

УДК 576.316.2 : 576.354.422 : 595.727

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ С-ГЕТЕРОХРОМАТИНА В ПРОФАЗЕ МЕЙОЗА У САРАНЧОВЫХ

Л. В. Высоцкая, А. Г. Бугров

*Кафедра цитологии и генетики, Новосибирский университет,
и Биологический институт СО АН СССР, Новосибирск*

У саранчовых сем. Acrididae в профазе мейоза на хромосомах обнаружены многочисленные мелкие С-гетерохроматиновые узелки. У некоторых видов эти узелки располагаются более или менее равномерно по длине хромосом, и в этом случае в метафазных хромосомах они не выявляются. У других видов узелки сконцентрированы в прицентромерных или теломерных районах хромосом. Такой гетерохроматин при конденсации хромосом в метафазе выявляется в виде крупных прицентромерных или теломерных С-гетерохроматиновых блоков. Иногда концентрация интеркалярных узелков в прицентромерной области хромосом настолько велика и они расположены настолько близко к истинно прицентромерному гетерохроматину, что в метафазных хромосомах и тот, и другой гетерохроматин выявляются в виде единого очень крупного блока. Сложный состав такого блока можно обнаружить при анализе поведения С-гетерохроматиновых районов хромосом в первой профазе мейоза.

Методы дифференциального окрашивания хромосом обычно используют для анализа метафазных хромосом. Вместе с тем известно, что высокая степень конденсации хроматина в метафазных хромосомах может маскировать отдельные С-гетерохроматиновые блоки или уменьшать их разрешение (Ray, Venketeswaran, 1978). Анализ же хромосом в профазе и прометафазе позволяет значительно увеличить разрешающую способность методов дифференциального окрашивания и получить более детальную информацию о линейной дифференциации хромосом (Yunis et al., 1978).

К сожалению, распространению методов анализа слабо конденсированных хромосом препятствуют сложность синхронизации клеточных делений и трудность получения большого количества профазных и прометафазных клеток. В связи с этим перспективным может оказаться изучение дифференциально окрашенных хромосом в первой профазе мейоза, продолжительность которой обеспечивает достаточное количество доступных для анализа клеток, а большая длина профазных хромосом в мейозе по сравнению с митозом (Богданов, 1983) дает лучшее разрешение.

В цитогенетике саранчовых анализ мейотических хромосом традиционно используют очень широко. Однако дифференциально окрашенные хромосомы в профазе, особенно на ранних ее стадиях, практически не изучались. Анализ же дифференциально окрашенных метафазных хромосом мало информативен, так как у большинства видов С-блоки локализованы в основном в прицентромерных, реже теломерных районах хромосом и часто сходны по размерам. В результате хромосомы плохо различаются не только между видами, но и в пределах одного кариотипа (King, John, 1980; Santos et al., 1983). Применение С-метода дифференциального окрашивания долгое время позволяло выявлять у саранчовых те же районы хромосом, которые обнаруживаются при использовании С-метода (Webb, 1976; Webb, Westerman, 1978). Лишь недавно для одного вида удалось получить окраску, не совпадающую с С-дифференциальной (Zhan et al., 1984).

В настоящей работе мы попытались проанализировать распределение С-гетерохроматинового материала в профазных мейотических хромосомах саранчовых с целью получения более детальной информации о линейной дифференциации хромосом по сравнению с получаемой при традиционном анализе метафазных хромосом.

Материал и методика

В работе суммированы результаты исследования 57 видов саранчовых сем. Acrididae фауны Сибири, Средней Азии и Казахстана, собранных в полевые сезоны 1976—1982 гг. (Высоцкая, 1983).

Семенные фолликулы взрослых насекомых после 10-минутной обработки в 0.9 %-ном растворе цитрата натрия фиксировали в смеси этилового спирта с ледяной уксусной кислотой (3 : 1), затем отмывали от фиксатора и хранили в 70 %-ном спирте. Дифференциальное окрашивание хромосом на давленных препаратах проводили по С-методу, предложенному для саранчовых (Jones et al., 1975), модифицируя для разных видов время обработки в 0.2 н. соляной кислоте и растворе гидроксида бария, а также время окрашивания и концентрацию красителя.

Результаты и обсуждение

Изученные виды саранчовых имеют характерные для сем. Acrididae числа хромосом (у самцов $2n = 16 + X0$ и $2n = 22 + X0$ при одинаковом числе хромосомных плеч ($NF = 23$). С-метод окрашивания выявляет в метафазных митотических и мейотических хромосомах всех видов прицентромерные гетерохроматиновые блоки больших или меньших размеров (рис. 1, e; 2, a, d — см. вкл. IV). В кариотипах некоторых видов встречаются хромосомы, содержащие, кроме прицентромерного, и теломерный гетерохроматин (рис. 2, a, d). Как правило, это короткие и средние хромосомы набора. Половая хромосома по количеству и расположению гетерохроматина обычно не выделяется. Безошибочно идентифицировать ее среди конденсированных хромосом можно только у самцов в поздней профазе и метафазе I мейоза, где она находится в виде унивалента (рис. 1, б, e, к; 2, d).

В профазе I мейоза в ядрах исследованных видов саранчовых мы обнаружили многочисленные очень мелкие интеркалярные узелки, выявляющиеся только при С-методе окрашивания и не выявляющиеся при окраске по Фельгену или ацетоорсеином. Контролем того, что это именно С-гетерохроматиновый материал, а не просто сильно конденсированные участки хромосом, служила дифференциальная окраска X-хромосомы. В течение всей профазы мейоза у самцов саранчовых вся половая хромосома положительно гетеропикнотична, но при использовании С-метода окрашивания выявляется прицентромерный и теломерный (у тех видов, у которых он есть) гетерохроматин (рис. 1, a, в, ж—и; 2, e). Интеркалярные гетерохроматиновые узелки можно обнаружить только в тех клетках, в которых дифференциально окрашена половая хромосома.

Распределение С-узелков по длине хромосом различно у разных видов. Один из вариантов, когда узелки распределены более или менее равномерно по всей длине хромосомы, наблюдается у *Conophyma semenovi semenovi* Zub. (рис. 1, a). При конденсации хромосом такой гетерохроматиновый материал не выделяется. В результате в метафазных хромосомах можно видеть небольшие С-блоки в прицентромерной области хромосом (рис. 1, б).

У *Dericorys albidula* Serv. наблюдается некоторая концентрация узелков в мейозе на одном из полюсов профазного ядра (рис. 1, в). В ходе конденсации хроматина концентрация узелков усиливается, они постепенно сближаются и формируют довольно крупные С-блоки (рис. 1, г—e). При неполной конденсации хромосом в диплотене видно, что эти блоки состоят из двух частей: собственно прицентромерного гетерохроматина и гетерохроматинового материала, собранного из интеркалярных узелков. В метафазе у *D. albidula* эта двойственность не проявляется.

Двойные прицентромерные блоки С-гетерохроматина в метафазных митотических хромосомах описаны для некоторых австралийских видов саранчовых (King, John, 1980). Можно предполагать, что двойственность имеет ту же природу, т. е. один из блоков состоит из отдельных С-гетерохроматиновых узелков, при конденсации собранных в расположенный около центромерного района блок.

Очень высокая степень концентрации С-гетерохроматинового материала в проксимальной области хромосом наблюдается у *Stauroderus scalaris* (F.-W.) (рис. 1, ж—к). То, что гетерохроматиновый материал аутосом у этого вида представлен большим количеством отдельных мелких блоков, очевидно только на стадии прелептотены (рис. 1, ж). Начиная с лептотены, гетерохроматин у *S. scalaris* выявляется в виде крупных блоков, число которых равно числу хромосом в диплоидном наборе (рис. 1, з). Размеры блоков в лептотене соответствуют размерам их в диакинезе—метафазе I (рис. 1, к). В пахитене С-блоки выглядят более длинными и менее плотными (рис. 1, и). Это объясняется тем, что в ходе профазы меняется степень конденсации эухроматиновых участков, чередующихся с гетерохроматином в составе прицентромерного блока. То, что в составе блока имеется эухроматин, подтверждается включением ³H-уридина в прицентромерные районы хромосом на стадии зиготены—пахитены, когда наблюдается деконденсация С-блоков (Высоцкая, 1979).

Концентрация гетерохроматиновых узелков обнаружена не только в проксимальных, но и в дистальных районах хромосом. Так, у *Arcyptera fusca fusca* (Pall.) в метафазных хромосомах С-блоки располагаются как в прицентромерных районах всех хромосом, так и в теломерных областях аутосом шести пар и половой хромосомы. Прицентромерный гетерохроматин, по-видимому, представлен единым блоком, так как ни на одной из стадий профазы мейоза не удалось обнаружить его деконденсации. В то же время в теломерных областях хромосом наблюдается картина, сходная с описанной для прицентромерного гетерохроматина *D. albidula* и *S. scalaris*. В прелептотенном ядре на том полюсе, где сосредоточены центромерные районы хромосом, хорошо видно 23 небольших гетерохроматиновых блока; на противоположном — цепочки мелких блоков, которые в конденсированных метафазных хромосомах формируют крупные теломерные блоки аутосом 6 пар и X-хромосомы (рис. 2, б). Так же как гетерохроматин проксимальной области хромосом у *S. scalaris*, гетерохроматические теломерные районы хромосом *A. f. fusca* проходят через состояние частичной деконденсации на стадии зиготены—пахитены (рис. 2, в).

Следует специально отметить, что гетерохроматин половой хромосомы у самцов саранчовых всех видов в первой профазе мейоза не обнаруживает сложной организации и на протяжении всей профазы выявляется в виде единого блока в прицентромерной, а у *A. f. fusca* и *Bryodema holdereri occidentale* В.-Вienko и в теломерной области хромосом. Возможно, причина этого в том, что вся половая хромосома в мейозе у самцов саранчовых транскрипционно неактивна (Henderson, 1963, 1964; Das et al., 1965; Fox et al., 1974). Не обнаружил сложного строения и гетерохроматин добавочного блока в теломерной области 10-й хромосомы у *C. s. semenovi*, некоторые особи которого оказались гетерозиготными по этому признаку (рис. 1, а, б).

С-гетерохроматиновые узелки, в большей или меньшей степени выраженные, обнаружены в профазных мейотических ядрах у всех изученных нами видов сем. Acrididae. Несмотря на отсутствие точной оценки доли ДНК, содержащейся в этих узелках, можно считать, что эта доля, особенно у некоторых видов, довольно значительна. Возможно, что большие размеры геномов, установленные для саранчовых сем. Acrididae (Rees et al., 1978; Высоцкая, 1983), определяются огромным количеством гетерохроматинового материала, диспергированного по хромосомам. Не противоречит такому предположению и высокое содержание повторяющихся нуклеотидных последовательностей, установленное для нескольких видов (Wilmore, Brown, 1975; Высоцкая, Тутурова, 1981). Более того, картина гибридизации *in situ* высоко повторяющихся нуклеотидных последовательностей, полученная для *Schistocerca gregaria* (Brown, Wilmore, 1974), полностью соответствует распределению гетерохроматина у этого вида: крупные блоки в прицентромерных районах всех хромосом и теломерах двух пар самых коротких членов набора и многочисленные мелкие блоки по длине всех хромосом.

Следует подчеркнуть, что при сравнительно сходном содержании С-гетерохроматина, выявляемого в профазных мейотических ядрах, количество его, обнаруживаемое в метафазных хромосомах, у разных видов оказывается различным. Оно зависит от распределения гетерохроматина по длине хромосом. Если интеркалярные гетерохроматиновые узелки рассредоточены по всей длине

хромосом, то они могут не выявиться в метафазных хромосомах. Если же интеркалярные узелки сконцентрированы в части профазной хромосомы, то конденсация хроматина приводит к их дальнейшей концентрации и формированию гетерохроматинового блока. Очевидно, что это явление следует учитывать при определении суммарного содержания С-гетерохроматина, которое, как правило, проводится на метафазных хромосомах.

С большим количеством диспергированного гетерохроматинового материала, по-видимому, можно связать невысокую контрастность окраски хромосом при использовании С-метода, что характерно для ряда видов саранчовых. Среди изученных нами видов — это большинство представителей триб Gomphocerini, Doclostaurini и Sphigonotini. В то же время у видов триб Podismini, Arguspterini и Bryodemini контрастность окрашенных с помощью С-метода препаратов очень высокая. Это явление нельзя объяснить разным качеством препаратов, так как у некоторых видов при одинаковой интенсивности окраски С-положительных районов интенсивность С-отрицательных районов разных хромосом может варьировать. В качестве примера можно привести *C. s. semenovi* (рис. 1, б). У этого вида контрастность окраски X-хромосомы и коротких аутосом много выше, чем у остальных хромосом набора. Логично предположить, что это результат неравномерного распределения С-гетерохроматина между хромосомами.

Хотелось бы отметить, что у систематически близких видов степень контрастности хромосом, окрашенных с помощью С-метода, как правило, одинакова. Если имеются исключения, то они обязательно сопровождаются различиями в распределении С-гетерохроматиновых узелков по длине хромосом. Так, в трибе Gomphocerini высокая контрастность окраски характерна для *S. scalaris*, *Aeropus sibiricus* (L.) и *Aeropedellus variegatus* (F.-W.). Это те виды, которые отличаются от других изученных представителей трибы большим количеством гетерохроматина в прицентромерной области хромосом. Складывается впечатление, что С-гетерохроматиновые узелки, у других видов разбросанные по всей длине хромосом, у *S. scalaris*, *Ae. sibiricus* и *Ae. variegatus* «собранны» в проксимальной области хромосом.

Такая же связь между количеством гетерохроматина в метафазных хромосомах и степенью контрастности их окраски при использовании С-метода у представителей трибы Bryodemini. Различие только в том, что гетерохроматиновые узелки у представителей этой трибы концентрируются в дистальной области коротких и средних хромосом (рис. 2, з, д).

Таким образом, анализ поведения С-гетерохроматинового материала в первой профазе мейоза у саранчовых позволил обнаружить различные типы его распределения по длине хромосом. Удалось установить, что крупные С-блоки, выявляемые в метафазных хромосомах ряда видов как единые, состоят из отдельных расположенных рядом гетерохроматиновых узелков. Сходный тип локализации и способов образования С-блоков у близко родственных видов указывают на то, что эти признаки могут быть использованы в систематике и при реконструкции филогенеза саранчовых.

Л и т е р а т у р а

Богданов Ю. Ф. Ультраструктура хромосом и синаптонемного комплекса в профазе мейоза у личинок. — Цитология, 1983, т. 25, № 1, с. 17—23. — Висоцкая Л. В. Поведение С-гетерохроматиновых районов хромосом в первой профазе мейоза у саранчового *Stauroderus scalaris*. — Цитология, 1979, т. 21, № 11, с. 1279—1282. — Висоцкая Л. В. Цитогенетическое исследование видов семейства Acrididae (Orthoptera): Автореф. канд. дис. Новосибирск, 1983. 16 с. — Висоцкая Л. В., Тутурова К. Ф. Повторяющиеся нуклеотидные последовательности, гетерохроматин и содержание ДНК у некоторых видов саранчовых. — Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук, 1981, № 10, вып. 2, с. 95—101. — Brown A. K., Wilmore P. J. Location of repetitious DNA in the chromosomes of the desert locust (*Schistocerca gregaria*). — Chromosoma, 1974, vol. 47, p. 379—383. — Das N. K., Stegal E. P., Alfert M. Synthetic activities during spermatogenesis in the locust. — J. Cell Biol., 1965, vol. 25, part 1, p. 387—395. — Fox D. P., Hewitt G. M., Hall D. J. DNA replication and RNA transcription of euchromatic and heterochromatic chromosome regions during grasshopper meiosis. — Chromosoma, 1974, vol. 45, p. 43—62. — Henderson S. A. Differential ribonucleic acid synthesis of X and autosomes during meiosis. — Nature, 1963, vol. 200, p. 1235. — Henderson S. A. RNA synthesis during male meiosis and spermatogenesis. — Chromosoma, 1964, vol. 15, p. 345—366. — Jones G. H.,

Stamford W. K., Perry P. E. Male and female meiosis in grasshoppers. II. *Chorthippus brunneus*. — *Chromosoma*, 1975, vol. 51, p. 381—390. — King M., John B. Regularities and restrictions governing C-band variation in acridoid grasshoppers. — *Chromosoma*, 1980, vol. 76, p. 123—150. — Ray J. H., Venketeswaran S. Constitutive heterochromatin distribution in monocentric and polycentric chromosomes. — *Chromosoma*, 1978, vol. 66, p. 344—350. — Rees H., Shaw D. D., Wilkinson P. Nuclear DNA variation among acridid grasshoppers. — *Proc. Roy. Soc. London*, 1978, vol. B202, p. 517—525. — Santos J. L., Arana P., Giraldez R. Chromosome C-banding patterns in spanish Acridoidea. — *Genetica*, 1983, vol. 61, p. 65—74. — Webb G. C. Chromosome organisation in the australian plague locust, *Chortoicetes terminifera*. I. Banding relationships of the normal and supernumerary chromosomes. — *Chromosoma*, 1976, vol. 55, p. 229—246. — Webb G. C., Westerman M. G- and C-banding in the australian grasshopper *Phaulacridium vittatum*. — *Heredity*, 1978, vol. 41, p. 131—136. — Wilmore P. J., Brown A. K. Molecular properties of orthopteran DNA. — *Chromosoma*, 1975, vol. 51, p. 337—345. — Yunis J. J., Sawyer J. R., Ball D. W. The characterization of high-resolution G-banded chromosomes of man. — *Chromosoma*, 1978, vol. 67, p. 293—307. — Zhan T. S., Pathak S., Liang J. C. Induction of G-bands in the chromosomes of *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera, Acrididae). — *Can. J. Genet. Cytol.*, 1984, vol. 26, p. 354—359.

Поступила 22 XI 1984

C-HETEROCHROMATIN DISTRIBUTION DURING THE MEIOTIC PROPHASE IN GLASSHOPPERS (ORTHOPTERA, ACRIDIDAE)

L. V. Vysotskaya, A. G. Bugrov

Chair of Cytology and Genetics, Novosibirsk University, and Biological Institute of the Siberian Branch of the Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk

Multiple tiny C-heterochromatic dots were revealed in the meiotic prophase chromosomes in individuals of various Acrididae species. The location of the dots along the chromosome varied in different species. In some species the dots are distributed along the whole length of the chromosome. In this case they cannot be recognized in condensed chromosomes. In other species, the dots are concentrated in paracentromere or telomere regions of the chromosomes. In this case the condensation of chromatin leads to the formation of large C-blocks. Sometimes concentration of the interstitial C-dots in paracentromeric regions of the chromosome is so considerable that these are revealed together with really centric heterochromatin as a single block. The complex structure of such blocks can be found out analysing C-heterochromatic chromosome regions during the first meiotic prophase.

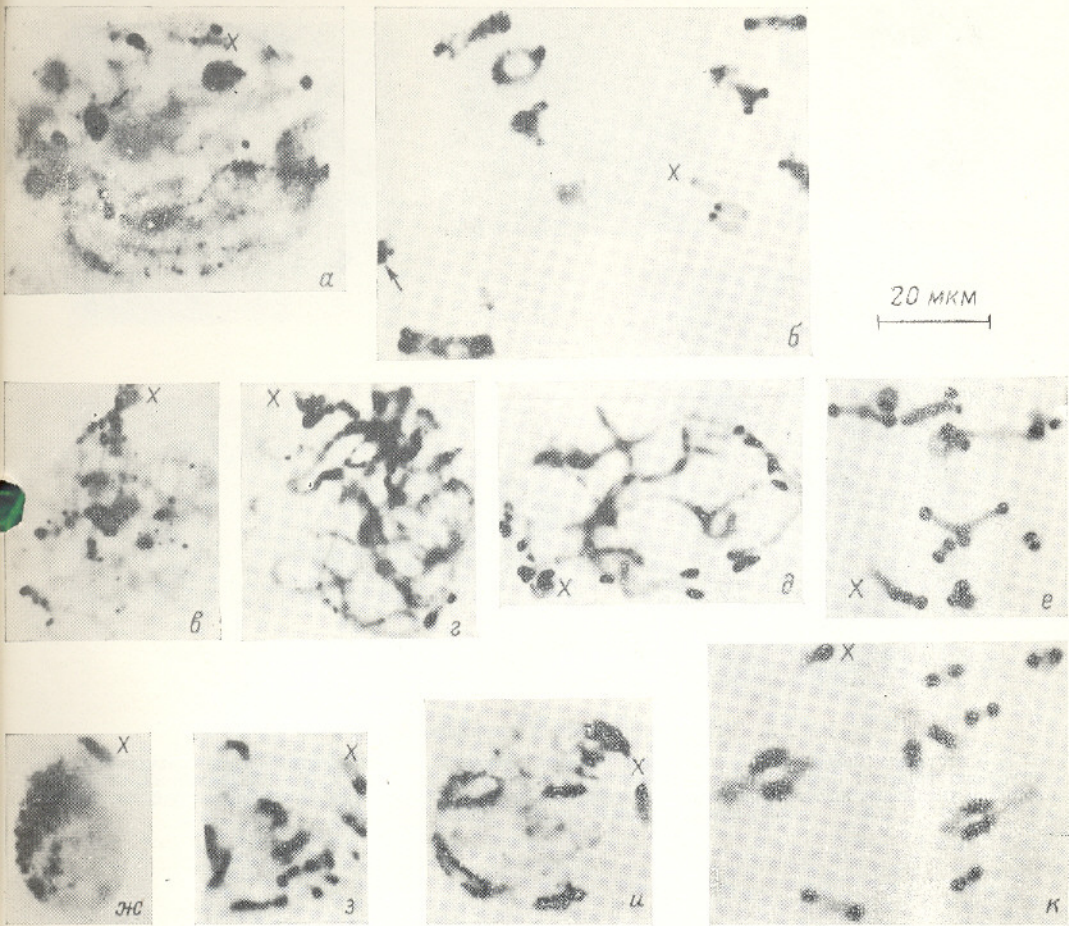


Рис. 1. С-гетерохроматин в мейозе у разных видов саранчовых.

а, б — *Conophyma semenovi semenovi*: а — пахитена, б — диакинез; а—е — *Dericorys albidula*: а — ранняя пахитена, б — поздняя пахитена, в — диплотена, г — метафаза I; ж—к — *Stauroderus scalaris*: ж — прелептотена, з — лептотена, и — пахитена, к — диакинез. X — X-хромосома. Стрелка указывает на добавочный гетерохроматиновый блок 10-й хромосомы *C. s. semenovi*. С-метод окрашивания хромосом. Об. 100 \times , ок. 12,5 \times .