

## О ВОЗМОЖНОСТИ СПОНТАННОЙ МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ В ПРИРОДЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СИБЛИНГ-ВИДОВ *CHIRONOMUS RIPARIUS* KIEFFER И *CHIRONOMUS PIGER* STENZKE ИЗ АРМЕНИИ (DIPTERA, CHIRONOMIDAE)

© Н. А. Петрова,<sup>1</sup> С. В. Жиров,<sup>1</sup> К. В. Арутюнова,<sup>2</sup> М. В. Арутюнова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург,  
и <sup>2</sup> Институт молекулярной биологии НАН Армении, Ереван;  
электронный адрес: <sup>1</sup> chironom@zin.ru, <sup>2</sup> harutyunovamaria@yahoo.com

В смешанном сообществе *Chironomus riparius* и *Ch. piger* обнаружен гибрид 2-го поколения (*C. riparius* × *C. piger*) × *C. piger*. Рассматривается механизм его возникновения и вопрос о жизнеспособности этого гибрида.

Ключевые слова: Chironomidae, *Chironomus riparius*, *Chironomus piger*, гибрид 2-го поколения.

В эпоху молекулярных технологий генетический критерий вида не утратил своего значения. Возможность скрещивания и образование фертильного потомства — весомый аргумент, чтобы принимать решения о выделении новых видов в пределах рода. С началом применения цитогенетического метода в семействе хирономид (Diptera, Chironomidae) было обнаружено значительное число кариотипических рас (Белянина и др., 1983; Ryser et al., 1983). Присвоение статуса нового вида этим кариотипическим расам еще более упростилось, когда появились дополнительные сведения о невозможности их скрещивания с последующим образованием гибридов 2-го и 3-го поколений. Тем не менее известны случаи, когда в природных популяциях хирономид встречались единичные межвидовые гибридные особи: *Chironomus thummi thummi* × *C. th. piger* (Keyl, Strenzke, 1956; Miehlsbradi, Neumann, 1976; Michailova, Petrova, 2004), *C. plumosus* × *C. nuditaris* (Fischer, Rosin, 1967), *C. duplex* × *C. occidentalis* (Martin et al., 1980), *C. plumosus* × *C. muratensis* и *C. muratensis* × *C. nudiventris* (Ryser et al., 1983), *C. plumosus* и *C. behningi* (Полуконова, Белянина, 2002), *C. plumosus* × *C. annularius* (Michailova, Petrova, 2004), *Glyptotendipes salinus* × *G. barbipes* (Michailova, Nikolov, 1992), *G. pallens* × *G. glaucus* (Michailova, Contreras-Lichtenberg, 1995). Кроме того, в нескольких лабораторных экспериментах были получены гибриды в пределах рода *Chironomus* (Fischer, Rosin, 1967; Hagele, 1984; Кикнадзе и др., 1987; Гольгина и др., 1997). Но, как правило, дальше гибрида 2-го поколения скрещивание не заходило вследствие гибридного дисгенеза (Гольгина, 1999).

Тенденция образовывать межвидовые гибриды в семействе *Chironomidae* характерна для загрязненных, стоячих и медленно текущих водоемов, но все-таки такие гибриды — достаточно редкое событие. Наше внимание привлек гибрид 2-го поколения между видами (*C. riparius* × *C. piger*) × *C. piger*, обитавший в одном из водоемов Армении вместе с родительскими линиями. В настоящей

работе рассматриваются механизм возникновения этого гибрида и возможность наследования этой гибридной комбинации.

### Материал и методика

Личинки *C. riparius* и *C. piger* были собраны в период с 2003 по 2010 г. из нескольких географических точек на территории Армении. Личинки *C. riparius* были обнаружены в селах Артаваз (29 личинок), Ддмашен (3 личинки), Лусагюх (1 личинка), Даракерт (2 личинки) и Ранчпар (13 личинок). Личинки *C. piger* были собраны в водоемах близ сел Ддмашен (5), Даракерт (9), Бжни (32) и Ранчпар (64). Три местообитания оказались совместными, но только в сборах из с. Ранчпар, в которых больше всего изучено личинок родительских линий (77 особей), был обнаружен гибрид 2-го поколения.

Материал фиксировали на месте сбора жидкостью Кларка (1 часть ледяной уксусной кислоты и 3 части 96%-ного этилового спирта). Фиксатор дважды меняли с временным интервалом 1 ч. Материал хранили в холодильнике при 4 °С. Из фиксированного материала готовили давленные препараты политенных хромосом слюнных желез по стандартной методике с окраской ацетоорсеином (Чубарева, Петрова, 1982).

### Результаты и обсуждение

В сборах из с. Ранчпар была обнаружена единственная гибридная особь второго поколения (*C. riparius* × *C. piger*) × *C. piger*, несущая в кариотипе гибридную хромосому EF. На цитофотокарте (рис. 1) представлены четыре гомозиготные хромосомы (AB, CD, EF и G) стандартного кариотипа *C. piger* (рис. 1, a—в, д), гомологи которых плотно конъюгируют друг с другом, и гибридная

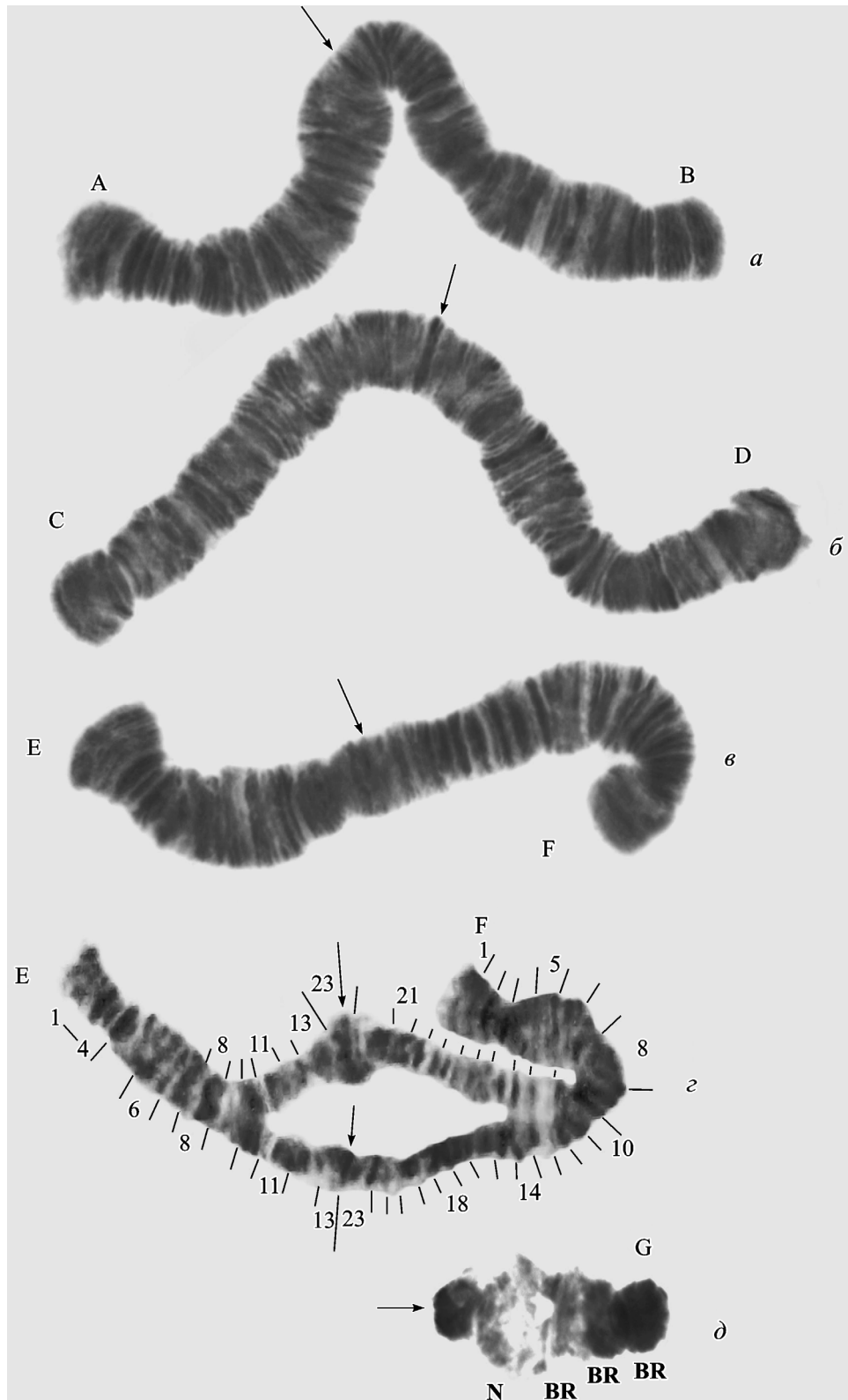


Рис. 1. Политенные хромосомы *Chironomus piger* и *C. riparius*.

*a–в, д* — стандартный кариотип *C. piger*; *г* — гибридная хромосома *C. piger* × *C. riparius*.

хромосома EF, в которой отсутствует конъюгация между гомологами (*riparius* × *piger*) на довольно значительном участке, включая центромерную область (рис. 1, *г*). Известно, что сиблинг-виды *C. riparius* и *C. piger* гомосеквентны, их кариотипы различаются только содержанием

прицентромерного гетерохроматина (Keyl, Strenzke, 1956). На рис. 1 можно видеть, что один гомолог с крупными прицентромерными дисками и большим размером гетерохроматина принадлежит *C. riparius*, второй — *C. piger* (рис. 1, *г*). Широко распространено предположение

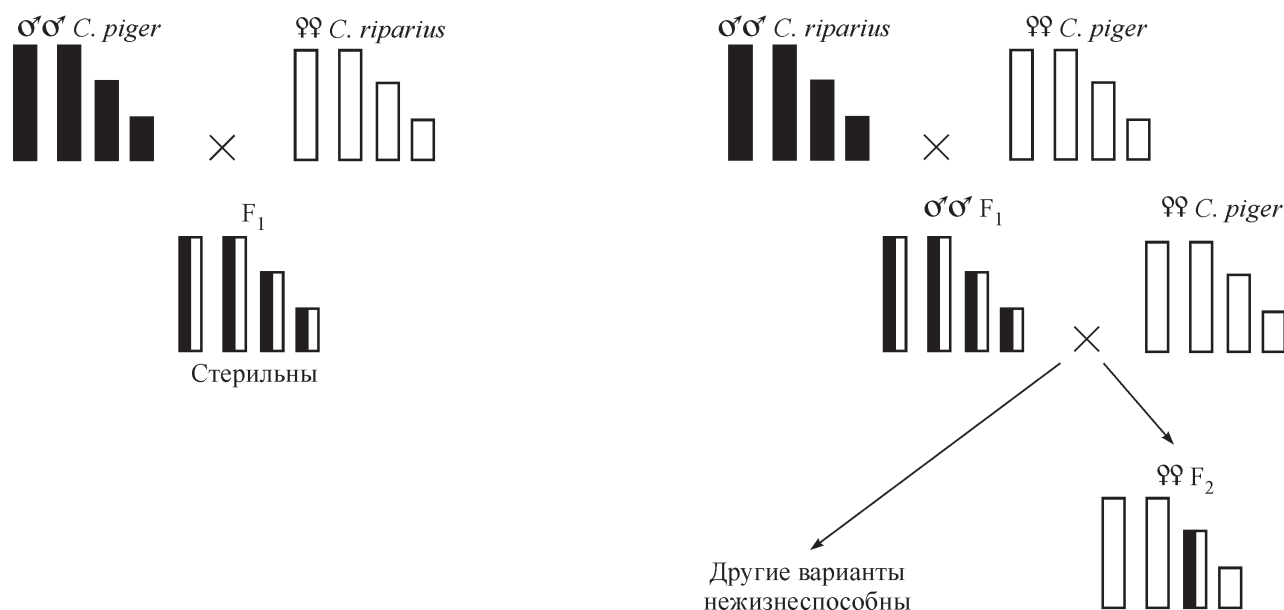


Рис. 2. Схема реципрокных межвидовых скрещиваний *C. riparius* × *C. piger* и образование гибрида 2-го поколения в результате возвратного скрещивания.

о том, что наличие асинапсиса может быть вызвано накоплением различающихся генов, которые блокируют процесс конъюгации, но это не отражается на рисунке дисковых последовательностей. Таким образом, в гибридном кариотипе из 8 гомологов 7 принадлежали кариотипу *C. piger*, а 1 гомолог — кариотипу *C. riparius*.

Подобный кариотип мог сформироваться в результате случайного скрещивания особей двух видов в местах массового роения (с. Ранчпар), при котором образовались гибриды 1-го поколения. В их кариотипах можно было бы наблюдать асинапсис всех четырех хромосом, как это описано в лабораторной культуре (Hagele, 1984). Такие гибриды нам не попадались, видимо из-за низкой адаптивной ценности генной комбинации и, следовательно, высокой смертности на ранних стадиях развития.

Далее приведен вероятный механизм образования гибрида 2-го поколения. Единичные гибриды 1-го поколения достигли половой зрелости. Согласно более ранним исследованиям (Hagele, 1984), в результате подобных скрещиваний жизнеспособными являются только самки. Одна из гибридных самок в армянской популяции после скрещивания с самцом *C. piger* дала гибридное потомство 2-го поколения, при этом материнская гамета несла только одну хроматиду от *C. riparius*, а именно хроматиду III хромосомы, остальные хромосомы принадлежали геному *C. piger* (рис. 2). Можно отметить, что гибрид 2-го поколения в естественных условиях встречался и в роде *Glyptotendipes* (Дурнова, 1992). При этом происходила элиминация больших хромосом одного вида, а гибридной оставалась только короткая, IV, хромосома. Вероятно, в нашем случае гаметы *C. riparius*, несбалансированные с цитоплазмой яйцеклеток *C. piger*, оказались нежизнеспособными или дали начало особям, рано элиминировавшим из популяции.

В армянской популяции личинки *C. piger* и *C. riparius* генетически и морфологически очень сходны между собой, большей частью занимают одну экологическую нишу (Кикнадзе и др., 1991; Петрова и др., 2011), являются массовыми в хирономидных сообществах. Политенные хромосомы этих видов ( $2n = 8$ , сочетание плеч —

AB, CD, EF и G) имеют четкую дисковую структуру, являются гомосеквентными, и хорошо дифференцируются цитогенетически. Наблюдаются видимые различия, обусловленные у *C. riparius* накоплением прицентромерного гетерохроматина и увеличением размеров дисков по сравнению с хромосомами *C. piger* в результате амплификации. Известно, что в этих участках содержится конститутивный гетерохроматин (Keyl, 1965; Michailova et al., 1997). Напротив, у *C. piger* конститутивный гетерохроматин локализован только в центромерных областях. Кроме того, оба вида различаются по локализации повторяющейся ДНК и транспозонных элементов (Кикнадзе и др., 1987; Bovero et al., 2002). Эта ДНК начинает работать сразу после спаривания как изолирующий механизм, снижающий жизнеспособность гибридов (Michailova, Petrova, 2004).

Образование жизнеспособных гибридов 2-го поколения может свидетельствовать о том, что *C. riparius* и *C. piger* в ходе эволюции еще не превратились в «хорошие», дарвиновские, виды. С точки зрения некоторых специалистов (Keyl, Strenzke, 1956; Miehlsbradi, Neumann, 1976; Кикнадзе и др., 1987), эти виды занимают промежуточное положение между видами и подвидами. С этим предположением согласны и отечественные специалисты на основе исследования изменчивости гомологичных локусов, кодирующих ряд ферментов у *C. th. thummi* и *C. th. piger* (Гундерина и др., 1986). Другие исследователи считают *C. piger* и *C. riparius* настоящими, «дарвиновскими», видами (Lindeberg, Wiederholm, 1979; Michailova, 1989; Michailova et al., 2012). Аргументами в пользу этого предположения являются различия в количестве, проявлении и локализации конститутивного гетерохроматина, в числе и локализации мини-сателлитных кластеров Alu и Hinf (Bovero et al., 2002), а также отсутствие массовых фертильных гибридов, элиминация одного из хромосомных наборов и стерильность потомства в скрещиваниях самцов *C. piger* и самок *C. riparius*. Дивергентная эволюция этих видов, возможно, близка к завершению. Авторы статьи придерживаются этой же точки зрения.

Образование массовых гибридов в загрязнённых водоёмах Болгарии и России (Саратовская обл.) может свидетельствовать о неполной видовой дифференциации между родительскими линиями, как это, например, происходит в роде *Glyptotendipes* (Дурнова, 1992). Примечательно, что гибриды 1-го поколения у *Glyptotendipes* вполне жизнеспособны и составляют значительную долю особей в сообществе видов — от 75 до 100 %. Такие линии, скорее, заслуживают подвидового статуса. Они устойчиво развиваются, и нет заметного отбора, направленного против гибридных особей. В отличие от видов *Glyptotendipes* (Дурнова, 1992) подобные процессы в роде *Chironomus* у видов *C. riparius* и *C. piger* не могут привести к видообразованию.

Таким образом, можно сделать следующие выводы. 1. В сообществах хирономид из Армении имеет место случайное скрещивание между видами *C. riparius* и *C. piger*. 2. Гибриды 1-го поколения от скрещивания *C. riparius* и *C. piger* способны давать потомство в возвратных скрещиваниях с родительскими линиями. 3. Гибриды 2-го поколения как в естественных условиях, так и в лабораторных линиях возникают при скрещивании самцов *C. riparius* и самок *C. piger*. Реципрокные скрещивания, вероятно, приводят к стерильности потомства. 4. При образовании гибридных особей (*C. riparius* × *C. piger*) × *C. piger* гомологичные хромосомы самцов *C. riparius* элиминируют, замещаясь хромосомами самок *C. piger*. Исключение составляют гомологи III хромосомы, комплекс генов которой, видимо, наиболее сходен у обоих видов.

Авторы выражают благодарность Н. В. Хабазовой за помощь в оформлении рукописи.

Работа выполнена при финансовой поддержке фонда МНЦТ (Международный научно-технический центр, проект А-1662), а также программы фундаментальных исследований президиума РАН «Динамика и сохранение генофондов» и программы президиума РАН «Происхождение биосферы и эволюция геобиологических систем».

### Список литературы

- Белянина С. И., Максимова Ф. Л., Бухтеева Н. М., Ильинская Н. Б., Петрова Н. А., Чубарева Л. А. 1983. Кариотип. Мотыль *Chironomus plumosus* L. (Diptera, Chironomidae). В кн.: Систематика, морфология, экология, продукция. М.: Наука. 61—95. (Belyanina S. I., Maksimova F. L., Bukhteeva N. M., Ilinskaya N. B., Petrova N. A., Chubareva L. A. 1983. Karyotype. *Chironomus plumosus* L. (Diptera, Chironomidae). In: Systematics, morphology, ecology, production. M.: Nauka. 61—95.)
- Голыгина В. В. 1999. Дивергенция кариотипов голарктических видов *Chironomus* группы *plumosus* в Палеарктике иNearктике (Diptera, Chironomidae); Автореф. канд. дис. Новосибирск: Ин-т цитологии и генетики СО АН СССР. 20 с. (Golygina V. V. 1999. Divergence of karyotypes of Holarctic species *Chironomus* of *plumosus* group in Palaearctic and Nearctic (Diptera, Chironomidae). PhD Thesis. Novosibirsk: Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of Academy of Sciences of the USSR. 20 p.)
- Голыгина В. В., Истомина А. Г., Кикнадзе И. И. 1997. Межвидовые гибриды видов группы *plumosus* (Diptera, Chironomidae) в природной популяции. В кн.: Место и роль двукрылых насекомых в экосистемах. СПб.: ЗИН РАН. 38—39. (Golygina V. V., Istomina A. G., Kiknadze I. I. 1997. Interspecific hybrids in *plumosus* group (Diptera, Chironomidae) in natural population. In: Place and role of dipterous insects in ecosystems. SPb.: Zool. Institute of RAS. 38—39.)
- Гундерина Л. И., Филиппова М. А., Кикнадзе И. И., Глазко В. И. 1986. Генетическая изменчивость и генетическая дифференциация у хирономид в процессе видообразования. В кн.: Эволюция, видообразование и систематика хирономид. Новосибирск. 75—91. (Gunderina L. I., Filippova M. A., Kiknadze I. I., Glazko V. I. 1986. Genetic variability and genetic differentiation at Chironomidae in the process of speciation. In: Evolution, speciation and taxonomy of chironomids. Novosibirsk. 75—91.)
- Дурнова Н. А. 1992. Хирономиды перифитона водоемов Саратовской области: экологические особенности, морфология, цитогенетика (Diptera, Chironomidae, Chironomini): Автореф. докт. дис. СПб.: ЗИН РАН. 40 с. (Durnova N. A. 1992. Chironomidae of periphyton from reservoirs of the Saratov region: ecological features, morphology, cytogenetics (Diptera, Chironomidae, Chironomini). Dr. of Science Theses. SPb.: Zool. Institute of RAS. 40 p.)
- Кикнадзе И. И., Колесников Н. Н., Панова Т. М., Гайдамакова Е. К., Блинов А. Г., Филиппова М. А. 1987. Мобильные генетические элементы генома хирономид. Сообщение I. Локализация клона pCthC1.2HR в политенных хромосомах подвидов *Chironomus thummi thummi* Kieffer, *C. th. piger* Strenzke и их гибридов. Генетика. 23 (8): 1366—1376. (Kiknadze I. I., Kolesnikov N. N., Panova T. M., Gaydamakova E. K., Blinov A. G., Filippova M. A. 1987. Transposable elements in chironomidae. Part I. Location of pCthC1.2HR site in the polytene chromosomes of closely related subspecies *Chironomus thummi thummi* Kieffer, *C. th. piger* Strenzke and their hybrids. Genetica (Russ.). 23 (8): 1366—1376.)
- Кикнадзе И. И., Шилова А. И., Керкис И. Е., Шобанов Н. А., Зеленцов Н. И., Гребенюк Л. П., Истомина А. Г., Прасолов В. А. 1991. Кариотипы и морфология личинок трибы Chironomini. Атлас. Новосибирск: Наука. 114 с. (Kiknadze I. I., Shilova A. I., Kerkis I. E., Shobanov N. A., Zelentsov N. I., Grebenyuk L. P., Istomina A. G., Prasolov V. A. 1991. Karyotypes and morphology of larvae of the tribe Chironomini. Atlas. Novosibirsk: Nauka. 114 p.)
- Петрова Н. А., Жиров С. В., Зеленцов Н. И., Качворян Э. А. 2011. К фауне хирономид (Diptera, Chironomidae) бассейна реки Раздан (Армения). Зоол. журн. 90 (4): 445—451. (Petrova N. A., Zhirov S. V., Zelentsov N. I., Kachvoryan E. A. 2011. To fauna of chironomids (Diptera, Chironomidae) of the Razdan river basin (Armenia). Zool. J. (Russ.). 90 (4): 445—451.)
- Полуконова Н. В., Белянина С. И. 2002. О возможности гибридогенеза в видообразовании комара-звонца *Chironomus usenicus* Loginova et Beljanina (Chironomidae, Diptera). Генетика. 38 (12): 1635—1640. (Polukonova N. V., Belyanina S. I. 2002. To occurrence of hybridogenesis in speciation of a non-biting midge *Chironomus usenicus* Loginova et Beljanina (Chironomidae, Diptera). Genetica (Russ.). 38 (12): 1635—1640.)
- Чубарева Л. А., Петрова Н. А. 1982. Цитогенетический метод анализа хромосом у хирономид. Методическое пособие по изучению хирономид. Душанбе: Дониш. 64—73. (Chubareva L. A., Petrova N. A. 1982. The cytogenetic technique of the analysis of chromosomes in chironomids. In: The methodical manual on chironomids studying. Dushanbe: Donish. 64—73.)
- Bovero S., Hankeln T., Michailova P., Schmidt E., Sella G. 2002. Nonrandom chromosomal distribution of spontaneous break-points and *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). Genetica (Ned.). 115: 273—281.
- Fischer J., Rosin S. 1967. Bastarde zwischen *Chironomus plumosus* L. und *Ch. nuditaris* Str. Arch. Julius Klaus-Stift. 42: 30—42.
- Hagele K. 1984. Different hybrid effects in reciprocal crosses between *Chironomus thummi thummi* and *Ch. th. piger* including spontaneous chromosome aberrations and sterility. Genetica (Ned.). 63: 105—111.
- Keyl H.-G. 1965. Duplikation von Untereinheiten der chromosomalen DNS während der Evolution von *Chironomus thummi*. Chromosoma. 17: 139—180.
- Keyl H., Strenzke K. 1956. Taxonomie und Cytologie von zwei Supspecies der Art *Chironomus thummi*. Z. Naturforsch. 116: 727—735.

Lindeberg B., Wiederholm T. 1979. Notes on the taxonomy of European species of *Chironomus* (Diptera, Chironomidae). Entomol. Scand. Suppl. 10 : 99—116.

Martin J., Kuvangkadilok C., Peart D. H., Lee B. T. O. 1980. Multiple sex determining regions in a group of related *Chironomus* species (Diptera: Chironomidae). Heredity. 44 : 367—382.

Michailova P. 1989. The polytene chromosomes and their significance to the systematic of the family Chironomidae, Diptera. Acta Zool. Fentica. 186 : 1—107.

Michailova P., Contreras-Lichtenberg R. 1995. Contribution to the knowledge of *Glyptotendipes pallens* (Meigen, 1804) and *Glyptotendipes glaucus* (Meigen, 1818). (Insecta: Diptera: Chironomidae). Ann. Naturhist. Mus. Wien. 97 : 395—410.

Michailova P., Nikolov H. 1992. DNA content in the centromere of sibling species of *Glyptotendipes barbipes* and *G. salinus* (Chironomidae, Diptera). Cytobios. 70 : 179—184.

Michailova P., Petrova N. 2004. Natural Hybridization in insects, Diptera (model group — family Chironomidae). In: Evolution and Ecology, 2004. US Bulgaria, Sofia. 9—19.

Michailova P., Ramella L., Sella G., Bovero S. 1997. C-band variation in polytene chromosomes of *C. riparius* Mg. (Diptera, Chironomidae) from a polluted Premont station (Italy). Cytobios. 90 : 139—151.

Michailova P., Sella G., Petrova N. 2012. Chironomidae (Diptera) and their salivary gland chromosomes as indicators of trace-metal genotoxicity. Ital. J. Zool. 79 : 218—230.

Miehlbradi J., Neumann D. 1976. Reproductive Isolation durch optische Schwarmmarken bei den sempatrischen *Chironomus thummi* und *Ch. piger*. Behavior. 58 : 272—297.

Ryser H., Scholl F., Wulker W. 1983. Revision der Gattung *Chironomus* meigen (Diptera) VII. *H. muratensis* n. sp. und *Ch. nudiventris* n.sp. Geschwisterrartn aus der plumosus-Gruppe. Revue Suisse Zool. 90 : 299—316.

Поступила 4 IX 2013

ON THE POSSIBILITY OF SPONTANEOUS INTERSPECIFIC HYBRIDIZATION  
IN THE NATURE OF REPRESENTATIVES OF SIBLING-SPECIES  
*CHIRONOMUS RIPARIUS* KIEFFER AND *CHIRONOMUS PIGER* STRENZKE  
(DIPTERA, CHIRONOMIDAE) FROM ARMENIA

N. A. Petrova, S. V. Zhironov, K. Harutyunova, M. Harutyunova

<sup>1</sup> Zoological Institute RAS, St. Petersburg, and <sup>2</sup> Institute of Molecular Biology, NAS of Armenia, Erevan;  
e-mail: <sup>1</sup> chironom@zin.ru, <sup>2</sup> harutyunovamaria@yahoo.com

F<sub>2</sub> hybrid (*Chironomus riparius* × *Chironomus piger*) × *C. piger* was found in mixed community of *C. riparius* and *C. piger*. Mechanism of its origin and problem of hybrid viability is considered.

Key words: Chironomidae, *Chironomus riparius*, *Chironomus piger*, second generation hybrid.