

ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ АЛЕКСЕЯ ИВАНОВИЧА КУРЕНЦОВА
A.I.Kurentsov's Annual Memorial Meetings

1998

вып. VIII

УДК 595.781

**ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ
МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ ХВОСТОНОСЦА МААКА
(*ACHILLIDES MAACKII*), ХВОСТОНОСЦА КСУТА
(*SINOPRINCEPS XUTHUS*) И МАХАОНА (*PAPILIO
MACHAON*) (LEPIDOPTERA, PAPILIONIDAE)**

Е. В. Захаров

Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток

С целью получения межвидовых гибридов проведено несколько реципрокных скрещиваний представителей сем. Papilionidae. Полученные результаты экспериментальной межвидовой гибридизации использованы для определения индексов биологической несовместимости с целью сравнения их с данными зарубежных авторов. Сравнение показало, что полученные нами результаты межвидовой гибридизации коррелируют с данными молекулярных и цитогенетических исследований и в ряде случаев могут свидетельствовать о родственных связях изучаемых видов.

В семействе Papilionidae взаимосвязи между различными видами широко изучены на основе традиционных таксономических признаков. В последнее время при использовании метода ручного спаривания (Clarke, 1952) стали возможными генетические и эволюционные исследования. Наиболее интенсивно в этом направлении велась работа по межвидовой гибридизации представителей рода *Papilio* (Clarke & Knudsen, 1953; Clarke & Sheppard, 1955, 1956a, 1956b, 1962, 1964; Ae, 1960, 1961, 1962, 1963, 1979, 1988, 1990, 1995; Remington, 1960; Tyler

et al., 1994). В результате многолетних исследований различных аспектов межвидовой гибридизации хвостоносцев собраны обширные сведения о получении межвидовых гибридов в лабораторных условиях. Результаты этих работ в совокупности с данными современных генетических исследований могут дать более четкую картину филогенетических связей видов семейства Papilionidae.

Многочисленные сведения об успешной экспериментальной гибридизации папилионид свидетельствуют об относительно низком уровне постзиготической репродуктивной изоляции у видов данного семейства. Отмеченные случаи нахождения межвидовых гибридов в природе (Tyler et al., 1994) демонстрируют также недостаточную эффективность и презиготических репродуктивных барьеров. Между тем, возникновение репродуктивной изоляции и последующая независимая эволюция изолированных в репродуктивном плане популяций считаются начальным этапом видообразования. Если ареалы таких популяций впоследствии вновь сливаются, и если репродуктивная изоляция сохраняется благодаря развитию какого-либо другого изолирующего механизма, например генетической несовместимости, процесс разделения двух видов считается законченным (Солбриг, Солбриг, 1982).

Результаты межвидовой гибридизации, как показателя репродуктивной изоляции, могут быть использованы для выяснения родственных связей видов и изучения деталей процесса видообразования. Для оценки результатов межвидовых скрещиваний обычно используются критерии, определяющие различные изолирующие механизмы. К этим критериям относят такие параметры, как легкость спаривания ручным (мануальным) методом, успешная передача сперматофора самке самцом, оплодотворенность яиц, завершение эмбрионального развития, процент благополучно вышедших из яиц личинок, количество окуклившихся гусениц, жизнеспособность и процент соотношения полов у гибридов F₁, фертильность гибридов в F₂ или возвратных скрещиваниях, интенсивность гибридизации в природных условиях. Все эти параметры используются для оценки родства скрещиваемых видов в общем индексе биологической несовместимости (*Global index of biological incompatibility*) (Tyler et al., 1994). В результате обобщения результатов более чем 600 различных скрещиваний, проведенных в течение последних десятилетий, S. Ae (1979, 1995) в качестве показателя биологической несовместимости видов предложил использовать более простой индекс (*Differentiation Index or Index of Biological*

Incompatibility), также основанный на результатах межвидовой гибридизации.

Индекс биологической несовместимости (I_{Ae}) рассчитывается по формуле:

$$I_{Ae} = 100 - 1/3 (c + e + f),$$

где c - % гусениц, вышедших из яйца; e - показатель, характеризующий гибридов F_1 по соотношению полов; f - фертильность гибридов F_1 .

Этот индекс не учитывает ряд показателей, включаемых в общий индекс биологической несовместимости, поскольку их интерпретация может быть неоднозначной. Так, если особи разных видов с трудом поддаются ручному спариванию, это можно рассматривать и как результат механической изоляции между этими видами, и как следствие неопытности экспериментатора.

Применение в качестве критерия эффективности межвидового скрещивания такого показателя, как оплодотворенность яиц, не учитывает смертность на стадии эмбрионального развития. Полностью сформированная гусеница гибридного происхождения может погибнуть даже в момент выхода из хориона, если она не сможет прогрызть оболочку яйца, отложенного самкой родительского вида.

Как показывают результаты наших наблюдений и данные из литературных источников, в лабораторных условиях наблюдается смертность как в чистых линиях родительских видов, так и при развитии гибридов. В большинстве случаев трудно определить, являлись ли причиной гибели болезни, вызванные патогенными организмами, либо это результат генетической несовместимости родительских генотипов. Но, поскольку в большинстве случаев смертность в гибридных линиях заметно выше, целесообразно применение категории «последняя стадия онтогенеза».

В данном докладе обсуждаются собственные результаты экспериментальной гибридизации некоторых папилионид в сравнении с данными, полученными другими авторами. Работа велась с целью получения гибридов для сравнительного изучения их морфологии и особенностей развития в лабораторных условиях, а также для оценки результатов экспериментальной межвидовой гибридизации изучаемых видов. В связи с этим решались задачи по получению лабораторных культур родительских видов, проведение скрещиваний с целью получения гибридов F_1 , дорастивание до имагинальной стадии полученного потомства. В период наблюдений регистрировалась как морфология, так и данные по смертности и выживаемости на всех стадиях развития, а также фиксировались сроки развития.

В основу данной работы легли результаты наблюдений, проведенных в период с 1993 по 1996 гг. В ходе исследований применялись общепринятые энтомологические методики. Для получения потомства бабочки спаривались ручным методом (Clarke, 1952; Clarke & Sheppard, 1956). Лабораторные культуры хвостоносцев содержались на основании общих положений о выращивании и разведении чешуекрылых (Breeding..., 1986; Tyler et al., 1994) при комнатной температуре и естественном освещении.

Результаты и обсуждение

Результаты экспериментальной гибридизации хвостоносца Маака, хвостоносца ксута и махаона в целом совпадают с данными, полученными другими авторами (Ае, 1962, 1979; Clarke, Sheppard, 1962). Внешний облик полученного нами гибрида *S. xuthus* ♀ × *A. maackii maackii* ♂ совпадает с таковым гибрида *S. xuthus* ♀ × *A. maackii tutanus* ♂ (Ае, 1979), а окраска гибрида *P. machaon* ♀ × *A. maackii maackii* ♂ совпадает с окраской гибрида *P. machaon gorganus* ♀ × *A. maackii tutanus* (Clarke, Sheppard, 1962).

Проведенная нами серия реципрокных скрещиваний показала, что конечный результат гибридизации сильно зависит от половой принадлежности родительских видов (табл. 1). Так, в наших экспериментах наблюдалось эмбриональное развитие всех гибридов, хотя до имагинальной стадии удалось довести только некоторые гибридные линии. При скрещивании *P. machaon* ♀ × *S. xuthus* ♂ развитие остановилось на ранних стадиях эмбриогенеза. В результате скрещивания *A. maackii* ♀ × *S. xuthus* ♂ большая часть отложенных яиц завершили эмбриональное развитие, однако почти все гусеницы погибли, не выходя из яиц. Скрещивание *S. xuthus* ♀ × *P. machaon* ♂ позволило получить 9 гусениц, прекративших развитие на личиночной стадии. Взрослые гибридные особи были получены только при скрещивании *S. xuthus* ♀ × *A. maackii* ♂ и *P. machaon* ♀ × *A. maackii* ♂.

Все гибриды F₁ оказались самцами. Это легко объясняется широко известным правилом Холдейна, согласно которому нарушения в распределении полов у межвидовых гибридов обычно проявляются в отношении гетерогаметного пола, каковыми у бабочек являются самки. Наличие значительных отклонений от нормального (1:1) соотношения полов у гибридов F₁ свидетельствует, как правило, о слабых родственных связях родительских видов.

Другим важным аспектом межвидовой гибридизации является кормовая специализация гусениц родительских видов и их гибридов. В лабораторных условиях гусеницы *A. maackii* прекрасно развиваются

Таблица 1

Результаты экспериментальной гибридизации

Скрещиваемые виды	Количество скрещиваний	Отложено яиц, шт.	Отродилось гусениц, %	Последняя стадия онтогенеза*	Получено имаго		Соотношение полов**	Фертильность гибридов F ₁ ***
					♂	♀		
<i>S. xuthus</i> ♀ × <i>A. maackii</i> ♂	7	96	82.29	<i>И</i>	6	0	25	25
<i>A. maackii</i> ♀ × <i>S. xuthus</i> ♂	2	153	1.96	<i>К</i>	2***	0	25	25
<i>S. xuthus</i> ♀ × <i>P. machaon</i> ♂	1	45	20.00	<i>III</i>	0	0	0	0
<i>P. machaon</i> ♀ × <i>S. xuthus</i> ♂	2	159	0.00	<i>Я</i>	0	0	0	0
<i>P. machaon</i> ♀ × <i>A. maackii</i> ♂	4	245	12.24	<i>И</i>	1	0	25	25
<i>A. maackii</i> ♀ × <i>P. machaon</i> ♂	2	48	12.50	<i>IV</i>	0	0	0	0

Примечание. * - *И* - имаго; *К* - куколка, *Я* - оплодотворенное яйцо, *III* - III возраст, *IV* - IV возраст (Ае, 1979); ** - нет имаго F₁ - 0; в F₁ только самцы мелких размеров - 25, (Ае, 1979); *** - гибриды F₁ обоих полов стерильны - 0, гибриды F₁ одного или обоих полов имеют пониженную фертильность - 25, у гибридов F₁ один пол с нормальной, а другой с пониженной фертильностью - 75, гибриды F₁ обоих полов с нормальной фертильностью - 100, нет данных - 25 (Ае, 1979); **** - два полностью сформированных самца извлечены из куколки.

на естественном кормовом растении - бархате амурском (*Phellodendron amurense*), а гусеницы *P. machaon* охотно поедают различные зонтичные. Кроме бархата, в качестве кормового растения для гусениц *S. xuthus* успешно применялись ясенец, мандарин и лимон. В литературе упоминаются также сведения о нахождении гусениц этих видов в природе на различных представителях рода *Citrus* (Ае, 1995). Гусеницы гибрида *P. machaon* ♀ × *A. maackii* ♂ охотно поедали кормовые

растения как хвостonosца Маака - бархат амурский, так и махаона - укроп и петрушку. Развитие гусениц гибрида *S. xuthus* × *A. maackii* протекало на бархате амурском. Гусеницы обоих гибридов неохотно поедали ясенец (*Dictamnus dasycarpus*) и отказывались питаться листьями предложенных цитрусовых.

В период развития гибридных особей нами отмечен также ряд физиологических нарушений, связанных с регуляцией линек, деятельностью слюнных желез и диапаузой. В ряде случаев гусеницы гибридов линяли 5 раз и погибали либо непосредственно во время дополнительной линьки, либо перед окукливанием. Также отмечено, что во всех случаях окукливающиеся гусеницы не смогли надежно закрепиться на высланной подушке пояском, и куколки, удерживаемые крючками кремастера, повисали «вниз головой». При развитии «весенней генерации» гибридов, отрождение имаго из куколок, сохраняемых при комнатной температуре, наблюдалось во второй половине октября. Куколки, помещенные на зимовку в условия пониженной температуры, погибли. Все это свидетельствует о значительных нарушениях в регуляции процессов обмена, что, по-видимому, является следствием неадаптивности геномов родительских видов.

Тем не менее, получение жизнеспособных гибридов F_1 в наших экспериментах подтверждает отсутствие полной постзиготической репродуктивной изоляции у скрещиваемых видов, а отсутствие сведений об их природной гибридизации говорит о значительной барьерной роли презиготических изолирующих механизмов этологического или экологического характера.

Для оценки данных межвидовой гибридизации использовался индекс биологической несовместимости, рассчитанный на основе количественных результатов экспериментальных скрещиваний хвостonosца Маака, хвостonosца ксута и махаона. Для сравнения, в таблице 2 представлены как данные собственных экспериментов, так и результаты, полученные другими авторами.

В целом полученные нами значения индекса I_{De} для скрещиваемых видов совпадают с результатами, опубликованными в литературе, и свидетельствуют о значительной удаленности видов в плане их биологической совместимости, а незначительные отличия могут быть объяснены тем, что эксперименты проводились с представителями разных подвидов.

Работы последних лет по гибридизации различных животных показали, что результаты подобных скрещиваний не всегда согласуются с данными генетических исследований. В связи с этим использование

только индекса биологической несовместимости для изучения филогенетических связей видов в большинстве случаев может быть недостаточным. Поэтому также необходимо учитывать данные комплексных исследований, основанных как на результатах морфологических, так и молекулярных и цитологических исследований.

Таблица 2

Индексы биологической несовместимости исследованных видов Papilionidae

Скрещиваемые виды	Количество скрещиваний	Отложено яиц, шт.	Отродилось гусениц, %	Последняя стадия	Получено имаго		Соотношение полов	Фертильность гибридов F ₁	I _{де}	Источник
					♂	♀				
<i>A. maackii maackii</i> × <i>S. xuthus</i>	9	249	33	И	6	0	25	25	72	ориг. данные
<i>A. maackii tutanus</i> × <i>S. xuthus</i>	5	88	31	И	6	0	25	0	81	Ае (1979)
<i>P. machaon amurensis</i> × <i>S. xuthus</i>	3	204	4	III	0	0	0	0	98	ориг. данные
<i>P. machaon hippocrates</i> × <i>S. xuthus</i>	11	534	58	И	29	0	25	0	72	Ае (1979)
<i>A. maackii mackii</i> × <i>P. machaon amurensis</i>	6	293	12	И	1	0	25	25	79	ориг. данные
<i>P. machaon hippocrates</i> × <i>A. maackii tutanus</i>	5	293	68	И	13	0	25	0	69	Ае (1979)
<i>P. memnon</i> × <i>P. polymnestor</i>	8	193	78	И	21	20	100	75	16	Ае (1979)
<i>P. machaon hippocrates</i> × <i>P. polyxenes asterias</i>	6	321	90	И	41	24	75	75	20	Ае (1979)
<i>P. machaon hippocrates</i> × <i>A. bianor dehaanii</i>	2	124	2	V	0	0	0	0	99	Ае (1979)

Проведенный японскими исследователями цитогенетический анализ межвидовых гибридов *S. xuthus*, *A. maackii tutanus* и *P. machaon hippocrates* также показал, что в филогенетическом плане данные виды не являются близкородственными (Maeki, Ae, 1978).

Количество, размеры и форма хромосом большинства папилионид не позволяют ограничиваться цитогенетическим анализом. Поэтому при изучении группы *Papilio machaon* учеными из США был проведен анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов митохондриальной ДНК. Расчет генетических дистанций на основе результатов рестрикционного анализа м-ДНК показал, что ксут в значительной степени удален от большей части видов группы *Papilio machaon* (Sperling, Harrison, 1994). К сожалению, в известной нам литературе не упоминается о подобных исследованиях с хвостonosцем Маака.

Результаты межвидовых скрещиваний папилионид, проведенных нами и другими авторами, в значительной степени коррелируют с данными генетических исследований. Принимая во внимание полученные нами результаты межвидовой гибридизации, выполненного в Японии цитогенетического анализа гибридов и проведенного в США рестрикционного анализа м-ДНК, можно считать, что существуют основания для принятого П.Ю. Горбуновым и Ю.П. Коршуновым (1995) выделения всех трех видов в разные роды. Однако более уверенно судить о систематическом положении данных видов можно лишь принимая во внимание сведения, накопленные в ходе классических исследований и учитывая результаты тщательного молекулярного и цитогенетического анализа их геномов.

ЛИТЕРАТУРА

Коршунов Ю. П., Горбунов П. Ю. Дневные бабочки Азиатской части России. Справочник. Екатеринбург: Изд-во Уральского государственного университета, 1995. 202 с.

Солбриг О., Солбриг Д. Популяционная биология и эволюция. М.: Мир, 1982. 488 с.

Ae S. A. A study of hybrids between *Papilio xuthus* and the *P. polyxenes-machaon* group // J. Lep. Soc. 1960. Vol. 14. P. 5-18.

Ae S. A. A study of interspecific hybrids in Black Swallowtails in Japan // J. Lep. Soc. 1961. Vol. 15. P. 175-190.

Ae S. A. The hybrids between *Papilio hippocrates* female and *P. maackii* and other *Papilio* males in Japan // Entomologist. 1962. Vol. 95. P. 277-284.

Ae S. A. A further study of interspecific hybrids in Black Swallowtails in Japan // J. Lep. Soc. 1963. Vol. 17. P. 163-169.

- Ae S. A.* The phylogeny of some *Papilio* species based on interspecific hybridization data // Syst. Ent. 1979. Vol. 4. P. 1-16.
- Ae S. A.* A study of species and speciation based on hybridization, mainly in *Papilio* // Spec. Bull. Lep. Soc. Japan. 1988. Vol. 6. P. 475-498.
- Ae S. A.* A study of the *Papilio bianor* Group mainly based on Hybridization (Lepidoptera, Papilionidae) // Tyô to Ga. 1990. Vol. 41. 1. P. 13-19.
- Ae S. A.* Ecological and evolutionary aspects of hybridization in some *Papilio* butterflies // Swallowtail Ecology and Evolution. 1995. P. 229-235.
- Clarke C. A.* Hand-pairing of *Papilio machaon* in February // Ent. Rec. & Journ. Var. 1952. Vol. 64. P. 98-100.
- Clarke C. A., Knudsen J. P.* A hybrid Swallowtail // Ent. Rec. & Journ. Var. 1953. Vol. 65. P. 76-80.
- Clarke C. A., Sheppard P. M.* The breeding in captivity of the hybrid *Papilio rutulus* female × *Papilio glaucus* male // The Lepidopterists' News. 1955. Vol. 9. P. 46-48.
- Clarke C. A., Sheppard P. M.* A further report on the genetics of the machaon group of swallowtail butterflies // Evolution. 1956a. Vol. 10. P. 66-73.
- Clarke C. A., Sheppard P. M.* Hand-pairing of butterflies // Lepid. News. 1956b. Vol. 10. P. 47-53.
- Clarke C. A., Sheppard P. M.* The hybrids between *Papilio machaon* L. female and *Papilio maackii* male and between *Papilio polyxenes asterias* Fabr. female and *Papilio maackii* Men. male (Lepidoptera, Nymphalidae) // Entomologist. 1962. Vol. 95. P. 269-271.
- Clarke C. A., Sheppard P. M.* The hybrids between *Papilio polyxenes asterias* Fabr. female and *Papilio maackii* Men. male (Lepidoptera, Nymphalidae) // Entomologist. 1964. Vol. 97. P. 131-133.
- Breeding butterflies and moths - a practical handbook for British and European Species. B. H. & A. Harley Ltd., 1986. 176 p.
- Maeki K., Ae S. A.* Chromosomal Studies on Interspecific Hybrids of Butterflies (Papilionidae, Lepidoptera). XI. Crosses among *P. machaon hippocrates*, *P. maackii*, *Papilio xuthus*, and *P. polytes* // Proc. Japan Acad. 1978. Vol. 54. Ser. B. 7. P. 347-352.
- Munroe E.* The classification of the Papilionidae (Lepidoptera) // Can. Ent. Suppl. 1960. Vol. 17. P. 1-57.
- Remington C. L.* Wide experimental crosses between *Papilio xuthus* and other species // J. Lep. Soc. 1960. Vol. 13. P. 151-164.
- Sperling F. A. H., Harrison R. G.* Mitochondrial DNA Variation within and between species of the *Papilio machaon* group of swallowtail butterflies // Evolution. 1994. Vol. 48. 2. P. 408-422.
- Tyler H., Brown Jr. K. S., Wilson K.* Swallowtail Butterflies of the Americas. A study in Biological Dynamics, Ecological Diversity, Biosystematics. Gainesville: Scientific Publishers Inc., 1994. 376 p.

**ECOLOGICAL AND EVOLUTIONARY ASPECTS OF
INTERSPECIFIC HYBRIDIZATION IN JAPANESE BLACK
(*ACHILLIDES MAACKII*), CHINESE YELLOW
(*SINOPRINCEPS XUTHUS*) AND OLD WORLD
(*PAPILIO MACHAON*) SWALLOWTAILS
(LEPIDOPTERA, PAPILIONIDAE)**

E. V. Zakharov

Institute of Biology and Pedology, Far East Branch, Russian Academy of
Sciences, Vladivostok, 690022, Russia

Summary

A number of reciprocal crosses of swallowtail butterflies was carried on with the aim to obtain the interspecific hybrids. The results of experimental interspecific hybridization received were used for determining the Indexes of biological incompatibility with the purpose to compare them with data of the foreign authors. Comparison has shown that our results of interspecific hybridization correlate with the data of current molecular and cytogenetic researches and in some cases can testify to family ties of the species under study.