

УДК 57.024+084.1+087.3+089.64+24:575.858

## АНАЛИЗ ПОВЕДЕНИЯ УХАЖИВАНИЯ У ТРЕХ ВИДОВ-БЛИЗНЕЦОВ ИЗ ГРУППЫ *DROSOPHILA VIRILIS* (DIPTERA, DROSOPHILIDAE)

© 2018 г. Е. Г. Белкина<sup>1</sup>, \*, В. Ю. Веденина<sup>2</sup>, С. Ю. Сорокина<sup>1</sup>, О. Е. Лазебный<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва 119334, Россия

<sup>2</sup>Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва 127051, Россия

\*e-mail: ellida69@mail.ru

Поступила в редакцию 03.10.2017 г.

Исследовано брачное поведение у трех видов-близнецов из группы *Drosophila virilis*: *D. virilis*, *D. lummei* и *D. littoralis*. Последний вид представлен двумя линиями, основатели которых были выловлены в местах обитания южной и северной рас *D. littoralis*. Проведен анализ поведения ухаживания кон- и гетероспецифических пар методом видеотипирования. Конспецифические пары *D. virilis* и *D. lummei* не демонстрировали различий по длительности элементов репродуктивного поведения и их латентных периодов. В то же время, гетероспецифические пары ♀ *D. virilis* + ♂ *D. lummei* и ♀ *D. lummei* + ♂ *D. virilis* показали резкое снижение длительности всех основных элементов ухаживания, а также значимое снижение процента копуляций. Сравнение поведения северной и южной рас *D. littoralis* выявило некоторые различия в структуре брачного ритуала, но не выявило препятствий для успешного спаривания особей северной и южной рас *D. littoralis*. Напротив, обнаружены большие различия в структуре брачного ритуала в гетероспецифических реципрокных парах *D. littoralis* + *D. virilis* и *D. littoralis* + *D. lummei*. Самцы филады *D. virilis* теряли интерес к самкам *D. littoralis* сразу же после начала ошупывания; напротив, самцы *D. littoralis* демонстрировали полный ритуал ухаживания как за самками *D. lummei*, так и за самками *D. virilis*. В то же время, все гетероспецифические пары *D. lummei* + *D. littoralis* и *D. virilis* + *D. littoralis* характеризовались очень низким процентом копуляций.

**Ключевые слова:** *Drosophila*, брачное поведение, репродуктивная изоляция, видеотипирование

DOI: 10.1134/S0044513418120048

Брачное поведение является одним из важнейших факторов репродуктивной изоляции, предотвращающих гибридизацию и обмен генами между близкородственными видами. Поведение ухаживания у дрозофил представляет собой обмен сигналами различной модальности (химическими, акустическими, зрительными и тактильными) и, таким образом, может быть удобным предметом исследования роли различных сигналов в выборе полового партнера.

Группа видов-близнецов *Drosophila virilis* является известной модельной системой для изучения видообразования. Она состоит из 11 близкородственных видов, которые обитают в различных регионах мира и способны к скрещиваниям между собой в условиях лаборатории (Throckmorton, 1982; Spicer, 1992). Геномы двух видов этой группы, *D. virilis* и *D. americana*, уже полностью секвенированы ([http://beta.flybase.org/static/sequenced\\_species](http://beta.flybase.org/static/sequenced_species); <http://cracs.fc.up.pt/~nf/dame/>). Кроме того, картину дивергенции видов этой группы реконструировали на основе исследований полиморфизма хромосомных перестроек, белков и ДНК (Throckmorton, 1982; Spicer и Bell, 2002; Caletka и

McAllister, 2004; Wang et al., 2006). В то же время, полноценные исследования репродуктивного поведения, особенно поведения ухаживания, у видов группы *D. virilis* крайне немногочисленны (Liimatainen, Hoikkala, 1998; Vedenina et al., 2013; LaRue et al., 2015). Большинство работ на видах этой группы посвящено изучению сигналов двух типов: акустических, издаваемых самцом (Hoikkala, Lumme, 1987; Hoikkala, Aspi, 1993; Suvanto et al., 1994; Aspi, Hoikkala, 1995; Päällysaho et al., 2003; Klappert et al., 2007), и химических, получаемых самцом во время ошупывания самки (Bartelt et al., 1986; Oguma et al., 1992; Liimatainen, Jallon, 2007).

Брачный ритуал у видов группы *D. virilis* существенно отличается от хорошо изученного ритуала *D. melanogaster*. Если для последнего вида характерна относительно строгая последовательность элементов брачного ритуала в процессе ухаживания, а сами элементы непродолжительны, то в группе *D. virilis* несколько элементов, как правило, наблюдаются одновременно, само ухаживание более продолжительно и представляет собой менее жесткую и стереотипную последова-

тельность элементов (Spieth, 1951; Vedenina et al., 2013). Кроме того, последовательность основных актов ухаживания принципиально различается в этих группах дрозофил (Sawamura, Tomaru, 2002; Saarikettu et al., 2005; Lasbleiz et al., 2006). Например, самцы *D. melanogaster* вначале ошупывают брюшко самки передней парой ног, затем издадут акустический сигнал, после чего касаются хоботком гениталий самки (в дальнейшем этот элемент поведения обозначен термином “лизание”) (Sawamura, Tomaru, 2002). Самцы *D. virilis* ошупывают и лижут брюшко самки почти одновременно, и только потом издадут акустический сигнал (Spieth, 1951; Vedenina et al., 2013). У *D. melanogaster* только самцы издадут акустический сигнал, тогда как в группе *D. virilis* акустические сигналы издаются обоими полами, причем роль акустических сигналов самки остается до сих пор не очень понятной (Satokangas et al., 1994; LaRue et al., 2015).

Большинство исследователей (Manning, 1959; Brown, 1965; Cobb et al., 1985, 1989; Liimatainen, Hoikkala, 1998; Hoikkala, Crossley, 2000; Saarikettu et al., 2005; Dankert et al., 2009) используют для описания брачного поведения дрозофил стрелочные схемы, иллюстрирующие переходы между различными элементами ухаживания самца и соответствующего поведения самки (кинетографы). Этот метод описания ухаживания позволяет оценить относительную частоту каждого элемента и перехода между ними. Однако этот метод основан на том, что элементы последовательно сменяют друг друга, как это в основном происходит у *D. melanogaster*. Напротив, в группе *D. virilis* по крайней мере три различных элемента могут присутствовать одновременно. Поэтому в данной работе использован иной принцип построения диаграмм ухаживания (Vedenina et al., 2013; Белкина и др., 2016), чем у других авторов.

Целью нашего исследования было сравнение изменчивости структуры брачного поведения у трех видов-близнецов группы *D. virilis* с учетом их филогенетических отношений при ссаживании кон- и гетероспецифических пар (в так называемых кон- и гетероспецифических тестах) методом видеотипирования. Нами были выбраны филогенетически близкие виды *D. virilis* и *D. lummei*, принадлежащие к филеде *D. virilis*, и относительно удаленный от них вид *D. littoralis*, входящий в филеде *D. montana* (Spicer 1992; Spicer 1993; Spicer, Bell, 2002). Последний вид представлен двумя линиями, основатели которых были выловлены в местах обитания южной и северной рас *D. littoralis*. В свое время некоторые авторы на основе изменчивости аллозимов и хромосомных перестроек предложили рассматривать данные географические расы как подвиды, которые, однако, не описаны (Митрофанов и Полуэктова, 1982; Гончаренко и др., 1984, 2004; Куликов и др., 2004;

Темкина, 2005; Андрианов и др., 2008). В гетероспецифических тестах особое внимание уделялось определению ключевого элемента брачного ритуала, после которого ухаживание прекращалось. Для гетероспецифических ссаживаний мы использовали следующие комбинации: наиболее близкие формы – южная и северная расы *D. littoralis* (хотя формально это не гетероспецифические ссаживания, но далее мы будем использовать этот термин); филогенетически близкие, но не контактирующие в природе – *D. virilis* и *D. lummei*, филогенетически далекие, но встречающиеся в одном биотопе – *D. lummei* и *D. littoralis*, филогенетически далекие и не контактирующие в природе – *D. virilis* и *D. littoralis*. Таким образом, мы предполагали оценить уровень дивергенции между ссаживаемыми видами/расами по характеру изменчивости структуры брачного ритуала и роль сигналов ухаживания разной модальности в эволюции этой группы.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Все использованные линии взяты из коллекции ИБР РАН: *D. virilis* – линия 102, выловленная в 1967 г. в Берлине, Германия; *D. lummei* – линия 1109, выловленная в 1972 г. в Муонио, Финляндия; *D. littoralis* – линии ФП 12-01 и АВ-58, выловленные в 2012 г. в Москве, Россия, и в 2013 г. в Пицунде, Абхазия, соответственно. Мух содержали на стандартном манно-дрожжевом корме в пробирках высотой 100 мм и диаметром 25 мм (5–10 мл корма) в термостатируемом помещении при суточном цикле 12 ч света/12 ч темноты. Имаго в возрасте 1 сут после выхода из куколок обездвигивали с помощью холода и сортировали по полу. Виргинных самок и неспарившихся самцов содержали раздельно в пробирках со стандартным кормом. Тестирование брачного ритуала проводили в таких же пробирках. Каждая особь принимала участие только в одном тесте. Тесты проводили после достижения имаго половой зрелости в возрасте 14–21 дней. Поведение ухаживания регистрировали методом видеотипирования: все взаимодействия между самкой и самцом записывали на видеокамеру Sony HDR-SR 12E (Япония), а далее анализировали с помощью компьютерной программы VirtualDub 1.10.3. Если самец не выказывал интереса к самке в течение 30 мин после начала эксперимента, пара рассаживалась. В случае начала ухаживания поведение пары регистрировали вплоть до копуляции или в течение 30 мин после первого элемента ухаживания.

Для каждой пары измеряли общую длительность каждого поведенческого акта и общую длительность ухаживания от начала первого акта до начала копуляции, исключая долгие паузы (более 1 мин). Измерения проводились независимо дву-

мя исследователями, чтобы исключить ошибки измерений. Мы фиксировали восемь элементов ухаживания: преследование самки самцом, ощупывание самцом брюшка самки, лизание самцом гениталий самки, пение самца и пение самки, кружение самца вокруг самки, попытку копуляции и копуляцию. К попыткам копуляции мы относили только те случаи садки самца, которые длились меньше минуты и не заканчивались полноценной копуляцией. Пением (здесь и далее) мы называем процесс генерации акустического сигнала. Самец поет в процессе вибрации одним крылом, отводя его в сторону почти перпендикулярно оси тела; самка поет, незначительно разводя оба крыла в стороны. В данной работе мы не записывали акустические сигналы, т.к. совмещать видео- и аудиосъемку невозможно. В то же время, на видеозаписях моменты отведения крыльев всегда были хорошо видны, и именно эти поведенческие акты мы трактовали как пение.

Длительность латентных периодов (время от начала ухаживания до начала каждого элемента) и самих элементов ухаживания были рассчитаны с помощью программы Microsoft Excel. Полученные данные статистически обрабатывались с помощью программ Microsoft Excel и Statistica: частота элементов брачного ритуала сравнивалась с помощью точного критерия Фишера, а средняя продолжительность элементов и их латентных периодов – с помощью критерия Стьюдента после нормализующего преобразования исходных данных. Для сравнения видов по структуре брачного ритуала в целом использовали многомерный дисперсионный анализ (MANOVA) с применением статистики Вилкса ( $\lambda_{\text{Wilks}}$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Поведение ухаживания в конспецифических тестах

У исследованных видов-двойников группы *D. virilis* основными элементами брачного ритуала в конспецифических тестах были ощупывание и лизание: они встречались практически со 100% частотой и были самыми длительными элементами. Ощупывание и лизание осуществлялись почти одновременно и сопровождалось акустическими сигналами самки и самца. Длительность пения, однако, уступала продолжительности ощупывания или лизания.

Сравнение поведения ухаживания у видов-двойников *D. virilis* и *D. lummei* не выявило значимых различий в представленности элементов и рисунке ухаживания ( $\lambda_{\text{Wilks}} = 0.404$ ; d.f.1 = 2, d.f.2 = 1,  $F = 0.74$ ,  $p = 0.636$ ) (табл. 1, рис. 1а, 1б). На фоне длительного ощупывания (в среднем 83 с для *D. virilis* и 108 с для *D. lummei*) и лизания (в среднем 66 и 95 с, соответственно) самец издавал время от времени акустические сигналы сред-

ней длительностью 25 и 36 с, соответственно. Кружение начиналось существенно позже вышеупомянутых актов, и было кратковременным (в среднем 12 и 10 с, соответственно). Преследование самцом самки также занимало мало времени (в среднем 10 и 7 с, соответственно). В то же время, процент копуляций у *D. lummei* оказался значимо ниже, чем у *D. virilis* ( $p = 0.00001$ ).

Поведение ухаживания *D. littoralis* (рис. 2а, 2б) значимо отличалось от поведения *D. virilis* и *D. lummei* ( $\lambda_{\text{Wilks}} = 0.237$ , d.f.1 = 7, d.f.2 = 10,  $F = 8.90$ ,  $p = 0.015$ ): у *D. littoralis* длительность четырех основных актов (ощупывания, лизания, пения самца и самки) была значимо меньше, чем у других двух видов ( $p \leq 0.003$ ). Мы не обнаружили различий по длительности элементов ритуала между двумя расами *D. littoralis*, ( $\lambda_{\text{Wilks}} = 0.043$ , d.f.1 = 7, d.f.2 = 2,  $F = 6.35$ ,  $p = 0.143$ ) (табл. 2, рис. 2а, 2б). Лишь продолжительность копуляции была значимо выше у представителей северной (6 мин 47 с), чем южной расы (4 мин 46 с) ( $t = 4.59$ , d.f. = 47,  $p = 0.00003$ ). По длительности латентного периода были получены различия: самцы южной расы *D. littoralis* начинали раньше демонстрировать лизание, пение и кружение, а их самки начинали раньше петь, чем представители северной расы (табл. 3, рис. 2а, 2б).

Оценка корреляций между пением самки и различными элементами ухаживания самца показала значимую корреляцию между пением самки и двумя элементами ухаживания самца: лизанием и пением (0.65–0.84). Такая корреляция была выявлена только по длительности, но не по латентным периодам.

### Поведение ухаживания в гетероспецифических тестах

#### Гетероспецифические тесты с двумя расами *D. littoralis*

В гетероспецифических тестах с разными расами *D. littoralis* в брачном ритуале практически всегда присутствовали три основных элемента ухаживания (ощупывание, лизание и пение). Большинство гетероспецифических тестов заканчивалось копуляцией. В этом отношении поведение в кон- и гетероспецифических тестах было сходным. По длительности и латентному периоду отдельных актов ухаживания получен ряд значимых различий между кон- и гетероспецифическими тестами. В частности, у самок северной и южной рас в паре с гетероспецифическим самцом значимо увеличилась длительность пения по сравнению с конспецифическим вариантом северной расы ( $p \leq 0.011$ ).

Характер активности северных и южных самцов сохранялся вне зависимости от того, за какой самкой они ухаживали, кон- или гетероспецифи-

**Таблица 1.** Частота элементов ухаживания у трех видов-близнецов группы *Drosophila virilis* в кон- и гетероспецифических тестах

Вариант теста	Объем выборки	Число (доля, %) тестов, в которых проявились элементы ухаживания							
		преследование	ощупывание	лизание	песня самца	кружение	попытки копуляции	копуляция	песня самки
♀ + ♂ <i>virilis</i>	30	17 (57)	30 (100)	30 (100)	30 (100)	12 (40)	9 (30)	26 (87)	29 (97)
♀ + ♂ <i>lummei</i>	30	19 (63)	30 (100)	30 (100)	29 (97)	17 (57)	12 (40)	10 (33)	28 (93)
♀ + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	30	21 (70)	30 (100)	29 (97)	29 (97)	6 (20)	2 (7)	26 (87)	28 (93)
♀ + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	30	18 (60)	30 (100)	30 (100)	29 (97)	12 (40)	3 (10)	23 (77)	30 (100)
♀ <i>virilis</i> + ♂ <i>lummei</i>	30	3 (10)	30 (100)	13 (43)	8 (27)	5 (17)	3 (10)	4 (13)	13 (43)
♀ <i>lummei</i> + ♂ <i>virilis</i>	30	4 (13)	30 (100)	12 (37)	10 (33)	0 (0)	2 (7)	1 (3)	12 (37)
♀ <i>littoralis</i> (NR) + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	30	21 (70)	30 (100)	30 (100)	29 (97)	12 (40)	1 (3)	21 (70)	28 (93)
♀ <i>littoralis</i> (SR) + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	30	23 (77)	30 (100)	30 (100)	30 (100)	15 (50)	7 (23)	19 (63)	29 (97)
♀ <i>lummei</i> + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	30	27 (90)	30 (100)	26 (87)	22 (73)	13 (43)	11 (37)	0 (0)	22 (73)
♀ <i>littoralis</i> (NR) + ♂ <i>lummei</i>	30	0 (0)	30 (100)	1 (3)	1 (3)	0 (0)	0 (0)	1 (3)	1 (3)
♀ <i>lummei</i> + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	30	23 (77)	30 (100)	22 (73)	21 (70)	10 (33)	7 (23)	0 (0)	25 (83)
♀ <i>littoralis</i> (SR) + ♂ <i>lummei</i>	30	1 (3)	30 (100)	4 (13)	2 (7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3)
♀ <i>virilis</i> + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	30	16 (53)	30 (100)	26 (87)	26 (87)	14 (47)	9 (30)	2 (7)	26 (87)
♀ <i>littoralis</i> (NR) + ♂ <i>virilis</i>	30	2 (7)	30 (100)	2 (7)	3 (10)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (13)
♀ <i>virilis</i> + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	30	16 (53)	30 (100)	27 (90)	27 (90)	17 (57)	13 (43)	1 (3)	28 (93)
♀ <i>littoralis</i> (SR) + ♂ <i>virilis</i>	30	16 (53)	29 (97)	9 (30)	7 (23)	1 (3)	0 (0)	0 (0)	12 (40)

Примечание. NR (north race) – северная раса *D. littoralis*, SR (south race) – южная раса *D. littoralis*.

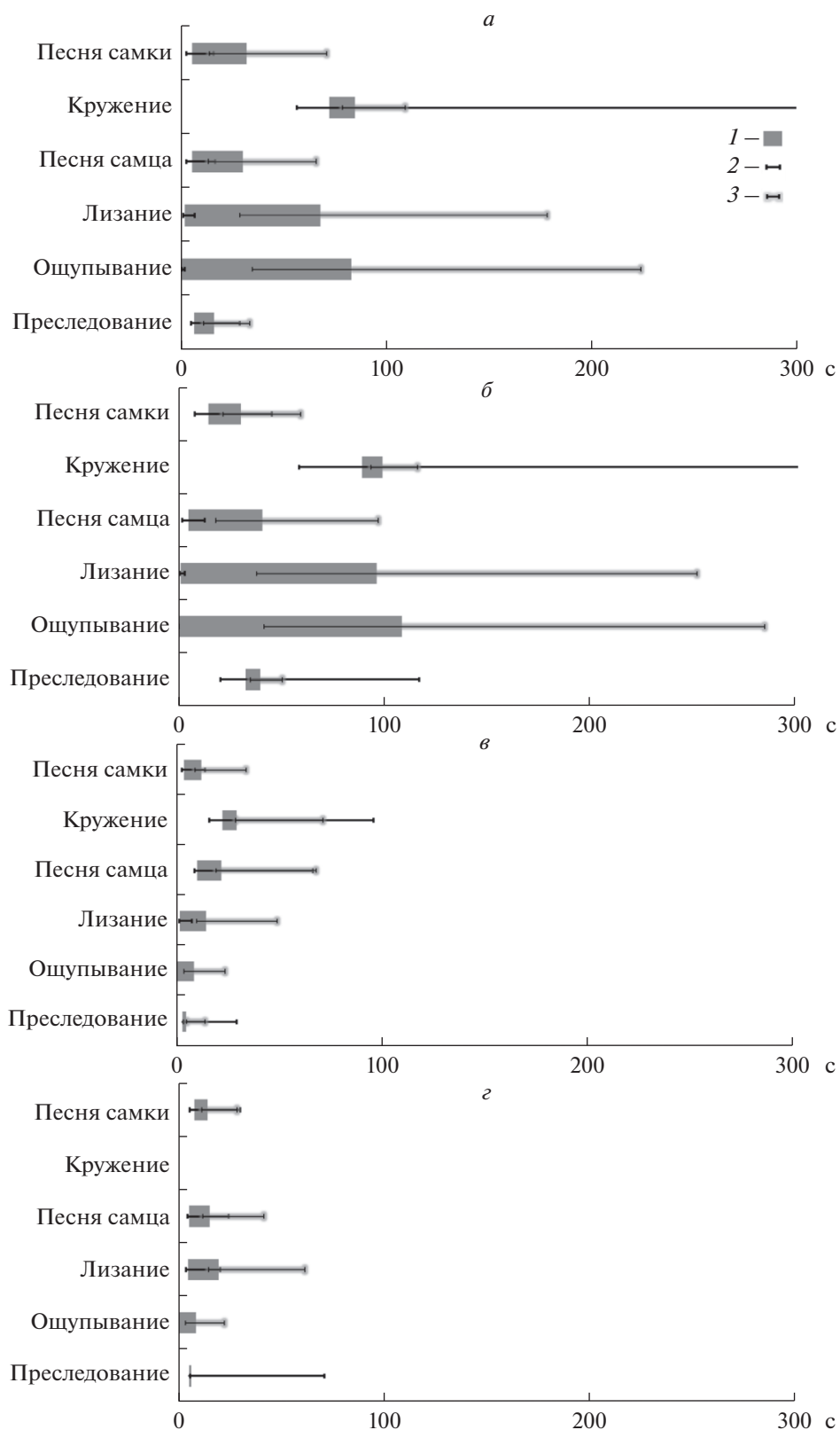
ческой. Так, самцы северной расы *D. littoralis* в среднем позже начинали петь и кружиться ( $p \leq 0.011$ ), соответственно, самцы южной расы начинали раньше петь и лизать ( $p \leq 0.0027$ ). Т.е. специфика поведения самцов, по крайней мере, отчасти определяла структуру брачного ритуала, как в кон-, так и гетероспецифических тестах. Это справедливо и для гетероспецифических тестов с участием самцов *D. littoralis* обеих рас с *D. virilis* и *D. lummei*. Кроме того, самки северной расы в гетероспецифическом тесте начинали значимо раньше петь по сравнению с конспецифическим тестом северной расы ( $p = 0.0487$ ) (табл. 3, рис. 2).

Сравнение реципрокных вариантов по латентному периоду показало лишь одно отличие: самцы северной расы *D. littoralis*, ухаживающие за самками южной расы, начинали петь позже ( $p = 0.0027$ ) по сравнению с обратным вариантом (табл. 3, рис. 2). Различий по длительности элементов в этих вариантах выявлено не было.

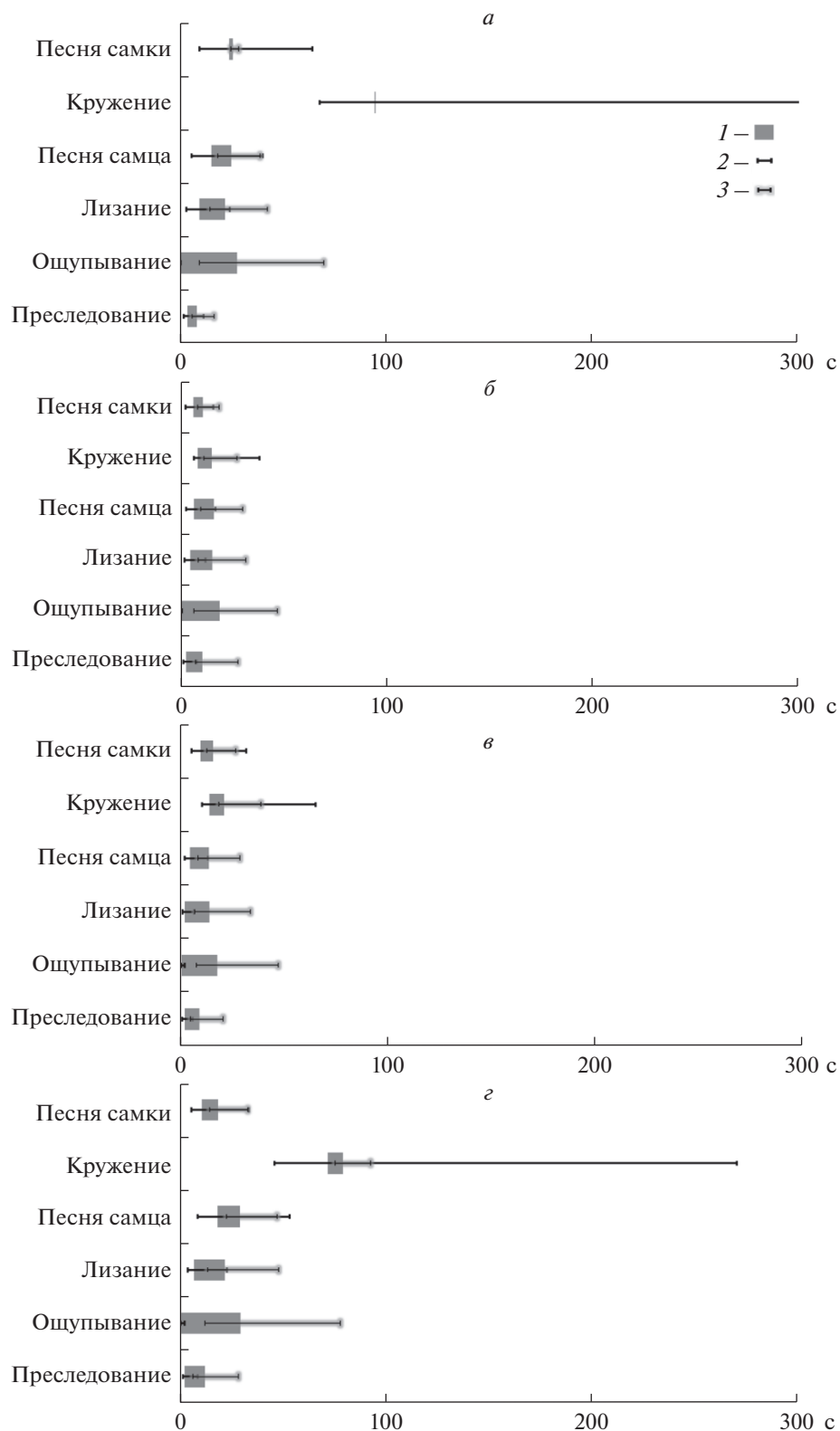
Анализ корреляций между пением самки и элементами ухаживания самца показал значимую корреляцию между пением самки и лизанием и пением самца как по латентным периодам (0.59–0.68), так и по длительности (0.5–0.88).

#### Гетероспецифические тесты с *D. virilis* и *D. lummei*

Больше половины гетероспецифических тестов *D. virilis* и *D. lummei* заканчивалось на стадии ощупывания (табл. 1). Самцы *D. lummei*, ухаживавшие за самками *D. virilis*, значимо меньше ощупывали и лизали ( $p \leq 0.0016$ ) по сравнению с конспецифическими тестами *D. virilis* и *D. lummei* (табл. 2, рис. 1б). В свою очередь, самки *D. virilis* значимо меньше пели перед самцами *D. lummei* ( $t = -2.82$ , d.f. = 40,  $p = 0.0075$ ), чем перед конспецифическими самцами. В обратном варианте ♀ *D. lummei* + ♂ *D. virilis* выявлено значимое снижение длительности всех элементов ухаживания ( $p \leq 0.0326$ ), кроме продолжительности попыток копуляции, по сравнению с конспецифическими тестами *D. virilis* и *D. lummei* (табл. 2, рис. 1а). Также самки *D. lummei* значимо меньше пели перед самцами *D. virilis*, чем самки *D. virilis* в конспецифическом тесте ( $t = -3.70$ , d.f. = 39,  $p = 0.0007$ ). В гетероспецифических тестах число копуляций оказалось значимо меньше, чем в конспецифических тестах (табл. 1). Различия по латентному периоду элементов между кон- и гетероспецифическими тестами не выявлены (табл. 3), равно как и не выявлены значимые различия между реципрокными тестами.



**Рис. 1.** Латентный период и длительность элементов брачного поведения *D. virilis* и *D. lummei*. а – ♀ *D. virilis* + ♂ *D. virilis*; б – ♀ *D. lummei* + ♂ *D. lummei*; в – ♀ *D. virilis* + ♂ *D. lummei*; г – ♀ *D. lummei* + ♂ *D. virilis*. Левый край прямоугольника соответствует среднему времени начала данного элемента, а правый – среднему времени его окончания. Отрезки обозначают 95%-ный доверительный интервал средней длительности элементов (подсвеченные тонкие линии) и средней длительности латентных периодов (простые толстые линии). 1 – средняя продолжительность элемента, 2 – 95%-ный доверительный интервал средней длительности латентных периодов, 3 – 95%-ный доверительный интервал средней длительности элементов.



**Рис. 2.** Латентный период и длительность элементов брачного поведения *D. littoralis* (северная и южная расы). *a* – ♀ *D. littoralis* (NR) + ♂ *D. littoralis* (NR); *б* – ♀ *D. littoralis* (SR) + ♂ *D. littoralis* (SR); *в* – ♀ *D. littoralis* (NR) + ♂ *D. littoralis* (SR); *г* – ♀ *D. littoralis* (SR) + ♂ *D. littoralis* (NR). Левый край прямоугольника соответствует среднему времени начала данного элемента, а правый – среднему времени его окончания. Отрезки обозначают 95%-ный доверительный интервал средней длительности элементов (подсвеченные тонкие линии) и средней длительности латентных периодов (простые толстые линии). 1 – средняя продолжительность элемента, 2 – 95%-ный доверительный интервал латентных периодов, 3 – 95%-ный доверительный интервал средней длительности элементов.

**Таблица 2.** Длительность элементов (в секундах, среднее  $\pm$  стандартная ошибка) брачного поведения у трех видов-близнецов группы *Drosophila virilis*

Вариант теста	Преследование	Ощупывание	Лизание	Песня самца	Кружение	Попытки копуляции	Копуляция	Песня самки
♀ + ♂ <i>virilis</i>	9.59 $\pm$ 0.11	82.6 $\pm$ 0.11	66.04 $\pm$ 0.11	24.60 $\pm$ 0.08	12.35 $\pm$ 0.13	6.66 $\pm$ 0.17	151.77 $\pm$ 0.02	26.52 $\pm$ 0.08
♀ + ♂ <i>lummei</i>	7.26 $\pm$ 0.07	108.2 $\pm$ 0.10	94.95 $\pm$ 0.10	35.62 $\pm$ 0.09	9.92 $\pm$ 0.10	4.75 $\pm$ 0.09	178.29 $\pm$ 0.01	15.85 $\pm$ 0.12
♀ + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	4.01 $\pm$ 0.08	24.14 $\pm$ 0.11	28.74 $\pm$ 0.17	18.74 $\pm$ 0.13	11.54 $\pm$ 0.20	3.00 $\pm$ 0.30	406.54 $\pm$ 0.02	16.74 $\pm$ 0.14
♀ + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	7.88 $\pm$ 0.15	18.59 $\pm$ 0.08	10.59 $\pm$ 0.08	9.50 $\pm$ 0.08	6.94 $\pm$ 0.10	4.14 $\pm$ 0.27	286.42 $\pm$ 0.03	4.66 $\pm$ 0.09
♀ <i>virilis</i> + ♂ <i>lummei</i>	1.71 $\pm$ 0.13	8.66 $\pm$ 0.11	12.82 $\pm$ 0.18	11.69 $\pm$ 0.24	7.01 $\pm$ 0.26	6.61 $\pm$ 0.14	182.74 $\pm$ 0.03	8.46 $\pm$ 0.17
♀ <i>lummei</i> + ♂ <i>virilis</i>	1.00	8.43 $\pm$ 0.09	14.83 $\pm$ 0.19	9.91 $\pm$ 0.18	—	1.83 $\pm$ 0.15	65.00	6.48 $\pm$ 0.14
♀ <i>littoralis</i> (NR) + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	7.06 $\pm$ 0.09	17.22 $\pm$ 0.11	11.96 $\pm$ 0.10	9.04 $\pm$ 0.10	7.05 $\pm$ 0.16	2.00	286.43 $\pm$ 0.02	5.81 $\pm$ 0.12
♀ <i>littoralis</i> (SR) + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	9.95 $\pm$ 0.09	28.96 $\pm$ 0.11	14.97 $\pm$ 0.11	11.03 $\pm$ 0.09	7.36 $\pm$ 0.11	2.45 $\pm$ 0.14	311.17 $\pm$ 0.02	7.97 $\pm$ 0.11
♀ <i>lummei</i> + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	7.71 $\pm$ 0.07	63.58 $\pm$ 0.12	45.61 $\pm$ 0.12	35.68 $\pm$ 0.11	10.58 $\pm$ 0.12	3.53 $\pm$ 0.10	—	14.69 $\pm$ 0.12
♀ <i>littoralis</i> (NR) + ♂ <i>lummei</i>	—	2.19 $\pm$ 0.04	9.00	3.00	—	—	204.00	1.00
♀ <i>lummei</i> + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	5.04 $\pm$ 0.06	29.87 $\pm$ 0.12	30.88 $\pm$ 0.14	21.07 $\pm$ 0.12	14.71 $\pm$ 0.11	2.64 $\pm$ 0.13	—	5.34 $\pm$ 0.10
♀ <i>littoralis</i> (SR) + ♂ <i>lummei</i>	1.00	3.05 $\pm$ 0.07	8.79 $\pm$ 0.11	2.46 $\pm$ 0.23	—	—	—	7.00
♀ <i>virilis</i> + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	9.76 $\pm$ 0.11	55.50 $\pm$ 0.09	28.54 $\pm$ 0.11	19.98 $\pm$ 0.08	8.71 $\pm$ 0.11	4.27 $\pm$ 0.13	214.94 $\pm$ 0.03	18.10 $\pm$ 0.10
♀ <i>littoralis</i> (NR) + ♂ <i>virilis</i>	1.83 $\pm$ 0.15	4.30 $\pm$ 0.07	7.12 $\pm$ 0.43	2.17 $\pm$ 0.20	—	—	—	7.38 $\pm$ 0.26
♀ <i>virilis</i> + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	6.79 $\pm$ 0.11	69.36 $\pm$ 0.10	51.29 $\pm$ 0.10	33.96 $\pm$ 0.08	18.14 $\pm$ 0.09	5.61 $\pm$ 0.11	343.00	20.71 $\pm$ 0.11
♀ <i>littoralis</i> (SR) + ♂ <i>virilis</i>	2.99 $\pm$ 0.07	10.78 $\pm$ 0.09	8.60 $\pm$ 0.25	7.91 $\pm$ 0.21	1.00	—	—	8.16 $\pm$ 0.17

Примечание. Указаны среднее  $\pm$  стандартная ошибка, прочерк — отсутствие данного элемента брачного поведения, NR (north race) — северная раса *D. littoralis*, SR (south race) — южная раса *D. littoralis*.

Таблица 3. Латентный период элементов (в секундах, среднее  $\pm$  стандартная ошибка) брачного поведения у трех видов-близнецов группы *Drosophila virilis*

Вариант теста	Преследование	Ощупывание	Лизание	Песня самца	Кружение	Попытки копуляции	Копуляция	Песня самки
♀ + ♂ <i>virilis</i>	6.8 $\pm$ 0.22	0.61 $\pm$ 0.09	2.24 $\pm$ 0.12	5.78 $\pm$ 0.12	72.6 $\pm$ 0.29	142.30 $\pm$ 0.17	150.31 $\pm$ 0.13	5.63 $\pm$ 0.12
♀ + ♂ <i>lummei</i>	32.55 $\pm$ 0.19	0.04 $\pm$ 0.02	1.14 $\pm$ 0.07	5.04 $\pm$ 0.08	88.96 $\pm$ 0.22	78.38 $\pm$ 0.19	140.89 $\pm$ 0.19	14.52 $\pm$ 0.15
♀ + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	2.59 $\pm$ 0.11	1.76 $\pm$ 0.13	15.61 $\pm$ 0.15	17.03 $\pm$ 0.15	98.99 $\pm$ 0.32	117.32 $\pm$ 0.68	57.25 $\pm$ 0.10	13.93 $\pm$ 0.15
♀ + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	2.62 $\pm$ 0.11	0.24 $\pm$ 0.04	4.68 $\pm$ 0.08	6.5 $\pm$ 0.09	8.13 $\pm$ 0.24	15.73 $\pm$ 0.27	24.26 $\pm$ 0.12	6.10 $\pm$ 0.09
♀ <i>virilis</i> + ♂ <i>lummei</i>	3.16 $\pm$ 0.19	0.00	1.71 $\pm$ 0.17	10.09 $\pm$ 0.30	22.12 $\pm$ 0.16	105.03 $\pm$ 0.18	33.38 $\pm$ 0.14	3.80 $\pm$ 0.17
♀ <i>lummei</i> + ♂ <i>virilis</i>	5.19 $\pm$ 0.32	0.00	4.59 $\pm$ 0.21	5.18 $\pm$ 0.23	—	43.90 $\pm$ 0.33	7.00	7.61 $\pm$ 0.20
♀ <i>littoralis</i> (NR) + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	2.20 $\pm$ 0.09	0.69 $\pm$ 0.09	2.19 $\pm$ 0.12	4.75 $\pm$ 0.11	14.14 $\pm$ 0.23	25.00	18.04 $\pm$ 0.12	9.96 $\pm$ 0.15
♀ <i>littoralis</i> (SR) + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	2.71 $\pm$ 0.14	0.79 $\pm$ 0.11	7.16 $\pm$ 0.15	18.62 $\pm$ 0.13	72.10 $\pm$ 0.20	50.16 $\pm$ 0.25	50.68 $\pm$ 0.14	11.00 $\pm$ 0.15
♀ <i>lummei</i> + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	11.96 $\pm$ 0.16	0.08 $\pm$ 0.02	13.32 $\pm$ 0.16	20.36 $\pm$ 0.15	132.84 $\pm$ 0.22	216.68 $\pm$ 0.17	—	25.36 $\pm$ 0.17
♀ <i>littoralis</i> (NR) + ♂ <i>lummei</i>	—	0.00	2.00	3.00	—	11.00	9.00	9.00
♀ <i>lummei</i> + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	9.04 $\pm$ 0.15	0.16 $\pm$ 0.06	7.41 $\pm$ 0.15	15.54 $\pm$ 0.19	83.04 $\pm$ 0.24	126.45 $\pm$ 0.23	—	30.61 $\pm$ 0.16
♀ <i>littoralis</i> (SR) + ♂ <i>lummei</i>	1.00	0.00	7.80 $\pm$ 0.59	3.47 $\pm$ 0.35	—	—	—	25.00
♀ <i>virilis</i> + ♂ <i>littoralis</i> (NR)	14.12 $\pm$ 0.21	0.21 $\pm$ 0.06	18.15 $\pm$ 0.16	23.53 $\pm$ 0.15	57.52 $\pm$ 0.20	96.78 $\pm$ 0.21	72.84 $\pm$ 0.20	12.32 $\pm$ 0.13
♀ <i>littoralis</i> (NR) + ♂ <i>virilis</i>	1.45 $\pm$ 0.09	0.00	58.00	18.62 $\pm$ 0.50	—	—	—	11.71 $\pm$ 0.36
♀ <i>virilis</i> + ♂ <i>littoralis</i> (SR)	14.12 $\pm$ 0.21	0.21 $\pm$ 0.06	18.15 $\pm$ 0.16	23.53 $\pm$ 0.15	57.52 $\pm$ 0.20	67.32 $\pm$ 0.16	17.00	12.32 $\pm$ 0.13
♀ <i>littoralis</i> (SR) + ♂ <i>virilis</i>	5.12 $\pm$ 0.17	0.15 $\pm$ 0.04	5.84 $\pm$ 0.22	30.58 $\pm$ 0.28	1.00	—	—	15.34 $\pm$ 0.19

Примечание. Указаны среднее  $\pm$  стандартная ошибка, прочерк — отсутствие данного элемента брачного поведения, NR (north race) — северная раса *D. littoralis*, SR (south race) — южная раса *D. littoralis*.



Анализ корреляций между пением самки и элементами ухаживания самца показал значимую и высокую корреляцию между длительностью пения самки и длительностью лизания и пения самца (0.78–0.97). По латентным периодам такая корреляция найдена лишь для комбинации самки *D. lummei*–самцы *D. virilis* (0.93–0.95).

#### Гетероспецифические тесты с *D. lummei* и *D. littoralis*

В отличие от вышеописанных гетероспецифических ссаживаний, ссаживания *D. lummei* и *D. littoralis* показали значительные различия между реципрокными сочетаниями. Если самцов *D. lummei* ссаживали с самками *D. littoralis*, то ухаживание, как правило, прекращалось на стадии ощупывания: ссаживания, в которых отмечены другие элементы ухаживания, были единичными (табл. 1). Напротив, самцы *D. littoralis* демонстрировали, как правило, полный ритуал ухаживания за самками *D. lummei*. Это наблюдалось в случае обеих рас *D. littoralis*. Различия между самцами *D. lummei* и *D. littoralis* по продолжительности ощупывания оказались высокосignификантными ( $p \leq 0.001$ ) (табл. 2, рис. 3). В то же время, число копуляций во всех четырех гетероспецифических тестах *D. lummei* и *D. littoralis* было очень низким (табл. 1).

Сравнение гетероспецифических тестов *D. lummei* и *D. littoralis* с конспецифическими тестами выявило более продолжительное ухаживание самцов *D. littoralis* за самками *D. lummei*, чем за конспецифическими самками (табл. 2). Этот феномен ярче проявился у самцов северной расы *D. littoralis*. Так, самцы северной расы *D. littoralis* дольше ощупывали и лизали самок *D. lummei*, а также пели им, чем в конспецифических тестах с той же расой ( $p \leq 0.018$ ); самки *D. lummei* также демонстрировали увеличение длительности пения ( $p = 0.000001$ ) в гетероспецифических тестах по сравнению с конспецифическими. Самцы южной расы значимо дольше лизали самок *D. lummei*, чем конспецифических самок ( $p = 0.007$ ). Напротив, самцы *D. lummei*, ухаживавшие за самками *D. littoralis*, демонстрировали сильно сниженную активность по сравнению с конспецифическими тестами *D. lummei*, особенно по отношению к самкам южной расы *D. littoralis*. Длительность всех актов, демонстрируемых самцами *D. lummei* в гетероспецифических тестах, была существенно меньше, чем в конспецифических тестах ( $p \leq 0.009$ ). Длительность пения самок северной и южной рас *D. littoralis* и *D. lummei* не менялась по отношению к конспецифическим тестам, тогда как самки *D. lummei* пели значимо меньше перед самцами южной расы *D. littoralis* ( $p = 0.009$ ).

#### Гетероспецифические тесты с *D. virilis* и *D. littoralis*

Характер гетероспецифических ухаживаний *D. virilis* и *D. littoralis* в значительной степени повторил структуру ухаживаний предыдущей пары видов. Во-первых, необходимо подчеркнуть резкое различие реципрокных тестов. Самцы *D. virilis*, так же, как и самцы *D. lummei*, переставали ухаживать за самками обеих рас *D. littoralis* сразу же после первых ощупываний. Причем меньшая активность самцов *D. virilis* снова ярче проявилась в парах с самками *D. littoralis* северной расы, чем южной расы. Напротив, самцы обеих рас *D. littoralis* сохраняли свою активность и демонстрировали полный ритуал ухаживания за самками *D. virilis*. Самцы *D. virilis* демонстрировали значимо меньшую длительность практически всех элементов при ухаживании за самками *D. littoralis* ( $p \leq 0.017$ ), чем самцы *D. littoralis* – за самками *D. virilis* ( $p \leq 0.029$ , табл. 2, рис. 4). Самцы южной расы *D. littoralis* были активнее самцов северной расы.

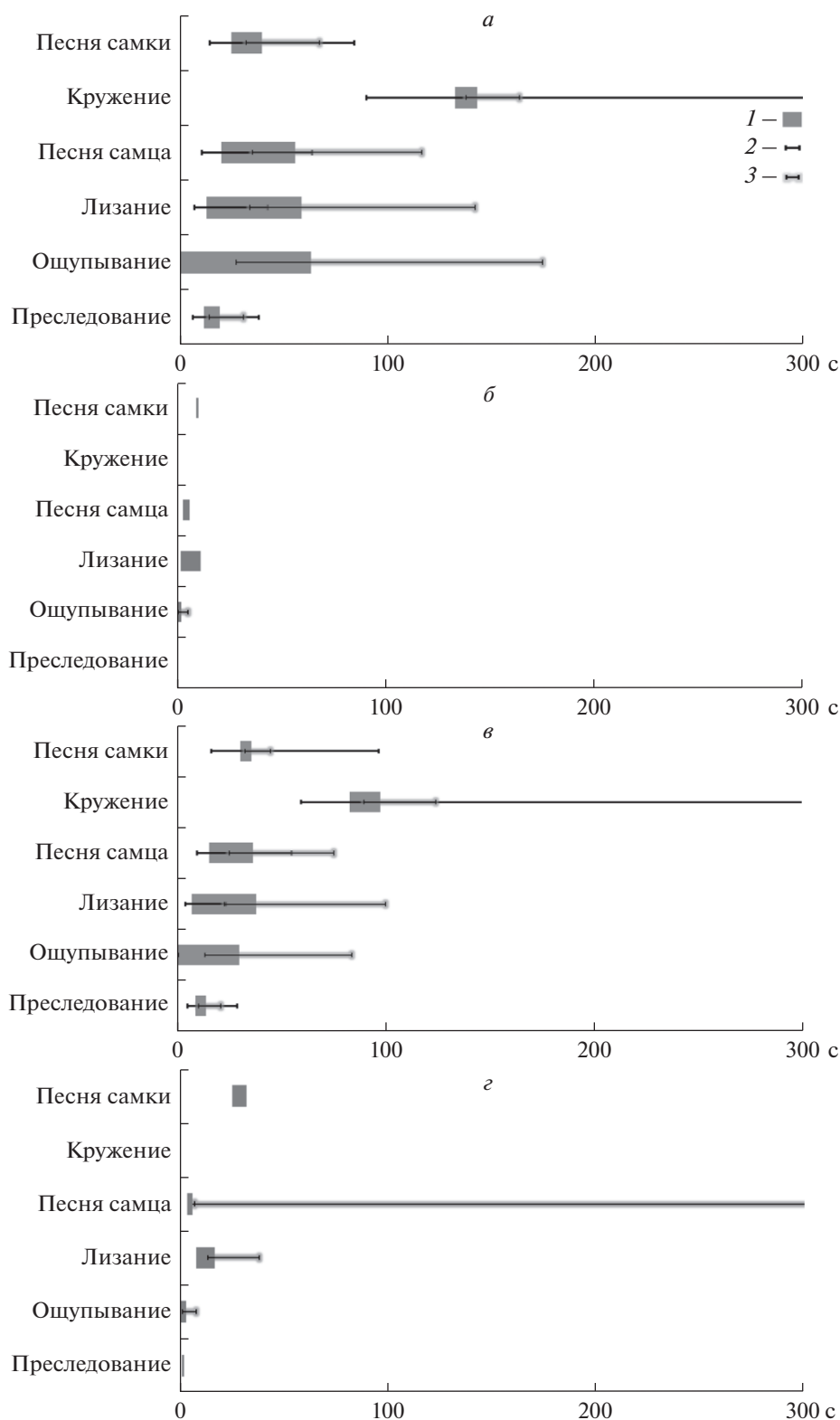
Примечательно, что продолжительность песни самок *D. virilis* в ответ на ухаживание самцов *D. littoralis* практически не изменилась в сравнении с конспецифическим вариантом, тогда как самки северной расы *D. littoralis* пели перед самцами *D. virilis* даже дольше, чем перед своим. Число копуляций во всех четырех гетероспецифических тестах *D. virilis* и *D. littoralis* было очень низким (табл. 1).

Сравнение гетероспецифических тестов *D. virilis* и *D. littoralis* с соответствующими конспецифическими тестами выявило значительные различия как по длительности, так и по латентным периодам. В частности, наблюдалось увеличение длительности практически всех элементов брачного поведения при ухаживании самцов *D. littoralis* за самками *D. virilis* по сравнению с ухаживанием за конспецифическими самками (табл. 2).

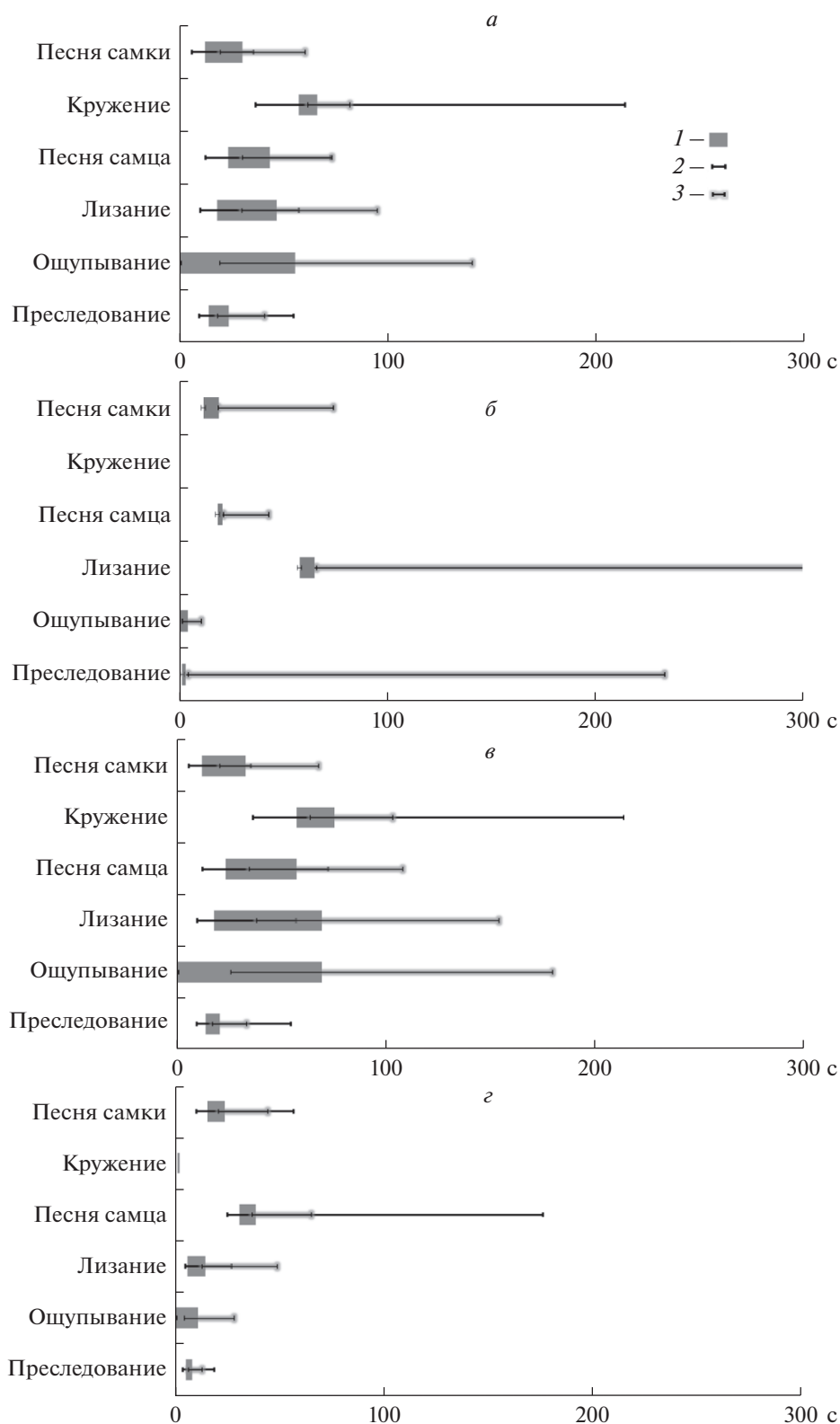
Анализ корреляций между пением самки и элементами ухаживания самца показал значимую и относительно высокую корреляцию между пением самки и лизанием и пением самца, как по латентным периодам (0.5–0.83), так и по длительности (0.65–0.84), но лишь в комбинации самец *D. littoralis* – самка *D. virilis* или *D. lummei*. В реципрокных ссаживаниях лизание и пение самца были редки, поэтому данных для анализа оказалось недостаточно.

## ОБСУЖДЕНИЕ

В результате сравнительного анализа изменчивости структуры брачного поведения у трех близкородственных видов дрозофил, *D. virilis*, *D. lummei* и *D. littoralis*, показано, что самыми длительными элементами брачного ритуала в конспецифических вариантах вне зависимости от ви-



**Рис. 3.** Латентный период и длительность элементов брачного поведения *D. lummei* и *D. littoralis*. *а* – ♀ *D. lummei* + ♂ *D. littoralis* (NR); *б* – ♀ *D. littoralis* (NR) + ♂ *D. lummei*; *в* – ♀ *D. lummei* + ♂ *D. littoralis* (SR); *г* – ♀ *D. littoralis* (SR) + ♂ *D. lummei*. Левый край прямоугольника соответствует среднему времени начала данного элемента, а правый – среднему времени его окончания. Отрезки обозначают 95%-ный доверительный интервал средней длительности элементов (подсвеченные тонкие линии) и средней длительности латентных периодов (простые толстые линии). 1 – средняя продолжительность элемента, 2 – 95%-ный доверительный интервал средней длительности латентных периодов, 3 – 95%-ный доверительный интервал средней длительности элементов.



**Рис. 4.** Латентный период и длительность элементов брачного поведения *D. virilis* и ♂ *D. littoralis*. *а* – ♀ *D. virilis* + ♂ *D. littoralis* (NR); *б* – ♀ *D. littoralis* (NR) + ♂ *D. virilis*; *в* – ♀ *D. virilis* + ♂ *D. littoralis* (SR); *г* – ♀ *D. littoralis* (SR) + ♂ *D. virilis*. Левый край прямоугольника соответствует среднему времени начала данного элемента, а правый – среднему времени его окончания. Отрезки обозначают 95%-ный доверительный интервал средней длительности элементов (подсвеченные тонкие линии) и средней длительности латентных периодов (простые толстые линии). 1 – средняя продолжительность элемента, 2 – 95%-ный доверительный интервал средней длительности латентных периодов, 3 – 95%-ный доверительный интервал средней длительности элементов.

довой принадлежности являлись ошупывание и лизание. Это согласуется с ранее полученными данными на других видах и линиях (Spieth, 1951; Vedenina et al., 2013; Белкина и др., 2016). Эти доминирующие элементы обычно демонстрировались одновременно, сопровождаясь брачной песней как самца, так и самки, составляющих вторую по длительности пару элементов брачного поведения. Это совпадает с данными, полученными ранее на других линиях *D. virilis* (Saarikettu et al., 2005). Пение самца и самки начиналось значительно позже ошупывания и лизания у всех исследованных видов; причем брачную песню самцы обычно производили, не прерывая ошупывания и лизания. Наиболее короткими элементами у трех изученных видов были преследование и кружение. Выявленные закономерности оказались общими для изученных видов и рас. В то же время, *D. virilis* и *D. lummei*, как представители одной филлады, значимо отличались от обеих рас *D. littoralis* (другая филлада) практически по всем элементам брачного ритуала.

#### Роль сигналов ухаживания в репродуктивной изоляции *D. virilis* и *D. lummei*

Анализ конспецифических тестов *D. virilis* и *D. lummei* не выявил различий по длительности элементов репродуктивного поведения и их латентных периодов. Это свидетельствует о сходстве структуры брачного ритуала у этих видов. В то же время, анализ гетероспецифических ухаживаний в тестах ♀ *D. virilis* + ♂ *D. lummei* и ♀ *D. lummei* + ♂ *D. virilis* показал, во-первых, прекращение ухаживания на стадии ошупывания более чем в половине тестов и, во-вторых, резкое снижение длительности элементов на стадии ошупывания и лизания. В более ранних экспериментах (Vedenina et al., 2013) самцы этих двух видов проявляли более высокую активность в гетероспецифических тестах. Лишь для комбинации ♀ *D. virilis* + ♂ *D. lummei* отмечалось значимое снижение длительности ошупывания и лизания, и число тестов, в которых отмечалось лизание, было существенно ниже такового для конспецифических тестов. Такое различие в результатах можно объяснить использованием других линий мух в экспериментах.

В соответствии с опубликованными ранее данными (Spieth, 1951; Vedenina et al., 2013), самец во время ошупывания брюшка самки совершает возвратно-поступательные движения передней парой ног. Известно, что брюшные сегменты у дрозофил несут большое количество механосенсорных щетинок (Fabre et al., 2008), которые могут активироваться во время ошупывания брюшка самки передней парой ног самца. Функция продолжительного лизания менее ясна. Мы предполагаем, что во время продолжительного выполнения этого элемента самец получает важный

сигнал от самки, так как самец никогда не делает попытки копуляции без этого акта. У *D. melanogaster* известно, что при успешном ухаживании самка выделяет капельку секрета на конце яйцеклада, и при кратковременном лизании самец получает необходимый сигнал именно из этого секрета, после чего делает попытку копуляции (Lasbleiz et al., 2006).

Шпит (Spieth, 1951) и Вединина с соавторами (Vedenina et al., 2013) показали, а наше исследование подтвердило, что часто самцы видов-двойников группы *D. virilis* лизут не только гениталии самки, но и стерниты брюшка, причем очень интенсивно. Вполне вероятно, что такая интенсивная механическая стимуляция может побуждать самку выделять феромоны из неизвестной железы, расположенной рядом с яйцекладом, так же, как это происходит у *D. melanogaster*. Отсутствие соответствующего поощряющего сигнала от гетероспецифической самки, вероятно, и приводит к значительному сокращению стадии лизания и последующих элементов ухаживания в гетероспецифических тестах *D. virilis* и *D. lummei*. Также, и заметное сокращение стадии ошупывания свидетельствует о том, что сигнал от гетероспецифической самки приходит вскоре после начала этой стадии.

Можно сделать вывод, что именно химические сигналы играют ключевую роль в репродуктивной изоляции между *D. virilis* и *D. lummei*. В качестве сигнальных молекул основными претендентами выступают углеводородные соединения хитина, поскольку их профили у *D. virilis* и *D. lummei* обладают видовой и половой специфичностью (Bartelt et al., 1986; Oguma et al., 1992; Liimatainen, Jallon, 2007). Эти углеводородные соединения характеризуются низкой летучестью и воспринимаются контактными хеморецепторами, расположенными на тарзусах передних конечностей, ротовых щупиках и хоботке. Кроме того, известно, что они имеются на передних краях крыльев и около яйцеклада (Stocker, 1994). Мы не исключаем того, что в процессе длительного ошупывания и лизания самка получает мощную тактильную стимуляцию и, возможно, химическую стимуляцию (как минимум, посредством стимуляции хеморецепторов вокруг яйцеклада), в результате чего может повышаться степень ее рецептивности.

#### Происходит ли дивергенция в пределах *D. littoralis*?

Сравнение конспецифических тестов северной и южной рас *D. littoralis* выявило различия по длительности копуляции и по латентным периодам некоторых элементов ухаживания (представители южной расы начинали эти элементы раньше, чем представители северной расы). Полученный результат по структуре ритуала ухаживания частично согласуется с тем, что известно для двух рас *D. littoralis* по другим признакам. Например,

изменчивость некоторых количественных признаков, таких, как форма крыловой пластины и фаллоса самцов, позволяет говорить о внутривидовой дивергенции по обнаруженным различиям между северными и южными расами *D. littoralis* (Митрофанов и Полуэктова, 1982; Гончаренко и др., 1984, 2004; Куликов и др., 2004; Темкина, 2005; Андрианов и др., 2008). На основе этих различий авторы предполагают, что причиной может быть как адаптация, так и генетическая изоляция популяций, вызванная их разделением Кавказским хребтом (Андрианов и др., 2008).

Наши результаты анализа реципрокных гетероспецифических ссаживаний северной и южной рас *D. littoralis*, однако, показали отсутствие препятствий для успешного спаривания. Таким образом, несмотря на дифференциацию географических рас *D. littoralis* по структуре брачного ритуала, прекопуляционные барьеры между ними не выявлены. Дальнейшее изучение посткопуляционных барьеров, возможно, прояснит этот вопрос. Можно ожидать, что различия по строению фаллосов самцов оказывают влияние на процент оплодотворения самок.

#### **Роль сигналов ухаживания в репродуктивной изоляции между представителями разных филад группы *D. virilis***

Все восемь вариантов гетероспецифических ссаживаний *D. lummei* + *D. littoralis* и *D. virilis* + *D. littoralis* характеризовались очень низким процентом копуляции. В то же время, самцы в реципрокных ссаживаниях вели себя принципиально по-разному. Самцы филადы *D. virilis* теряли интерес к самкам *D. littoralis* сразу же после начала ощупывания. Самцы же обеих рас *D. littoralis* демонстрировали полный ритуал ухаживания как за самками *D. lummei*, так и за самками *D. virilis*. Полученный результат свидетельствует о низкой дифференцирующей способности самцов *D. littoralis* по отношению к самкам другой филადы. В работе Лииматайнен и Хойккалы (Liimatainen, Hoikkala, 1998) самцы *D. littoralis* также активно ухаживали за самками *D. lummei*, но проявляли гораздо более высокую селективность по отношению к самкам своей филადы, *D. montana*. Ранее было показано, что профили углеводов *D. littoralis* и *D. lummei* похожи друг на друга, а углеводородный профиль *D. montana* отличается от профиля *D. littoralis* и *D. lummei* (Bartelt et al., 1986). Хотя в случае *D. littoralis* и *D. lummei* можно было бы ожидать получение низкой избирательности самцов обоих видов, а не такой асимметрии, которую мы получили в реципрокных ссаживаниях. Для этих видов не было показано полового диморфизма по составу углеводов (Bartelt et al., 1986). В то же время, подобная асимметрия получена для этих видов другими авторами (Liimatainen, Hoikkala, 1998). В случае пары *D. littoralis* и *D. lummei* примечателен еще тот факт, что эти ви-

ды встречаются в одних и тех же биотопах, поэтому у нас были все основания ожидать одинаково высокую селективность в реципрокных ссаживаниях. Мы сможем объяснить эти результаты лишь тогда, когда будут выявлены ключевые компоненты сложных смесей углеводов, необходимые для конспецифического распознавания у исследованных видов. Асимметрия в реципрокных тестах *D. virilis*–*D. littoralis* представляется нам на данный момент более объяснимой. Для *D. virilis* показан половой диморфизм в составе углеводов кутикулы (Bartelt et al., 1986), причем профиль самцов *D. virilis* больше отличается от профиля самок *D. littoralis*, чем обратная комбинация. Так что логично, что в наших экспериментах именно самцы *D. virilis* теряли интерес к самкам *D. littoralis* сразу же после начала ощупывания.

В любом случае, можно заключить, что дивергенция и расхождение по сигналам разной модальности происходит по-разному даже в пределах одной группы дрозофил. Кроме того, сходство результатов гетероспецифических ссаживаний в парах видов *D. virilis*–*D. littoralis* (не контактирующими в природе) и *D. lummei*–*D. littoralis* (контактирующими в природе) показывает, что в данном случае симпатрия не играет роли в эволюции сигналов ухаживания.

#### **Роль акустических сигналов самок в брачном ритуале группы *D. virilis***

Мнения о роли акустических сигналов самок группы *D. virilis* противоречивы. Одни авторы считают, что самки издают сигнал в случае отказа ухаживающему самцу, другие считают, что песня самки, напротив, побуждает самца к дальнейшему ухаживанию (Donegan, Ewing, 1980; Liimatainen et al., 1998). Также имеются различия во мнениях, насколько часто издают сигналы самки дрозофил этой группы. По одним данным самки исследованных в нашей статье видов поют очень мало, и суммарное время пения занимает лишь от 2 до 7% от всего времени ухаживания (Satokangas et al., 1994). Напротив, согласно сравнительно недавнему исследованию акустического дуэта *D. virilis* (LaRue et al., 2015), самки поют очень активно, издавая сигналы в ответ на пение самца. Исследования поведения ухаживания *D. montana*, *D. lummei* и *D. littoralis* показали, что при ухаживании конспецифического самца самка начинает петь лишь в ответ на лизание, а при ухаживании гетероспецифического самца – уже в ответ на ощупывание (Liimatainen, Hoikkala, 1998).

Возможно, указанные противоречия объясняются тем, что самки группы *D. virilis* издают акустические сигналы иначе, чем самцы. Последние отводят в сторону одно крыло почти под углом 90° к оси тела и вибрируют им, генерируя относительно четкий звуковой паттерн. Самки слегка приоткрывают оба крыла и генерируют более изменчивый паттерн меньшей интенсивности (Sa-

tokangas et al., 1994; LaRue et al., 2015). Тем не менее, на наших видеозаписях моменты пения самки были всегда хорошо заметны. Наши результаты показали, что самки пели очень активно во всех конспецифических тестах, а также в тех гетероспецифических тестах, в которых самцы демонстрировали длительное лизание и пение. Анализ корреляций показал, что пение самки хорошо коррелирует с лизанием и пением самца практически во всех тестах, где зафиксирована длительная демонстрация этих элементов. Таким образом, наши результаты не очень согласуются с данными Лииматайнен и Хойккалы (Liimatainen, Hoikkala, 1998), но соответствуют данным ЛяРю с соавторами (LaRue et al., 2015). В процессе лизания самка получает, скорее всего, неспецифический сигнал от самца (хотя неизвестно, какие рецепторы на стернитах брюшка самки раздражаются в процессе лизания — только ли механорецепторы, или также и хеморецепторы). Но акустический сигнал самца несомненно видоспецифичен, и удивительно, что самка одинаково активно отвечает как кон-, так и гетероспецифическому самцу. В любом случае, наши и литературные (LaRue et al., 2015) данные говорят о том, что пение самки, скорее всего, побуждает самца к дальнейшему ухаживанию. В наших гетероспецифических тестах, в которых самцы демонстрировали длительное лизание и пение, а самки, в свою очередь, также много пели, процент копуляций, тем не менее, был очень низок. Судя по тому, что самцы после длительного ухаживания пытались копулировать, столь низкий процент успешных копуляций определялся выбором самки на самом последнем этапе ухаживания. Механизмы этого выбора еще предстоит исследовать.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование поддержано программой развития биоресурсных коллекций ФАНО.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Андреанов Б.В., Сорокина С.Ю., Мюге Н.С., Резник Н.Л., Митрофанов В.Г., 2008. Популяционная динамика митохондриального полиморфизма в природной популяции *Drosophila littoralis* // Генетика. Т. 44. № 2. С. 195–201.
- Белкина Е.Г., Лазебный О.Е., Веденина В.Ю., 2016. Роль акустических сигналов в поведении ухаживания *Drosophila virilis* // Известия РАН, серия биологическая. № 6. С. 645–650.
- Гончаренко Г.Г., Митрофанов В.Г., Корочкин Л.И., 1984. Изучение генотипической структуры *Drosophila imeretensis* Sokolov (*D. littoralis* Meigen) в географически разделенных популяциях Краснодарского края и Белоруссии // Доклады Академии Наук СССР. Т. 279. № 1. С. 216–219.
- Гончаренко Г.Г., Сурков А.А., Митрофанов В.Г., Корочкин Л.И., 2004. Генетико-эволюционные и таксономические взаимоотношения у видов-двойников *Drosophila* группы *virilis* Палеарктики // Известия Гомельского государственного университета им. Ф. Скорины. № 3. С. 144–157.
- Куликов А.М., Мельников А.И., Горностаев Н.Г., Лазебный О.Е., Митрофанов В.Г., 2004. Морфометрический анализ половых органов самцов видов-двойников *Drosophila virilis* Sturt. // Генетика. Т. 40. № 2. С. 180–194.
- Митрофанов В.Г., Полуэктова Е.В., 1982. Инверсионный полиморфизм в природной популяции *Drosophila imeretensis* Sokolov (*D. littoralis* Meig.) // Генетика. Т. 17. № 18. С. 1849–1855.
- Темкина Л.М., 2005. Дивергенция видов группы *Drosophila virilis* по двум независимым комплексам морфологических признаков // Онтогенез. Т. 36. № 3. С. 240.
- Aspi J., Hoikkala A., 1995. Male mating success and survival in the field with respect to size and courtship song characters in *Drosophila littoralis* and *D. montana* (Diptera: Drosophilidae) // Journal of Insect Behavior. V. 8. P. 67–87.
- Bartelt R.J., Arnold M.T., Schaner A., Jackson L.L., 1986. Comparative analysis of cuticular hydrocarbons in the *Drosophila virilis* species group // Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry. V. 83. P. 731–742.
- Brown R.G.B., 1965. Courtship behavior in the *Drosophila obscura* group. Pt II: Comparative studies // Behavior. V. 25. P. 281–323.
- Caletka B.C., McAllister B.F., 2004. A genealogical view of chromosomal evolution and species delimitation in the *Drosophila virilis* species subgroup // Molecular phylogenetics and evolution. V. 33. P. 664–670.
- Cobb M., Burnet B., Blizard R., Jallon J.M., 1989. Courtship in *Drosophila sechellia*: its structure, functional aspects, and relationship to those of other members of the *Drosophila melanogaster* species subgroup // Journal of Insect Behavior. V. 2. P. 63–89.
- Cobb M., Burnet B., Connolly K., 1985. The structure of courtship in the *Drosophila melanogaster* species subgroup // Behavior. V. 97. P. 182–212.
- Dankert H., Wang L., Hoopfer E.D., Anderson D.J., Perona P., 2009. Automated monitoring and analysis of social behavior in *Drosophila* // Nature methods. V. 6. P. 297–303.
- Donegan J., Ewing A.W., 1980. Duetting in *Drosophila* and *Zaprionus* species // Animal Behaviour. V. 28. P. 1289.
- Fabre C.C.G., Casal J., Lawrence P.A., 2008. The abdomen of *Drosophila*: Does planar cell polarity orient the neurons of mechanosensory bristles? // Neural development. V. 3. P. 12.
- Hoikkala A., Aspi J., 1993. Criteria of female mate choice in *Drosophila littoralis*, *D. montana* and *D. ezoana* // Evolution. V. 47. P. 768–777.
- Hoikkala A., Crossley S.A., 2000. Copulatory courtship in *Drosophila*: behavior and songs of *D. birchii* and *D. serrate* // Journal of Insect Behavior. V. 13. P. 71–86.
- Hoikkala A., Lumme J., 1987. The genetic basis of evolution of the male courtship sounds in the *Drosophila virilis* group // Evolution. V. 41. P. 827–845.
- Klappert K., Mazzi D., Hoikkala A., Ritchie M.G., 2007. Male courtship song and female preference variation between phylogeographically distinct populations of *Drosophila montana* // Evolution. V. 61. P. 1481–1488.
- Manning A., 1959. The sexual behavior of two sibling *Drosophila* species // Behavior. V. 15. P. 123–145.

- LaRue K.M., Clemens J., Berman G.J., Murthy M., 2015. Acoustic duetting in *Drosophila virilis* relies on the integration of auditory and tactile signals // eLife 4: e07277. 2015
- Lasbleiz C., Ferveur J.-F., Everaerts C., 2006. Courtship behaviour of *Drosophila melanogaster* revisited // Animal Behaviour. V. 72. P. 1001–1012.
- Liimatainen J.O., Hoikkala A., 1998. Interactions of the males and females of three sympatric *Drosophila virilis*-group species, *D. montana*, *D. littoralis*, and *D. lummei* (Diptera Drosophilidae) in intra- and interspecific courtships in the wild and in the laboratory // Journal of Insect Behavior. V. 11. P. 399–417.
- Liimatainen J.O., Jallon J.M., 2007. Genetic analysis of cuticular hydrocarbons and their effect on courtship in *Drosophila virilis* and *D. lummei* // Behavior Genetics. V. 37. P. 713–725.
- Oguma Y., Nemoto T., Kuwahara Y., 1992. (Z)-11-Pentacosene is the major sex pheromone component in *Drosophila virilis* (Diptera) // Chemoecology. V. 3. P. 60–64.
- Päälyssaho S., Aspi J., Liimatainen J.O., Hoikkala A., 2003. Role of X chromosomal song genes in the evolution of species-specific courtship songs in *Drosophila virilis* group species // Behavior Genetics. V. 33. P. 25–32.
- Saarikettu M., Liimatainen J.O., Hoikkala A., 2005. Intra-specific variation in mating behavior does not cause sexual isolation between *Drosophila virilis* strains // Animal Behaviour. V. 70. P. 417–426.
- Satokangas P., Liimatainen J.O., Hoikkala A., 1994. Songs produced by the females of the *Drosophila virilis* group of species // Behavior Genetics. V. 24. P. 263–272.
- Sawamura K., Tomaru M., 2002. Biology of reproductive isolation in *Drosophila*: toward a better understanding of speciation // Population Ecology. V. 44. P. 209–219.
- Spicer G.S., 1992. Reevaluation of the phylogeny of *Drosophila virilis* species group (Diptera: Drosophilidae) // Annals of the Entomological Society of America. V. 85. P. 11–25.
- Spicer G.S., 1993. Morphological evolution of the *Drosophila virilis* species group as assessed by rate tests for natural selection on quantitative characters // Evolution. V. 47(4). P. 1240–1254.
- Spicer G.S., Bell C.D., 2002. Molecular Phylogeny of the *Drosophila virilis* Species Group (Diptera: Drosophilidae) Inferred from Mitochondrial 12S and 16S Ribosomal RNA Genes // Systematic Biology. V. 95. P. 156–161.
- Spieth H.T., 1951. Mating behavior and sexual isolation in the *Drosophila virilis* species group // Behavior. V. 3. P. 105–145.
- Stocker R.F., 1994. The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review // Cell and Tissue Research. V. 275(1). P. 3–26.
- Suvanto L., Hoikkala A., Liimatainen J.O., 1994. Secondary courtship songs and inhibitory songs of *Drosophila virilis* group males // Behavior Genetics. V. 24. P. 85–94.
- Throckmorton L.H., 1982. The *virilis* species group // Ashburner M., Carson H.L., Thompson Jr J.N. (eds). The genetics and biology of *Drosophila*. Academic. London. V. 3B. P. 227–296.
- Vedenina V.Y., Ivanova T.I., Lazebny O.E., 2013. Analysis of courtship behaviour in closely related species of *Drosophila virilis* group: a new approach arises new questions // Journal of Insect Behavior. V. 26. P. 402–415.
- Wang B.-C., Park J., Watabe H.-A., Gao J.-J., Xiangyu J.-G., et al., 2006. Molecular phylogeny of the *Drosophila virilis* section (Diptera: Drosophilidae) based on mitochondrial and nuclear sequences // Molecular Phylogenetics and Evolution. V. 40. P. 484–500.

## COURTSHIP BEHAVIOR ANALYSIS IN THREE SIBLING SPECIES OF THE *DROSOPHILA VIRILIS* GROUP

E. G. Belkina<sup>a, \*</sup>, V. Yu. Vedenina<sup>b</sup>, S. Yu. Sorokina<sup>a</sup>, O. E. Lazebny<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow 119334, Russia

<sup>b</sup>Kharkevich Institute for Information Transmission Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow 127051, Russia

\*e-mail: ellida69@mail.ru

Courtship behavior was studied in three sibling species of the *Drosophila virilis* group, namely, *D. virilis*, *D. lummei*, and *D. littoralis*. The latter species was represented by two strains, the founders of which had been caught in the habitats of the southern and northern races of *D. littoralis*, whose status is equivalent to subspecies. Con- and heterospecific tests were analyzed by video-typing. Analyses of conspecific tests of *D. virilis* and *D. lummei* revealed no differences in the duration of courtship elements and their latencies. Conversely, a comparison of heterospecific tests ♀ *D. virilis* + ♂ *D. lummei* and ♀ *D. lummei* + ♂ *D. virilis* showed a strong decrease in the duration of all main courtship elements (touching, licking, and singing), as well as a significant decrease in the percentage of copulation. Comparisons of the con- and heterospecific tests of the northern and southern races of *D. littoralis* revealed some differences in courtship structure. However, we did not find any obstacles for a successful mating in the heterospecific tests of the northern and southern races of *D. littoralis*. By contrast, large differences in the structure of the courtship ritual in heterospecific reciprocal tests of *D. littoralis* + *D. virilis* and *D. littoralis* + *D. lummei* were found. The males of the *D. virilis* phylad lost their interest to *D. littoralis* females immediately after the beginning of touching. On the contrary, *D. littoralis* males demonstrated a complete courtship towards both *D. lummei* and *D. virilis* females. At the same time, all heterospecific tests of *D. lummei* + *D. littoralis* and *D. virilis* + *D. littoralis* were characterized by the lowest percent of copulation.

**Keywords:** *Drosophila*, courtship behavior, reproductive isolation, video-typing