

Статья поступила в редакцию 1.09.2017 г.

Гуляева О.Н., Высоцкая Л.В.

Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний,  
г. Новокузнецк, Россия  
Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,  
г. Новосибирск, Россия

## ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭВОЛЮЦИИ КАРИОТИПА НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ СЕМЕЙСТВА ACRIDIDAE

**Предмет исследования (наблюдения).** Кариотип 17-хромосомных видов саранчовых (семейство Acrididae).

**Цель исследования.** Изучение путей эволюции кариотипа на основе анализа филогенетических связей саранчовых (семейство Acrididae).

**Материал и методы.** В световом микроскопе OLYMPUS BX 50 анализировали давленные дифференциально окрашенные препараты хромосом двенадцати 17-хромосомных видов семейства Acrididae.

**Результаты.** При анализе величины центромерного индекса первой хромосомы выявлено, что виды *Euthystira brachyptera*, *Podismopsis roppiusi* из трибы *Chrysochraontini* и вид *Euchorthippus pulvinatus* из трибы *Gomphocerini* имеют субметацентрическую первую хромосому, которая достоверно не отличается от второй хромосомы. При анализе величины центромерного индекса второй хромосомы выявлена обособленность трех видов (*Glyptobothrus biguttulus*, *Gomphocerus rufus* и *Stauroderus scalaris*) от остальных видов трибы *Gomphocerini*. Данные виды демонстрировали повышенное значение центромерного индекса второй хромосомы. Обнаружено взаимное повышение центромерного индекса первой и второй хромосом у этих видов.

**Заключение.** Выявлено филогенетическое родство вида *Euchorthippus pulvinatus* из трибы *Gomphocerini* с характерными представителями трибы *Chrysochraontini*, свидетельствующее о том, что в ходе кариотипической эволюции у представителей данных триб в робертсоновские слияния вступали разные хромосомы.

Взаимное повышение центромерного индекса первой и второй хромосом у трех видов трибы Gomphocerini свидетельствует о том, что все хромосомы кариотипа эволюционируют как единое целое. Размер хромосом определяет упорядоченное их расположение в интерфазном ядре и является одним из основных факторов естественного отбора. Экстраполяция данных о механизмах эволюции кариотипа саранчовых на человеческую популяцию дает возможность использовать новые медико-генетические технологии для решения приоритетных задач по снижению числа социально значимых заболеваний, в основе которых лежит увеличивающееся агрессивное воздействие на человека современной техногенной нагрузки.

**Ключевые слова:** эволюция; кариотип; центромерный индекс; саранчовые.

**Gulyaeva O.N., Vysotskaya L.V.**

*Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia,  
Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

#### **STUDY OF THE PECULIARITIES OF THE EVOLUTION OF KARYOTYPE BASED ON THE ANALYSIS OF PHYLOGENETIC RELATIONS OF THE ACRIDIDAE FAMILY**

**Subject.** Karyotype of 17-chromosome species of grasshoppers (the Acrididae family).

**Objective.** Studying the ways of karyotype evolution on the basis of the analysis of phylogenetic relations of grasshoppers (the Acrididae family).

**Materials and methods.** In the OLYMPUS BX 50 light microscope, the crushed differentially colored chromosome preparations of the twelve 17-chromosome species of the Acrididae family were analyzed.

**Results.** The analysis of the value of centromeric index of the first chromosome revealed that the species *Euthystira brachyptera*, *Podismopsis poppius* from the *Chrysochraontini* tribe and the *Euchorthippus pulvinatus* species from the Gomphocerini tribe have a submetacentric first chromosome that does not reliably differ from the second chromosome. The analysis of the centromeric index of the second chromosome revealed the isolation of three species (*Glyptobothrus biguttulus*, *Gomphocerus rufus* and *Stauroderus scalaris*) from the other species of the Gomphocerini tribe. These species showed the increased value of the centromeric index of the second chromosome. The mutual increase in the centromeric index of the first and the second chromosomes in these species was detected.

**Conclusions.** The phylogenetic affinity of the *Euchorthippus pulvinatus* species from the Gomphocerini tribe with the characteristic representatives of the *Chrysochraontini* tribe was revealed which indicates that during the karyotypic evolution of the representatives of these tribes, Robertson's confluences included different chromosomes.

The mutual increase in the centromeric index of the first and the second chromosomes in three species of the Gomphocerini tribe testifies that all the karyotype chromosomes evolve as a single whole. The size of chromosomes determines their ordered location in the interphase nucleus and is one of the main factors of natural selection. Extrapolation of data on the mechanisms of the evolution of grasshopper karyotypes to the human population makes it possible to use new medical genetic technologies for solving the priority problems to reduce the number of socially significant diseases which are based on the increasing aggressive impact of contemporary technogenic load on human.

**Key words:** evolution; karyotype; centromeric index; grasshoppers.

**А**нализ генетической структуры популяций различных организмов, в том числе и человека, имеет важное медико-генетическое значение в понимании путей адаптации к изменению окружающей среды, в том числе антропогенного характера. В этих условиях важное значение приобретает поиск наиболее корректных экспериментальных моделей для изучения вариантов ответа молекулярно-генетического аппарата на воздействие химических веществ, имеющих мутагенное, канцерогенное и тератогенное действие. Одной из наиболее удачных групп для таких исследований являются насекомые, так как они обладают высокой численностью и плодотворностью. Особый интерес представляют саранчовые, имеющие довольно консервативный кариотип с небольшим числом хромосом и хорошо изученные в цитогенетическом плане [1, 2].

Саранчовые (Acrididae) – большая группа насекомых, встречающаяся практически во всех экосистемах. Кариотип представлен небольшим количеством

крупных хромосом, которые активно изучаются с начала прошлого века. В последнее время появились молекулярные исследования [3, 4], позволившие иначе взглянуть на филогенетические отношения многочисленных групп этого семейства и пересмотреть некоторые аспекты эволюции кариотипа саранчовых.

В семействе саранчовых представлены виды, кариотипы которых состоят из акроцентрических хромосом, и виды с акро- и метацентрическими хромосомами в кариотипе. Рассуждения о кариотипической эволюции в этой группе животных строились в основном на сравнении числа хромосом и путей хромосомных преобразований за счет робертсоновских слияний, а собственно размер хромосом и хромосомных плеч практически не анализировался. Выявив на основе сравнения этих параметров родственные связи изучаемых видов, можно предположить пути эволюции кариотипа данной группы.

В этой связи **целью исследования** явилось изучение путей эволюции кариотипа на основе филогенетических связей саранчовых (семейство Acrididae).

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В кариологический анализ были включены двенадцать 17-хромосомных видов из семейства Acridi-

#### **Корреспонденцию адресовать:**

ГУЛЯЕВА Ольга Николаевна.

654041, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, д. 23.

ФГБНУ «НИИ КППЗ».

Тел.: +7-903-984-87-04.

E-mail: gulyaich1973@mail.ru

пае, собранные на юге Западной Сибири и Дальнего Востока.

После отлова насекомым вводили 0,1 % раствор колхицина, через 1-1,5 часа из брюшка извлекали семенники. После этого насекомых замаривали, этикетировали и хранили в сухой коллекции. Семенники обрабатывали гипотоническим раствором 0,9 % цитрата натрия в течение 15-20 минут. После этого их фиксировали в смеси этанола и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3 : 1 в течение 30-40 минут. Далее семенники трижды отмывали в 70 %-м этаноле, после чего хранили при 4°C.

Для микроскопического анализа давленные препараты готовили по стандартной методике [5]. Высушенные препараты дифференциально окрашивали по С-методу, предложенному для саранчовых [6], с некоторыми модификациями. Препараты помещали на 15 минут в 0,1 % раствор соляной кислоты для частичного обесцвечивания цитоплазмы. Затем ополаскивали дистиллированной водой и обрабатывали насыщенным раствором гидроксида бария в течение 7 минут при 60°C. После тщательной промывки препарата проточной и дистиллированной водой его помещали в двукратный стандартный солевой раствор (2 × SSC) и инкубировали в течение 1,5 часов при 60°C. В дальнейшем препарат высушивали и окрашивали раствором красителя Giemsa.

Препараты анализировали в световом микроскопе OLYMPUS BX50.

Анализировали в основном мейотические хромосомы, реже митотические, что связано с наибольшей доступностью первых. Измерения проводили не менее чем в 20 клетках, принадлежащих 2-3 особям. Соотношение длин плеч рассматривали через анализ центромерного индекса хромосом. В статистическом анализе использовали критерий Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проанализированные виды принадлежат к двум трибам Gomphocerini и Chrysochraontini семейства Acrididae.

При анализе длины и морфологии хромосом (табл.) изученные виды показали довольно высокий консерватизм этих критериев. Хромосомы всех видов, кроме двух, разбились по схеме: 3 пары крупных двуплечных хромосом, половая акроцентрическая X-хромосома, 3 пары средних акроцентрических хромосом и две пары мелких акроцентрических хромосом. Исключение составили два вида: *Stenobothrus eurasius*, для которого описана нео-XY система определения пола и соответственно 16-хромосомный кариотип, причем в слияние с половой хромосомой вступила, видимо, одна из мелких акроцентрических хромосом [7]. И *Euchorthippus pulvinatus*, у которого мы

обнаружили четыре пары метацентрических хромосом, причем одна из них по размерам попадает в группу средних хромосом. Не исключено, что это результат инверсии.

Анализируя центромерный индекс длинных двуплечных хромосом у проанализированных видов, можно выделить следующие закономерности:

1. Виды двух изученных триб четко делятся на две группы по величине центромерного индекса первой хромосомы. Первая группа имеет субметацентрическую первую хромосому, которая достоверно не отличается от второй хромосомы, также представленной субметацентриком. Это виды *Euthystira brachyptera*, *Podismopsis poppiusi* из трибы *Chrysochraontini* и вид *Euchorthippus pulvinatus* из трибы *Gomphocerini*. Все остальные изученные представители трибы *Gomphocerini* имеют метацентрическую первую хромосому, достоверно отличающуюся по величине центромерного индекса от второй. В пользу схождения кариотипов *Euchorthippus pulvinatus* и видов трибы *Chrysochraontini* свидетельствует изучение и других хромосомных характеристик. В частности, в мейозе у этих видов обнаружены в два раза более длинные синаптонемные комплексы по сравнению с изученными видами трибы *Gomphocerini*. Этот факт указывает на принципиальные различия в организации хроматина.
2. При анализе величины центромерного индекса второй хромосомы все изученные виды разделились на две группы. Однако теперь обособились три вида из трибы *Gomphocerini*: *Glyptobothrus biguttulus*, *Gomphocerus rufus* и *Stauroderus scalaris*. На фоне субметацентрической второй хромосомы всех остальных видов, эти три вида демонстрируют повышенное значение центромерного индекса данной хромосомы, причем настолько значительное, что на первый взгляд ее можно принять за метацентрическую. Однако при этом вторая хромосома этих видов достоверно отличается от первой, которая тоже представлена метацентриком, поскольку именно у этих видов наблюдается наибольшее значение данного параметра для первой хромосомы по сравнению со всеми остальными видами. Таким образом, мы наблюдаем как бы взаимное повышение центромерного индекса первой и второй хромосом у этих видов. Это может свидетельствовать в пользу того, что все хромосомы кариотипа эволюционируют как единое целое, поэтому изменения размеров плеч в одной хромосоме влекут за собой изменения размеров плеч в других хромосомах.
3. При анализе параметров центромерного индекса третьей хромосомы какие-либо закономерности не выявлены.

### Сведения об авторах:

ГУЛЯЕВА Ольга Николаевна, ст. науч. сотрудник, лаборатория популяционной генетики, ФГБНУ «НИИ КПППЗ», г. Новокузнецк, Россия.

E-mail: gulyaich1973@mail.ru

ВЫСОЦКАЯ Людмила Васильевна, доктор биол. наук, профессор, зав. кафедрой цитологии и генетики, ФГАОУ ВО «НГУ», г. Новосибирск, Россия.

Таблица

Центромерный индекс трех метацентрических хромосом двенадцати 17-хромосомных видов семейства Acrididae

Table

Centromeric index of three metacentric chromosomes of twelve 17-chromosome species of the Acridinae subfamily

№	Название вида	Кариотип	№ хромосомы	Центромерный индекс	Оценка достоверности отличия 1-й и 2-й хромосом	Оценка достоверности отличия 1-й и 3-й хромосом
1.	Euchorthippus Pulvinatus (F.d.W)	L1-3 двуплечие, X, M4 двуплечие, M5-6 ахро	L1meta	0,340	0,402	0,32
			L2meta	0,344		
			L3meta	0,344		
2.	Euthystira brachyptera (Osc.)	L1-3 двуплечие, X, M4-6 ахро, S7-8 ахро	L1meta	0,312	1,624	1,072
			L2meta	0,336		
			L3meta	0,336		
3.	Podismopsis poppiusi (Mir.)	L1-3 двуплечие, X, M4-6 ахро, S7-8 ахро	L1meta	0,335	0,313	3,253***
			L2meta	0,339		
			L3meta	0,375		
4.	Stenobothrus eurasius (Zub.)	L1-3 двуплечие, M4-6 ахро, S7-ахро, XY	L1meta	0,391	4,955***	3,796***
			L2meta	0,345		
			L3meta	0,333		
5.	Stenobothrus lineatus (Panz.)	L1-3 двуплечие, X, M4-6 ахро, S7-8 ахро	L1meta	0,397	7,587***	0,527
			L2meta	0,328		
			L3meta	0,392		
6.	Omocestus viridulus (L.)	L1-3 двуплечие, X, M4-6 ахро, S7-8 ахро	L1meta	0,401	6,744***	4,005***
			L2meta	0,342		
			L3meta	0,357		
7.	Chorthippus curtipennis (Harris.)	L1-3 двуплечие, X, M4-6 ахро, S7-8 ахро	L1meta	0,403	7,384***	0,313
			L2meta	0,353		
			L3meta	0,406		
8.	Glyptobothrus biguttulus (L.)	L1-3 двуплечие, X, M4-6 ахро, S7-8 ахро	L1meta	0,423	4,315***	0,852
			L2meta	0,383		
			L3meta	0,409		
9.	Gomphocerus rufus (L.)	L1-3 двуплечие, X, M4-6 ахро, S7-8 ахро	L1meta	0,429	5,989***	2,023**
			L2meta	0,381		
			L3meta	0,412		
10.	Aeropus sibiricus (L.)	L1-3 двуплечие, X, M4-6 ахро, S7-8 ахро	L1meta	0,408	6,681***	0,637
			L2meta	0,346		
			L3meta	0,402		
11.	Stauroderus scalaris (F.d.W.)	L1-3 двуплечие, X, M4-6 ахро, S6-7 ахро	L1meta	0,448	8,785***	4,864***
			L2meta	0,38		
			L3meta	0,404		
12.	Chorthippus albomarginatus (De Geer)	L1-3 meta, X, M4-6 ахро, S7-8 ахро	L1meta	0,392	6,203***	2,035*
			L2meta	0,348		
			L3meta	0,366		

Примечание: Процентные точки распределения Стьюдента: \* - 5 %; \*\* - 1 %; \*\*\* - 0,01 %.

Note: Percentage points of the Student's distribution: \* - 5 %; \*\* - 1 %; \*\*\* - 0.01 %.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Цитогенетические данные свидетельствуют о явном филогенетическом родстве вида *Euchorthippus pulvinatus*, традиционно включаемого систематиками в трибу *Gomphocerini* [8], с харак-

### Information about authors:

GULYAEVA Olga Nikolaevna, senior research associate, the laboratory of population genetics, Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, Novokuznetsk, Russia. E-mail: gulyaich1973@mail.ru

VYSOTSKAYA Lyudmila Vasilyevna, Doctor of Biology, Professor, head of the chair of cytology and genetics, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia.

терными представителями трибы *Chrysochraontini*.

2. На основании измерения соотношения хромосомных плеч у видов, кариотипы которых представлены 17-хромосомными наборами, можно выдвигать предположение, что у представителей триб *Gomphocerini* и *Chrysochraontini* в робертсоновские слияния вступали разные хромосомы.

Любые изменения кариотипа, как ответная реакция организма на воздействие факторов окружающей

среды, должны пройти длительный этап естественного отбора, чтобы закрепиться в гомозиготном состоянии. Поэтому экстраполяция знаний об особенностях эволюции кариотипа данной экспериментальной модели на человека дает возможность использовать новые медико-генетические технологии для решения приоритетных задач по снижению численности социально значимых заболеваний, в основе которых лежит увеличивающееся агрессивное воздействие на человека современной техногенной нагрузки.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES:

1. Vysotskaya LV. Mechanisms of evolutionary transformations of the karyotypes of the locust. Dr. med. sci. abstracts diss. Novosibirsk, 1993. 52 p. Russian (Высоцкая Л.В. Закономерности эволюционных преобразований кариотипов саранчовых: автореф. дис. ...докт. биол. наук. Новосибирск, 1993. 52 с.)
2. Bugrov AG. Grasshoppers karyotypes of Russia and adjacent territories. *Eurasian entomological journal*. 2010; 9(2): 169-179. Russian (Бугров А.Г. Кариотипы саранчовых России и сопредельных территорий //Евразийский энтомологический журнал. 2010. Т. 9, № 2. С. 169-179.)
3. Gulyaeva ON, Vysotskaya LV, Sergeev MG. Taxonomic and phylogenetic relationships of the Holarctic grasshoppers (Orthoptera, Acrididae): a new view on old problems. *Eurasian entomological journal*. 2005; 4(2): 87-94. Russian (Гуляева О.Н., Высоцкая Л.В., Сергеев М.Г. Таксономические и филогенетические отношения саранчовых (Orthoptera, Acrididae) Голарктики: новый взгляд на старые проблемы //Евразийский энтомологический журнал. 2005. Т. 4, № 2. С. 87-94.)
4. Zhang X, Hao J, Xia YU, Chang Y, Zhang D, Yin H. Molecular Phylogenetic analysis of the Orthoptera (Arthropoda, Insecta) based on Hexamerin sequences. *Zootaxa*. 2017 Feb; 20: 4232-4234.
5. Roksin GI, Levinson LB. Microscopic technique. 3d ed. Moscow: Soviet science Publ., 1957. 467 p. Russian (Роксин Г.И., Левинсон Л.Б. Микроскопическая техника. 3-е изд. М.: Советская наука, 1957. 467 с.)
6. Jones GB, Stamford WK, Perry PE. Male and female meiosis in grasshoppers. II. *Chorthippus brunneus*. *Chromosoma (Berl.)*. 1975; 51(4): 381-390.
7. Bugrov AG, Gusachenko AM, Vysotskaya LV. Karyotypes and C-heterochromatin regions of grasshoppers of the tribe Gomphocerini (Orthoptera, Acrididae, Gomphocerinae) in the USSR fauna. *Zoological journal*. 1991; 70(12): 55-63. Russian (Бугров А.Г., Гусаченко А.М., Высоцкая Л.В. Кариотипы и С-гетерохроматиновые районы саранчовых трибы Gomphocerini (Orthoptera, Acrididae, Gomphocerinae) фауны СССР //Зоологический журнал. 1991. Т. 70, Вып. 12. С. 55-63.)
8. Mishchenko LL. Locusts (Catantopinae) (Fauna of the USSR. Insects of Orthoptera. Vol. IV. Leningrad: Publishing house of the USSR Academy of Sciences. 1952. 610 p. Russian (Мищенко Л.Л. Саранчовые (Catantopinae) (Фауна СССР. Насекомые прямокрылые. Т. IV. Ленинград: Издательство АН СССР. 1952. 610 с.)

