

Цитогенетические особенности некоторых видов саранчовых
семейства Pamphagidae из МароккоCytogenetic features of some Pamphagidae grasshoppers
from MoroccoО.Г. Булэу^{**,*}, И.Е. Джетыбаев^{***,*}, Д.П. Чобанов^{****,*}, А.Г. Бугров^{***,*}
O.G. Vuleu^{**,*}, I.E. Jetybaev^{***,*}, D.P. Chobanov^{****,*}, A.G. Bugrov^{***,*}

* Институт систематики и экологии животных СО РАН, ул. Фрунзе 11, Новосибирск 630091 Россия. E-mail: bugrov04@yahoo.co.uk.

* Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Frunze Str. 11, Novosibirsk 630091 Russia.

** Новосибирский государственный университет, ул. Пирогова 2, Новосибирск 630090 Россия. E-mail: bugrov@fen.nsu.ru.

** Novosibirsk State University, Pirogova Str. 2, Novosibirsk 630090 Russia.

*** Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, пр. Ак. Лаврентьева 10, Новосибирск 630090 Россия.

*** Institute of Cytology and Genetics, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Ac. Lavrentieva Ave. 10, Novosibirsk 630090 Russia.

**** Институт биоразнообразия и экосистемных исследований Болгарской академии наук, бул. Цар Освободител 1, София 1000 Болгария.

**** Institute of Biodiversity and Ecosystem Research, Bulgarian Academy of Sciences, Tsar Osvobodotel Boul. 1, Sofia 1000 Bulgaria.

Ключевые слова: саранчовые Pamphagidae, С-дифференциальная окраска хромосом, флуоресцентная гибридизация ДНК *in situ*, теломерный повтор (TTAGG)_n, 18S-рибосомная ДНК.

Key words: Pamphagidae grasshoppers, C-banding, FISH, telomeric repeats (TTAGG)_n, 18S rDNA repeats.

Резюме. Впервые приведены сведения о числе и морфологии хромосом, расположении С-гетерохроматиновых районов, локализации кластеров теломерного повтора (TTAGG)_n и рибосомной 18S-ДНК в кариотипах 5 видов саранчовых семейства Pamphagidae из Марокко: *Eunapiodes atlantis* (Chopard, 1943), *Paraeumigus fortius* (Bolivar, 1907), *Euryparyphes flexuosus* Uvarov, 1927 (триба Euryparyphini); *Acinipe tuberculata* Werner, 1932, и *Pseudoglaucia terrea* (Bolivar, 1912) (триба Pamphagini). Все исследованные виды имеют кариотип, состоящий из 19(♂♂) и 20(♀♀) акроцентрических хромосом. Механизм определения пола — XO♂/XX♀. Аутосомы могут быть сгруппированы в три размерных класса — крупные L₁–L₄, средние M₅–M₇ и мелкие S₈ и S₉. Половая X-хромосома акроцентрическая, среднего размерного класса.

У всех исследованных видов выявлены С-позитивные блоки в прицентромерных районах хромосом. В одной или двух парах самых мелких хромосом локализованы крупные теломерные блоки гетерохроматина. У *P. terrea* в одной мелкой паре аутосом (S₉), двух средних (M₅, M₆), и X-хромосоме выявлены мелкие интерстициальные С-блоки.

Флуоресцентная *in situ* гибридизация нуклеиновых кислот (FISH) теломерной ДНК-пробы показала, что у всех исследованных видов теломерные повторённые последовательности (TTAGG)_n локализованы в терминальных районах всех хромосом набора. У *A. tuberculata* теломерные кластеры в первой большой паре аутосом (L₁) имеют больший размер по сравнению со всем остальными

хромосомами. Районы хромосом, обогащённые рибосомной ДНК, выявлены у всех исследованных видов. У *E. atlantis* и *A. tuberculata* кластеры рибосомной ДНК расположены в интерстициальном районе проксимальной части в двух больших парах (L₃, L₄) и в прицентромерном районе в пятой средней паре аутосом (M₅). У *P. fortius* и *E. flexuosus* районы рибосомной ДНК располагаются в интерстициальном районе проксимальной части в трёх больших парах аутосом (L₂, L₃, L₄) и прицентромерных районах в двух больших парах (L₁, L₂) и третьей средней паре аутосом (M₃). У *P. terrea* в теломерном, центромерном и интеркалярном районах крупной (L₁) пары аутосом локализованы три кластера рибосомной ДНК.

Abstract. New data on karyotypes of five species of Pamphagidae family from Morocco were reported. Three species — *Eunapiodes atlantis* (Chopard, 1943), *Paraeumigus fortius* (Bolivar, 1907) and *Euryparyphes flexuosus* Uvarov, 1927 belonged to Euryparyphini tribe and two species — *Acinipe tuberculata* Werner, 1932, and *Pseudoglaucia terrea* (Bolivar, 1912) belonged to Pamphagini tribe.

Distribution of C-positive blocks, clusters of telomeric repeats (TTAGG)_n and 18S rDNA were analyzed. Karyotype of all studied species consisted of 19(♂♂) and 20(♀♀) acrocentric chromosomes with XO♂/XX♀ sex determination system. Autosomes fell into three groups according to their size: large (L₁–L₄), medium sized (M₅–M₇), and small chromosomes (S₈–S₉). The X chromosome is medium sized acrocentric chromosome.

C-banding revealed three types of C-positive blocks – pericentric, interstitial and telomeric. In *E. atlantis* large pericentric C-blocks were observed on L_1 , L_2 and L_3 chromosomes, middle sized C-block was found on the L_4 chromosome and small sized pericentric C-blocks were observed on the rest of the autosomes and the X chromosome. Large telomeric C-band was observed on the In *P. fortius* middle sized pericentric C-positive blocks were observed on L_1 – L_3 , the remaining autosomes and the X chromosome had small sized pericentric C-blocks. Medium sized telomeric C-band was observed on the S_8 pair. In *E. flexuosus* middle sized C-blocks were observed on L_3 , S_8 and S_9 chromosomes and small sized C-blocks were observed on L_1 , L_2 , L_4 , M_3 – M_7 chromosomes and the X chromosome. In *A. tuberculifolia*, large C-bands were observed in the pericentric regions of L_1 – L_4 chromosomes, middle sized C-blocks were localized on the rest of the autosomes, and small sized C-band was found on the X chromosome. Large telomeric C-bands were observed on S_9 and M_3 chromosomes, and medium sized telomeric C-block was observed on the M_6 pair. In *P. terrea* large C-bands were observed on L_1 – L_4 chromosomes, middle sized blocks were observed on M_5 and M_6 chromosomes and small C-bands were revealed on the rest of the autosomes and the X chromosome. Small interstitial C-bands were localized on M_5 , M_6 , S_9 and X chromosomes. Telomeric C-bands were found on the M_7 and S_8 pairs.

Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) of telomeric probe revealed that these repeats localize only on termini of all chromosomes. The telomeric cluster on proximal termini of the L_1 chromosome of *A. tuberculifolia* is significantly larger than the rest of the telomeric clusters.

FISH of 18S rDNA probe revealed three clusters of rDNA in all studied species. In *E. atlantis* and *A. tuberculifolia* rDNA clusters were found in the proximal interstitial regions of L_3 , L_4 and the pericentric region of the M_5 chromosome. In *P. fortius* and *E. flexuosus* these clusters localized in the proximal interstitial regions of L_2 , L_3 and L_4 chromosomes, and 18S rDNA probe hybridized in the pericentric regions of L_1 , L_2 and M_3 chromosomes. In *P. terrea* all three clusters localized on the same L_2 chromosome pair.

Введение

К семейству Pamphagidae относится около 600 видов, обитающих преимущественно в горных, пустынных и полупустынных ландшафтах Африки, Европы и Азии [Uvarov, 1966]. Из Северной Африки описано свыше 90 видов, значительная часть из которых распространена в Марокко [Massa, 2013].

В цитогенетическом отношении саранчовые семейства Pamphagidae слабо изучены. До предпринятого нами исследования Pamphagidae России и сопредельных регионов были известны кариотипы около 50 видов этого семейства из Северной и Южной Африки, Европы и Азии [Granata, 1910; Chen, 1937; White, 1973; Alicata et al., 1976; Fossey, 1985; Camacho et al., 1981; Santos et al., 1983; Cabrero, et al., 1985; Mansueto, Vitturi, 1989; Vitturi et al., 1993; Warchalowska-Sliwa et al., 1994]. В цитированных выше работах отмечалась исключительная кариотипическая консервативность этой группы прямокрылых насекомых. Диплоидные наборы включали 19 (σ^7) и

20 (φ) акроцентрических хромосом. Определение пола $XO\sigma^7/XX\varphi$.

Линейная дифференциация хромосом на С-позитивные и С-негативные районы описана для единичных видов [Camacho et al., 1981; Santos et al., 1983; Warchalowska-Sliwa et al., 1994].

Позднее, наряду с типичными для Pamphagidae кариотипами были описаны хромосомные наборы, имеющие 18 хромосом, как у самцов, так и у самок. Такой набор хромосом возник в результате взаимной транслокации исходно акроцентрической X-хромосомы и крупной акроцентрической аутосомы. Это привело к образованию метацентрической нео-X-хромосомы. Непарная аутосома у самца становится гетерохромосомой (Y-хромосомой) с образованием нео- $XY\sigma^7$ /нео- $XX\varphi$ -механизма определения пола [Bugrov, 1986 (Bugrov, 1986); Bugrov, 1996; Bugrov, Warchalowska-Sliwa, 1997; Bugrov, Grozeva, 1998; Bugrov et al., 2016]. Кроме того, были описаны кариотипы, в которых несколько пар хромосом (*Melanotmethis fuscipennis* Uv.) [Bugrov, Warchalowska-Sliwa, 1997] или даже все хромосомы (*Eremopeza festiva* (Sauss.)), [Bugrov et al., 2016] — двуплечие. Эти факты позволяют опровергнуть мнение о Pamphagidae как группе, обладающей единообразными кариотипами, и делают необходимым более детальное исследование представителей этого семейства.

Недавно нами получен фиксированный материал для кариологического исследования нескольких видов саранчовых семейства Pamphagidae из Марокко. Данная статья посвящена их сравнительно-кариологическому исследованию. Для получения дополнительных маркёров линейной дифференцировки хромосом использован метод флуоресцентной *in situ* гибридизации нуклеиновых кислот (FISH). В качестве ДНК-проб был использован теломерный пентамер (TTAGG)_n и 18S-повтор рибосомной ДНК.

Материал и методы

Было исследовано 5 видов саранчовых. Три вида: *Eunapiodes atlantis* (Chopard, 1943), *Paraemigys fortius* (Bolivar, 1907) и *Euryaryphes flexuosus* Uvarov, 1927 относятся к трибе Euryaryphini La Greca, 1993, два вида — *Acinipe tuberculifolia* Werner, 1932 и *Pseudoglaucia terrea* (Bolivar, 1912) к трибе Pamphagini Burmeister, 1840 семейства Pamphagidae из фауны Малого и Среднего Атласа (Марокко).

У отловленных самцов извлекались семенники и после гипотонии в 0,9 % растворе цитрата натрия в течение 20 мин при комнатной температуре их фиксировали 15 мин. в смеси ледяной уксусной кислоты и 96 % этанола (1:3). Фиксированный материал отмывали и хранили в 70 % этаноле. Давленные препараты готовили с помощью замораживания на брикете сухого льда или металлическом столике, охлаждённом в жидком азоте.

Препараты окрашивались по С-методу дифференциальной сегментации хромосом [Sumner, 1972] с некоторыми модификациями. Флуоресцентную гибридизацию нуклеиновых кислот *in situ* (FISH) проводили в соответствии с протоколом Д. Пинкеля [Pinkel et al., 1986] с небольшими модификациями [Rubtsov et al., 2000].

При описании кариотипов нами принята классификация размерных классов хромосом Pamphagidae в соответствии с работой Хуана Педро Камачо с соавторами [Camacho et al., 1981]. Локализацию и относительные размеры блоков С-гетерохроматина определяли на основе ранее предложенной номенклатуры [King, John, 1980; Santos et al., 1983, Cabrero et al., 1985].

Микроскопический анализ был проведён в Центре микроскопических исследований СО РАН на микроскопе AXIOSKOP 2 Plus (Zeiss, ФРГ). Для регистрации и обработки микроизображений использовали CCD-камеру и программное обеспечение «ISIS3» фирмы METASYSTEMS GmbH и AxioVision GmbH (Германия).

Результаты

С-дифференциальная окраска хромосом. Все исследованные виды имеют стандартное для саранчовых семейства Pamphagidae число хромосом равное 19 у самца и 20 у самок с $\sigma^X0/\text{♀}XX$ определением пола. Кариотип состоит из четырех пар крупных аутосом (L_1-L_4), четырёх пар средних (M_5-M_7) и двух пар мелких аутосом (S_8-S_9). Половая X-хромосома акроцентрическая, среднего размерного класса (рис. 1).

С помощью С-дифференциального окрашивания хромосом выяснено распределение блоков конститутивного (С-) гетерохроматина. В кариотипах всех исследованных видов все хромосомы имеют облигатный гетерохроматиновый блок в прицентромерном районе. Наряду с этим выявлены видоспецифические особенности размеров и положения С-позитивных высокоповторяющихся районов ДНК в хромосомах исследованных видов.

В кариотипе *E. atlantis* три большие пары аутосом (L_1, L_2, L_3) имеют крупные прицентромерные районы гетерохроматина. В четвёртой паре аутосом (L_4) прицентромерный блок среднего размера, все остальные аутосомы имеют мелкие С-позитивные блоки в прицентромерной части. В одной из мелких пар аутосом (S_9) выявляются крупные теломерные блоки гетерохроматина. В прицентромерном районе X-хромосомы локализован мелкий блок гетерохроматина (рис. 1а).

В кариотипе *P. fortius* в больших парах аутосом (L_1-L_3) локализованы прицентромерные блоки средней величины. Все остальные аутосомы и половая X-хромосома имеют мелкие прицентромерные С-позитивные блоки. В одной мелкой паре аутосом (S_8) локализованы теломерные гетерохроматиновые блоки средней величины (рис. 1б).

В кариотипе *E. flexuosus* в одной большой паре (L_3) и мелких парах аутосом (S_8-S_9) прицентромерные С-блоки среднего размера. В остальных крупных (L_1, L_2, L_4) и средних (M_5-M_7) парах аутосом и X-хромосоме С-позитивные прицентромерные блоки мелкие (рис. 1с).

В хромосомном наборе *A. tuberculifera* во всех больших парах аутосом (L_1-L_4) локализованы крупные С-позитивные блоки. Все остальные аутосомы имеют гетерохроматиновый блок среднего размера. Прицентромерный С-блок в X-хромосоме мелкий. В одной средней паре аутосом (M_5) и мелкой паре аутосом (S_9) локализованы большие теломерные С-позитивные блоки. Одна пара аутосом M_6 имеет теломерные гетерохроматиновые блоки среднего размера (рис. 1г).

В кариотипе *P. terrea* С-позитивные прицентромерные блоки крупные во всех больших парах (L_1-L_4) аутосом. В двух парах средних аутосом (M_5, M_6) прицентромерные блоки гетерохроматина среднего размера. Все остальные аутосомы и половая X-хромосома имеют мелкие прицентромерные С-блоки. В одной мелкой паре аутосом (S_9), двух средних (M_5, M_6), и X-хромосоме выявлены одиночные мелкие интеркалярные С-блоки. Мелкая (S_8) и средняя (M_7) пары аутосом имеют С-блоки среднего размерного класса (рис. 1д).

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH). Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) теломерной ДНК-пробы (TTAGG) саранчовых трибы Pamphagini показала, что у всех исследованных видов теломерные повторённые последовательности локализованы в терминальных районах всех хромосом набора (рис. 1д, е, ф, и, j). В кариотипе *A. tuberculifera* теломерные кластеры в первой большой паре аутосом (L_1) имеют больший размер по сравнению с теломерными районами всех остальных хромосом этого вида (рис. 1и).

В хромосомных наборах *E. atlantis* и *A. tuberculifera* кластеры рибосомной ДНК локализованы в интерстициальном районе проксимальной части хромосом в двух больших парах аутосом (L_3, L_4) и в прицентромерном районе одной средней пары аутосом (M_5) (рис. 1д, и).

У *P. fortius* и *E. flexuosus* районы, обогащённые рибосомной ДНК, располагаются в интерстициальном районе проксимальной части в трёх больших парах аутосом (L_2, L_3, L_4), в прицентромерных районах двух больших пар (L_1, L_2) и третьей средней пары аутосом (M_3) (рис. 1е, ф).

В кариотипе *P. terrea* кластеры рибосомной ДНК обнаружены только в одной большой паре аутосом (L_1) (рис. 1j). При этом кластеры рибосомной ДНК локализованы в центромерном, интеркалярном и теломерном районах этой хромосомы (рис. 1к).

Обсуждение

Исследованные нами кариотипы саранчовых семейства Pamphagidae из Марокко подтверждают, что

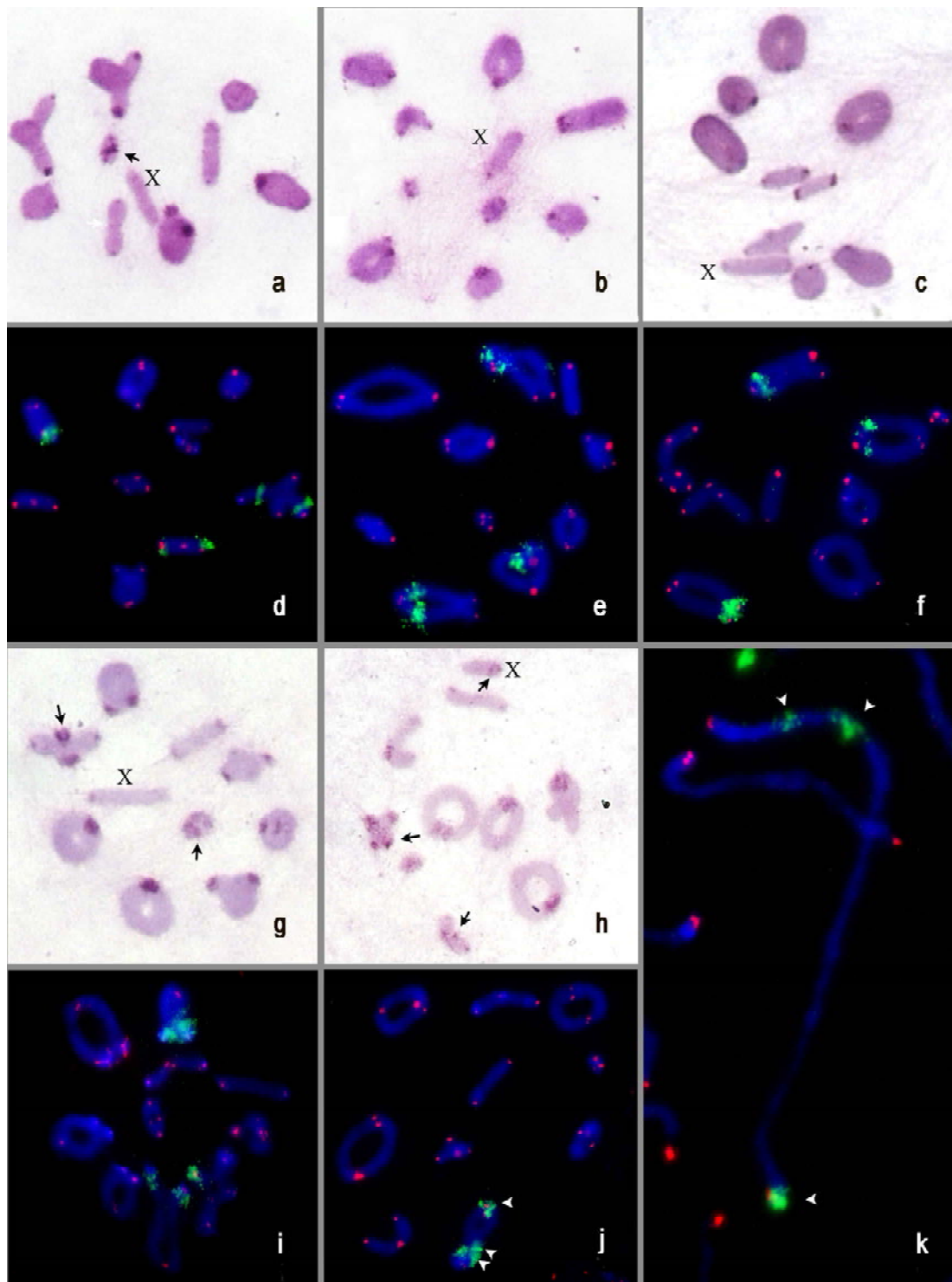


Рис. 1. С-дифференциальная окраска (a, b, c, g, h) и флуоресцентная гибридизация *in situ* 18S рибосомной (зелёный сигнал) и теломерной (TTAGG)_n (красный сигнал) проб с хромосомами изученных видов (d, e, f, i, j, k). a, d — *Eunapiodes atlantis*; b, e — *Paraeumigus fortius*; c, f — *Euryaryphbes flexuosus*; g, i — *Acinipe tuberculis*; h, j, k — *Pseudoglaivia terra*; k — слабоконденсированная L₂ хромосома *Pseudoglaivia terra*. Стрелками указаны интеркалярные и теломерные С-позитивные блоки. Головками стрелок указаны кластеры 18S рибосомной ДНК.

Fig. 1. C banding (a, b, c, g, h) and fluorescent *in situ* hybridization of 18S rDNA (green) and (TTAGG)_n (red) probes (d, e, f, i, j, k) with chromosomes of species studied. a, d — *Eunapiodes atlantis*; b, e — *Paraeumigus fortius*; c, f — *Euryaryphbes flexuosus*; g, i — *Acinipe tuberculis*; h, j, k — *Pseudoglaivia terra*; k — Prophase L₂ chromosome *Pseudoglaivia terra*. Arrows indicate interstitial and telomeric C-bands. Arrowheads indicate clusters of 18S rDNA.

представители подсемейства Pamphaginae из триб Pamphagini и Euryagrurhini из Западного Средиземноморья обладают исключительно консервативным типом хромосомного набора, состоящим из 19 ($\sigma\sigma$) и 20 ($\varphi\varphi$) акроцентрических хромосом при определении пола $XO\sigma/XX\varphi$. Этот результат позволяет более обоснованно сделать предположение о том, что часть подсемейства Pamphaginae, а именно триба Nosarodeini ($2n\sigma,\varphi = 18$, определение пола $XY\sigma/XX\varphi$), распространённая в Западной Азии, Кавказе и Закавказье эволюционировала на основе производного от исходного типа хромосомного набора.

Данные о распределении С-гетерохроматина в хромосомах изученных нами видов в общих чертах совпадают с результатами исследования некоторых Pamphagidae из Испании [Camacho et al., 1981; Santos et al., 1983; Cabrero et al., 1985]. Различие в величине и локализации С-позитивных блоков у разных видов показывает, что дивергенция кариотипов в этой группе саранчовых связана не со структурными хромосомными перестройками, а с эволюцией повторённых последовательностей ДНК. Анализ локализации кластеров теломерной последовательности (TTAGG)_n и последовательности 18S рибосомной ДНК с использованием метода флуоресцентной *in situ* гибридизации нуклеиновых кислот (FISH) показал, что теломерные повторённые последовательности очень консервативны и локализованы только в терминальных районах всех хромосом набора. В данном случае не выявлено перемещение этих молекулярных маркёров в иное положение. Этот факт свидетельствует об отсутствии структурных перестроек хромосом в эволюции кариотипов исследованной группы видов, в отличие, например, от изученных нами ранее саранчовых семейства Acrididae [Jetybayev et al., 2012]. Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) фрагмента рибосомной ДНК (18S повтор рибосомной ДНК-пробы) выявила специфику локализации этой пробы у саранчовых семейства Pamphagidae. У большинства исследованных нами видов кластеры рибосомной ДНК локализованы в двух или трёх парах аутосом, маркируя районы активного ядрышкового организатора (ЯОР). В кариотипе *P. terrea* кластеры рибосомной ДНК выявлены в центромерном, интеркалярном и теломерном районах самой крупной хромосомы в наборе. Ранее множественная локализация кластеров рибосомной ДНК на одной хромосоме была выявлена у некоторых Pamphagidae из Армении [Bugrov et al., 2016]. Следует особо подчеркнуть, что среди саранчовых множественная локализация кластеров рибосомной ДНК на одной хромосоме выявлена пока только у представителей семейства Pamphagidae. У другого, относительно хорошо изученного в цитогенетическом отношении, семейства собственно саранчовых Acrididae распространение этого молекулярного маркёра ограничено в основном одной–двумя парами хромосом в кариотипе. При этом не описано

случаев множественной локализации кластеров рибосомной ДНК на одной хромосоме [Cabrero, Camacho, 2008]. Возможно, выявленные отличия в локализации рибосомной ДНК у Pamphagidae и Acrididae содержат филогенетический сигнал, позволяющий подойти с молекулярно-цитогенетических позиций к решению проблемы происхождения модального кариотипа саранчовых семейства Pamphagidae.

Благодарности

Авторы благодарят Dr. Beata Grzywacz (Institute of Systematics and Evolution Animals, Polish Academy of Sciences, Kraków, Poland) за помощь в полевых исследованиях в Марокко.

Работа поддержана грантом РФФИ (проект №15-04-04816-а).

Литература

- Alicata P., Messina A., Oliveri S. 1976. Frequenza e distribuzione dei chiasmi in *Pamphagus marmoratus* Burm., *Acinipe calabra* (Costa) e *Ocneridia canonica* (Fish.) (Orthoptera: Pamphagidae) // *Animalia*. Vol.3. P. 171–193.
- Burgov A.G. 1986. Neo-XY sex-chromosome determination in grasshoppers *Asiotmethis heptapotamicus heptapotamicus* (Zub) and *Atrichotmethis semenovi* (Zub) (Orthoptera, Pamphagidae) // *Tsytologiya*. Vol.28. No.1. P.117–119. [In Russian].
- Bugrov A.G. 1996. Karyotypes of the short-horned Orthopteran insects (Orthoptera, Caelifera) from Russia, Kazakhstan, Central Asia, and the Caucasus // *Folia biologica* (Krakow). Vol.44. Nos1–2. P.15–25.
- Bugrov A. G., Grozeva S. 1998. Neo-XY chromosome sex determination in four species of the pamphagid grasshoppers (Orthoptera, Acridoidea, Pamphagidae) from Bulgaria // *Caryologia*. Vol.51. No.2. P.115–121.
- Bugrov A.G., Warchalowska-Śliwa E. 1997. Chromosome numbers and C-banding patterns in some Pamphagidae grasshoppers (Orthoptera, Acrididae) from the Caucasus, Central Asia, and Transbaikalia // *Folia biologica* (Krakow). Vol.45. Nos3–4. P.133–138.
- Bugrov A.G., Jetybayev I.E., Karagyan G.H., Rubtsov N.B. 2016. Sex chromosome diversity in Armenian toad grasshoppers (Orthoptera, Acridoidea, Pamphagidae) // *Comparative Cytogenetics*. Vol.10. No.1. P.45–59.
- Cabrero J., Camacho J.P.M. 2008. Location and expression of ribosomal RNA genes in grasshoppers: Abundance of silent and cryptic loci // *Chromosome Research*. Vol.16. No.4. P.595–607.
- Cabrero J., Camacho J.P.M., Pascual F. 1985. Cytotaxonomic studies on pamphagids genus *Eumigus*. Detection of two chromosomal races in *E. monticola* (Rambur) (Insecta, Orthoptera) // *Caryologia*. Vol.38. No.1. P.1–12.
- Camacho J.P.M., Cabrero J., Viseras E. 1981. C-heterochromatin variation in the genus *Eumigus* (Orthoptera, Pamphagoidea) // *Genetica*. Vol.56. No.3. P.185–188.
- Castillo E.R.D., Bidau C.J., Martí D.A. 2010. Neo-sex chromosome diversity in neotropical melanopline grasshoppers (Melanoplinae, Acrididae) // *Genetica*. Vol.138. P.775–786.
- Fossey A. 1985. Cytogenetic research of the short-horned Orthoptera insect from South Africa. Dr Sci. Thesis, Pretoria University, Pretoria. 106 p.
- Jetybayev I.E., Bugrov A.G., Karamysheva T.V., Camacho J.P.M., Rubtsov N.B. 2012. Chromosomal localization of

- ribosomal and telomeric DNA provides new insights on the evolution of Gomphocerinae grasshoppers // *Cytogenetic and Genome Research*. Vol.138. No.1. P.36–45.
- Massa B. 2013. Pamphagidae (Orthoptera: Caelifera) of North Africa: key to genera and the annotated check-list of species // *Zootaxa*. Vol.3700. No.3. P.435–475.
- Pinkel D., Straume T., Gray J.W. 1986. Cytogenetical analysis using quantitative, high sensitivity, fluorescence hybridization // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. Vol.83. P.2934–2938.
- King M., John B. 1980. Regularities and restrictions governing C-band variation in acridoid grasshoppers // *Chromosoma*. Vol.76. No.2. P.123–150.
- Rubtsov N.B., Karamisheva T.V., Astakhova N.M., Liehr T., Claussen U., Zhdanova N.S. 2000. Zoo-FISH with region-specific paints for mink chromosome 5q: delineation of inter- and intrachromosomal rearrangements in human, pig, and fox // *Cytogenetic and Genome Research*. Vol.90. Nos3–4. P.268–270.
- Santos J.L., Arana P., Giraldez R. 1983. Chromosome C-banding patterns in Spanish Acridoidea // *Genetica*. Vol.61. No.1. P.65–74.
- Sumner A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin // *Experimental Cell Research*. Vol.75. P.304–306.
- Uvarov B.P. 1966. Grasshoppers and locusts. A handbook of general acridology // Cambridge: The Cambridge University Press. Vol.1. P.481.
- Vitturi R., Lannino A., Mansueto C., Mansueto V., Stella M. 2008. Silver-negative NORs in *Pamphagus ortolaniae* (Orthoptera: Pamphagidae) // *European Journal of Entomology*. Vol.105. P.35–39.
- Warchałowska-Śliwa E., Maryńska-Nadachowska A., Massa B. 1994. Some new data on C-bands and NORs in three species of Pamphagidae (Orthoptera) // *Folia biologica (Krakow)*. Vol.42. P. 13-18
- White M.J.D. 1973. *Animal Cytology and Evolution*. London. The Cambridge University Press. 961 p.

Поступила в редакцию 1.12.2015