 and 33 (см. рис. 14).

Параметр	$b^2 (P)$	$b^3 (P)$
Число АВ пар	-2.278 (0.229) -3.132 (0.169)	2.005 (0.108) 2.600 (0.083)
В/А амплитуда	3.739 (0.041) 3.167 (0.096)	-2.781 (0.021) -2.469 (0.049)
Длительность В элемента	-0.377 (0.849) -1.123 (0.613)	1.234 (0.343) 1.780 (0.224)
Длительность В1 элемента	8.679 (<0.0001) 8.151 (<0.0001)	-6.857 (<0.0001) -6.550 (<0.0001)
Длительность А1 элемента	2.640 (0.061) 2.160 (0.140)	-1.349 (0.139) -1.029 (0.276)
Угол между бедром и голенью	6.351 (0.0006) 6.329 (0.0007)	-3.965 (0.001) -3.977 (0.001)

Изменения дисперсий и ковариаций между признаками в гибридной зоне

В результате сравнительного анализа дисперсий для трех параметров песни (число А/В пар, длительность А1 и В элементов) и числа зубчиков в гибридной зоне мы получили более низкие значения для крайних, чем для промежуточных фенотипов. В результате графики изменения дисперсий для этих параметров имели форму колокола разной степени крутизны. Для двух параметров песни, В/А амплитуды и особенно длительности В1 элемента, высокие значения также получены и для крайних фенотипов. В случае последнего признака этот результат не означает увеличение дисперсии на конце клины, но является следствием необычного характера наследования.

Когда все исследованные популяции были разделены на четыре класса (аллопатрические *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei* и гибриды типа *albomarginatus* и *oschei*), дисперсии для всех признаков оказались выше в гибридных, чем в аллопатрических популяциях. Сходные результаты были получены и для ковариаций: более высокая ковариация в гибридных, чем в аллопатрических популяциях наблюдалась для 18 пар из 21 пары признаков. Однако необходимо отметить, что ковариация была высока не для всех

попарных комбинаций. Большинство (14) попарных комбинаций с высокой ковариацией отмечено для гибридных популяций типа *oschei*, и только три – для популяций типа *albomarginatus*. Для трех пар признаков (число А/В пар – В/А амплитуда, длительность В элемента – В/А амплитуда, В/А амплитуда – число зубчиков) ковариации были относительно высоки в аллопатрических популяциях *Ch. albomarginatus* и сравнимы с таковыми в гибридных популяциях типа *albomarginatus*. Однако, поскольку ковариация в аллопатрических популяциях не превышала ковариацию в гибридных популяциях, плейотропия кажется нам маловероятной. В целом, самые высокие ковариации в популяциях типа *oschei* были найдены почти для всех параметров, кроме В/А амплитуды; у последнего параметра была самая высокая ковариация в пяти из шести комбинаций в популяциях типа *albomarginatus*.

Результаты, изложенные в этой главе, позволяют сделать следующие выводы: во-первых, анализ клинальной изменчивости количественных признаков показывает невысокую степень интрогрессии в гибридной зоне между *Ch. albomarginatus* и *Ch. oschei*; во-вторых, повышенные значения дисперсий и ковариаций признаков в гибридных популяциях по сравнению с аллопатрическими свидетельствуют не в пользу плейотропии, а в пользу неравновесного сцепления генов; в-третьих, асимметрия в значениях ковариаций в гибридных биотопах свидетельствует о том, что гибридная зона смещается в сторону *Ch. albomarginatus*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании последовательности нуклеотидов участка митохондриального гена COI выявлены родственные отношения и определено время дивергенции видов саранчовых подсемейства Gomphocerinae. Впервые проведен сравнительный анализ реконструкции филогенетических связей, акустических дистантных (призывных) сигналов и сигналов ближнего действия (ухаживания). Показан общий тренд к усложнению амплитудно-временной структуры сигнала. Выявлены закономерности наследования сложных сигналов ухаживания и одного морфологического признака у близкородственных видов саранчовых. Обнаружен необычный характер наследования большинства параметров песни, который соответствует типу III генетической архитектуры (с участием дублицированных локусов в наследовании гомологичных элементов). Такой тип наследования объясняет появление принципиально новых элементов в сигналах гибридов и может способствовать быстрой эволюции признака под действием полового отбора. По этой причине нам представляется важными дальнейшие исследования такого характера наследования, но уже на молекулярном уровне. Обнаруженный нами моногенный характер наследования демонстрационных сигналов ухаживания может объяснить распространенность этих сигналов в группе гомфоцерин. Впервые исследована внутривидовая изменчивость сигналов ухаживания и определена потенциальная роль стабильных и изменчивых параметров этих сигналов как изолирующего механизма. Проведен комплексный анализ двух гибридных зон между близкородственными видами саранчовых, исследованы механизмы пре-

и посткопуляционной изоляции в этологических экспериментах и в процессе гибридизации в лаборатории. Анализ клинальной изменчивости количественных признаков, дисперсий и попарных ковариаций позволил оценить уровень интрогрессии, направление смещения гибридной зоны, а также исключить плейотропию.

ВЫВОДЫ

1. Анализ последовательности нуклеотидов митохондриального гена COI выявил родственные отношения между представителями 51 вида саранчовых подсемейства Gomphocerinae. Различия между многими видами родов *Stenobothrus* и *Chorthippus* составляют менее 2%, что свидетельствует об их недавней дивергенции.
2. Сравнение филогенетических реконструкций и акустических сигналов у саранчовых подсемейства Gomphocerinae выявило общий тренд к усложнению амплитудно-временной структуры сигнала и увеличению количества его элементов в процессе эволюции.
3. Сигналы ближнего действия (ухаживания) эволюционируют быстрее, чем дистантные (призывные) сигналы. Подобно акустическим призывным сигналам, эволюция комплексного поведения ухаживания гомфоцерин, включающего не только акустические, но и зрительные элементы, происходит по пути усложнения, независимо и конвергентно.
4. Генетический анализ сигналов ухаживания выявил необычный характер наследования большинства параметров песни, который соответствует типу III генетической архитектуры (с участием дублированных локусов в наследовании гомологичных элементов). Такой характер наследования объясняет появление принципиально новых элементов в сигналах гибридов, не встречающихся в сигналах родительских видов, и может способствовать быстрой эволюции признака под действием полового отбора.
5. Анализ наследования демонстрационных движений, производимых самцов во время ухаживания, выявил моногенный характер с полным доминированием одного из родительских видов. Наследование двух акустических параметров ухаживания и единственного морфологического признака, по которым различаются виды-двойники, носит полигенный характер.
6. Анализ изменчивости сигналов ухаживания гомфоцерин показал, что наиболее стабильные параметры соответствуют самым низким уровням ритмической организации сигнала; параметры, соответствующие высоким ритмическим уровням, обладают повышенной изменчивостью. Поскольку сигнал ухаживания имеет большое значение при оценке индивидуальных качеств партнера, изменчивые сигналы ухаживания могут способствовать гибридизации и снижению эффективности изолирующего барьера.
7. Анализ изолирующих механизмов между гибридизирующими видами родов *Stenobothrus* и *Chorthippus* показал, что репродуктивная изоляция обеспечивается у саранчовых в основном за счет этологических механизмов

(акустических сигналов). Генетическая несовместимость выражена слабо, что подтверждает факт недавней дивергенции этих видов.

8. Совпадение клин разных признаков в наиболее изученной нами гибридной зоне объясняется неравновесным сцеплением генов, а не плейотропией. Повышенные дисперсии и ковариации признаков в популяциях из гибридной зоны по сравнению с аллопатрическими популяциями объясняются скорее ассортативностью скрещиваний, чем отбором против гибридов.
9. Комплексный анализ гибридных зон позволяет определить развитие тех или иных эволюционных сценариев. В двух гибридных зонах между близкородственными видами гомфоцерин не происходит усиления этологических барьеров, но, по-видимому, существует стабильное равновесие между ассортативностью скрещиваний и гибридизацией. В обоих случаях наблюдается сдвиг гибридной зоны в сторону более древнего вида.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выполнение настоящей работы было бы невозможным, если бы в основе её не лежали усилия большого числа людей. Прежде всего, я благодарна своему первому учителю, Р.Д. Жантиеву, который руководил моей курсовой работой на кафедре энтомологии МГУ, и под чьим руководством я впервые начала записывать акустические сигналы саранчовых. Я благодарна также руководителю моей кандидатской диссертации, сотруднику ИППИ РАН Г.И. Рожковой, которая в большой степени способствовала тому, что наряду с выполнением темы кандидатской диссертации, я могла продолжать заниматься биоакустикой саранчовых. Именно благодаря Г.И. Рожковой, я познакомилась с коллегами из Германии (О. von Helversen, D. von Helversen, K.-G. Heller), которые очень сильно повлияли на мои научные взгляды. Особенное влияние на меня оказал О. von Helversen, под чьим руководством я впоследствии неоднократно работала в университете г. Эрланген (Германия) по стипендиям DAAD и Гумбольдта. N. Elsner (университет г. Гёттинген, Германия) предоставил мне возможность несколько раз работать в его лаборатории и исследовать гибридную зону между *S. clavatus* и *S. rubicundus*. Хочется особенно отметить помощь голландского энтомолога F. Willemse за ценные советы и возможность работать с его частной коллекцией прямокрылых. Я признательна многим коллегам, студентам и аспирантам, помогавшим мне в сборе материала в экспедициях: А.К. Панютину, Д. Шубертову и Л.С. Шестакову (ИППИ РАН), Д.Ю. Тишечкину (МГУ), О. Дудкину (Институт зоологии им. И.И. Шмальгаузена, Киев), K.-G. Heller (Магдебург, Германия), Н.С. Мюге (ИБР РАН), Б.В. Медведовскому, D. Berger (Институт зоологии г. Эрланген, Германия), А.А. Веденину, Н.К. Кулыгиной, О. Подгорному, Т. Трошиной, R. Walther (Германия), K. Orci (Музей естественной истории, Будапешт), D. Chobanov (Софийский университет, Болгария), Д. Онищук (университет г. Фрайбург, Германия). Я благодарна сотрудникам зоологических институтов г. Эрланген (Я. Устинова, F. Mayer, M. Bauer, W. Schulze) и г. Гёттинген (J. Sradnick, A. Klöpfel, R. Heinrich, A. Stumpner, R. Schünemann) за

техническую поддержку моей работы в лаборатории и за плодотворные дискуссии в процессе подготовки статей. В научных дискуссиях мне также очень помогали А.К. Панютин и другие сотрудники лаборатории обработки сенсорной информации (ИППИ), Н.С. Мюге (ИБР РАН), а также сотрудники каф. энтомологии МГУ (Д.Ю. Тишечкин, О.С. Корсуновская и В.Ю. Савицкий). Работа с коллекциями была бы невозможна без помощи А.В. Горохова (ЗИН, С.-Петербург), В.Ю. Савицкого (каф. энтомологии МГУ), А.Л. Озерова (зоомузей МГУ), В. Çiplak (Университет г. Анталия, Турция), М. Ohl (Музей естественной истории, Берлин). Спасибо дирекции и сотрудникам заповедника «Аскания-Нова», а также Черноморского, Дунайского, Каневского, Карпатского, Луганского и Карадагского заповедников за возможность сбора материала на их территориях. Моя работа была бы невозможна без огромной поддержки моей семьи, родных и близких, принявших мой выбор и вдохновлявших меня к работе.

Мои исследования были поддержаны грантами INTAS (94-2854), DAAD (KZ:A9909793 Ref. 325), Alexander von Humboldt Foundation (IV-RUS 1054747, 3.3-RUS/1054747 STP), РФФИ (04-04-48883, 07-04-01698, 3-04-00376).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах и рецензируемых сборниках

1. **Веденина В.Ю.**, Жантиев Р.Д. Распознавание звуковых сигналов у симпатрических видов саранчовых // Зоол. журн. 1990. Т. 69. С. 36-45. (IF 0.265)
2. **Веденина В.Ю.**, Хайнрих Р., Эльснер Н. Фармакологическая активация стридуляции кобылки *Chorthippus albomarginatus* (Orthoptera: Gomphocerinae) // Ж. Эвол. Биох. Физиол. 2001. Т. 37 (4). С. 293-300. (IF 0.573)
3. **Веденина В.Ю.** Акустическая коммуникация и половой отбор у прямокрылых насекомых (Insecta: Orthoptera) // Журн. Общ. Биол. 2005. Т. 66 (4). С. 336-345. (IF 0.351)
4. **Веденина В.Ю.**, Кулыгина Н.К., Панютин А.К. Изолирующие механизмы у близкородственных видов саранчовых *Chorthippus albomarginatus* и *Ch. oschei* (Orthoptera, Acrididae) // Зоол. журн. 2007. Т. 86 (5). С. 537-546. (IF 0.265)
5. **Веденина В.Ю.**, Шестаков Л.С. Стабильные и изменчивые параметры в сигналах ухаживания саранчовых подсемейства Gomphocerinae (Orthoptera, Acrididae) // Зоол. журн. 2013. Т. 92 (10). С. 1-19. (IF 0.265)
6. **Веденина В.Ю.** Анализ сигналов ухаживания в новых гибридных зонах между близкородственными видами саранчовых из группы *Chorthippus albomarginatus* (Orthoptera, Gomphocerinae) // Зоол. журн. 2015. Т. 94 (2). С. 1-15. (IF 0.265)
7. **Vedenina V.Yu.** Responses of sympatric acridid species to natural and artificial sound signals // In: Sensory Systems and Communication in Arthropods, Eds. Gribakin F.G., et al. (Birkhauser Verlag, Basel). 1990. P. 366-370.

8. Bukhvalova M.A., **Vedenina V.Yu.** Contributions to the study of acoustic signals of grasshoppers (Orthoptera: Acrididae: Gomphocerinae) of Russia and adjacent countries. 1. New recordings of the calling songs of grasshoppers from Russia and adjacent countries // Russian Entomol. J. 1998. V. 7 (3-4). P. 109-125.
9. Heller K.-G., Korsunovskaya O., Ragge D.R., **Vedenina V.**, Willemse F., Zhantiev R.D. and Frantsevich L. Check-List of European Orthoptera // Articulata. 1998. V. 7. P. 1-61.
10. **Vedenina V.Yu.**, Bukhvalova M.A. Contributions to the study of acoustic signals of grasshoppers (Orthoptera: Acrididae: Gomphocerinae) of Russia and adjacent countries. 2. Calling songs of widespread species recorded in different localities // Russian Entomol. 2001. J. V. 10 (2). P. 93-123.
11. **Vedenina V.Yu.**, von Helversen O. Complex courtship in a bimodal grasshopper hybrid zone // Behav. Ecol. Sociobiol. 2003. V. 54. P. 44-54. (IF 3.049)
12. **Vedenina V.Yu.**, Panyutin A.K., von Helversen O. The unusual inheritance pattern of the courtship songs in closely related grasshopper species of the *Chorthippus albomarginatus*-group (Orthoptera: Gomphocerinae) // J. Evol. Biol. 2007. V. 20. P. 260-277. (IF 3.483)
13. **Vedenina V.Yu.**, von Helversen O. A re-examination of the taxonomy of the *Chorthippus albomarginatus* group in Europe on the basis of song and morphology (Orthoptera: Acrididae) // Tijd. Entomol. 2009. V. 152. P. 65-97.
14. **Vedenina V.**, Holuša J, Cočárek P. The *Chorthippus albomarginatus*-group (Orthoptera: Acrididae: Gomphocerinae) in the Carpathian Basin: traces of hybridization between *C. albomarginatus* and *C. oschei* in Southern Slovakia // Acta Zool. Hung. 2009. V. 55 (3). P. 283-291. (IF 0.514)
15. **Vedenina V.** Variation in complex courtship traits across a hybrid zone between the grasshopper species of the *Chorthippus albomarginatus* group // Biol. J. Linn. Soc. 2011. V. 102. P. 275-291. (IF 2.535)
16. **Vedenina V.**, Muge N. Speciation in gomphocerine grasshoppers: molecular phylogeny versus bioacoustics and courtship behavior // J. Orth. Res. 2011. V. 20. P. 109-125.
17. **Vedenina V.**, Sradnick J., Klöpfel A., Elsner N. A narrow hybrid zone between the grasshoppers *Stenobothrus clavatus* and *S. rubicundus*: courtship song analysis // Biol. J. Linn. Soc. 2012. V. 107. P. 383-397. (IF 2.535)
18. **Vedenina V.**, Fähsing S., Sradnick J., Klöpfel A., Elsner N. A narrow hybrid zone between the grasshoppers *Stenobothrus clavatus* and *S. rubicundus* (Orthoptera: Gomphocerinae): female preferences for courtship songs // Biol. J. Linn. Soc. 2013. V. 108. P. 834-843. (IF 2.535)