

Глава 2

КАРИОТИП

Опыт изучения кариотипов разных групп насекомых показывает, что морфология хромосомных наборов является важным диагностическим признаком, ценность которого определяется стабильностью в онтогенезе и малой индивидуальной изменчивостью. Последнее особенно касается саранчовых, морфология хромосомных наборов которых консервативна не только на видовом, но и на надвидовом уровне [White, 1951, 1973; John, Hewitt, 1966; Hewitt, 1979; и др.].

У подавляющего большинства изученных видов саранчовых семейства Acrididae диплоидный набор содержит 23 акроцентрические хромосомы, т.е. число хромосомных плеч (NE) в кариотипе самца равно 23, а самки — 24*. У ряда видов обнаружено 17 хромосом в наборе, из которых шесть — двуплечие. В единичных случаях найдены 19- и 21-хромосомные кариотипы, при этом количество двуплечих хромосом равно соответственно 4 и 2 при неизменном числе хромосомных плеч. Хромосомные перестройки, при которых уменьшение количества хромосом не сопровождается изменением числа хромосомных плеч, называются робертсоновскими — по имени исследователя, впервые их описавшего [Robertson, 1916]. Считается, что перестройки по типу робертсоновских транслокаций являются основным механизмом преобразования хромосомных наборов в эволюции семейства Acrididae.

Сибирская кобылка принадлежит к группе 17-хромосомных видов. Впервые данные о числе и морфологии хромосом в наборе этого вида представлены Мак-Клунгом [McClung, 1930]. Ниже мы приводим описание кариотипов двух подвидов сибирской кобылки — номинативного из природных популяций Южной Тувы (1978, 1981 гг.) и Центрального Алтая (1988, 1989 гг.), а также *Aeropus sibiricus caucasicus* из Приэльбрусья (1987 г.).

Отловленным насекомым за 2—3 ч до фиксации вводили 0,1—0,2 мл 0,1%-го раствора колхицина. Выделенную ткань (семенные и яйцевые фолликулы, слепые отростки кишки, нервная трубка)

* У саранчовых XO-система определения пола, следовательно, $2n\sigma = 22 + XO$, $2n\varrho = 22 + XX$.

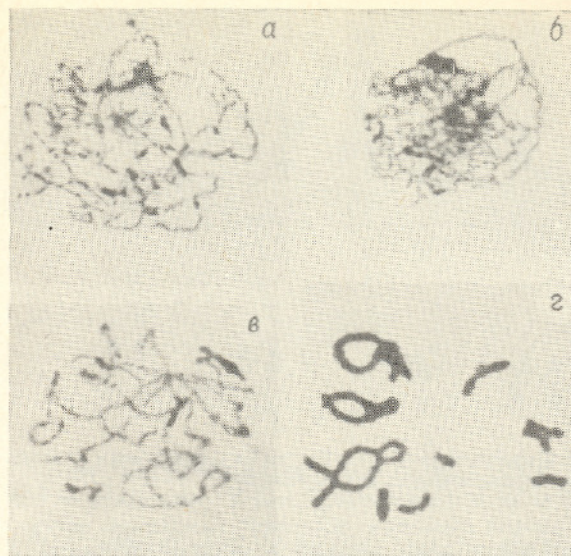


Р и с. 3. Систематизированный хромосомный набор клетки на стадии сперматогонической метафазы (окраска ацетоорсеином).

помещали в 0,9%-й раствор цитрата натрия на 20—25 мин, затем фиксировали в смеси этилового спирта с ледяной уксусной кислотой в соотношении 3:1 в течение 30 мин. Ткань отмывали от фиксатора и хранили до приготовления давленных препаратов в 70%-м этаноле. Препараты для микроскопического анализа готовили либо давленные по стандартной методике [Роскин, Левинсон, 1957], либо из клеточной суспензии. В последнем случае выделенную ткань измельчали ножницами и инкубировали в 0,9%-м растворе цитрата натрия 30—40 мин при постоянном встряхивании. Затем суспензию центрифугировали, осадок фиксировали, каплю суспензии клеток в фиксаторе наносили на предметное стекло и высушивали. Красили препараты 25%-м ацетоорсеином или фиксинсернистой кислотой, по Фельгену [Роскин, Левинсон, 1957]. Для дифференциального окрашивания хромосом использовали С-метод, предложенный для саранчовых [Jones et. al., 1975] и модифицированный для нашего случая [Высоцкая, 1979].

Кариотип самца сибирской кобылки типичен для 17-хромосомных видов саранчовых. В последних ($2n\sigma = 16 + XO$) принято выделять три размерные группы: длинные, средние и короткие. Группы длинных составляют три пары двуплечих хромосом. Обычно у саранчовых они более чем в 2 раза длиннее следующих по размеру акроцентриков, т.е. каждое из плечей мета- и субметацентрических хромосом превышает по длине любую из акроцентрических [McClung, 1917; Helwig, 1941, 1942; Hewitt, 1979; Бугров, Высоцкая, 1981].

В группу средних и коротких хромосом входят пять пар аутосом и половая X-хромосома. Одноплечие хромосомы представляют собой более или менее равномерно убывающий по длине ряд. Различия между средними и короткими хромосомами обычно не столь значительны, как между длинными и средними. Поэтому количество хромосом в каждой из этих размерных групп у различных видов

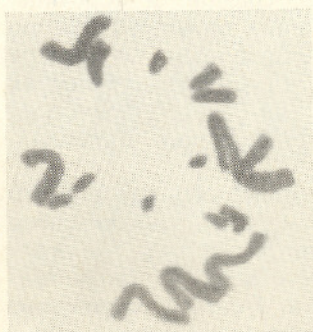


Р и с. 4. Клетки на стадии профазы мейоза.

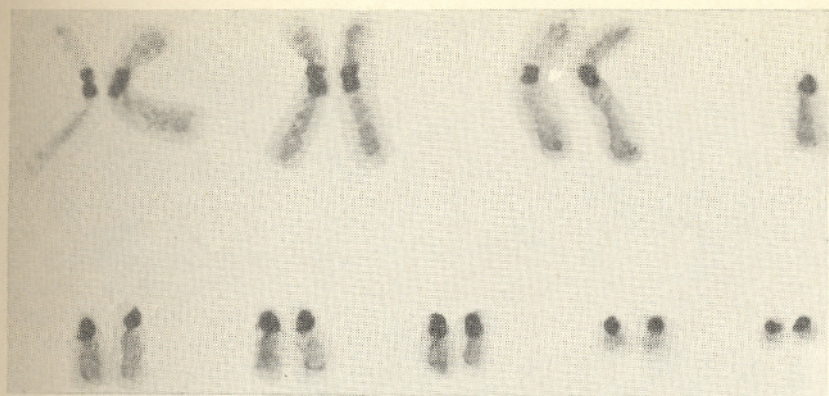
a — лептотена; *б* — зиготена; *в* — поздняя пахитена; *г* — диакинез (окраска ацетоорсеином). Стрелками отмечены хиазмы в некоторых бивалентах.

разное. Обычно в группу коротких хромосом включают одну, реже две пары хромосом.

Стандартный кариотип сибирской кобылки представлен на рис. 3. Первая и вторая пара хромосом практически одинаковы по длине, но отличаются по положению центromеры, благодаря чему легко идентифицируются. Акроцентрические хромосомы (4—8-я пары хромосом и X-хромосома) представляют собой равномерно убывающий размерный ряд, однако все хромосомы поддаются идентификации. Некоторую трудность представляет выделение 6-й пары хромосом и X-хромосомы. Определение хромосом 6-й пары лучше проводить на мейотических препаратах, так как бивалент, образованный хромосомами этой пары, отличается от остальных более ранней конденсацией в первой и второй профазе мейоза (рис. 4). По этому признаку, характерному и для других представителей трибы *Comphocerini*, хромосомы 6-й пары называют мегамерными (megameric). X-хромосома по размерам равна аутосомам 4-й пары. В спермато-



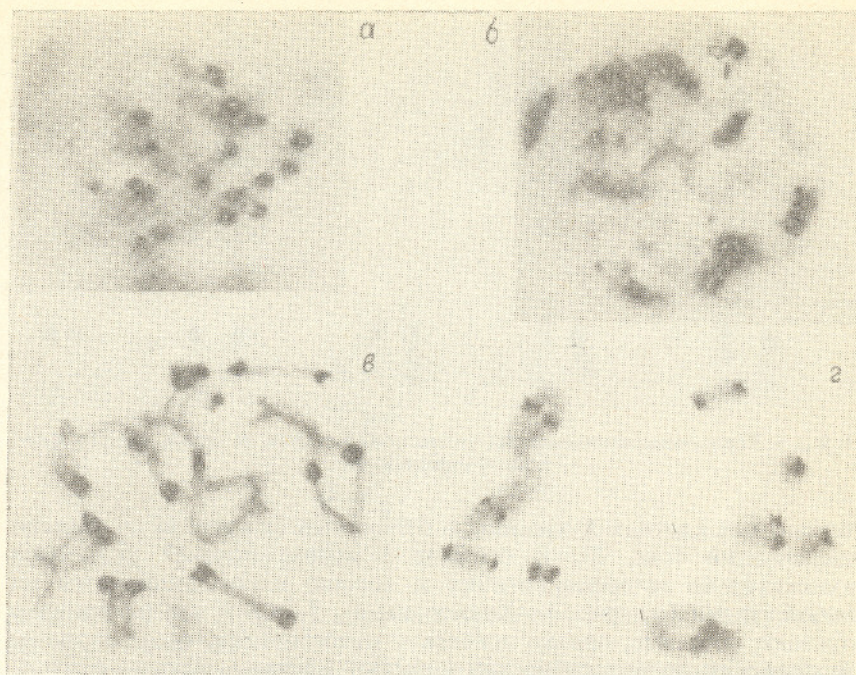
Р и с. 5. Метафаза сперматогониального деления (окраска по Фельгену).



Р и с. 6. Кариотипированная сперматогионая метафаза (С-метод дифференциального окрашивания).

гониальных клетках X-хромосома отличается от аутосом по степени конденсации (рис. 5). В профазе I мейоза половая хромосома положительно гетеропикнотична и хорошо идентифицируется на любой стадии (см. рис. 4). Хромосомы 6-, 7- и 8-й пар равномерно убывают по длине, однако испанские цитогенетики, исследовавшие пиренейский подвид сибирской кобылки (*Aeropus sibiricus pyrenaeicus*), выделяют в группу коротких хромосом только последнюю — 8-ю пару [Gosalvez, Lopes-Fernandez, 1981].

С-методом дифференциального окрашивания было показано, что в прицентромерных районах всех хромосом изученных подвидов сибирской кобылки локализованы крупные блоки С-гетерохроматина (рис. 6). На двуплечих хромосомах видно, что эти блоки не являются истинно центромерными, а локализованы в околоцентромерной области обоих плечей. По визуальной оценке количества прицентромерного гетерохроматина *Ae. s. sibiricus* и *Ae. s. caucasica* отличаются большим содержанием гетерохроматина от представителей родов *Myrmeleotettix* I. Bol., *Stenobothrus* Fisch., *Omocestus* I. Bol. и основной части рода *Chorthippus* Fieb., для которых характерен прицентромерный блок меньших размеров [Gallagher et al., 1973; Jones et al., 1975; Santos et al., 1983]. По количеству прицентромерного гетерохроматина сибирская кобылка приближается к *Stauroderus scalaris* (F.-W), у которого самые крупные блоки среди изученных видов трибы Gomphocerini [Высоцкая, 1979]. Следует отметить, что у *S. scalaris* блоки прицентромерного гетерохроматина аутосом не единичны, а состоят из отдельных хромомеров, перемежающихся эухроматиновыми участками. Это обнаруживается в первой профазе мейоза как по включению ^3H -уридина в прицентромерные районы, так и по характерному поведению С-гетерохроматиновых районов. В ходе профазы на стадиях лептотены — пахитены эти районы претерпевают некоторую деконденсацию прицентромерного С-гетерохроматина [Высоцкая, 1979]. У *Ae. s. sibiricus* в профазе I мы также наблюдали частичную деконденсацию



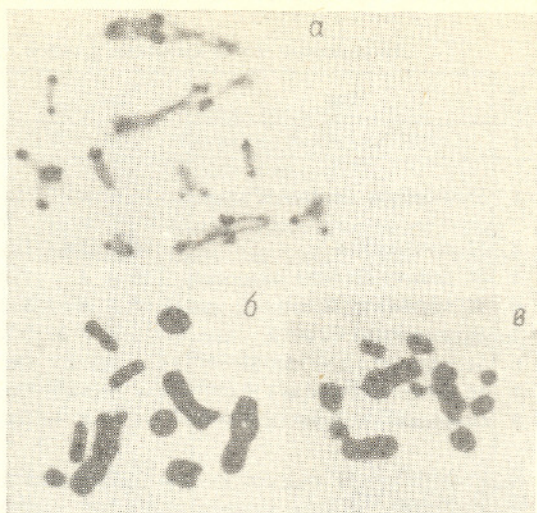
Р и с. 7. Поведение С-гетерохроматиновых районов хромосом в первом делении мейоза.
 а — лептотена; б — пахитена; в — диплотена; г — метафаза I.

прицентромерного С-гетерохроматина (рис. 7). Это позволяет предположить, что организация прицентромерных районов хромосом сибирской кобылки аналогична таковой у *Stauroderus scalaris*, т.е. прицентромерный “блок” С-гетерохроматина в хромосомах сибирской кобылки состоит из отдельных С-гетерохроматиновых узелков, сконцентрированных в центромерной области.

Для некоторых видов трибы Gomphocerini характерно наличие как облигатных, так и добавочных теломерных блоков С-гетерохроматина на коротких и средних хромосомах [Gallagher et al., 1973; Jones et al., 1975; Laurie, Jones, 1981; Santos et al., 1983; Lopez-Fernandez et al., 1986]. Мы не обнаружили теломерных блоков у изученных подвидов сибирской кобылки, однако у *Ae. s. pyrenaicus* описан полиморфизм по С-гетерохроматиновому сегменту на седьмой хромосоме [Gozalvez, Lopez-Fernandez, 1981].

Кроме того, кариотипический полиморфизм у саранчовых семейства Acrididae часто связан с наличием добавочных (В) хромосом. Не является исключением и сибирская кобылка. В-хромосомы описаны в популяциях пиренейского подвида [Gozalvez, Lopez-Fernandez, 1981; Lopez-Fernandez et al., 1986]. Обнаружены они и нами у трех особей *Ae. s. sibiricus* из 24 изученных (рис. 8).

Р и с. 8. Добавочные хромосомы у сибирской кобылки.
 а — С-метод дифференциального окрашивания; б, в — окраска ацетоорсеином. По размерам, локализации и содержанию гетерохроматина В-хромосомы не отличаются от хромосом 5-й пары (а). В мейозе они также формируют биваленты (стрелки).



Помимо традиционных кариотипических признаков (число и морфология хромосом, характер дифференциальной окраски), важной характеристикой кариотипа может служить показатель средней частоты хиазм на мейоти-

ческую клетку, так как показано, что частота и тип локализации хиазм подвержены популяционной изменчивости и, следовательно, являются видовыми признаками [Высоцкая и др., 1983]. При сравнении значений этого признака у *Ae. s. sibiricus* и *Ae. s. pyrenaicus* достоверных различий не обнаружено (табл. 1). У *Ae. s. caucasicus* средняя частота хиазм и ее дисперсия оказываются несколько выше, однако о достоверности этих различий судить пока невозможно из-за того, что исследована недостаточно репрезентативная выборка из единственной точки в пределах ареала подвида.

Детальное исследование морфологии кариотипа сибирской кобылки номинативного и кавказского подвигов становится в ряд аналогичных работ по кариологии представителей трибы Gomphocerini, изученной в этом отношении наиболее полно. Подавляющее большинство изученных видов имеют 17-хромосомные кариотипы. Известны также виды, в хромосомных наборах которых 23 акроцентрические хромосомы (табл. 2, № 15—18, 35) и 21 хромосома (табл. 2, № 30). В кариотипе последнего вида 1-я пара хромосом

Т а б л и ц а 1

Частота хиазм в различных популяциях трех подвигов сибирской кобылки

Подвид	Изучено особей	Средняя частота	Дисперсия
<i>Ae. s. sibiricus</i> (Тува)	12	15,79	1,925
<i>Ae. s. caucasicus</i>	4	17,62	2,279
<i>Ae. s. pyrenaicus</i>			
популяция I	11	15,46	1,313
популяция II	21	15,85	2,010
популяция III	15	16,25	1,652

П р и м е ч а н и е. Средние значения для популяций *Ae. s. pyrenaicus* рассчитаны по данным для отдельных особей [Gosalvez, Lopez-Fernandez, 1981].

Диплоидные числа хромосом у видов трибы Gomphocerini

№ п/п	Вид	2n ^c	Литературная ссылка
1	2	3	4
1	<i>Stenobothrus lineatus</i> (Panz.)	16 + X	[Hewitt, 1964; Кикнадзе, Высоцкая, 1970]
2	<i>St. eurasius</i> Zub.	16 + XY	[Бугров, Высоцкая, 1981]
3	<i>St. festivus</i> (I. Bol.)	16 + X	[Santos et al., 1983]
4	<i>St. stigmaticus</i> (Ramb.)	16 + X	Santos et al., 1983
5	<i>St. grammicus</i> Cazorro	16 + X	[Cabrero, Camacho, 1986]
6	<i>St. nigromaculatus</i> (H.-S.)	14 + neo-XY	[John, Hewitt, 1970]
7	<i>St. rubicundus</i> (Germ.)	14 + neo-XY	[John, Hewitt, 1968]
8	<i>Omocestus viridulus</i> (L.)	16 + X	[Hewitt, 1964; Кикнадзе, Высоцкая, 1970]
9	<i>O. panteli</i> (I. Bol.)	16 + X	[Santos et al., 1983]
10	<i>O. bolivari</i> (Chop.)	16 + X	[Camacho et al., 1981]
11	<i>O. raymondi</i> [Yersin]	16 + X	[Cabrero, Camacho, 1986]
12	<i>O. minutissimus</i> (I. Bol.)	16 + X	[Santos et al., 1983]
13	<i>Omocestus llorentae</i> Pascual	16 + X	[Cabrero, Camacho, 1986]
14	<i>O. haemorrhoidalis</i> (Charp.)	16 + X	[Бугров и др., 1987]
15	<i>Myrmeleotettix maculatus</i> (Thunb.)	16 + X	[Eisentraut, 1926; Barker, 1960]
16	<i>M. palpalis</i> (Zub.)	16 + X	[Бугров, Высоцкая, 1981]
17	<i>Gomphocerus rufus</i> (L.)	16 + X	[Carlson, 1936; Бугров и др., 1987]
18	<i>Dasychippus barbipes</i> (F.-W.)	22 + X	[Бугров и др., 1987]
19	<i>Aeropedellus clavatus</i> (Thom.)	22 + X	[Carlson, 1936]
20	<i>Ae. variegatus</i> (F.-W.)	22 + X	[Бугров, Высоцкая, 1981]
21	<i>Pezochippus callosus</i> (Uv.)	22 + X	[Бугров и др., 1987]
22	<i>Stauroderus scalaris</i> (F.-W.)	16 + X	[Corey, 1933; Кикнадзе, Высоцкая, 1970]
23	<i>Chorthippus aethalinus</i> (Zub.)	16 + X	[Бугров и др., 1987]
24	<i>Ch. binotatus</i> (Charp.)	16 + X	[Santos et al., 1983]
25	<i>Ch. jucundus</i> (Fisch.)	16 + X	[Santos et al., 1983]
26	<i>Ch. vagans</i> (Ev.)	16 + X	[Santos et al., 1983; Camacho, Cabrero, 1986]
27	<i>Ch. brunneus</i> (Thunb.)	16 + X	[Darlington, 1936]
28	<i>Ch. biguttulus</i> (L.)	16 + X	[Klingstedt, 1939]
29	<i>Ch. apicalis</i> (H.-S.)	16 + X	[Santos et al., 1983]
30	<i>Ch. famatus</i> (Shir.)	16 + X	[Inoue, 1975]
31	<i>Ch. kiyosawai</i> Furuikava	16 + X	[Yamasaki, 1968]
32	<i>Ch. supranimbus</i> Yamasaki	16 + X	[Yamasaki, 1968]
33	<i>Ch. kurilensis yamato</i> Yamasaki	16 + X	[Yamasaki, 1968]
34	<i>Ch. latipennis</i> (Bol.)	16 + X	[Inoue, 1973]
35	<i>Ch. dorsatus</i> (Zett.)	16 + X	[Cabrero, Camacho, 1986]
36	<i>Ch. nevadensis</i> Pascual	16 + X	[Cabrero, Camacho, 1986]
37	<i>Ch. apricarius</i> (L.)	16 + X	[Кикнадзе, Высоцкая, 1970]

1	2	3	4
38	<i>Ch. intermedius</i> (D.-Bienko)	16 + X	[Бугров, Высоцкая, 1981]
39	<i>Ch. hammarstroemi</i> (Mir.)	20 + X	[Кикнадзе, Высоцкая, 1970]
40	<i>Ch. schmidti</i> (Ikonn.)	22 + X	[Бугров и др., 1987]
41	<i>Ch. montanus</i> (Charp.)	16 + X	[Бугров, Высоцкая, 1981]
42	<i>Ch. parallelus</i> (Zett.)	16 + X	[Barker, 1960; John, Hewitt, 1966]
43	<i>Ch. albomarginatus</i> (De G.)	16 + X	[John et al., 1960; Бугров, Высоцкая, 1981]
44	<i>Ch. dichrous</i> (Ev.)	16 + X	Наши данные
45	<i>Euchorthippus pulvinatus</i> (F.-W.)	16 + X	[Ferrer et al., 1980; Бугров, Высоцкая, 1981]
46	<i>E. Albolineatus</i> (Luc.)	16 + X	[Santos et al., 1983]
47	<i>E. chopardi</i> Desc.	16 + X	[Cabrero, Camacho, 1986]

метацентрическая. Так как показано, что основная тенденция эволюции кариотипов саранчовых — уменьшение числа хромосом с увеличением доли суб- и метацентрических хромосом в кариотипе, то можно предполагать, что 23-хромосомные виды трибы Gomphocerini — исходные в этой группе родов, а 17-хромосомные — позже возникшие в эволюции трибы. 21-хромосомный кариотип *Chorthippus hammarstroemi* (Mir.) можно рассматривать, по-видимому, как промежуточный.

Учитывая, что фауна Gomphocerini Северной Палларктики остается еще слабо изученной в цитогенетическом плане, следует ожидать, что в дальнейшем будут обнаружены промежуточные типы хромосомных наборов. Не исключена вероятность, что изменение исходного числа хромосом может идти путем образования нео-XY-механизма определения пола, как это показано для двух видов рода *Stenobothrus* Fisch. (табл. 2, № 4, 5).