

УДК 576.316:595.79

ХРОМОСОМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЕРЕПОНЧАТОКРЫЛЫХ НАСЕКОМЫХ (HUMENOPTERA): ИСТОРИЯ, СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ, ПЕРСПЕКТИВЫ

© 2022 г. В. Е. Гохман*

Ботанический сад Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова
Ленинские горы, 1, Москва, 119234 Россия

*E-mail: vegokhman@hotmail.com

Поступила в редакцию 21.03.2022 г.

После доработки 14.04.2022 г.

Принята к публикации 12.05.2022 г.

Для отряда Hymenoptera характерны две сопряженные генетические особенности: аррентокия и гаплоидия, однако в пределах этой группы неоднократно происходил переход к диплоидной телитокии. К настоящему времени известны кариотипы около двух тысяч представителей данного отряда. Историю изучения хромосомных наборов перепончатокрылых можно условно разделить на четыре этапа, примерные границы между которыми приходятся на 1930-е, 1970-е и 2000-е годы. Помимо морфометрического анализа, для опознавания определенных хромосом и их сегментов с помощью дифференциальной окраски используется ряд методик, условно разделяемых на две группы – “традиционные” и “современные”. К первым прежде всего относятся так называемые C- и AgNOR-окраски, соответственно выявляющие гетерохроматиновые районы хромосом и область ядрышкового организатора. Наряду с этим, для исследования кариотипов ныне широко применяются современные методы, включающие использование флуорохромов, в том числе специфически окрашивающих хромосомные сегменты, обогащенные АТ- и ГЦ-парами оснований ДНК. Кроме того, важнейшим способом физического картирования последовательностей ДНК является флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH). Наконец, полезными для изучения химического состава и структуры хромосом также могут оказаться методы иммуноцитохимии. За последнее время существенно возросло значение исследования кариотипов отряда Hymenoptera для систематики, особенно в рамках интегративной таксономии. Более того, весьма перспективным оказалось совместное использование методов классической цитогенетики и молекулярной генетики. Что касается филогении перепончатокрылых, то ее знание необходимо для определения направлений эволюции кариотипа данного отряда, однако в некоторых случаях хромосомные признаки также можно рассматривать в качестве синапоморфий, маркирующих различные филогенетические ветви. Изучение кариотипов имеет важнейшее значение и для собственно генетических исследований перепончатокрылых. Число хромосом определяет количество групп сцепления генов в составе генома, но хромосомные числа также можно использовать в качестве мерил уровней генетической рекомбинации, особенно в контексте больших массивов данных (“big data”). Кроме того, значение работ по физическому картированию последовательностей ДНК особенно возрастает в свете современных усилий по секвенированию геномов. Наиболее часто методом FISH картируются повторяющиеся последовательности, однако этот способ может применяться и для локализации уникальных генов. В пределах отряда Hymenoptera предприняты успешные попытки идентификации отдельных хромосом и их сегментов с использованием FISH и хромосомной микродиссекции. Кроме того, методы иммуноцитохимии позволяют картировать распределение различных химических соединений по длине хромосом.

DOI: 10.31857/S0044459622040042

Отряд перепончатокрылые (Hymenoptera) – одна из крупнейших, таксономически сложных и практически важных групп насекомых. По некоторым оценкам число потенциально распознаваемых видов этого отряда может существенно превышать миллион, в основном за счет паразитических форм (Bebber et al., 2014; Forbes et al., 2018).

Тем не менее в состав рассматриваемой группы входят не только паразитоиды, но и хищники, фитофаги (в том числе нектарофаги-опылители) и представители с другой экологией, играющие ключевую роль в экосистемах планеты (LaSalle, Gauld, 1991; Huber, 2017). В составе перепончатокрылых чаще всего выделяют три традиционные

группы: Symphyta (низшие Hymenoptera, т.е. сидячебрюхие, или рогахвосты и пилильщики, почти исключительно питающиеся высшими растениями), Parasitica (паразитические перепончатокрылые, или наездники, в основном развивающиеся за счет различных насекомых и других членистоногих) и Aculeata (жалящие Hymenoptera, т.е. осы, пчелы, муравьи и т.п. — как правило, хищники и нектарофаги). В свою очередь, паразитические и жалящие перепончатокрылые обычно объединяются под названием стебельчатобрюхих (Apoctrita) или высших Hymenoptera (Gauld, Bolton, 1988). Перепончатокрылые включают огромное количество разнообразных и зачастую внешне трудноразличимых форм, для изучения которых необходимо применять достижения различных биологических дисциплин. Среди последних важнейшее место занимают методы и подходы современной генетики, в том числе хромосомное исследование (Crozier, 1975). Зародившись в конце XIX в., эта область науки в настоящее время претерпевает период бурного развития, связанного, в частности, с использованием молекулярно-генетических методов (Гохман, 2007, 2019; Cardoso et al., 2018; Cunha et al., 2021). Настоящая работа представляет собой краткий обзор истории, современного состояния и перспективных направлений развития хромосомных исследований отряда Hymenoptera.

ОСНОВНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕПОНЧАТОКРЫЛЫХ

Для отряда Hymenoptera характерны две исходные генетические особенности. Первой из них является арренотокия, т.е. развитие самцов, в отличие от самок, из неоплодотворенных яиц (Heimpel, Boer, 2008; Gokhman, Kuznetsova, 2018a). С арренотокическим размножением у перепончатокрылых обычно сопряжена гаплодиплоидия — наличие диплоидных самок и гаплоидных самцов (Crozier, 1975; Wilgenburg et al., 2006). Нужно, однако, отметить, что из этих правил существует ряд исключений. Действительно, у некоторых видов наездников обнаружены генетические факторы, передающиеся по отцовской линии, которые при попадании в оплодотворенную диплоидную зиготу превращают ее в гаплоидную, и из нее, в свою очередь, развивается самец (Nur et al., 1988; Werren, 1991; Hunter et al., 1993; Vugt et al., 2005, 2009). Это происходит за счет элиминации отцовского генома или по крайней мере большей его части. Кроме того, некоторые виды муравьев (Formicidae), по сути, состоят исключительно из самцов, поскольку при их скрещивании с самками близких видов отцовский геном, наоборот, элиминирует материнский из оплодотворенной яйцеклетки, которая снова дает начало гаплоидному самцу (Schwander, Keller, 2012). Наряду с

этим, у целого ряда представителей отряда Hymenoptera выявлены полиплоидные (три- и тетраплоидные) самки (Macy, Whiting, 1969; Leung et al., 2019), а также диплоидные (Harpur et al., 2013) и даже триплоидные самцы; последние, в частности, получены путем жесткого инбридинга в лабораторных условиях у *Athalia rosae* (Linnaeus) (Tenthredinidae) и *Bombus terrestris* (Linnaeus) (Apidae) (Naito, Suzuki, 1991; Ayabe et al., 2004). Кроме того, в разных группах перепончатокрылых неоднократно и независимо происходил переход к диплоидной телитокии, при которой неоплодотворенные яйца дают начало исключительно самкам (Heimpel, Boer, 2008; Gokhman, Kuznetsova, 2018a). Для различных видов и популяций Hymenoptera обычно характерен либо телитокический, либо арренотокический партеногенез, но у многих орехотворок сем. Cynipidae обнаружена так называемая циклическая телитокия, при которой указанные типы партеногенеза закономерно чередуются в разных поколениях (Crozier, 1975). У ряда видов орехотворок, однако, телитокия отсутствует, но, с другой стороны, именно в данном семействе выявлен единственный триплоидный телитокический вид — *Diplolepis eglanteriae* (Hartig) (Sanderson, 1988). У некоторых муравьев обнаружены дальнейшие модификации жизненного цикла, связанные с различными сочетаниями арренотокического и телитокического размножения. В частности, рабочие особи таких видов, как, например, *Cataglyphis hispanica* (Emery) и *Wasmania auropunctata* (Roger), появляются в результате скрещивания самцов и самок, принадлежащих к двум генетически различным линиям, тогда как эти самки размножаются исключительно путем телитокии (Schwander, Keller, 2012).

ЭТАПЫ ИЗУЧЕНИЯ ХРОМОСОМНЫХ НАБОРОВ ПЕРЕПОНЧАТОКРЫЛЫХ

Первые данные о хромосомах Hymenoptera были получены 130 лет назад, т.е. еще в конце XIX в. (Henking, 1892). По сведениям, приведенным в указанной работе, гаплоидное число хромосом (n) у *Diplolepis rosae* (Linnaeus) (Cynipidae) и *Lasius niger* (Linnaeus) (Formicidae) признавалось равным 9 и близким к 10 соответственно, причем, как показали дальнейшие исследования, этот показатель был правильно определен только у *D. rosae*, а у *L. niger* впоследствии обнаружено $n = 15$ (Crozier, 1975). Историю изучения хромосомных наборов рассматриваемого отряда вплоть до наших дней можно условно разделить на четыре основных этапа (Гохман, 2019), краткое описание которых приводится ниже.

Первый этап (1890–1920-е годы). В течение данного этапа были получены сведения о хромосомных наборах примерно тридцати видов Hymenoptera, среди которых оказались представители

всех основных групп перепончатокрылых – сидячебрюхих, паразитических и жалящих (Sanderson, 1932). Необходимо, однако, отметить, что эти данные зачастую не были результатом целенаправленного поиска, а появились в качестве “побочного продукта” гистологических и/или эмбриологических исследований. По указанной причине такие исследования были проведены с помощью метода микротомных срезов, применение которого часто приводило к неправильному определению хромосомных чисел.

Второй этап (1930–1960-е годы). За этот период количество представителей отряда Hymenoptera с изученными хромосомными наборами увеличилось на порядок, достигнув примерно 300 видов. В начале рассматриваемого этапа была опубликована работа, посвященная исследованию партеногенеза у пилильщиков сем. Tenthredinidae (Sanderson, 1932), которая фактически обобщила все известные к тому моменту данные о хромосомах перепончатокрылых. С другой стороны, в указанный период были существенно уточнены представления об исходном механизме определения пола у Hymenoptera. В самом деле, гипотеза о том, что в этой группе самцы, в отличие от самок, развиваются из неоплодотворенных (и, следовательно, гаплоидных) яиц, появилась в середине XIX в. (см. Crozier, 1975), однако могло показаться, что существование диплоидных самцов, надежно установленное по крайней мере для некоторых видов, прямо противоречило данной гипотезе. Это противоречие было разрешено в статье Снелла (Snell, 1935), разработавшего модель определения пола у перепончатокрылых, которой, с определенными изменениями и оговорками, мы придерживаемся до сих пор. Согласно гипотезе Снелла, данный процесс связан с действием неких локусов, причем гетерозиготность хотя бы по одному из них определяет развитие по типу самки, а организмы, гомозиготные (или гемизиготные) по всем этим локусам, развиваются в самцов. Признание данной модели в качестве механизма определения пола, исходного для всего отряда Hymenoptera, однако, растянулось на десятилетия (Crozier, 1975). Видимо, именно по этой причине ошибочные сообщения об обнаружении половых хромосом в обсуждаемой группе появлялись и после публикации работы Снелла (Дозорцева, 1936; Dreyfus, Breuer, 1944; Kerr, 1951). Эти ошибки были возможны еще и потому, что для документирования хромосомных наборов перепончатокрылых тогда, как правило, использовались не микрофотографии, а рисунки, что зачастую приводило к неосознанным искажениям при отображении морфологии хромосом. Что же касается хромосомных чисел представителей отряда, изученных на данном этапе, то впоследствии оказалось, что они в основном были определены верно; среди немногих, но заметных исключений

можно назвать статью Уэлдена и Хаскинса по хромосомам муравьев (Whelden, Haskins, 1953).

Третий этап (1970–1990-е годы). В течение этого периода количество видов перепончатокрылых с изученными хромосомными наборами возросло примерно до 1200, т.е. увеличилось еще приблизительно вчетверо. Одним из важных, но малоизвестных научных трудов, посвященных исследованию хромосом Hymenoptera в середине 70-х годов прошлого века, оказалась диссертация Гудпасчера (Goodpasture, 1974a). В этой работе были приведены новые результаты изучения кариотипов порядка 50 видов, относящихся к 13 семействам паразитических и жалящих перепончатокрылых. Гудпасчером также сделаны важные обобщения, касающиеся общих особенностей морфологии и эволюции хромосом Hymenoptera. К сожалению, несмотря на ряд последующих публикаций (Goodpasture, 1974b, 1975a, b; Goodpasture, Grissell, 1975), значительная часть упомянутых материалов так и осталась неизвестной широкому кругу исследователей. Совсем другая судьба была уготована другой фундаментальной работе, вышедшей из печати почти в то же самое время – первой монографии, посвященной изучению хромосом перепончатокрылых (Crozier, 1975), которая опубликована в серии “Animal cytogenetics”. В этой монографии были подведены итоги предыдущих этапов изучения кариотипов Hymenoptera, а также сделаны попытки обозначить будущие направления исследования хромосомных наборов данной группы. Показательно, в частности, что Крозье (Crozier, 1975) предложил не учитывать результаты, полученные до публикации обзора Сандерсон (Sanderson, 1932), а в некоторых случаях – и после этой даты. Причиной такого решения, очевидно, были многочисленные ошибки, впоследствии обнаруженные в ранее полученных данных (см. выше). Кроме того, сведения, содержащиеся в обсуждаемой работе, позволили констатировать, что паразитические перепончатокрылые оказались наименее изученной в кариотипическом отношении из трех крупнейших групп этого отряда. Скучность имеющейся информации и вытекающее отсюда кажущееся однообразие хромосомных чисел и других особенностей структуры кариотипа наездников даже заставили Крозье (Crozier, 1975) прийти к выводу, что особенности кариотипа могут быть полезными в таксономическом отношении не ниже уровня семейства, в противоположность сидячебрюхим и жалящим Hymenoptera. Это, разумеется, не соответствовало действительности, в чем можно легко убедиться уже на основании работ, опубликованных Гудпасчером (Goodpasture, 1975a; Goodpasture, Grissell, 1975). Весьма слабая изученность хромосом паразитических перепончатокрылых вплоть до середины 70-х годов прошлого века, очевидно, прежде всего объяснялась серьезными техническими труд-

ностями изучения хромосом наездников. Тем не менее в подробном обзоре данных о кариотипах этой группы, опубликованном нами спустя два десятилетия (Gokhman, Quicke, 1995), была показана практическая возможность преодоления большинства трудностей. Наряду с этим, японскими специалистами была разработана весьма простая, но эффективная методика получения высококачественных препаратов хромосом пилльшиков, которая была описана в обобщающей работе Найто (Naito, 1982). Рассматриваемый этап изучения кариотипов Hymenoptera отмечен целым рядом технических достижений. Прежде всего, изменился основной способ исследования хромосом: от микротомных срезов произошел переход вначале к давленным (Imai, Kubota, 1972), а затем и к так называемым высушенным на воздухе препаратам (air-dried preparations; Imai et al., 1977, 1988; Palomeque et al., 1987, и др.). Это существенно ускорило и упростило процесс приготовления хромосомных препаратов, а также позволило увидеть ранее неизвестные детали тонкой структуры хромосом перепончатокрылых. Кроме того, для исследования кариотипов Hymenoptera были впервые применены такие методы дифференциального окрашивания, как C-, AgNOR- и G-окраска (Sumner, 1972; Goodpasture, Bloom, 1975; Imai et al., 1977; Howell, Black, 1980; Burgos et al., 1986; Palomeque et al., 1987; Odierna et al., 1993; Reed, 1993; Lorite et al., 1996). Далее, для окрашивания хромосомных сегментов перепончатокрылых начали использоваться так называемые ДНК-специфичные флуорохромы (Schweizer, 1976; Odierna et al., 1993; Lorite et al., 1997). Наконец, результаты исследования хромосомных наборов стали документироваться исключительно с помощью микрофотографий, что существенно повысило надежность получаемых данных. Таким образом, в рассматриваемый период были фактически заложены основы современных достижений в области цитогенетики перепончатокрылых.

Четвертый этап (2000-е годы – современность).

К настоящему времени известны результаты изучения кариотипов примерно двух тысяч представителей Hymenoptera. Пожалуй, одной из существенных черт данного этапа было то, что среди кариологически исследованных видов заметно увеличилась доля паразитоидов. Это, в частности, нашло отражение как в первой монографии, специально посвященной указанной проблеме (Гохман, 2005), так и в недавнем обзоре (Gokhman, 2022). Кроме того, были созданы базы данных и опубликованы обобщающие работы по сидячебрюхим (Westendorff, 2006) и некоторым группам жалящих перепончатокрылых, в том числе по пчелам и муравьям (Lorite, Palomeque, 2010; Cardoso et al., 2018; Cunha et al., 2021). С другой стороны, рассматриваемый период ознаменовался

интенсивным использованием подходов молекулярной биологии в хромосомных исследованиях. Это выразилось, например, в широком применении метода флуоресцентной гибридизации ДНК *in situ* (fluorescence *in situ* hybridization – FISH) (Matsumoto et al., 2002; Vugt et al., 2005; Gokhman et al., 2014, и др.), позволяющего осуществлять так называемое физическое картирование последовательностей ДНК, т.е. определять их положение на хромосомах. Еще одним из потенциально важных подходов в рассматриваемой области могут оказаться методы иммуноцитохимии, выявляющие хромосомную локализацию тех или иных соединений (Bolsheva et al., 2012). Наконец, последним по списку, но не по значению, необходимо назвать бурное развитие компьютерной кладистики, прежде всего основанной на анализе молекулярно-генетических данных, в том числе полученных в результате полного секвенирования геномов. Указанное обстоятельство позволяет создать достаточно правдоподобные и надежные филогенетические реконструкции для все возрастающего числа групп перепончатокрылых (см., например, Gokhman et al., 2017b), что открывает возможности для детального исследования процессов хромосомной эволюции в разных филогенетических ветвях отряда Hymenoptera.

В целом можно заключить, что развитие исследований кариотипов перепончатокрылых во многом было обусловлено методическим прогрессом в области приготовления и анализа хромосомных препаратов. Тем не менее результаты, полученные с помощью ранее разработанных методов, ныне также находят успешное применение, если они используются с учетом новых теоретических и методических достижений (см. ниже).

ЗНАЧЕНИЕ ХРОМОСОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДЛЯ СИСТЕМАТИКИ И ФИЛОГЕНИИ ПЕРЕПОНЧАТОКРЫЛЫХ

Значение изучения кариотипов для систематики отряда Hymenoptera, особенно в рамках интегративной таксономии, направленной на распознавание, разграничение и описание близких видов (Schlick-Steiner et al., 2010; Гохман, 2018), в настоящее время существенно возросло. Подобные исследования, в частности, показали, что под покровом внешнего однообразия “морфологических видов” перепончатокрылых зачастую скрываются криптические таксоны (см. обзор: Гохман, 2005). Пожалуй, наиболее ярким примером таких работ может служить история обнаружения и описания *Anisopteromalus quinarius* Gokhman et Vaur – всеветно распространенного вида наездников-хальцид сем. Pteromalidae, паразитирующего на некоторых жесткокрылых – вредителях продуктовых запасов (Vaur et al., 2014). Ранее систематики полагали, что эти паразитоиды отно-

сятся к другому виду со сходным распространением и биологией, *A. calandrae* (Howard); однако наши исследования продемонстрировали, что они имеют разные хромосомные числа, $n = 5$ и 7 соответственно. Более того, оказалось, что эти два вида репродуктивно изолированы друг от друга, а также заметно различаются между собой по особенностям морфологии, образа жизни, поведения и структуры ДНК (Baur et al., 2014). Таким образом, *A. quinarius* на самом деле является “хорошим” видом, который по ряду причин оставался незамеченным специалистами. С другой стороны, хромосомный анализ подтвердил, что *Lariophagus distinguendus* (Förster), еще один представитель птеромалид, паразитирующий на вредителях продуктовых запасов из отряда Coleoptera, в действительности также представляет собой комплекс двух близких видов, которые, несмотря на разные хромосомные числа ($n = 5$ и 6) и заметные биологические различия, практически неотличимы по внешнему виду и способны скрещиваться между собой в условиях лаборатории (König et al., 2019). Аналогичные примеры, связанные с обнаружением криптических видов с помощью анализа кариотипов, также известны для сидячебрюхих и жалящих перепончатокрылых (см. обзоры: Westendorff, 2006; Seifert, 2009). Наконец, особенности хромосомных наборов могут служить дополнительным аргументом для отнесения представителей с отклоняющимися параметрами к другим надвидовым таксонам. Так, у большинства муравьев р. *Acromyrmex* отмечено $2n = 38$ (кроме *A. ameliae* De Souza, Soares et Della Lucia с $2n = 36$), но у *A. striatus* (Roger) и родственного ему видов было выявлено $2n = 22$ (Cristiano et al., 2013; Aguiar et al., 2020; Barros et al., 2021). Дальнейший анализ показал, что виды, близкие к *A. striatus*, характеризуются существенным морфологическим и молекулярно-генетическим своеобразием, позволившим выделить их во вновь описанный р. *Atoimyrmex* (Cristiano et al., 2020).

Знание филогении весьма важно для определения направлений эволюции кариотипа той или иной группы (Cristiano et al., 2013; Afonso Neto et al., 2022, и др.). Это, в частности, хорошо видно на примере хромосомных наборов того же комплекса *Lariophagus distinguendus*, где у вида с $n = 5$ имеется длинная метацентрическая хромосома, плечам которой соответствуют акроцентрическая и более короткая метацентрическая хромосомы, присутствующие в кариотипе с $n = 6$ (Gokhman et al., 2019). Поскольку $n = 5$ в сем. Pteromalidae встречается наиболее часто, создавалось впечатление, что мы имеем дело с хромосомным разделением, и вид с $n = 6$ является производным. Проведенный молекулярно-генетический анализ, однако, показал, что ветвь с $n = 5$ возникла в пределах комплекса *L. distinguendus*, исходно имеющего $n = 6$, и, следовательно, в данном случае

произошло не разделение, а слияние хромосом (König et al., 2019). Филогенетический анализ, основанный на результатах полногеномного секвенирования, также позволил определить последовательность перичентрических инверсий у некоторых представителей наездников-хальцид р. *Aphelinus* (Aphelinidae). Так, удалось выяснить, что подобная перестройка во второй хромосоме является общей для двух сестринских видов группы *varipes* с $n = 4$, *A. hordei* Kurdjumov и *A. kurdjumovi* Mercet, причем у последнего из них еще одна инверсия превратила данную хромосому из метацентрической в акроцентрическую (Gokhman et al., 2017b).

Наряду с определением направлений хромосомной эволюции с помощью филогенетических реконструкций, построенных по сторонним признакам (Cristiano et al., 2013; Micolino et al., 2019; Travenzoli et al., 2019a; Afonso Neto et al., 2022), в некоторых случаях те или иные особенности кариотипа перепончатокрылых также можно рассматривать в качестве синапоморфий, маркирующих различные филогенетические ветви. Одним из примеров может служить филогенетическое древо некоторых наездников сем. Eurytomidae, паразитирующих на мухах-пестрокрылках (Tephritidae) (Gokhman, Mikhailenko, 2008). Так, для большинства представителей р. *Eurytoma* характерно $n = 10$, однако у всех изученных видов, заражающих пестрокрылок, число хромосом существенно ниже за счет последовательных хромосомных слияний: $n = 7$, 6 и 5 у *E. robusta* Mayr, *E. serratulae* (Fabricius) и *E. compressa* (Fabricius) соответственно. Первый из этих видов является единственным исследованным представителем группы *robusta*, а два других – группы *compressa* (= *tibialis*). Таким образом, эти наездники обособлены от остальных изученных видов *Eurytoma* не только по структуре кариотипа, но и по совокупности морфологических и биологических особенностей. Многие из этих признаков (включая хромосомные слияния) являются синапоморфиями, определяющими топологию полученного древа (Gokhman, Mikhailenko, 2008).

МЕСТО ХРОМОСОМНОГО АНАЛИЗА В ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ПЕРЕПОНЧАТОКРЫЛЫХ

Как известно, число хромосом определяет количество групп сцепления генов в составе того или иного генома. Прямые оценки этого показателя приобретают особое значение в настоящее время, когда полное секвенирование геномов представителей отряда Hymenoptera стало достаточно обычной процедурой. В таких условиях весьма важен независимый контроль полноты сборки изученных последовательностей ДНК на уровне отдельных хромосом, особенно в случае,

когда их размеры малы (см., например, Wittmeyer et al., 2022). Кроме этого, хромосомные числа можно использовать в качестве мерил уровней генетической рекомбинации, прежде всего в контексте больших массивов данных (“big data”). Например, недавние исследования показали, что средний разброс хромосомных чисел (т.е. дисперсия уровней рекомбинационной изменчивости) у общественных перепончатокрылых примерно втрое выше, чем у одиночных (Ross et al., 2015).

К настоящему времени при изучении кариотипов перепончатокрылых используется комплекс различных методик, специально предназначенных для идентификации отдельных хромосом и их сегментов (Гохман, 2005). Очевидно, наиболее доступным из этих методов, основанным на обычной, или рутинной, окраске хромосом, является морфометрический анализ (см., например, Gebiola et al., 2012). Такое исследование, в частности, позволяет определить относительную длину и центральный индекс каждой хромосомы. Следует также отметить, что применение морфометрического анализа для определения возможных преобразований кариотипа наиболее эффективно при небольшом числе хромосом в наборе, в основном характерном для некоторых групп наездников (Gokhman et al., 2017b; König et al., 2019).

Кроме того, для дифференциальной окраски кариотипов Нумептерга используется ряд методов, условно разделяемых на две группы — “классические”, или “традиционные”, и “современные”. К “классическим” прежде всего относятся так называемые С- и AgNOR-окраски, соответственно выявляющие гетерохроматиновые районы хромосом и область ядрышкового организатора (nucleolus organizer regions — NOR) (Palomeque et al., 1987; Reed, 1993; Gebiola et al., 2012; Piccoli et al., 2018; Menezes et al., 2019, и др.). Наряду с этим, для исследования хромосом перепончатокрылых неоднократно предпринимались попытки использования так называемой G-окраски, обычно получаемой в результате обработки хромосомных препаратов протеолитическими ферментами, прежде всего трипсином (Odierna et al., 1993; Lorite et al., 1996). Проблема здесь, однако, состоит в том, что, в отличие от позвоночных животных, у насекомых (включая перепончатокрылых) это окрашивание позволяет опознавать определенные элементы в составе того или иного конкретного кариотипа, но не дает возможности выявить гомологичные хромосомы даже у близких видов. Наконец, обработка хромосом одного из видов муравьев рестрикционными эндонуклеазами (Lorite et al., 1999) позволила получить результаты, близкие либо к С-, либо к G-окраске, в зависимости от конкретного фермента.

В дополнение к традиционным, для исследования кариотипов перепончатокрылых в настоящее время широко применяются современные методы. Указанные методы, в частности, включают использование флуорохромов, специфически окрашивающих ДНК и прежде всего хромосомные сегменты, обогащенные АТ- и ГЦ-парами оснований. Так, например, йодистый пропидий связывается с ДНК любого состава, тогда как хромомицин А₃ (СМА₃) и 4',6-диамидино-2-фенилиндо́л (DAPI) соответственно окрашивают ГЦ- и АТ-пары оснований (Schweizer, 1976). На практике, поскольку ДНК в составе хромосом представителей отряда Нумептерга в основном представлена АТ-обогащенной фракцией, эти хромосомы более или менее полно окрашиваются DAPI, часто за исключением узких сегментов с повышенным содержанием ГЦ-пар. В свою очередь, указанные сегменты, окрашиваемые СМА₃, обычно представляют собой NOR (Gokhman et al., 2016; Tavares, Teixeira, 2022), но СМА₃-положительные участки могут быть и не связаны с ядрышковым организатором (Menezes et al., 2011), занимая, в частности, терминальное положение на многих или даже всех хромосомах набора (Gokhman et al., 2017a; Menezes et al., 2019; Barbosa et al., 2021).

Важнейшим способом физического картирования последовательностей ДНК, позволяющим определять их положение на хромосомах, является флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH). С технической точки зрения этот метод основан на гибридизации ДНК-пробы, меченной флуорохромом и нанесенной на хромосомный препарат, с одной из цепей ДНК в составе той или иной хромосомы (Speicher, Carter, 2005). В настоящее время при хромосомном изучении перепончатокрылых FISH чаще используется для выявления повторяющихся последовательностей, прежде всего локусов рибосомной ДНК (рДНК), а также участков сосредоточения микросателлитов и транспозонов (Lorite et al., 2012; Gokhman et al., 2014; Piccoli et al., 2018; Menezes et al., 2019, 2021; Micolino et al., 2019; Travenzoli et al., 2019b; Pereira et al., 2021a, b; Tavares, Teixeira, 2022, и др.). Так, в гаплоидных наборах большинства Нумептерга присутствуют один—два сайта рДНК, но количество этих сайтов обычно увеличивается с ростом хромосомных чисел, достигая 4, 6 и 15 у отдельных представителей Symphyta, Parasitica и Aculeata соответственно (Matsumoto et al., 2002; Paladino et al., 2013; Menezes et al., 2021).

Отдельного упоминания, очевидно, заслуживает разнообразие структуры теломер Нумептерга. Так, еще 10—15 лет назад специалисты считали, что теломерный повтор типа ТТАГГ, встречающийся во многих группах насекомых, характерен и для всех перепончатокрылых. Последующий анализ,

однако, продемонстрировал, что в этом отношении были исследованы только некоторые представители семейств Formicidae и Apidae (Meune et al., 1995; Frydrychová et al., 2004; Micolino et al., 2019, 2020; Castro et al., 2020, и др.), а попытки выявить данный повтор у других Apsocrita до определенного времени заканчивались неудачей (Gokhman et al., 2014; Menezes et al., 2017). Тем не менее повторяющаяся последовательность ТТАГГ впоследствии была обнаружена в составе теломер низших перепончатокрылых — пилильщиков, относящихся к семействам Tenthredinidae, Cephidae и Orussidae. Это было сделано сначала с помощью FISH (Gokhman, Kuznetsova, 2018b), а затем — с использованием методов биоинформатики (Zhou et al., 2022). Таким образом, теломерный повтор ТТАГГ, очевидно, является исходным для отряда (Gokhman, Kuznetsova, 2018b), однако, как выяснилось в последнее время, данный мотив может замещаться в пределах Apsocrita самыми разными повторами — от мононуклеотидной последовательности поли-Т длиной в несколько сотен пар оснований, выявленного у одного из наездников сем. Ichneumonidae, до, например, теломерных повторов ТТАТТГГГ, ТТГЦГТЦТГГГ и ТТАГГ-ТТГГГГ, соответственно характерных, с некоторыми изменениями, для изученных представителей хальцид и ос надсемейства Vespoidea, а также шмелей р. *Bombus* (Dalla Benetta et al., 2020; Lukhtanov, 2022). Более того, повтор ТТАГГ, согласно биоинформатическим данным, встречается, помимо муравьев и некоторых пчел, у ряда других Aculeata, что в совокупности свидетельствует о беспрецедентном разнообразии теломерных последовательностей перепончатокрылых (Lukhtanov, 2022).

Наряду с этим, методика FISH была применена для картирования “супергенов” (инвертированных участков хромосом, в которых накапливаются генетические различия), а также уникальных генов у ряда представителей Hymenoptera (Matsumoto et al., 2002; Wang et al., 2013; Thompson, Jiggins, 2014). С другой стороны, весьма перспективной оказалась комбинация данного метода с так называемой хромосомной микродиссекцией — изоляцией нуклеопотеидного материала определенных хромосом или их отдельных районов с последующим выделением ДНК, ее амплификацией и мечением получившихся проб с помощью флуорохромов (Speicher, Carter, 2005). Использование указанных проб для FISH позволяет осуществить так называемый хромосомный пэинтинг, что дает возможность опознавать отдельные хромосомы и их специфические сегменты, а также предоставляет информацию о последовательностях ДНК, характерных для тех или иных районов (Rütten et al., 2004; Fernandes et al., 2011; Martins et al., 2013; Lopes et al., 2014; Gokhman et al., 2019).

Наконец, для изучения химического состава и структуры хромосом Hymenoptera могут быть использованы методы иммуноцитохимии. Данные методы подразумевают применение специфических антител, меченных флуорохромами. В настоящее время, насколько мне известно, с помощью этих методов выполнена единственная работа, посвященная изучению хромосом перепончатокрылых (Bolsheva et al., 2012). В указанной статье были применены антитела к 5-метилцитозину, что позволило определить степень метилирования ДНК по длине хромосом.

ПЕРСПЕКТИВЫ ХРОМОСОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПЕРЕПОНЧАТОКРЫЛЫХ

Все вышеизложенное показывает, что изучение хромосомных наборов перепончатокрылых в настоящее время продолжает развиваться бурными темпами. В этой ситуации определение наиболее перспективных направлений развития таких исследований даже в ближайшем будущем оказывается достаточно неблагоприятным занятием. Тем не менее какие-то из этих направлений, очевидно, можно более или менее уверенно очертить. Что касается групп, в изучении которых можно ожидать серьезных прорывов, таковыми, видимо, будут являться представители паразитических перепончатокрылых, относительная доля исследованных видов которых весьма мала, особенно по сравнению со многими жалящими и растительноядными Hymenoptera (Gokhman, 2022). Вне всякого сомнения, еще большее применение должны получить такие современные методики, как FISH и методы иммунохимии. Судя по некоторым признакам, плодотворным может оказаться сочетание собственно хромосомного исследования и изучения размеров генома (Gokhman et al., 2017b; Moura et al., 2020). Также довольно продуктивным, очевидно, будет исследование мейоза перепончатокрылых, в том числе с помощью продвинутых методов. Наконец, следует отметить, что использование методов хромосомного исследования для целей систематики и эволюционной генетики наиболее эффективно в сочетании с филогенетическим анализом, основанным на молекулярно-генетических признаках, зачастую в комбинации с морфологическими. Такое сочетание позволяет получить очень интересные и важные результаты, особенно на уровне близких видов и форм (см., например, Гохман, 2018).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За 130 лет, прошедших с начала цитогенетического исследования перепончатокрылых, получены сведения о кариотипах около двух тысяч представителей отряда. Данная цифра составляет ма-

люю часть от общего числа описанных видов Hymenoptera, но тем не менее указанные результаты показывают важность и перспективность изучения хромосом как для систематики, так и для собственно генетических исследований перепончатокрылых. Важно понимать, что для этих целей могут быть успешно использованы не только данные обычной окраски хромосом, но и сведения, полученные с применением более продвинутых методов, прежде всего таких, как окраска ДНК-специфичными флуорохромами и флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH). Дальнейший прогресс хромосомных исследований перепончатокрылых, очевидно, связан с изучением новых таксонов и с использованием молекулярно-генетических методов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор искренне признателен В.Г. Кузнецовой (Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург) за рецензирование первоначального варианта рукописи и ценные предложения по ее содержанию.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Данное исследование выполнено в рамках Государственного задания МГУ № 121031600193-7.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием теплокровных животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Гохман В.Е., 2005. Кариотипы паразитических перепончатокрылых (Hymenoptera). М.: Т-во науч. изд. КМК. 185 с. [Gokhman V.E., 2009. Karyotypes of Parasitic Hymenoptera. Dordrecht: Springer Science + Business Media B.V. 183 p.]
- Гохман В.Е., 2007. Кариотипы перепончатокрылых (Hymenoptera): разнообразие, эволюция и таксономическое значение // Исследования по перепончатокрылым насекомым. М.: Т-во науч. изд. КМК. С. 10–27.
- Гохман В.Е., 2018. Интегративная таксономия и ее значение для решения проблем видовой систематики паразитических перепончатокрылых (Hymenoptera) // Энтомол. обозр. Т. 97. № 4. С. 755–793.
- Гохман В.Е., 2019. Хромосомное исследование перепончатокрылых насекомых (Hymenoptera): история и современность // IV Евроазиат. симп. по перепончатокрылым насекомым (Владивосток, 9–15 сентября 2019 г.): тез. докл. Владивосток: ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН. С. 73–74.
- Дозорцева Р.Л., 1936. Морфология хромосом у наездника *Pteromalus puparum* // Изв. АН СССР. Сер. биол. № 6. С. 1206–1221.
- Afonso Neto P.C., Micolino R., Cardoso D.C., Cristiano M.P., 2022. Phylogenetic reconstruction of the ancestral chromosome number of the genera *Anochetus* Mayr, 1861 and *Odontomachus* Latreille, 1804 (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae) // Front. Ecol. Evol. V. 10. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.829989>
- Aguiar H.J.A.C., de, Barros L.A.C., Silveira L.I., Petitclerc F., Etienne S., Orivel J., 2020. Cytogenetic data for sixteen ant species from North-eastern Amazonia with phylogenetic insights into three subfamilies // Comp. Cytogenet. V. 14. № 1. P. 43–60.
- Ayabe T., Hoshihara H., Ono M., 2004. Cytological evidence for triploid males and females in the bumblebee, *Bombus terrestris* // Chromosome Res. V. 12. P. 215–223.
- Barbosa I.C.O., Schneider C.H., Goll L.G., Feldberg E., Carvalho-Zilse G.A., 2021. Chromosomal mapping of repetitive DNA in *Melipona seminigra merrillae* Cockerell, 1919 (Hymenoptera, Apidae, Meliponini) // Comp. Cytogenet. V. 15. № 1. P. 77–87.
- Barros L.A.C., Aguiar H.J.A.C., de, Teixeira G.A., Souza D.J., de, Delabie J.H.C., Mariano C.S.F., 2021. Cytogenetic studies on the social parasite *Acromyrmex ameliae* (Formicidae: Myrmicinae: Attini) and its hosts reveal chromosome fusion in *Acromyrmex* // Zool. Anz. V. 293. P. 273–281.
- Baur H., Kranz-Baltensperger Y., Cruaud A., Rasplus J.-Y., Timokhov A.V., Gokhman V.E., 2014. Morphometric analysis and taxonomic revision of *Anisopteromalus Ruschka* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Pteromalidae) – an integrative approach // Syst. Entomol. V. 39. № 4. P. 691–709.
- Bebber D.P., Polaszek A., Wood J.R.I., Barker C., Scotland R.W., 2014. Taxonomic capacity and author inflation // New Phytol. V. 202. P. 741–742.
- Bolsheva N.L., Gokhman V.E., Muravenko O.V., Gumovsky A.V., Zelenin A.V., 2012. Comparative cytogenetic study on two species of the genus *Entedon* Dalman, 1820 (Hymenoptera: Eulophidae) using DNA-binding fluorochromes and molecular and immunofluorescent markers // Comp. Cytogenet. V. 6. № 1. P. 79–92.
- Burgos M., Jiménez R., Díaz de la Guardia R., 1986. Rapid, simple and reliable combined method for G-banding mammalian and human chromosomes // Stain Technol. V. 61. № 5. P. 257–260.
- Cardoso D.C., Santos H.G., Cristiano M.P., 2018. The Ant Chromosome database – ACdb: An online resource for ant (Hymenoptera: Formicidae) chromosome researchers // Myrmecol. News. V. 27. P. 87–91.
- Castro C.P.M., de, Cardoso D.C., Micolino R., Cristiano M.P., 2020. Comparative FISH-mapping of TTAGG telomeric sequences to the chromosomes of leafcutter ants (Formicidae, Myrmicinae): Is the insect canonical sequence conserved? // Comp. Cytogenet. V. 14. № 3. P. 369–385.
- Cristiano M.P., Cardoso D.C., Fernandes-Salomão T.M., 2013. Cytogenetic and molecular analyses reveal a divergence between *Acromyrmex striatus* (Roger, 1863) and oth-

- er congeneric species: taxonomic implications // *PLoS One*. V. 8. № 3.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059784>
- Cristiano M.P., Cardoso D.C., Sandoval-Gómez V.E., Simões-Gomes F.C., 2020. *Amoiromex* Cristiano, Cardoso & Sandoval, gen. nov. (Hymenoptera: Formicidae): A new genus of leaf-cutting ants revealed by multilocus molecular phylogenetic and morphological analyses // *Austral Entomol.* V. 59. P. 643–676.
- Crozier R.H., 1975. *Animal Cytogenetics*. 3. Insecta. (7) Hymenoptera. Berlin: Gebrüder Borntraeger. 95 p.
- Cunha M.S., Cardoso D.C., Cristiano M.P., Campos L.A.O., Lopes D.M., 2021. The Bee Chromosome database (Hymenoptera: Apidae) // *Apidologie*. V. 52. P. 493–502.
- Dalla Benetta E., Antoshechkin I., Yang T., Nguyen H.Q.M., Ferree P.M., Akbari O.S., 2020. Genome elimination mediated by gene expression from a selfish chromosome // *Sci. Adv.* V. 6.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz9808>
- Dreyfus A., Breuer M.E., 1944. Chromosomes and sex determination in the parasitic hymenopteron *Telenomus fariai* (Lima) // *Genetics*. V. 29. P. 75–82.
- Fernandes A., Scudeler P.E.S., Diniz D., Foresti F., Campos L.A.O., Lopes D.M., 2011. Microdissection: A tool for bee chromosome studies // *Apidologie*. V. 42. P. 743–748.
- Forbes A.A., Bagley R.K., Beer M.A., Hippee A.C., Widmayer H.A., 2018. Quantifying the unquantifiable: Why Hymenoptera, not Coleoptera, is the most speciose animal order // *BMC Ecol.* V. 18.
<https://doi.org/10.1186/s12898-018-0176-x>
- Frydrychová R., Grossmann P., Trubač P., Vítková M., Marec F., 2004. Phylogenetic distribution of TTAGG telomeric repeats in insects // *Genome*. V. 47. P. 163–178.
- Gauld I.D., Bolton B., 1988. *The Hymenoptera*. Oxford: British Museum (Natural History); Oxford Univ. Press. 332 p.
- Gebiola M., Giorgini M., Navone P., Bernardo U., 2012. A karyological study of the genus *Phigalio* Schrank (Hymenoptera: Eulophidae): Assessing the taxonomic utility of chromosomes at the species level // *Bull. Entomol. Res.* V. 102. P. 43–50.
- Gokhman V.E., 2022. Comparative karyotype analysis of parasitoid Hymenoptera (Insecta): major approaches, techniques, and results // *Genes*. V. 13. № 5.
<https://doi.org/10.3390/genes13050751>
- Gokhman V.E., Kuznetsova V.G., 2018a. Parthenogenesis in Hexapoda: Holometabolous insects // *J. Zool. Syst. Evol. Res.* V. 56. № 1. P. 23–34.
- Gokhman V.E., Kuznetsova V.G., 2018b. Presence of the canonical TTAGG insect telomeric repeat in the Tenthredinidae (Symphyta) suggests its ancestral nature in the order Hymenoptera // *Genetica*. V. 146. № 3. P. 341–344.
- Gokhman V.E., Mikhailenko A.P., 2008. Karyotypic diversity in the subfamily Eurytominae (Hymenoptera: Eurytomidae) // *Folia Biol. (Kraków)*. V. 56. № 3–4. P. 209–212.
- Gokhman V.E., Quicke D.L.J., 1995. The last twenty years of parasitic Hymenoptera karyology: An update and phylogenetic implications // *J. Hym. Res.* V. 4. P. 41–63.
- Gokhman V.E., Anokhin B.A., Kuznetsova V.G., 2014. Distribution of 18S rDNA sites and absence of the canonical TTAGG insect telomeric repeat in parasitoid Hymenoptera // *Genetica*. V. 142. № 4. P. 317–322.
- Gokhman V.E., Pereira F.F., Costa M.A., 2017a. A cytogenetic study of three parasitic wasp species (Hymenoptera, Chalcidoidea, Eulophidae, Trichogrammatidae) from Brazil using chromosome morphometrics and base-specific fluorochrome staining // *Comp. Cytogenet.* V. 11. № 1. P. 179–188.
- Gokhman V.E., Bolsheva N.L., Govind S., Muravenko O.V., 2016. A comparative cytogenetic study of *Drosophila* parasitoids (Hymenoptera, Figitidae) using DNA-binding fluorochromes and FISH with 45S rDNA probe // *Genetica*. V. 144. № 3. P. 335–339.
- Gokhman V.E., Kuhn K.L., Woolley J.B., Hopper K.R., 2017b. Variation in genome size and karyotype among closely related aphid parasitoids (Hymenoptera, Aphelinidae) // *Comp. Cytogenet.* V. 11. № 1. P. 97–117.
- Gokhman V.E., Cioffi M.B., König C., Pollmann M., Gantert C., et al., 2019. Microdissection and whole chromosome painting confirm karyotype transformation in cryptic species of the *Lariophagus distinguendus* (Förster, 1841) complex (Hymenoptera: Pteromalidae) // *PLoS One*. V. 14. № 11.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225257>
- Goodpasture C., 1974a. Cytological data and classification of the Hymenoptera. PhD thesis. Davis: Univ. of California. 178 p.
- Goodpasture C., 1974b. Karyology and taxonomy of some species of eumenid wasps (Hymenoptera: Eumenidae) // *J. Kansas Entomol. Soc.* V. 47. № 3. P. 364–372.
- Goodpasture C., 1975a. Comparative courtship behavior and karyology in *Monodontomerus* (Hymenoptera: Torymidae) // *Ann. Entomol. Soc. Am.* V. 68. P. 391–397.
- Goodpasture C., 1975b. The karyotype of the cynipid *Callirhytis palmiformis* (Ashmead) // *Ann. Entomol. Soc. Am.* V. 68. P. 801–802.
- Goodpasture C., Bloom C.E., 1975. Visualization of nuclear organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining // *Chromosoma*. V. 53. P. 37–50.
- Goodpasture C., Grissell E.E., 1975. A karyological study of nine species of *Torymus* (Hymenoptera: Torymidae) // *Can. J. Genet. Cytol.* V. 17. P. 413–422.
- Harpur B.A., Sobhani M., Zayed A., 2013. A review of the consequences of complementary sex determination and diploid male production on mating failures in the Hymenoptera // *Entomol. Exp. Appl.* V. 146. P. 156–164.
- Heimpel G.E., Boer J.G., de, 2008. Sex determination in the Hymenoptera // *Annu. Rev. Entomol.* V. 53. P. 209–230.
- Henking H., 1892. Untersuchen über die ersten Entwicklungsvorgänge in der Eiern der Insekten. III. Spezielles und Allgemeines // *Z. Wiss. Zool.* B. 54. S. 1–274.
- Howell W.M., Black D.A., 1980. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method // *Experientia*. V. 36. P. 1014–1015.
- Huber J.T., 2017. *Biodiversity of Hymenoptera* // *Insect Biodiversity: Science and Society*. 2nd ed. Oxford: Wiley Blackwell. P. 419–461.

- Hunter M.S., Nur U., Werren J.H., 1993. Origin of males by genome loss in an autoparasitoid wasp // *Heredity*. V. 70. P. 162–171.
- Imai H.T., Kubota M., 1972. Karyological studies of Japanese ants (Hymenoptera, Formicidae). III. Karyotypes of nine species in Ponerinae, Formicinae, and Myrmicinae // *Chromosoma*. V. 37. P. 193–200.
- Imai H.T., Crozier R.H., Taylor R.W., 1977. Karyotype evolution in Australian ants // *Chromosoma*. V. 59. P. 341–393.
- Imai H.T., Taylor R.W., Crosland M.W.J., Crozier R.H., 1988. Modes of spontaneous chromosomal mutation and karyotype evolution in ants with reference to the minimum interaction hypothesis // *Jpn. J. Genet.* V. 63. P. 159–185.
- Kerr W.E., 1951. Sex-chromosome in honey-bee // *Evolution*. V. 5. P. 80–81.
- König C., Paschke S., Pollmann M., Reinisch R., Gantert C., et al., 2019. Molecular and cytogenetic differentiation within the *Lariophagus distinguendus* (Förster, 1841) species complex (Hymenoptera, Pteromalidae) // *Comp. Cytogenet.* V. 13. № 2. P. 133–145.
- LaSalle J., Gauld I.D., 1991. Parasitic Hymenoptera and the biodiversity crisis // *Redia*. V. 74. № 3. P. 315–334.
- Leung K., Zande L., van de, Beukeboom L.W., 2019. Life-history traits of the Whiting polyploid line of the parasitoid *Nasonia vitripennis* // *Entomol. Exp. Appl.* V. 167. P. 655–669.
- Lopes D.M., Fernandes A., Diniz D., Scudeler P.E.S., Foresti F., Campos L.A.O., 2014. Similarity of heterochromatic regions in the stingless bees (Hymenoptera: Meliponini) revealed by chromosome painting // *Caryologia*. V. 67. № 3. P. 222–226.
- Lorite P., Palomeque T., 2010. Karyotype evolution in ants (Hymenoptera: Formicidae), with a review of the known ant chromosome numbers // *Myrmecol. News*. V. 13. P. 89–102.
- Lorite P., Chica E., Palomeque T., 1996. G-banding and chromosome condensation in the ant, *Tapinoma nigerrimum* // *Chromosome Res.* V. 4. P. 77–79.
- Lorite P., Aránega A.E., Luque F., Palomeque T., 1997. Analysis of the nucleolar organizing regions in the ant *Tapinoma nigerrimum* (Hymenoptera, Formicidae) // *Heredity*. V. 78. P. 578–582.
- Lorite P., Garcia M.F., Carrillo J.A., Palomeque T., 1999. Restriction endonuclease chromosome banding in *Tapinoma nigerrimum* (Hymenoptera, Formicidae) // *Hereditas*. V. 131. P. 197–201.
- Lorite P., Maside X., Sanllorente O., Torres M.I., Periquet G., Palomeque T., 2012. The ant genomes have been invaded by several types of *mariner* transposable elements // *Naturwissenschaften*. V. 99. P. 1007–1020.
- Lukhtanov V.A., 2022. Diversity and evolution of telomere and subtelomere DNA sequences in insects // *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2022.04.08.487650>
- Macy R.M., Whiting P.W., 1969. Tetraploid females in *Mormoniella* // *Genetics*. V. 61. P. 619–630.
- Martins C.C.C., Diniz D., Sobrinho-Scudeler P.E., Foresti F., Campos L.A.O., Costa M.A., 2013. Investigation of *Partamona helleri* (Apidae, Meliponini) B chromosome origin. An approach by microdissection and whole chromosome painting // *Apidologie*. V. 44. P. 75–81.
- Matsumoto K., Yamamoto D.S., Sumitani M., Lee J.M., Hatakeyama M., Oishi K., 2002. Detection of a single copy on a mitotic metaphase chromosome by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) in the sawfly, *Athalia rosae* (Hymenoptera) // *Arch. Insect Biochem. Physiol.* V. 49. P. 34–40.
- Menezes R.S.T., Gazoni T., Costa M.A., 2019. Cytogenetics of warrior wasps (Vespidae: *Synoeca*) reveals intense evolutionary dynamics of ribosomal DNA clusters and an unprecedented number of microchromosomes in Hymenoptera // *Biol. J. Linn. Soc.* V. 126. P. 925–935.
- Menezes R.S.T., Carvalho A.F., Silva J.G., Costa M.A., 2011. Molecular characterization of constitutive heterochromatin in three species of *Trypoxylon* (Hymenoptera, Crabronidae, Trypoxylini) by CMA₃/DAPI staining // *Comp. Cytogenet.* V. 5. № 2. P. 71–80.
- Menezes R.S.T., Bardella V.B., Cabral-de-Mello D.C., Lucena D.A.A., Almeida E.A.B., 2017. Are the TTAGG and TTAGGG telomeric repeats phylogenetically conserved in aculeate Hymenoptera? // *Sci. Nat.* V. 104. <https://doi.org/10.1007/s00114-017-1507-z>
- Menezes R.S.T., Cabral-de-Mello D.C., Milani D., Bardella V.B., Almeida E.A.B., 2021. The relevance of chromosome fissions for major ribosomal DNA dispersion in hymenopteran insects // *J. Evol. Biol.* V. 34. P. 1466–1476.
- Meyne J., Hirai H., Imai H.T., 1995. FISH analysis of the telomere sequences of bulldog ants (*Myrmecia*: Formicidae) // *Chromosoma*. V. 104. P. 14–18.
- Micolino R., Cristiano M.P., Cardoso D.C., 2020. Karyotype and putative chromosomal inversion suggested by integration of cytogenetic and molecular data of the fungus-farming ant *Mycetomoellerius iheringi* Emery, 1888 // *Comp. Cytogenet.* V. 14. № 2. P. 197–210.
- Micolino R., Cristiano M.P., Travenzoli N.M., Lopes D.M., Cardoso D.C., 2019. Chromosomal dynamics in space and time: Evolutionary history of *Mycetophylax* ants across past climatic changes in the Brazilian Atlantic coast // *Sci. Rep.* V. 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55135-5>
- Moura M.N., Cardoso D.C., Lima Baldez B.C., Cristiano M.P., 2020. Intraspecific variation in the karyotype length and genome size of fungus-farming ants (genus *Mycetophylax*), with remarks on procedures for the estimation of genome size in the Formicidae by flow cytometry // *PLoS One*. V. 15. № 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237157>
- Naito T., 1982. Chromosome number differentiation in sawflies and its systematic implication (Hymenoptera, Tenthredinidae) // *Kontyû*. V. 50. P. 569–587.
- Naito T., Suzuki H., 1991. Sex determination in the sawfly, *Athalia rosae ruficornis* (Hymenoptera): Occurrence of triploid males // *J. Hered.* V. 82. P. 101–104.
- Nur U., Werren J.H., Eickbush D.G., Burke W.D., Eickbush T.H., 1988. A “selfish” B chromosome that enhances its transmission by eliminating the paternal genome // *Science*. V. 240. P. 512–514.
- Odierna G., Baldanza F., Aprea G., Olmo E., 1993. Occurrence of G-banding in metaphase chromosomes of *En-*

- carsia berlesei* (Hymenoptera: Aphelinidae) // Genome. V. 36. P. 662–667.
- Paladino L.Z.C., Papeschi A., Lanzavecchia S., Cladera J., Bressa M.J., 2013. Cytogenetic characterization of *Dia-chasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid wasp used as a biological control agent // Eur. J. Entomol. V. 110. № 3. P. 401–409.
- Palomeque T., Chica E., Cano M.A., Díaz de la Guardia R., Tinaut A., 1987. Cytogenetic studies in the genera *Pheidole* and *Tetramorium* (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae) // Caryologia. V. 41. P. 289–298.
- Pereira J.A., Milani D., Ferretti A.B.S.M., Bardella V.B., Cabral-de-Mello D.C., Lopes D.M., 2021a. The extensive amplification of heterochromatin in *Melipona* bees revealed by high throughput genomic and chromosomal analysis // Chromosoma. V. 130. P. 251–262.
- Pereira J.A., Travenzoli N.M., Oliveira M.P., de, Werneck H.A., Salomão T.M.F., Lopes D.M., 2021b. Molecular cytogenetics in the study of repetitive sequences helping to understand the evolution of heterochromatin in *Melipona* (Hymenoptera, Meliponini) // Genetica. V. 149. P. 55–62.
- Piccoli M.C.A., Bardella V.B., Cabral-de-Mello D.C., 2018. Repetitive DNAs in *Melipona scutellaris* (Hymenoptera: Apidae: Meliponidae): Chromosomal distribution and test of multiple heterochromatin amplification in the genus // Apidologie. V. 49. P. 497–504.
- Reed K.M., 1993. Cytogenetic analysis of the paternal sex ratio chromosome of *Nasonia vitripennis* // Genome. V. 36. P. 157–161.
- Ross L., Blackmon H., Lorite P., Gokhman V.E., Hardy N.B., 2015. Recombination, chromosome number and eusociality in the Hymenoptera // J. Evol. Biol. V. 28. № 1. P. 105–116.
- Rütten K.B., Pietsch C., Olek K., Neusser M., Beukeboom L.W., Gadau J., 2004. Chromosomal anchoring of linkage groups and identification of wing size QTL using markers and FISH probes derived from microdissected chromosomes in *Nasonia* (Pteromalidae: Hymenoptera) // Cytogenet. Genome Res. V. 105. P. 126–133.
- Sanderson A.R., 1932. The cytology of parthenogenesis in Tenthredinidae // Genetica. V. 14. P. 321–494.
- Sanderson A.R., 1988. Cytological investigation of parthenogenesis in gall wasps (Cynipidae, Hymenoptera) // Genetica. V. 77. P. 189–216.
- Schlick-Steiner B.C., Steiner F.M., Seifert B., Stauffer C., Christian E., Crozier R.H., 2010. Integrative taxonomy: A multisource approach to exploring biodiversity // Annu. Rev. Entomol. V. 55. P. 421–438.
- Schwander T., Keller L., 2012. Evolution: Sociality as a driver of unorthodox reproduction // Curr. Biol. V. 22. № 13. P. R525–R527.
- Schweizer D., 1976. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI // Chromosoma. V. 58. P. 307–324.
- Seifert B., 2009. Cryptic species in ants (Hymenoptera: Formicidae) revisited: We need a change in the alpha-taxonomic approach // Myrmecol. News. V. 12. P. 149–166.
- Snell G.D., 1935. The determination of sex in *Habrobracon* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 21. P. 446–453.
- Speicher M.R., Carter N.P., 2005. The new cytogenetics: Blurring the boundaries with molecular biology // Nat. Rev. Genet. V. 6. P. 782–792.
- Sumner A.T., 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin // Exp. Cell. Res. V. 75. P. 304–306.
- Tavares M.G., Teixeira G.A., 2022. Classic and molecular cytogenetic analysis unveils different chromosome rearrangements shaping the karyotype of *Monobia angulosa* Saussure, 1852 (Hymenoptera: Vespidae: Eumeninae) // Biol. J. Linn. Soc. V. 136. № 1. P. 145–154.
- Thompson M.J., Jiggins C.D., 2014. Supergenes and their role in evolution // Heredity. V. 113. P. 1–8.
- Travenzoli N.M., Cardoso D.C., Werneck H.A., Fernandes-Salomão T.M., Tavares M.G., Lopes D.M., 2019a. The evolution of haploid chromosome numbers in Meliponini // PLoS One. V. 14. № 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224463>
- Travenzoli N.M., Lima B.A., Cardoso D.C., Dergam J.A., Fernandes-Salomão T.M., Lopes D.M., 2019b. Cytogenetic analysis and chromosomal mapping of repetitive DNA in *Melipona* species (Hymenoptera, Meliponini) // Cytogenet. Genome Res. V. 158. P. 213–224.
- Vugt J.J.F.A., van, Jong H., de, Stouthamer R., 2009. The origin of a selfish B chromosome triggering paternal sex ratio in the parasitoid wasp *Trichogramma kaykai* // Proc. R. Soc. B. V. 276. P. 4149–4154.
- Vugt J.J.F.A., van, Nooijer S., de, Stouthamer R., Jong H., de, 2005. NOR activity and repeat sequences of the paternal sex ratio chromosome of the parasitoid wasp *Trichogramma kaykai* // Chromosoma. V. 114. P. 410–419.
- Wang J., Wurm Y., Nipitwattanaphon M., Riba-Grognuz O., Huang Y.-C., et al., 2013. A Y-like social chromosome causes alternative colony organization in fire ants // Nature. V. 493. P. 664–668.
- Werren J.H., 1991. The paternal-sex-ratio chromosome of *Nasonia* // Am. Nat. V. 137. P. 392–402.
- Westendorff M., 2006. Chromosomes of sawflies (Hymenoptera: Symphyta) – a survey including new data // Recent Sawfly Research: Synthesis and Prospects. Keltorn: Goecke & Evers. P. 39–60.
- Whelden R.M., Haskins C.P., 1953. Cytological and histological studies in the Formicidae. I. Chromosome morphology and the problem of sex determination // Ann. Entomol. Soc. Am. V. 46. P. 579–595.
- Wilgenburg E., van, Driessen G., Beukeboom L.W., 2006. Single locus complementary sex determination in Hymenoptera: an “unitelligent” design // Front. Zool. V. 3. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-3-1>
- Wittmeyer K.T., Oppenheim S.J., Hopper K.R., 2022. Assemblies of the genomes of parasitic wasps using meta-assembly and scaffolding with genetic linkage // Genes Genomes Genet. V. 12. № 1. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab386>
- Zhou Y., Wang Y., Xiong X., Appel A.G., Zhang C., Wang X., 2022. Profiles of telomeric repeats in Insecta reveal diverse forms of telomeric motifs in Hymenopterans // Life Sci. Alliance. V. 5. № 7. <https://doi.org/10.26508/lsa.202101163>

Chromosome study of the Hymenoptera: History, current state, perspectives

V. E. Gokhman*

*Lomonosov Moscow State University, Botanical Garden
Leninskye Gory, 1, Moscow, 119234 Russia*

**e-mail: vegokhman@hotmail.com*

Two correlated genetic features are characteristic of the order Hymenoptera, i.e., arrhenotoky and haplodiploidy, but multiple transitions to diploid thelytoky also occurred within this group. Karyotypes of approximately two thousand members of the order are recently known. History of the chromosomal study of the Hymenoptera can be provisionally subdivided into four stages, with approximate borders of the 1930s, 1970s and 2000s between them. Although the development of this study can mainly be explained by the technical progress in preparing and analyzing chromosome preparations, the results obtained with the help of earlier developed methods, also can successfully be used nowadays. In addition to morphometric analysis, a number of differential staining techniques are used to identify particular chromosomes and their segments; these techniques can conditionally be subdivided into two groups, the so-called “traditional” and “modern” ones. First of all, C- and AgNOR-bandings constitute the former methods; these techniques visualize heterochromatic segments and nucleolus organizing regions respectively. Moreover, modern methods are also widely used at present for studying parasitoid karyotypes. These techniques include use of fluorescent dyes (fluorochromes), especially those specifically staining AT- and GC-rich chromosome segments. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) is a very important method of physical mapping of DNA sequences on chromosomes. Immunocytochemical techniques can be of use to study chemical content and structure of chromosomes; these methods involve use of specific fluorochrome-conjugated antibodies. Nowadays, taxonomic significance of karyotypic study of the order Hymenoptera substantially increases, especially within the framework of the so-called integrative taxonomy, aimed for recognition, delimitation and description of closely related species. Furthermore, a combined use of classical and molecular methods has very good perspectives. Knowledge of hymenopteran phylogeny is necessary for identifying pathways of karyotype evolution of the order, but at least in some cases chromosome characters can be considered as synapomorphies defining different lineages. Karyotypic research also has very important implications for genetic studies of Hymenoptera. The chromosome number equals the number of linkage groups within the genome, but it also can be used as a proxy to the level of genetic recombination, especially in the context of big data approach. In addition, significance of physical mapping of DNA sequences increases in the light of the modern efforts in genome sequencing. FISH is most often used for mapping repetitive sequences, including ribosomal DNA, microsatellites and telomeric segments. Nevertheless, this technique could be useful for mapping unique sequences as well. In the order Hymenoptera, FISH is also successfully used together with chromosome microdissection for identifying particular chromosomes and/or chromosome segments, as well as various chromosomal rearrangements. In addition, chromosomal analysis can reveal the so-called supergenes, i.e., inverted chromosome segments, which accumulate genetic differences. Finally, immunocytochemical techniques can map distribution of various chemical compounds along the chromosomes, including identification of the degree of methylation of the chromosomal DNA.