

**РЕКОНСТРУКЦИЯ ФИЛОГЕНИИ САРАНЧОВЫХ СЕМЕЙСТВА  
Acrididae (Orthoptera) НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА НУКЛЕОТИДНЫХ  
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА 16S РИБОСОМНОЙ РНК  
МИТОХОНДРИЙ**

© 2000 г. М. Л. Филипенко<sup>1</sup>, О. А. Тимофеева<sup>1</sup>, А. М. Гусаченко<sup>2</sup>,  
М. Г. Сергеев<sup>2</sup>, Л. В. Высоцкая<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Новосибирский институт биоорганической химии Сибирского отделения Российской академии наук,  
Новосибирск 630090; факс: (3832)33-36-77; e-mail: max@nibioch.nsc.ru

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет, Новосибирск 630090;  
факс: (3832) 39-75-64; e-mail: cytolog@fen.nsu.ru

Поступила в редакцию 03.06.99 г.

Определена первичная последовательность двух фрагментов (137 и 174 пн) гена 16S рибосомной РНК митохондрий 9 видов саранчовых из трех подсемейств семейства Acrididae. Для филогенетической реконструкции использовали последовательности 12 видов саранчовых и сверчка *Acheta domesticus* в качестве внешней группы (часть данных из GeneBank Data Library (NCBI)). Подсемейства Acridinae и Locustinae в филогенетических деревьях располагаются в виде компактных групп. Положение *Celes scalozubovi* (Locustinae) внутри Acridinae неожиданно, что свидетельствует о его неясной филогении. Виды Catantopinae размещаются около корня Acridinae. Бутстреп-анализ дает значительную (55–100%) поддержку почти всем ветвям филогенетических деревьев.

Семейство настоящих саранчовых Acrididae включает в себя около 1100 родов и более 7000 видов [1]. Систематика этой группы разработана сравнительно хорошо, но филогенетические отношения между подсемействами и трибами до конца не выяснены, еще менее понятны взаимоотношения многих родов и видов. Обычные признаки, используемые в систематике, допускают возможность значительных разночтений. В результате оценка положения одного и того же таксона разными авторами может быть существенно различной. Так, число подсемейств, на которые делят настоящих саранчовых, обитающих в пределах СНГ, колеблется от 2 [2, 3] до 15 [1].

Одним из возможных путей решения этой проблемы является сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей ДНК саранчовых [4–6 и др.]. Для этой цели наиболее подходит митохондриальная ДНК. Ген 16S РНК большой субъединицы рибосом митохондрий был успешно использован для выяснения родственных взаимоотношений насекомых на уровне семейств и подсемейств, а также более высоком [6–8]. К настоящему времени определены нуклеотидные последовательности фрагмента гена 16S РНК у нескольких видов саранчовых интересующего нас семейства Acrididae, что позволяет привлечь эти данные для анализа.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В филогенетическом анализе использованы нуклеотидные последовательности 12 видов саранчовых семейства Acrididae и сверчка. Согласно точке зрения Бей-Биенко и Мищенко [9], эти виды принадлежат к подсемействам Acridinae (5 видов), Locustinae (=Oedipodinae) (4 вида) и Catantopinae (3 вида). Часть последовательностей взята из GenBank Data Libraries (Access Numbers: Z93284 – Z93286, Z93293, X80245, Y07553, AF020298, AF020299). Список исследованных видов приведен в таблице.

Саранчовых отлавливали в течение летних сезонов 1993–1997 гг. в различных районах Сибири. Выделяли семенники и помещали в 96%-ный этанол, после 2-кратной смены этанола хранили при 4°C. Кроме того, использовали материал, фиксированный по стандартной методике для цитогенетических исследований в смеси 96%-ного этанола и ледяной уксусной кислоты (3 : 1) после обработки 0.9%-ным цитратом натрия и хранящийся в 70%-ном этаноле при 4°C.

ДНК выделяли методом, описанным Чапко с соавт. [10].

Для сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей митохондриального генома в области 16S рРНК использовали метод прямого секвенирования ПЦР-фрагментов. Для этого фрагмент размером 511 пн был амплифицирован с помощью праймеров 252 и 253 для 9 видов саранчовых. Дезоксирибоолигонуклеотидные прайме-

	1	11	21	31	41	51
1. <i>A. aegyptium</i>	TTTTCTTAA	TCCAACATCG	AGGTCGCAAT	CTGCTTTGTC	GATATGAGCT	CTCAAAAACA
2. <i>G. rufus</i>	.....C.....	.....	.....	.....	A.....	.....C.....
3. <i>S. scalaris</i>	.....	.....	.....	.....	A.....	.....A.....
4. <i>Ae. sibiricus</i>	.....A.....	.....	.....	.....	A.....	.....A.....
5. <i>Ch. albomarginatus</i>	.....	.....	.....	.....	A.....	.....A.....
6. <i>C. scalozubovi</i>	A.....	.....	.....	.....	G.....	.....A.....
7. <i>A. fusca</i>	.....	.....	.....	.....	G.....	.....
8. <i>B. tuberculatum</i>	..AA.....	.....	.....	.CAT.....	A.....A.....	.....TG
9. <i>Oe. caerulescens</i>	.....	.....	.....C.....	.CAT...A.T.....	...A.A.....	.....TG
10. <i>L. migratoria</i>	.....	.....	.....	.CAT...AC.....	...A.A.....	.....TG
11. <i>O. longipennis</i>	C.A.....	.....	.....	.AT.....	.....	.....T.
12. <i>M. sanguinipes</i>	NNNN.....	.....	.....	.....	A.....	.....
13. <i>A. domesticus</i>	NNNN.....	.....	.....	..TTA..A.....	A.....A.....	...C.T.AC
	61	71	81	91	101	111
1. <i>A. aegyptium</i>	ATTACGCTGT	TAT-CCCTAA	GGTAACTTAA	TCTTATGATC	ATAAATTATG	GATCAAAATA
2. <i>G. rufus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
3. <i>S. scalaris</i>	.....	.....	.....G.....	.....	.....	.....
4. <i>Ae. sibiricus</i>	.....	.....	.....G.....	.....	.....	.....
5. <i>Ch. albomarginatus</i>	.....	.....	.....G.....	.....	.....	.....
6. <i>C. scalozubovi</i>	.....	.....	.....	.....	.....A.....	.....
7. <i>A. fusca</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....A-
8. <i>B. tuberculatum</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
9. <i>Oe. caerulescens</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
10. <i>L. migratoria</i>	.....	.....	.....	.....A.....	..C.....	.....
11. <i>O. longipennis</i>	.....	.....	.....A.....	.....	.....	.....T.TA-
12. <i>M. sanguinipes</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
13. <i>A. domesticus</i>	.....	..C.....	...T..T.....	...C..A.....	..C.TAGT..-	-----
	121	131	141	151	161	171
1. <i>A. aegyptium</i>	ACAACATAA	ATCAATGATA	TTTTGAAGAG	CCGCGGTATT	TTGACCGTGC	AAAGGTAGCA
2. <i>G. rufus</i>	--.....	..T.....T.....	...A.....	.....	.....	.....
3. <i>S. scalaris</i>	--.....	..G.....T.....	...A.....	.....C.....	.....T.....	.....
4. <i>Ae. sibiricus</i>	--.....	..T.....T.....	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
5. <i>Ch. albomarginatus</i>	--.....	..T.....T.....	C...A.....	.....	.....	TTTAGTATC
6. <i>C. scalozubovi</i>	--.....	..T.....T.....	...A.....	.....	.....	.....
7. <i>A. fusca</i>	--T.....	..T.....T.....	...A.....	.....	.....	.....
8. <i>B. tuberculatum</i>	--G.....	..T.....T.....	...A.....	.....	.....	.....
9. <i>Oe. caerulescens</i>	--.....	..T.....T.....	.....	.....	.....	.....
10. <i>L. migratoria</i>	--.....	..T.....T.....	...A...G.....	.....	A.....	.....
11. <i>O. longipennis</i>	--.....	..T.....T.....	...A.....	.....	.....G.....	.....
12. <i>M. sanguinipes</i>	--.....	.....	..T.....	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNN.....
13. <i>A. domesticus</i>	--.....	..GG.G.T.A.	..NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNN.....	.....
	181	191	201	211	221	231
1. <i>A. aegyptium</i>	TAATCATTAG	TCTCTTAATT	GGTGGCTGGA	ATGAATGGCT	TGACGAGAAA	TCAACTGTCT
2. <i>G. rufus</i>	.....	.....C.....	A.G.....	.....	.....	.....T.....
3. <i>S. scalaris</i>	.....	.....C.....	A.A.....	.....	.....	.....T.....
4. <i>Ae. sibiricus</i>	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
5. <i>Ch. albomarginatus</i>	.....	.....	A.A.....	.....	.....	.....T.....
6. <i>C. scalozubovi</i>	.....	.....C.....	A.G.....	.....	.....	.....T...CT..
7. <i>A. fusca</i>	.....	.....	A.A.....	.....	.....	.....T.....
8. <i>B. tuberculatum</i>	.....	..T.....	A.A...T.....	.....T.....	.....	.....T.....
9. <i>Oe. caerulescens</i>	.....	..T.T.....	..AT.....	.....T.....	.....	.....T.....
10. <i>L. migratoria</i>	.....	..T.....	..G.A.....	.....T.....	.....	.....TG.....
11. <i>O. longipennis</i>	.....	.....	A.A...T.....	.....T.....	.....	.....A...C.....
12. <i>M. sanguinipes</i>	.....	.....	A.G.....	.....	.....	.....T.....
13. <i>A. domesticus</i>	.....	..T.....	..A.....	.....T.....	.....A.T.	AT.....
	241	251	261	271	281	291
1. <i>A. aegyptium</i>	CTTAATAAAT	TTTTGAATTT	AACTTTTGAG	TCAAAAGGCT	TAAATTTATC	TTTAGGACGA
2. <i>G. rufus</i>	.....	..AA.....	.....	..T.....	.....	.....
3. <i>S. scalaris</i>	.....	..AA.....	.....C.....	..T.....	.....A.T.....	.....
4. <i>Ae. sibiricus</i>	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
5. <i>Ch. albomarginatus</i>	.....	..AA..A.....	.....	..T.....	.....	.....
6. <i>C. scalozubovi</i>	.....	A..AA..A.....	.....	..T.....	.....	.....
7. <i>A. fusca</i>	.....T.....	..A.....	.....A.....	.....	.....	.....-CT.....
8. <i>B. tuberculatum</i>	.....	..A.....	.....A.....	..T.....	.....	.....ACT.....
9. <i>Oe. caerulescens</i>	.....	..A.A.....	.....A.....	..T.....	.....	.....A.....
10. <i>L. migratoria</i>	.....T.....	..A.....	.....A.....	..T.....	.....A.T.....	.....G.....
11. <i>O. longipennis</i>	...T.....	..A.A.....	..T.C.....	..T...A.....	.....-T.....	.....A.....
12. <i>M. sanguinipes</i>	.....T.....	AA.A.....	.....	..T.....	.....	.....A.A.....
13. <i>A. domesticus</i>	..GG.G.G.TG	..A.....	..T.....	..T.....	..C...GA.AA	..AGG.....
	301	311				
1. <i>A. aegyptium</i>	GAAGACCCTA	TAGAG	.....	.....	.....	.....
2. <i>G. rufus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
3. <i>S. scalaris</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
4. <i>Ae. sibiricus</i>	NNNNNNNNNN	NNNNNN	.....	.....	.....	.....
5. <i>Ch. albomarginatus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
6. <i>C. scalozubovi</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
7. <i>A. fusca</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
8. <i>B. tuberculatum</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
9. <i>Oe. caerulescens</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
10. <i>L. migratoria</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
11. <i>O. longipennis</i>	.....	C.....	.....	.....	.....	.....
12. <i>M. sanguinipes</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
13. <i>A. domesticus</i>	.....	.....T.....	.....	.....	.....	.....

Виды, использованные в анализе

№ п.п.	Семейство, подсемейство, вид	Последовательность а	Последовательность б	Accession Numbers
	<u>Acridida</u> Acridinae			
1.	<i>Chorthippus albomarginatus</i> (Deg.)	Наши данные	Наши данные	–
2.	<i>Stauroderus scalaris</i> (F.d.W.)	Наши данные; [5, 6]	Наши данные; [5, 6]	Z93284
3.	<i>Gomphocerus rufus</i> (L.)	Наши данные; [5, 6]	[5, 6]	Z93285
4.	<i>Aeropus sibiricus</i> (L.)	Наши данные	–	–
5.	<i>Arcyptera fusca</i> (Pall.)	Наши данные; [5, 6]	Наши данные; [5, 6]	Z93286
	Locustinae			
6.	<i>Oedipoda caerulescens</i> (L.)	[5, 6]	Наши данные; [5, 6]	Z93293
7.	<i>Bryodema tuberculatum</i> (F.)	Наши данные	Наши данные	–
8.	<i>Celes scalozubovi</i> Adel.	»	»	–
9.	<i>Locusta migratoria</i> L.	[10]	[10]	X80245
	Catantopinae			
10.	<i>Ognevia longipennis</i> (Shir.)	Наши данные	Наши данные	–
11.	<i>Anacridium aegyptium</i> (L.)	Venanzetti, Pascuale, 1996, неопубл. данные	Venanzetti, Pascuale, 1996, неопубл. данные	Y07553
12.	<i>Melanoplus sanguinipes</i> (F.)	[8]	[8]	AF020298
	<u>Gryllidae</u> Gryllinae			
13.	<i>Acheta domesticus</i> (L.)	[8]	[8]	AF020299

ры [11] были синтезированы в НИБХ СО РАН и имели следующие структуры: 252 – CCGGTCT-GAACTCAGATCACGT, 253 – CGCCTGTTTAT-CAAAAACAT.

В работе использовали *Taq*-ДНК-полимеразу (“Промикс”, Россия), [<sup>35</sup>S]dATP и секвенирующий набор “Sequenase 2.0” (“Amersham”, Великобритания).

Аmplификацию проводили в 50 мкл буфера, содержащего 67 мМ трис-НСl (рН 8.9), 16 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1.5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0.01% твин-20, 100 мкМ dNTP, 1 мкМ праймеры, 2 ед. акт. *Taq*-ДНК-полимеразы и от 20 до 100 нг ДНК матрицы. Амплификацию проводили в течение 32 циклов в следующем режиме: денатурация – 1 мин при 94°C, отжиг праймеров – 1 мин при 55°C, элонгация – 1.5 мин при 72°C. ПЦР проводили на ДНК-амплификаторе “БИС” (пос. Кольцово, Новосибирская обл.). Полученные амплификационные смеси анализировали электрофорезом в 1.5%-ном агарозном геле с последующей визуализацией ДНК бромистым этидием [12].

Секвенирование проводили методом Сенгера с использованием набора “Sequenase 2.0” для сек-

венирования ПЦР продуктов (“Amersham”) в соответствии с инструкциями фирмы-изготовителя.

Поиск гомологии нуклеотидных последовательностей, построение филогенетических деревьев и бутстреп-анализ проводили, используя программы VOSTORG (Институт цитологии и генетики СО РАН).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В гене 16S рибосомной РНК митохондрий были определены две последовательности ДНК (а и б) протяженностью 137 и 174 пн. У 6 видов были секвенированы обе последовательности, у 3 только одна (см. таблицу). Кроме того, были привлечены литературные данные как по этим видам, так и по дополнительным: *Locusta migratoria* [13] – представителе подсемейства Locustinae, *Anacridium aegyptium* (неопубликованные данные Venanzetti, Pascuale, 1996) и *Melanoplus sanguinipes* [8], принадлежащих к подсемейству Catantopinae. В качестве представителя внешней группы выбран сверчок *Acheta domesticus* [8]. Выровненные нуклеотидные последовательности приведены на рис. 1.

Рис. 1. Нуклеотидные последовательности двух участков гена 16S рРНК а (1–141) и б (142–316) 12 видов саранчовых и сверчка *A. domesticus*. Вертикальные колонки означают позиции нуклеотидов, точка – нуклеотид, аналогичный таковому у *A. aegyptium*, тире – разрывы, необходимые для выравнивания, N – информация отсутствует. Начало последовательности б отмечено стрелкой.

Последовательность b (137 пн)

	1	11	21	31	41	51
<i>G. rufus</i>	TTTTTCCTAA	TCCAACATCG	AGGTCGCAAT	CTGCTTTGTC	AATATGAGCT	CTCAAAAACA
<i>G. rufus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....A.....
<i>A. fusca</i>	.....T.....	.....	.....	.....	G.....	.....
<i>A. fusca</i>	.....T.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>S. scalaris</i>	.....T.....	.....	.....	.....	.....	.....A.....
<i>S. scalaris</i>	.....T.....	.....	.....	.....	.....	.....A.....
	61	71	81	91	101	111
<i>G. rufus</i>	ATTACGCTGT	TATCCCTAAG	GTAACCTAAT	CTTATGATCA	TAAATTATGC	ATCAAAATAA
<i>G. rufus</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>A. fusca</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....AT.
<i>A. fusca</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....AT.
<i>S. scalaris</i>	.....	.....	.....C..	.....	.....	.....
<i>S. scalaris</i>	.....	.....	.....G..	.....	.....	.....
	121	131				
<i>G. rufus</i>	ACATAAATTA	ATGATTT				
<i>G. rufus</i>	.....	.....				
<i>A. fusca</i>	.....	.....				
<i>A. fusca</i>	.....	.....				
<i>S. scalaris</i>	.....G.....	.....				
<i>S. scalaris</i>	.....A.....	.....				

Последовательность b (174 пн)

	1	11	21	31	41	51
<i>Oe. caerulescens</i>	TTTGAAGAGC	CGCGGTATTT	TGACCGTGCA	AAGGTAGCAT	AATCATTAGT	TTTTTAATTG
<i>Oe. caerulescens</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....C.....
<i>A. fusca</i>	...A.....	.....	.....	.....	.....	C.C.....A
<i>A. fusca</i>	...A.....	.....	.....	.....	.....	C.C.....A
<i>S. scalaris</i>	...A.....	...C.....	...T.....	.....	.....	C.C.C...A
<i>S. scalaris</i>	...A.....	.....	.....	.....	.....	C.C.....A
	61	71	81	91	101	111
<i>Oe. caerulescens</i>	GATGCTGGAA	TGAATGGTTT	GACGAGAAAT	TAACTGTCTC	TAAATAAATT	ATAAAAATTA
<i>Oe. caerulescens</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>A. fusca</i>	..G.....	...C.....	.....	.....	...T...	T..G.....
<i>A. fusca</i>	..G.....	...C.....	.....	.....	...T...	T..C.....
<i>S. scalaris</i>	..G.....	...C.....	.....	.....	.....	T.....
<i>S. scalaris</i>	..G.....	...C.....	.....	.....	.....	T.....
	121	131	141	151	161	171
<i>Oe. caerulescens</i>	ACTTTAAGT	TAAAAGGCTT	AAATATATCT	TTAGGACGAG	AAGACCSTAT	AGAG
<i>Oe. caerulescens</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....
<i>A. fusca</i>	.....	C.....	...CT...	.....	.....	.....
<i>A. fusca</i>	.....	C.....	...T...	.....	.....	.....
<i>S. scalaris</i>	.....GC..	.....	...T...	.....	.....	.....
<i>S. scalaris</i>	.....G.....	.....	...T.T...	.....	.....	.....

Рис. 2. Внутривидовая изменчивость у некоторых видов. Полуужирным шрифтом выделены последовательности из Gen Bank Data Libraries (см. таблицу).

Наличие литературных данных позволило оценить внутривидовую изменчивость для некоторых видов (рис. 2). В последовательности а внутривидовые различия только по одному нуклеотиду обнаружены у *Arcyptera fusca*, *Stauroderus scalaris* и *Gomphocerus rufus*. В последовательности b максимальные внутривидовые различия найдены у *S. scalaris* (3 нуклеотида), у *A. fusca* и *Oedipoda caerulescens* – 1 и 2 нуклеотида соответственно. Внутривидовая изменчивость имеет низкий уровень (5% от суммарной в 73 нуклеотида), что

позволяет использовать эти последовательности для кладистического анализа [10].

Размер выбранных для окончательного анализа последовательностей был разным (см. рис. 1). Для того чтобы не терять полезной для построения древа информации, мы сформировали три набора последовательностей. В первый набор вошли участки а (1–141 пн) видов № 2–11 (см. таблицу). Изменчивость наблюдалась по 23 позициям. Древо, построенное с помощью метода WPGMA, изображено на рис. 3. Второй набор включал участки а и b (1–141 и 142–315 пн) последовательности

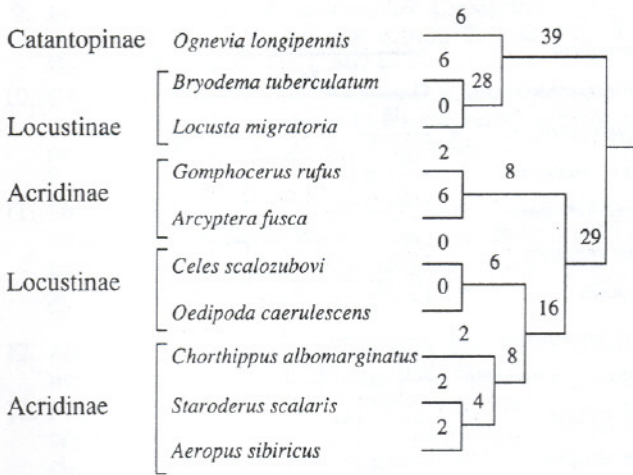


Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное для набора видов 1 с помощью метода WPGMA, дистанция выражена в числе мутировавших сайтов.

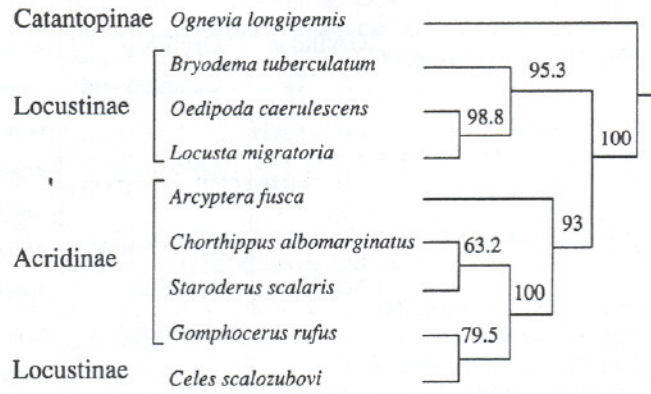


Рис. 4. Филогенетическое дерево, построенное для набора видов 2. Результат бутстреп-анализа NJ-дерева по методу Джукса-Кантора после 10000 репликаций, в качестве реперной выбрана последовательность *O. longipennis*. Здесь и на рис. 5, б достоверность топологии выражена в процентах.

тей тех же видов, за исключением *Aeropus sibiricus* (№ 2, 3, 5–11, см. таблицу). Изменчивость в этом случае наблюдалась по 73 позициям. Соответствующее дерево показано на рис. 4. В третьем наборе объединены укороченные на 26 пн участки а и б (5–141 и 164–315 пн) из 13 видов (рис. 5, а, б), кладистически информативными оказались 104 позиции. Для наборов 2 и 3 проведен бутстреп-анализ.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Деревья, построенные для набора 2 методом современного предка и NJ-методом, совпадали, одно из них приведено на рис. 4. Бутстреп-анализ, проведенный по методу Джукса-Кантора при 10000 репликациях, показывает высокую достоверность объединения в группы. Дерево набора 2 хорошо соответствует точке зрения, принятой в отечественной таксономии [9]. В нем выделяются три блока, соответствующие трем подсемействам Acrididae: Catantopinae (*Ognevia longipennis*). Locustinae (*L. migratoria*, *Bryodema tuberculatum*, *Oe. caerulescens* – достоверность 95.3%) и Acridinae (*A. fusca*, *G. rufus*, *S. scalaris*, *Chorthippus albomarginatus* – достоверность 93%).

В группе Acridinae *A. fusca* расположен у основания в соответствии с его обособленным таксономическим положением относительно других видов подсемейства. *Ae. sibiricus* также попадает в эту группу в древе 1 (рис. 3).

Позиция *Celes scalozubovi* (Locustinae) неожиданна: он располагается среди видов подсемейства Acridinae в деревьях, приведенных на рис. 4 и 5. Это свидетельствует об обособленном положении вида, по крайней мере, в подсемействе Locustinae. Такое своеобразие *C. scalozubovi* подчеркивается и его не вполне обычными цитогенетичес-

кими параметрами [14]. Поэтому необходимо дальнейшее всестороннее исследование этого восточно-палеарктического вида, в том числе вероятно и переоценка его таксономического положения.

Филогенетические деревья для набора 3, включающего дополнительные виды, показаны на рис. 5. Относительное положение видов базового набора в общих чертах сохраняется. У общего основания теперь оказывается сверчок *A. domesticus*. Обращает на себя внимание положение видов подсемейства Catantopinae. В древе, построенном методом UPGMA (рис. 5, а), они расположены дисперсно, находясь как у корня семейства (*O. longipennis*), так и ближе к основанию групп подсемейства Acridinae (*M. sanguinipes* и *A. aegyptium*). В древе, построенном NJ-методом (рис. 5, б), все три вида располагаются у основания Acridinae. Достоверность их принадлежности к ветви Acridinae, оцененная бутстреп-анализом, составляет 93.5%.

Такое положение может свидетельствовать о более высоком уровне изменчивости в подсемействе Catantopinae по сравнению с другими подсемействами. Оно согласуется с существующей точкой зрения о том, что подсемейство Catantopinae наиболее близко к истокам семейства Acrididae [15], а также может быть использовано для поддержки идеи о выделении этого таксона в самостоятельное семейство [16]. Кроме того, размещение исследованных видов Catantopinae может служить подтверждением точки зрения, основанной на цитогенетических и морфоадаптационных данных, о том, что эта группа вместе с представителем трибы Argyrterini *A. fusca* наиболее близка к предковым формам подсемейства Acridinae [17].

Исследования выполнены при частичной финансовой поддержке Российского фонда фунда-

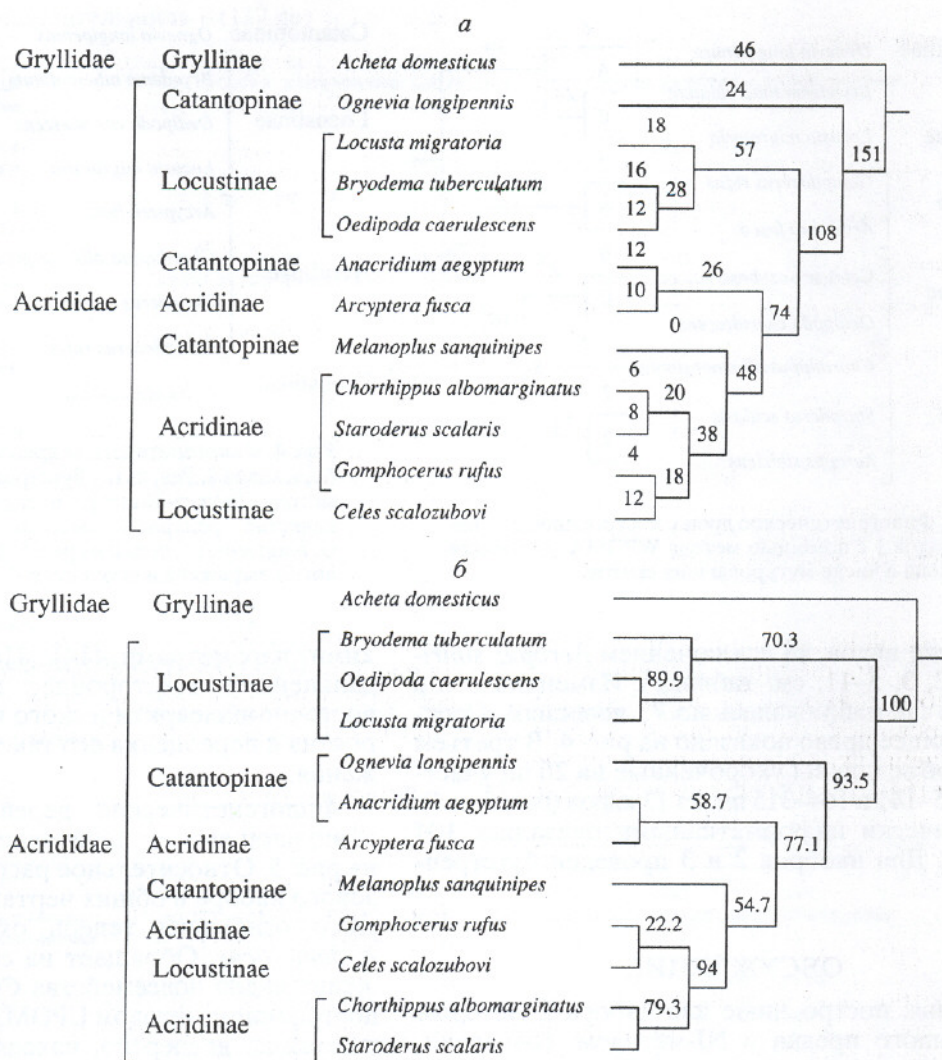


Рис. 5. Филогенетические деревья, построенные для набора видов 3: *a* – метод UPGMA, дистанция выражена в числе мутировавших сайтов, *b* – NJ-метод, в качестве реперной выбрана последовательность сверчка *A. domesticus*, бутстреп-анализ по методу Джукса–Кантора после 10000 репликаций.

ментальных исследований (грант 96-04-50097) и программы “Университеты России”.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Vickery V.R. Classification of the Orthoptera (*sensu stricto*) or Caelifera // The bionomics of grasshoppers, katydids and their kin. Wallingford; New York: CAB Internat., 1997. P. 5–40.
- Сергеев М.Г. Закономерности распространения прямокрылых насекомых Северной Азии. Новосибирск: Наука, 1986. 237 с.
- Стороженко С.Ю. Отряд Orthoptera (Saltatoria) – Прямокрылые (прыгающие прямокрылые). Определитель насекомых Дальнего Востока. Т. 1. Л.: Наука, 1986. С. 241–317.
- Chapco W. Molecular evolutionary genetics in Orthopteroidean insects // The bionomics of grasshoppers, katydids and their kin. Wallingford; New York: CAB Internat., 1997. P. 337–354.
- Flook P.K., Rowell C.H.F. The phylogeny of the Caelifera (Insecta, Orthoptera) as deduced from mtrRNA gene sequences // Mol. Phylogenet. Evol. 1997. V. 8. № 1. P. 89–103.
- Flook P.K., Rowell C.H.F. The effectiveness of mitochondrial rRNA gene sequences for the reconstruction of the phylogeny of an insect order (Orthoptera) // Mol. Phylogenet. Evol. 1997. V. 8. № 2. P. 177–192.
- Flook P.K., Rowell C.H.F. Inferences about orthopteroidean phylogeny and molecular evolution from small subunit nuclear ribosomal DNA sequences // Insect Mol. Biol. 1998. V. 7. № 2. P. 163–178.
- Chapco W., Martel R.K.B., Kuperus W.R. Molecular phylogeny of North American bang-winged grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) // Ann. Entomol. Soc. Am. 1994. V. 90. № 5. P. 555–562.

9. Бей-Биенко Г.Я., Мищенко Л.Л. Саранчовые фауны СССР и сопредельных стран. Т. 1–2. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1951. 667 с.
10. Chapco W., Kelln R.A., McFadyen D.A. Intraspecific mitochondrion DNA variation in the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* // *Heredity*. 1992. V. 69. P. 547–557.
11. Simon C., Frati F., Beckenbach A. et al. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved PCR primers // *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1994. V. 87. P. 651–701.
12. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 480 с.
13. Flook P.K., Rowell C.H.F., Gellissen G. The sequence, organisation and evolution of *Locusta migratoria* mitochondrion genome // *J. Mol. Evol.* 1995. V. 41. № 6. P. 928–941.
14. Высоцкая Л.В., Агапова О.А., Олимова Д.Ч. Распределение хиазм и синапсис хромосом у видов саранчовых подсемейства Oedipodinae // *Генетика*. 1995. Т. 31. № 4. С. 471–476.
15. Мищенко Л.Л. Насекомые прямокрылые. Т. 4. Вып. 2. Саранчовые (Catantopinae). М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1952. 610 с.
16. Dirsh V.M. Classification of the Acridomorph insects. Faringdon: E.W. Classey Ltd., 1987. 171 p.
17. Стебаев И.В., Бугров А.Г., Высоцкая Л.В. Анализ филогенетических отношений короткоусых прямокрылых (Orthoptera, Caelifera, Eumastacoidea и Acridoidea) фауны СССР на основании синтеза цитогенетических, таксономических и экологических данных // *Журн. общ. биол.* 1984. Т. 45. № 4. С. 456–471.

## Reconstruction of the Phylogeny of Grasshoppers from the Family Acrididae (Orthoptera) Based on the Mitochondrial 16S Ribosomal RNA Gene Sequence

M. L. Filipenko<sup>1</sup>, O. A. Timofeeva<sup>1</sup>, A. M. Gusachenko<sup>2</sup>, M. G. Sergeev<sup>2</sup>, and L. V. Vysotskaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Novosibirsk Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia;  
fax: (3832)33-36-37; e-mail: max@nibioch.nsc.ru

<sup>2</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090 Russia;  
fax: (3832) 39-75-64; e-mail: cytolog@fen.nsu.ru

The sequences of two mitochondrial 16S RNA gene fragments (137- and 174-bp in size) were determined in nine grasshopper species belonging to three Acrididae subfamilies. Phylogenetic reconstruction was performed using the sequences of twelve grasshopper species and the cricket *Acheta domesticus* sequence as an outgroup (some data were purchased from the GeneBank Data Library (NCBI)). In the phylogenetic tree, the Acridinae and Locustinae formed compact groups. Annexpected position of *Celes scalozubovi* (Locustinae) within the subfamily Acridinae indicated its vague phylogeny. The Catantopinae species lied close to the base of the Acridinae. Almost all branches of phylogenetic trees were strongly (55 – 100%) supported by bootstrap analysis.