

УДК 576.316.2:595.727

© 1996 г. Л.В. ВЫСОЦКАЯ, Д.Ч. СТЕПАНОВА

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ХИАЗМ В БИВАЛЕНТАХ  
НА СТАДИИ ПОЗДНЕЙ ПРОФАЗЫ МЕЙОЗА ДЛЯ ОЦЕНКИ  
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ САРАНЧОВЫХ ТРИБЫ BRYODEMINI  
(ORTHOPTERA, ACRIDIDAE)**

Тип распределения хиазм определяется в первую очередь особенностями синапсиса гомологов, который принципиально одинаков у всех изученных видов трибы: хромосомы 10-й пары синаптируют по всей длине, 9-й и 11-й – только в дистальном и срединном районах. Гетерохроматин, количество и локализация которого различны у разных видов, вносит незначительные изменения в распределения рекомбинационных обменов. Он уменьшает вероятность возникновения хиазмы непосредственно в месте своей локализации, но не влияет на рекомендацию в прилежащих к нему районах. На основе распределения гетерохроматина и образования хиазм в дистальных районах длинных и средних бивалентов построена кладограмма, позволяющая судить о филогенетических отношениях в трибе.

Возможности сравнительного кариологического анализа саранчовых ограничены небольшим количеством варьирующих признаков. Так, в трибе Bryodemini все изученные виды имеют одинаковое число хромосом в диплоидном наборе:  $2n\delta = 22 + XO$ ,  $2n\eta = 22 + XX$ . Длины хромосом и их распределение по размерным группам практически не отличаются у разных видов. Разнообразие локализации и размеров С-гетерохроматических блоков невелико и подчеркивает значительное сходство двух видов рода *Angaracris*, а также позволяет противопоставить *Bryodema tuberculatum* другим исследованным видам трибы (Высоцкая, Бугров, 1987).

Естественно наше стремление увеличить число сравниваемых цитогенетических параметров, включив в рассмотрение локализацию хиазм (как маркеров рекомбинационных обменов) в бивалентах во время первого мейотического деления.

В цитогенетике известны примеры использования распределения хиазм в качестве одной из характеристик кариотипа (Helwig, 1929; White, 1968). Отмечено, что их локализация может быть одинаковой у близкородственных видов (Fontana, Vickery, 1974; Гусаченко и др., 1994).

В настоящей работе приведены результаты анализа распределения хиазм у видов трибы Bryodemini и предпринята попытка использовать их, наряду с другими цитогенетическими признаками, для уточнения филогенетических связей внутри трибы.

Подсчитано среднее число хиазм на клетку и определена их локализация в бивалентах в поздней профазе мейоза у восьми видов трибы Bryodemini (табл. 1). Сведения о местах сбора насекомых опубликованы ранее (Высоцкая, Бугров, 1987). Цитологические препараты готовили и анализировали по описанным методикам (Высоцкая и др., 1990; Гусаченко и др., 1994).

У видов трибы Bryodemini локализация хиазм уникальна. Как правило, в клетке формируется 11 хиазм: по одной на бивалент, в восьми самых длинных бивалентах – в проксимальной области хромосомы (White, 1954; Высоцкая и др., 1983; Высоцкая, Бугров, 1987).

Среднее число хиазм на клетку у восьми видов трибы Bryodemini

Вид	Число изученных клеток	Число изученных особей	Средняя частота хиазм
<i>Bryodema holdereri</i> Krauss	674	10	11,34 ± 0,02
<i>B. tuberculatum tuberculatum</i> (F.)	2408	20	11,15 ± 0,01
<i>B. gebleri gebleri</i> (F.-W.)	1568	18	11,08 ± 0,01
<i>B. luctuosum</i> (Stoll.)	722	6	11,09 ± 0,02
<i>B. heptapotamicum</i> B.-Bienko	375	5	11,42 ± 0,04
<i>B. orientale</i> B.-Bienko	745	8	11,45 ± 0,02
<i>Angaracris rhodopa</i> (F.-W.)	1046	12	11,32 ± 0,03
<i>A. barabensis</i> (Pall.)	1669	18	11,24 ± 0,01

В 9–11-м бивалентах локализация выражена в меньшей степени и по-разному у различных видов. Поэтому мы, в первую очередь, проанализировали распределение хиазм в трех коротких бивалентах<sup>1</sup>.

Для 9-го и 11-го бивалентов характерно формирование хиазмы преимущественно в дистальном районе, для 10-го – ближе к проксимальной области бивалента (рис. 1).

Чем обусловлен различный характер распределений обменов в разных хромосомах? Этот вопрос был поставлен сразу, как только были описаны виды с локализованными хиазмами: *Stethophyma grossum* и *Bryodema tuberculatum* (White, 1954; Klàsterská et al., 1974). Изучение возможности влияния гетерохроматина позволило сделать вывод о том, что именно гетерохроматин определяет расположение хиазмы в строго фиксированном положении на биваленте. Так, у *B. tuberculatum* каждая из 9-й и 11-й хромосом имеет крупный прицентромерный блок С-гетерохроматина в отличие от длинных, средних и 10-й хромосом в прицентромерных районах каждой из которых находится более мелкий С-блок. Предполагалось, что этот крупный блок гетерохроматина "отодвигает" хиазму (White, 1954; Klàsterská et al., 1974).

Проанализировав распределение хиазм и гетерохроматинового материала у других видов трибы, мы обнаружили, что описанная Уайтом зависимость между крупными размерами гетерохроматиновых блоков и дистальным расположением хиазм в 9-м и 11-м бивалентах наблюдается только у *B. tuberculatum*. У *B. gebleri*, где прицентромерные блоки гетерохроматина в 10-м и 11-м бивалентах одинаково крупные, а также и у *A. rhodopa* и *A. barabensis*, где они средних размеров, характер распределения хиазм является хромосомоспецифичным и не зависит от размера С-блока (рис. 1).

В длинных и средних бивалентах у Bryodemini хиазма всегда локализуется в непосредственной близости от прицентромерного С-блока. Если этот блок двойной, то обмен может возникнуть непосредственно между двумя блоками (рис. 2).

Сравнивая распределение хиазм и гетерохроматиновых блоков, мы приходим к выводу, что наличие блока гетерохроматина препятствует формированию хиазмы непосредственно в области его локализации, но принципиально не меняет типа распределения обменов по длине бивалента. Последний, по-видимому, полностью определяется характером синапсиса гомологов.

Для *S. grossum* было показано, что восемь длинных бивалентов, имеющих проксимальную хиазму, формируют синаптонемный комплекс (СК) только в прицентромерной области, тогда как три коротких бивалента, в которых хиазма может располагаться в любом районе, синаптируют по всей длине (Fletcher, 1977; Wallace, Jones, 1978).

<sup>1</sup> У *B. tuberculatum* девятой хромосомой мы называем пятую по размерам, считая ее на основании ряда признаков гомеологичной хромосомам девятой пары остальных видов трибы Bryodemini (Высоцкая, Бугров, 1987).

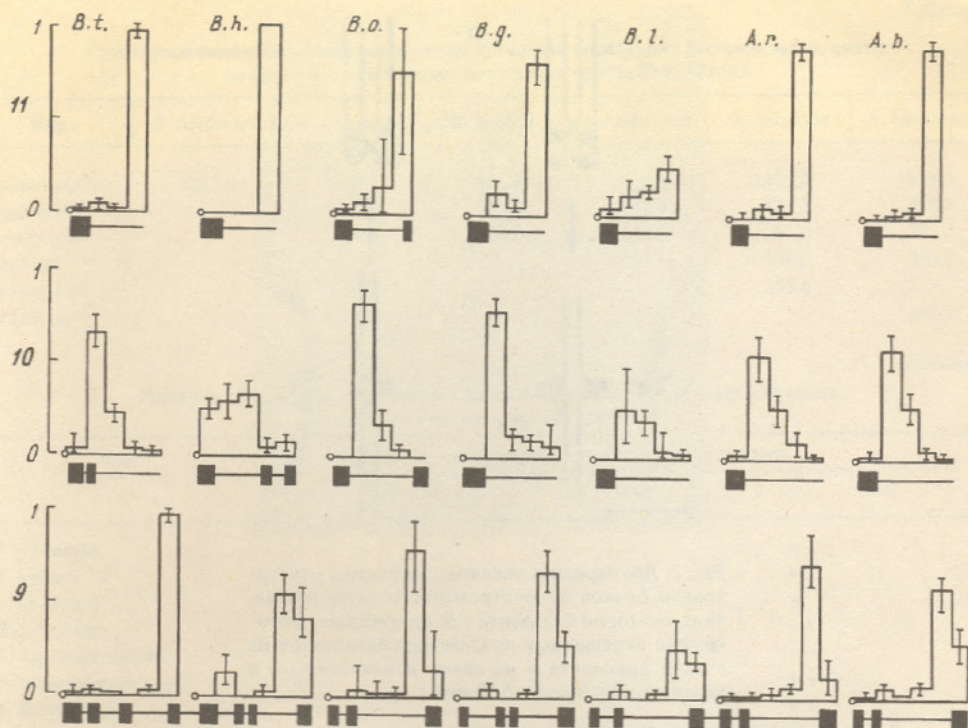


Рис. 1. Распределение хиазм в 9–11-м бивалентах у видов трибы Bryodemini. Положение центромерного района обозначено кружком, расположение гетерохроматина – черными прямоугольниками. Указан 95%-ный доверительный интервал. *B.t.* – *B. tuberculatum*, *B.h.* – *B. holdereri*, *B.o.* – *B. orientale*, *B.g.* – *B. gebleri*, *B.l.* – *B. luctuosum*, *A.r.* – *A. rhodopa*, *A.b.* – *A. barabensis*. По оси ординат – средняя частота хиазм в соответствующем районе бивалента

Мы проанализировали образование СК у Bryodemini и обнаружили аналогичную картину (рис. 3): синapsис первого – восьмого бивалентов происходит только в проксимальной области, где и возникает хиазма.

Десятый бивалент формирует СК по всей длине. В 9-м и 11-м бивалентах синapsис начинается с дистального района и распространяется в одних клетках на всю длину хромосом, в других только на срединную часть, в то время как проксимальная остается неспаренной (рис. 3).

При всем разнообразии в количестве и распределении гетерохроматина хиазмы в 9-м, 10-м и 11-м бивалентах у всех видов располагаются преимущественно одинаково: в проксимальном районе 10-го бивалента и дистальном или субдистальном районе 9-го и 11-го. Другими словами, рекомбинационные параметры хромосом оказываются более консервативными в эволюции, чем локализация и количество С-гетерохроматинного материала.

Межвидовое сравнение распределений хиазм по длине 9–11-го бивалентов с использованием суммарного значения  $\chi^2$  как меры сходства демонстрирует значительное отличие *B. tuberculatum* от других видов трибы (табл. 2). Наибольший вклад в это отличие вносит распределение хиазм в девятом биваленте. Возможно, это связано с малыми размерами дистального блока С-гетерохроматина этой хромосомы (рис. 1).

С невысокой частотой некоторые из крупных бивалентов образуют, кроме обязательной проксимальной, вторую хиазму в дистальной части бивалента. Такие биваленты имеют кольцевую форму (рис. 4). Благодаря дистальным хиазмам среднее для вида число хиазм на клетку оказывается выше 11 (табл. 1). Можно предполагать, что короткие дистальные участки некоторых крупных бивалентов способны

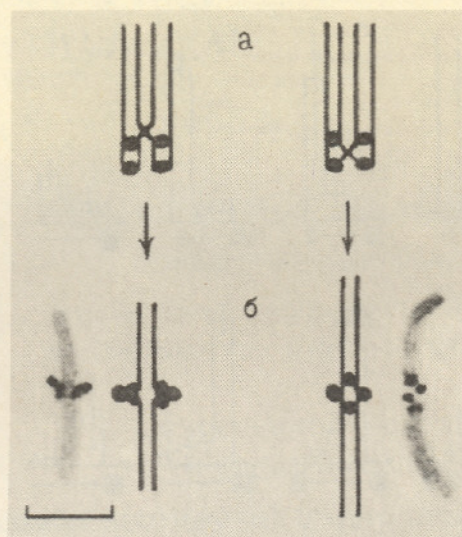


Рис. 2. Два варианта локализации хиазмы относительно блоков прицентромерного гетерохроматина во втором биваленте у *V. tuberculatum*. Фотографии окрашенных по С-методу бивалентов на стадии диакинеза и их схема в пахитене (а) и диакинезе (б). Масштаб 10 мкм

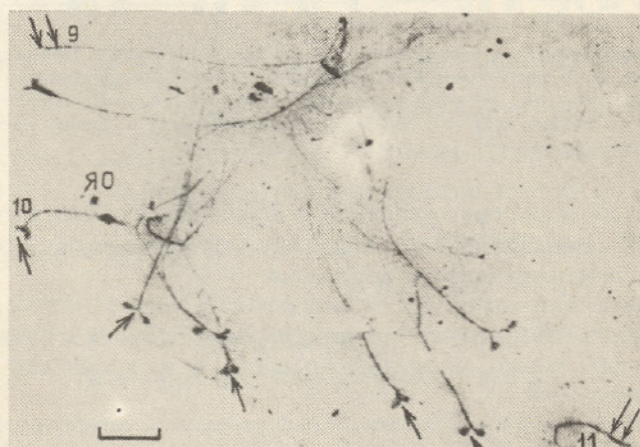


Рис. 3. Синаптомемные комплексы в сперматоцитах *V. tuberculatum*. Одиночные стрелки указывают на проксимальные районы бивалентов, двойные – на дистальные. ЯО – район ядрышкового организатора. Обозначены 9-й, 10-й и 11-й биваленты. Масштаб 10 мкм

синаптировать с образованием СК и последующей рекомбинацией. Количество таких участков невелико и, по-видимому, видоспецифично.

Возможности идентификации бивалентов различны у разных видов (Высоцкая, Бугров, 1987). У *V. holdereri* и *V. tuberculatum* первый и второй биваленты хорошо различаются по размерам прицентромерного С-блока, поэтому можно точно сказать, что у этих видов кольцевой бивалент всегда образован гомологами первой пары (рис. 4,2). У видов рода *Angaracris* первый и второй биваленты не различаются, но встречаются клетки, в которых оба самых крупных бивалента – кольцевые (рис. 4, в).

Суммарное значение  $\chi^2$ , полученное при попарных сравнениях распределений хиазм по длине 9–11-го бивалентов у видов трибы *Bryodemini*

Вид	<i>B. holdereri</i>	<i>B. orientele</i>	<i>B. gebleri</i>	<i>B. luctuosum</i>	<i>A. rhodopa</i>	<i>A. barabensis</i>
<i>B. tuberculatum</i>	1283,9	2000,7	1886,8	1106,8	2385,2	1975,2
<i>B. holdereri</i>		567,2	575,9	377,4	471,1	425,3
<i>B. orientele</i>			201,0	176,8	287,0	295,4
<i>B. gebleri</i>				285,6	368,0	350,5
<i>B. luctuosum</i>					255,6	237,7
<i>A. rhodopa</i>						162,1

Таблица 3

Наличие дополнительных хиазм в дистальных районах длинных и средних хромосом у видов трибы *Bryodemini*

Вид	Биваленты, формирующие дистальную хиазму		
	1, 2*	3, 4*	5–8
<i>B. orientele</i>	+	--	+
<i>B. gebleri</i>	+	--	+
<i>B. holdereri</i>	+–	--	+
<i>B. luctuosum</i>	+	--	++
<i>B. heptapotamicum</i>	+	+–	++
<i>B. tuberculatum</i>	+–	+–	++
<i>A. barabensis</i>	++	+	++
<i>A. rhodopa</i>	++	+	++++

\* Количество полюсов означает число бивалентов из данной размерной группы, формирующих дистальную хиазму. Если биваленты внутри размерной группы можно идентифицировать как первый и второй у *B. holdereri* и *B. tuberculatum* или третий и четвертый у *B. heptapotamicum* и *B. tuberculatum*, то они указаны.

Не имея возможности идентифицировать каждый из бивалентов первой-второй пар у других изученных видов и не встретив клеток, в которых оба бивалента были бы кольцевыми, мы не можем утверждать, один или оба бивалента формируют дополнительную хиазму. Однако, учитывая большое число проанализированных клеток, с большей вероятностью можно предполагать, что только один из двух бивалентов способен образовать дистальную хиазму или, во всяком случае, вероятность образования дополнительной хиазмы в одном из бивалентов много выше, чем в другом.

Третий и четвертый биваленты хорошо различимы у всех видов рода *Bryodema*. У *B. heptapotamicum* и *B. tuberculatum* именно третий бивалент встречается в кольцевой форме.

В группе средних бивалентов (пятый – восьмой) практически невозможно идентифицировать отдельные биваленты. В тех случаях, когда встречаются клетки с двумя, тремя или четырьмя хиазмами (как у *A. rhodopa*), можно точно сказать, что два, три или все четыре бивалента способны формировать дистальную хиазму. В остальных случаях можно лишь предполагать степень их участия в образовании кольцевых бивалентов.

В табл. 3 представлены данные о встречаемости кольцевых бивалентов.

Видно, что по признаку образования дистальной хиазмы в длинных бивалентах виды рода *Angaracris* отличаются от видов *Bryodema*. А по способности формировать хиазму в третьем-четвертом и в средних бивалентах род *Bryodema* оказывается неоднородным.

Объединив данные по распределению гетерохроматина (Высоцкая, Бугров, 1987) с результатами анализа локализации хиазм и воспользовавшись методом внегруппово-

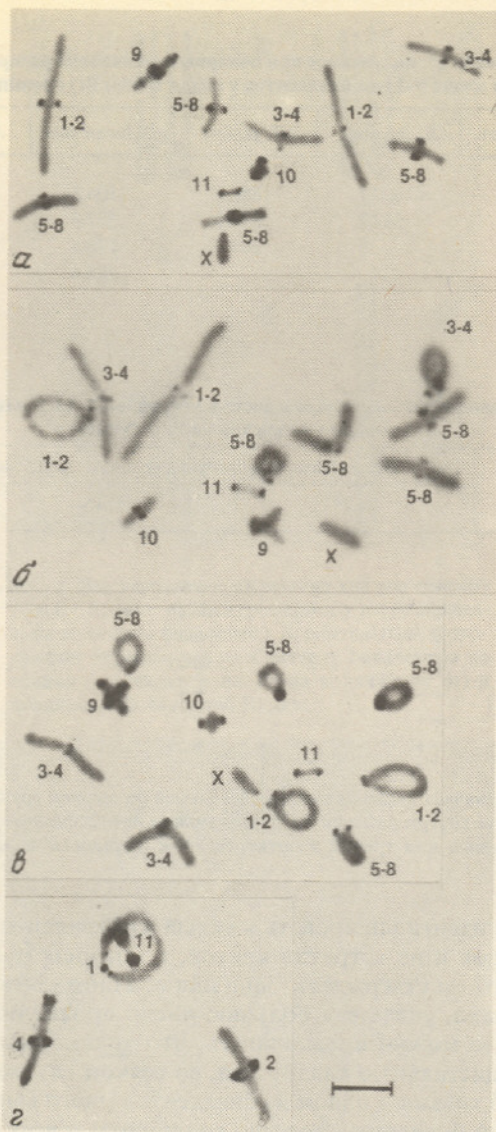


Рис. 4. Кольцевые биваленты в диакинезе – метафазе I мейоза у *Angaracris barabensis* с разным количеством кольцевых бивалентов (а – в) и – фрагмент клетки на стадии диакинеза – метафазы I *B. holdereri* (г). Указаны первый бивалент с двумя хиазмами – проксимальной и дистальной, второй и четвертый – с одной, проксимальной, 11-й – с одной, дистальной хиазмой. Масштаб 10 мкм

го сравнения (Шаталкин, 1988), мы получаем схему филогенетических отношений в трибе (рис. 5). Эта схема позволяет делать предположения о филогенетических взаимоотношениях некоторых видов в роде *Bryodema*. Обращает на себя внимание то, что группа *B. holdereri*, *B. orientale* и *B. gebleri* выделяется не по одному, а сразу по трем признакам, что, на наш взгляд, может свидетельствовать о близком родстве этих трех видов. Необходимо отметить, что данная схема противоречит классическим представлениям о взаимоотношениях в роде *Bryodema* (Bey-Bienko, 1930), согласно которым *B. holdereri* находится в близком родстве с *B. tuberculatum*, а *B. gebleri* – с *B. heptapotamicum*. Наши данные позволяют уверенно объединить *B. holdereri*

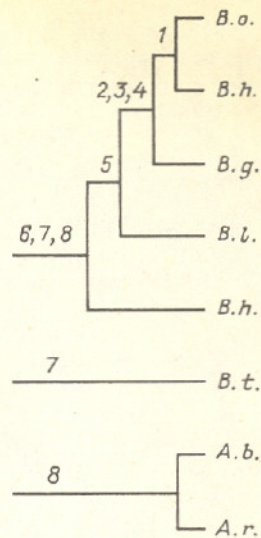


Рис. 5. Кладограмма, построенная на основе ряда цитогенетических признаков: 1 – наличие С-гетерохроматинового блока в теломерном районе 10-й хромосомы, 2 – наличие С-гетерохроматинового блока в теломерном районе четвертой-пятой хромосом, 3 – наличие С-гетерохроматинового блока в теломерном районе X-хромосомы, 4 – только один бивалент из пятого–восьмого формирует дистальную хиазму, 5 – отсутствие дистальных хиазм в третьем-четвертом бивалентах, 6 – третья и четвертая хромосомы различаются по размерам прицентромерного С-блока, 7 – только один из первого-второго бивалентов формирует дистальную хиазму, 8 – наличие теломерного С-блока на шестой–восьмой хромосомах *B. h.* – *B. heptapotamicum*, остальные обозначения – как на рис. 1

с *B. orientale* и *B. gebleri* и противопоставить их *B. tuberculatum*. В основе несоответствия степени различий морфологических и цитогенетических признаков могут лежать самые разные причины, одной из которых может быть разная скорость их эволюционных изменений.

Вопрос о филогенетическом положении *B. tuberculatum* остается открытым. В первую очередь, это связано с признаком "теломерные С-блоки в шестой – восьмой хромосомах". Их наличие у пяти видов *Bryodema* и у видов рода *Angaracris* и отсутствие у *B. tuberculatum* можно интерпретировать двояко. С одной стороны, можно противопоставить *B. tuberculatum* другим видам трибы<sup>2</sup>, тем более, что на это указывают особенности распределения С-гетерохроматинового материала по хромосомам и различия по распределению хиазм в 9–11-м бивалентах. С другой стороны, нельзя исключить, что этот признак возник параллельно в двух ветвях трибы.

Параллелизм в кариотипических преобразованиях у саранчовых уже отмечали ранее в подсемействе Acridinae (Высоцкая, 1994; Бугров и др., 1991). Важно подчеркнуть, что в этом подсемействе одно из его проявлений также связано с увеличением размеров С-гетерохроматиновых блоков. По-видимому, этот признак достаточно лабилен и применять его в кариосистематике следует осторожно. В нашем случае при построении кладограммы остались неиспользованными так называемые несовместимые признаки наличия интеркалярных блоков гетерохроматина в 9-й и 10-й хромосомах, а также различия в размерах прицентромерных С-блоков в первой и второй хромосомах.

Предложенная схема филогенетических отношений в трибе Bryodemini позволяет оценить эволюционное направление кариотипических изменений, которое заключается в уменьшении количества хромосом, способных формировать дистальные хиазмы, или, другими словами, в увеличении размеров нерекombинирующих районов хромосом. Такое направление в эволюции кариотипов саранчовых было постулировано ранее на основе сравнения таксонов ранга триб и подсемейств. Анализ видов трибы Bryodemini показывает, что в эволюции таксонов более низкого ранга направление кариотипических преобразований сохраняется.

Авторы выражают благодарность Л.В. Омелянчуку и М.Г. Сергееву за плодотворное участие в обсуждении результатов.

<sup>2</sup> Морфологическое сходство видов *Bryodema* и *Angaracris* отражает тот факт, что *A. barabensis* впервые был описан как *Bryodema* (Якобсон, 1905; приводится по: Бей-Биенко, Мищенко, 1951).

Финансирование исследований проводилось в рамках Государственной научно-технической программы "Приоритетные направления генетики" и по гранту Государственного комитета Российской Федерации по высшему образованию Б-41-4.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бей-Биенко Г.Я., Мищенко Л.Л., 1951. Саранчовые фауны СССР и сопредельных стран. Т. 1-2. М.-Л.: Изд-во АН СССР. С. 1-667.
- Бугров А.Г., Гусаченко А.М., Высоцкая Л.В., 1991. Кариотипы и С-гетерохроматиновые районы саранчовых трибы Gomphocerini (Orthoptera, Acrididae, Gomphocerinae) фауны СССР // Зоол. журн. Т. 70. Вып. 12. С. 55-63.
- Высоцкая Л.В., 1994. Закономерности эволюционных преобразований кариотипов саранчовых // Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Новосибирск: Ин-т цитол. и генетики СО РАН. С. 1-48.
- Высоцкая Л.В., Агапова О.А., Гусаченко А.М., 1990. Особенности образования синаптонемных комплексов и распределения хиазм у двух видов саранчовых // Генетика. Т. 26. № 11. С. 1953-1959.
- Высоцкая Л.В., Бугров А.Г., 1987. Сравнительно-кариологический анализ саранчовых трибы Bryodemini (Orthoptera, Acrididae) фауны СССР // Зоол. журн. Т. 66. Вып. 8. С. 1189-1195.
- Высоцкая Л.В., Бугров А.Г., Стебаев И.В., 1983. Частота хиазм как цитогенетический критерий эволюционных отношений в семействе Acrididae // Журн. общ. биол. Т. 44. № 4. С. 480-490.
- Гусаченко А.М., Агапова О.А., Высоцкая Л.В., 1994. Рекомбинационные параметры некоторых 23-хромосомных видов саранчовых // Генетика. Т. 30. № 6. С. 801-805.
- Шаталкин А.И., 1988. Биологическая систематика. М.: Изд-во Моск. ун-та. С. 1-184.
- Bey-Bienko G., 1930. A monograph of the genus *Bryodema* Fieb. (Orthoptera, Acrididae) and its nearest allies // Ежегодн. Зоол. муз. АН СССР. Т. 31. Вып. 1. С. 65-128.
- Fletcher H.L., 1977. Localised chiasmata due to partial pairing: a 3D reconstruction of synaptonemal complexes in male *Stethophyma grossum* // Chromosoma. V. 65. № 3. P. 247-269.
- Fontana P.G., Vickery V.R., 1974. Heterochromatin content and chiasma distribution in the megameric chromosome of *Stethophyma gracile* and *Stethophyma lineatum* (Orthoptera: Acrididae) // Chromosoma. V. 46. № 4. P. 375-396.
- Helwig E.R., 1929. Chromosomal variations correlated with geographical distribution in *Circotettix verruculatus* (Orthoptera) // J. Morphol. V. 47. № 1. P. 1-36.
- Klãsterskã I., Nataraja A.T., Ramel C., 1974. Heterochromatin distribution and chiasma localization in the grasshopper *Bryodema tuberculata* (Fabr.) (Acrididae) // Chromosoma. V. 44. № 4. P. 393-404.
- Wallace B.M.N., Jones G.H., 1978. Incomplete chromosome pairing and its relation to chiasma localisation in *Stethophyma grossum* spermatocytes // Heredity. V. 40. № 3. P. 385-396.
- White N.J.D., 1954. An extreme form of chiasma localization in a species of *Bryodema* (Orthoptera, Acrididae) // Evolution. V. 8. № 4. P. 350-358. - 1964. Karyotypes and nuclear size in the spermatogenesis of grasshoppers belonging to the subfamilies Gomphomastacinae, Chininae and Biroellinae (Orthoptera, Eumastacidae) // Caryologia. V. 21. № 2. P. 167-179.

Новосибирский  
государственный университет

Поступила в редакцию  
6 февраля 1995 г.

L.V. VYSOTSKAYA, D.Ch. STEPANOVA

#### USE OF CHIASMA DISTRIBUTION IN BIVALENTS AT THE STAGE OF LATE MEIOSIS PROPHASE FOR ESTIMATING PHYLOGENETIC RELATIONS OF GRASSHOPPERS FROM THE TRIBE BRYODEMINI (ORTHOPTERA, ACRIDIDAE)

Novosibirsk State University, Russia

#### S u m m a r y

Chiasma distribution and formation of a synaptonemal complex in species of the tribe Bryodemini are analysed. The type of chiasma distribution is primarily due to peculiarities of homologue synapsis. The type of meiotic synapsis is similar in different species of the tribe: homologues of the 1st-8th pairs are in proximal area of chromosomes; chromosomes of the 10th pair form the synaptonemal complex along the bivalents; the 9th and 11th bivalents are only in distal and medial parts of the bivalents. The amount and disposition of heterochromatin differ in the species studied. Heterochromatin weakly affects the recombinational interchanges. The cladogram characterizing interrelations in the tribe was constructed basing on the data on distribution of heterochromatin and formation of distal and medial bivalents.