

В. Г. КУЗНЕЦОВА

**ИССЛЕДОВАНИЕ БЛИЗКИХ ВИДОВ ТЛЕЙ С РАЗНЫМИ
КАРИОТИПАМИ МЕТОДОМ ЦИТОФОТОМЕТРИИ ДНК**

(Представлено академиком М. С. Гиляровым 21 V 1975)

Все известные теории, касающиеся структуры хромосом и эволюции кариотипов, возникли в результате изучения хромосом с локализованной центромерой. Однако известно, что в ряде групп растений и животных, в частности у многих насекомых (Hemoptera, Hemiptera, Lepidoptera), хромосомы голокинетические, т. е. они не имеют локализованных центромер и кинетическая функция в них диффузна. Характерная структура центромеры обуславливает наличие многих замечательных особенностей голокинетических хромосом, таких как морфология, поведение в клеточных циклах и возможности эволюционных преобразований, не свойственные хромосомам других животных и растений (¹, ²). Настоящее исследование представляет собой первую попытку использования метода цитофотометрии ДНК наряду со сравнительно-кариологическим анализом близких видов тлей для познания генетических механизмов, лежащих в основе эволюции их кариотипов.

В группах организмов, обладающих хромосомами с диффузной центромерой, наряду с большим спектром хромосомных чисел, наблюдаются характерные различия в числах хромосом между близкородственными видами, причем эти различия в большинстве групп невелики и не превышают в основном нескольких пар, и только у растений рода *Luzula* и у бабочек они более значительны. У тлей амплитуда колебаний хромосомных чисел в пределах всего подотряда относительно невелика — от $2n=4$ до $2n=40$, и в этом интервале имеются все теоретически возможные числа (³). В семействе Aphididae, включающем $\frac{2}{3}$ видов всего подотряда, для каждой группы (трибы, подтрибы, рода) можно выделить модальное число хромосом, отклонения от которого в каждом таксоне, как правило, не превышает одной-трех пар. Близкие виды с резко различающимися хромосомными наборами встречаются скорее как исключение. В подтрибе Anuraphidina в этом семействе подавляющее большинство видов характеризуются типичным кариотипом с $2n=12$, несколько видов имеют кариотипы с $2n=8, 10, 14$. Однако в роде *Anuraphis*, представленном в фауне Европейской части СССР четырьмя видами, у двух видов $2n=12$, а два других имеют 26 хромосом в диплоидных наборах.

Для решения поставленной в работе задачи взяты два вида тлей рода *Anuraphis* с резко различающимися хромосомными числами — *A. farfarae* Koch и *A. subterranea* Walk.

Тли *Anuraphis farfarae* собраны с *Tussilago farfara* (мать-мачеха), а *A. subterranea* — с *Heracleum sibiricum* (борщевик). Препараты готовили по методике, описанной ранее (⁴), перевод препаратов в постоянные осуществляли, применяя твердую углекислоту. В кариотипе *A. farfarae* $2n=12$: пара длинных половых хромосом, 4 пары аутосом разной длины и одна пара очень мелких хромосом (рис. 1а). В кариотипе *A. subterranea* $2n=26$ *: одна пара длинных хромосом и 12 пар мелких, среди ко-

* Сообщение о том, что *Anuraphis subterranea* имеет $2n=22$ (⁴), по-видимому, ошибочно.

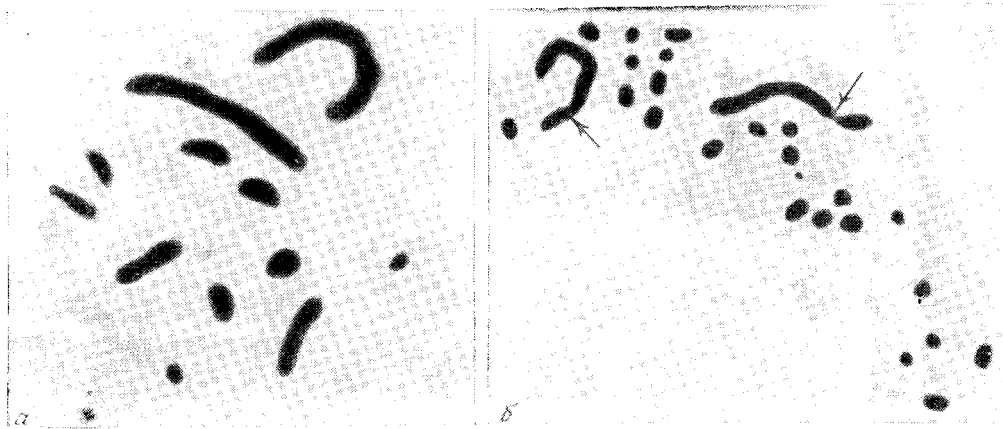


Рис. 1. Кариотипы *Anuraphis farfarae* Koch, $2n=12$ (а) и *Anuraphis subterranea* Walk., $2n=26$ (б). Стрелками указаны «вторичные» перетяжки

торых можно выделить несколько размерных групп (рис. 1б). Хромосомы палочковидные или шарообразные, без каких-либо дифференциально окрашенных участков, которые можно было бы интерпретировать как центромеры. В отдельных метафазных пластинках *A. subterranea* на одном конце каждой из длинных хромосом наблюдается суженная светлая область типа вторичной перетяжки. Из результатов кариологического анализа видно, что при столь различных числах хромосом в двух кариотипах количество хроматина в них одинаково, и несколько мелких хромосом в кариотипе *A. subterranea* соответствуют по длине одной хромосоме в наборе *A. farfarae*. (Отношение длин всех хромосом — аутосом к длине X-хромосомы в 20 метафазных пластинках 16 исследованных особей равно у *A. subterranea* $1,3 \pm 0,2$, это отношение в 18 метафазных пластинках 10 исследованных особей *A. farfarae* равно $1,2 \pm 0,1$; соответственно отношение длины I (X-хромосомы) к длине II хромосомы равно $6,7 \pm 0,3$ и $2,5 \pm 0,1$.) Учитывая особенности голокинетических хромосом и, в частности, их склонность к разрывам без потерь фрагментов (⁵, ⁶), можно предположить, что в эволюции тлей процесс фрагментаций играет роль механизма кариотипической дифференцировки. Кариотип *A. subterranea* с $2n=26$, по-видимому, произошел в результате фрагментаций аутосом исходного вида с $2n=12$, подобного *A. farfarae*.

Цитофотометрическое исследование количеств ДНК в ядрах соматических клеток (стадия дробящегося яйца партеногенетической самки) обоих видов осуществляли на зондовом цитоспектрофотометре МУФ-5 двухволновым методом после окраски по Фельгену. Оптимальные условия приготовления препаратов для каждого вида определяли эмпирически. Оказалось, что при горячем гидролизе в 1N HCl в течение 0,5—2—4 мин. степень окрашенности препаратов растет пропорционально времени гидролиза у обоих видов. Оптимум гидролиза для *A. farfarae* лежит в интервале от 4 до 10 мин., а для *A. subterranea* — от 4 до 8 мин. При удлинении срока гидролиза идет разрушение ДНК. Статистическая обработка результатов цитофотометрии ДНК в ядрах клеток 50 особей каждого вида проведена в Агрофизическом институте ВАСХНИЛ по программе, составленной для ЭВМ «Минск-22» В. Н. Горбуновой. Количества ДНК на 1 ядро у тлей *A. farfarae* и *A. subterranea* равны соответственно $99,7 \pm 0,6$ и $79,9 \pm 0,4$ усл. ед. (было изучено 102 зародыша *A. farfarae* и 93 зародыша *A. subterranea* от 50 особей и промерено 400 и 392 ядра соответственно), т. е. размер генома у вида с большим числом хромосом ($2n=26$) оказался значительно меньшим (на 20%) по сравнению с видом, у которого $2n=12$.

Различия в числах хромосом между близкородственными видами в разных группах организмов с голокинетическими хромосомами пытаются объяснить действием различных механизмов: полиплоидии (⁷), продольного расщепления хромосом с последующей автономизацией хроматид (⁸, ⁹), фрагментаций (¹⁰, ¹¹) и т. д. Мы можем сравнить полученные нами данные с результатами аналогичного эксперимента, проведенного Суомалайнемом (¹¹) на бабочках, у которых, по мнению исследователя, также имеют место фрагментации (и слияния) голокинетических хромосом в эволюции. У близких видов бабочек в роде *Cidaria* — *C. obeliscata* с $2n=26$ и *C. juniperata* с $2n=60$ — количество ДНК на ядро оказалось одинаковым (6,7 и 6,13 усл. ед. соответственно), несмотря на столь значительные различия в числах хромосом, а в другой паре видов — *C. minna* с $2n=34$ и *C. subfumata* с $2n=64$ — у второго вида количество ДНК оказалось выше (5,94 и 7,45 усл. ед. соответственно). Следовательно, в отличие от тлей рода *Anuraphis*, фрагментация у бабочек, очевидно, не сопровождается потерями генетического материала. В связи с этим представляется интересным тот факт, что у бабочек очень велик спектр хромосомных чисел (от $2n=8$ до нескольких сотен) как внутри родов, так и на других таксономических уровнях в пределах всего отряда. Кроме того, наличие хромосомных рас (¹²) и ряд других факторов свидетельствуют о том, что механизм фрагментаций в эволюции *Lepidoptera* играет более значительную роль, нежели в эволюции тлей, где его участие, как правило, приводит лишь к небольшим различиям в числах хромосом между близкими видами: на одну — три пары. Единичные примеры значительных различий в кариотипах близкородственных видов тлей мы находим в группах, которые для данного таксона примитивны и исходны, как, например, род *Anuraphis* в подтрибе *Anuraphidina*. Этот факт, наряду с продемонстрированным уменьшением количества ДНК при фрагментациях у тлей позволяет отнести «неограниченную» фрагментацию, приводящую к увеличению числа хромосом сверх определенного допустимого предела, к разряду так называемых «запрещенных» мутаций. Изменения подобного типа у тлей приводят, по-видимому, к нарушению генной регуляции каких-то жизненноважных функций организма и не поддерживаются естественным отбором.

Таким образом, последствия действия аналогичных механизмов кариотипической эволюции в процессе видообразования в различных группах насекомых с одинаковым типом хромосом, очевидно, различны. Более обстоятельные соображения по этому вопросу предполагается дать в специальной статье.

Автор выражает глубокую благодарность Е. П. Семенову за помощь при освоении метода цитофотометрии, В. Н. Горбуновой за составление программы для ЭВМ и всем сотрудникам лаборатории генетики и цитогенетики животных Биологического научно-исследовательского института Ленинградского государственного университета, где проводилась работа.

Зоологический институт
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
21 V 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ S. Hughes-Schrader, F. Schrader, *Chromosoma*, v. 12, 372 (1961). ² В. Г. Кузнецова, Цитология, т. 16, № 7, 803 (1974). ³ В. Г. Кузнецова, Г. Х. Шапошников, Энтом. обзор., т. 52, № 1, 116 (1973). ⁴ В. Г. Кузнецова, Энтом. обзор., т. 47, № 4, 767 (1968). ⁵ S. Hughes-Schrader, H. Ris, *J. Exp. Zool.*, v. 87, 429 (1941). ⁶ H. Ris, *J. Exp. Zool.*, v. 90, 267 (1942). ⁷ Z. Lorkovič, *Rev. Suisse Zool.*, v. 56, 243 (1949). ⁸ S. Hughes-Schrader, F. Schrader, *Chromosoma* (Berl.), v. 8, 135 (1956). ⁹ G. Schreiber, A. R. Bogliolo, A. C. Pinho, *Rev. Brasil. Biol.*, v. 32, № 2, 255 (1972). ¹⁰ H. Nordenskiöld, *Hereditas* (Lund.), v. 72, 7 (1956). ¹¹ E. Suomalainen, *Chromosoma* (Berl.), v. 16, 166 (1964). ¹² T. C. Emmel, H. R. Trew, O. Shields, *Pan-Pacific Entomol.*, v. 49, № 1, 74 (1973).