

and constituent parts of the nucleolus two populations of common voles Big (population of Pirguli) and Lesser Caucasus (population of Kedabek) was carried out. **Results.** The resulting hybrids were sterile.

Key words: heterochromatine, chromosome, C-banding, population.

УДК 575.8 + 599.323

ЛЕВЕНКОВА Е.С.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук,
Россия, 119071, г. Москва, Ленинский пр., 33, e-mail: e-leven@mail.ru

СТРУКТУРНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ХРОМОСОМ В МИКРОЭВОЛЮЦИИ

Связь хромосомного полиморфизма и экологических условий обитания видов продемонстрирована многократно, начиная с работ Добржанского [1, 2 и др.] Вероятно, микроволуционные преобразования, которые приводят к образованию комплекса близких видов, адаптационны и направлены на максимальное использование экологических ниш. Вопрос о том, каким образом эти события связаны с возрастанием сложности организации генома в ходе макроэволюционных изменений, обсуждается, но пока не имеет однозначного ответа [3–5].

Видоспецифичные хромосомные различия у млекопитающих связаны с наличием дополнительных гетерохроматиновых районов, инверсиями, транслокациями, центрическими слияниями акроцентриков и др. Роль структурных изменений хромосом оценивают по-разному – как причину, или как побочное следствие видообразования. Наше исследование гибридного мейоза в разных таксонах грызунов показало, что хромосомные перестройки сами по себе, без дополнительных условий, не создают репродуктивных барьеров. Повидимому, становление видовых особенностей происходит одновременно при условии генной, хромосомной дивергенции и изменений в архитектонике ядра, причем значимость этих изменений для каждого таксона различна. Вероятно, в ходе макроэволюционных преобразований происходит еще более значительная реорганизация генома, при которой увеличивается сложность взаимодействия всех его компонентов.

Материал и методы

Многолетние исследования мейоза у видов и гибридов выполнены на разных таксонах грызунов: хомячков *Phodopus*, мышей *Mus*, крыс *Rattus*, полевок *Alexandromys*, землероек *Sorex*. Комплексный цитогенетический анализ проводили методами светового

анализа митотических и мейотических хромосом, и электронной микроскопии синаптонемных комплексов (СК) в пахитене мейоза.

Результаты и обсуждение

Первым объектом исследования гибридного мейоза стали джунгарские хомячки *Phodopus sungorus* ($2n = 28$, $NF = 56$), *Ph. campbelli* ($2n = 28$, $NF = 52$) и гибриды от их скрещивания [6]. Исходные виды хорошо различимы морфологически и по занимаемым ареалам, гибридные самцы оказались стерильны, у самок была выявлена пониженная плодовитость.

Кариотипические различия джунгарских хомячков связаны с наличием добавочных гетерохроматиновых плеч на двух самых мелких аутосомах у *Ph. sungorus*, у обоих видов выявлен полиморфизм по наличию добавочного гетерохроматина на X-хромосоме. По G-окраске оказались гомологичны почти все элементы кариотипа, за исключением ширины полос в прицентромерном районе первой пары, при C-окраске выявили различия в локализации блоков гетерохроматина на трех первых, шестой парах аутосом, и внутривидовой полиморфизм по этому признаку. При электронно-микроскопическом анализе синаптонемные комплексы самцов обоих видов оказались сходны и представлены 13 аутосомными и половым бивалентами. Гетерохроматин коротких плеч самых мелких аутосом и половых хромосом оказался практически не представлен на СК.

При исследовании мейоза гибридных самцов в сперматоцитах на стадии пахитены обнаружили множественные нарушения синапсиса хромосом. При световом анализе только в единичных мейоцитах обнаружили полностью сформированные СК, однако и они оказались аномальны. С помощью электронной микроскопии в таких клетках выявили

нарушения: аморфное состояние хроматина на участках боковых элементов синаптонемных комплексов, их выпетливание и неравномерное перекручивание. Асинаптирующие фрагменты СК вступали в незаконные ассоциации с другими бивалентами, один из крупных бивалентов контактировал с осью X-хромосомы (рис.) Наиболее часто были асинаптированы биваленты, соответствующие по величине 4–6 аутосомам. Осевые элементы половых хромосом были диссоциированы в большинстве сперматоцитов, тогда как у исходных видов они имеют участок синапсиса.

В остальных исследованных под электронным микроскопом клетках на стадии средней-поздней пахитены эти аномалии были более выражены; длинные асинаптированные фрагменты, их переплетение, деструктурированные участки, унивалентные, незаконные ассоциации и интенсивное окрашивание аномальных структур приводили к трудности идентификации СК.

Итак, у стерильных гибридных самцов F1 от обоих сочетаний скрещиваний джунгарских хомячков выявили блокаду сперматоцитов в профазе из-за нарушений синапсиса хромосом, только единичные клетки завершали стадию пахитены и формировали аномальные сперматозоиды. У гибридных самок мейоз также затруднен, о чем свидетельствует нарушение их фертильности. Различия в степени нарушения плодовитости потомства первого поколения от скрещивания джунгарских хомячков по-видимому, связано с нестабильностью X-Y - бивалента: наличие асинаптирующих районов создает дополнительное препятствие для синапсиса в условиях гетерозиготности. По-видимому, во всех случаях, когда от скрещивания близких видов млекопитающих получены плодовитые самки и стерильные самцы, непосредственная причина стерильности последних – блокада мейоза в профазе на стадии пахитены.

Объяснить нарушения синапсиса хромосом у гибридных особей особенностями кариотипов исходных видов хомячков *Phodopus* оказалось невозможно. Мы предположили, что множественность аномалий синапсиса хромосом в пахитене мейоза гибридных самцов, вероятно, связана с дивергенцией генетических механизмов, ответственных за синапсис хромосом.

Это предположение подтверждают исследования мейоза при гибридизации мышей *Mus* ($2n = 40$) со сходными кариотипами. Мы обнаружили увеличение спонтанных

мейотических нарушений у самцов от скрещивания *M. musculus domesticus* из лабораторной линии и дикой популяции [7]. В потомстве от скрещивания *M. spretus* и линейных *Mus domesticus* самцы оказались стерильны, а самки со сниженной плодовитостью, в мужском и женском мейозе выявили аномалии синапсиса и выбраковку мейоцитов [8]. Авторы отметили, что механизмы контроля синапсиса и рекомбинации могут изменяться в процессе видообразования.

Анализ мейоза у самцов от разных вариантов скрещивания кавказских кустарниковых полевок рода *Terricola* показал, что обычный в популяциях полиморфизм по хромосомным перестройкам, в том числе Робертсоновским транслокациям (Rb), не препятствует прохождению мейоза. У гибридного самца от скрещивания кариоморф *T. daghestanicus* ($2n = 38$ x $2n = 42$) гетероморфные хромосомы формировали на стадии пахитены два тривалента с полным синапсисом боковых элементов метацентрика и соответствующих ему акроцентриков [9].

Наши дальнейшие исследования мейоза у самцов, полученных от скрещивания черной *Rattus rattus* ($2n = 38$) и желтогрудой *R. flavipectus* ($2n = 42$) крыс, выявили, что две Робертсоновские перестройки и две перичентрические инверсии, различающие кариотипы исходных видов, не влияют на синапсис хромосом у гибридов. В сперматоцитах на стадии пахитены сформированы Робертсоновские триваленты, а гетерозиготные по инверсии хромосомы формируют выровненные биваленты. Обнаружили асинапсис половых хромосом в трети от исследованных сперматоцитов, что может снижать плодовитость гибридных самцов [7].

В кариотипе бурозубок *Sorex araneus*, распространенных по всей Евразии и ставших модельным объектом для изучения микроэволюционных процессов, 10 акроцентриков составляют мобильную часть кариотипа и сливаются в метацентрики в любом сочетании, образуя расы с разным числом и набором хромосом. При световом исследовании мейоза у самцов с разным набором метацентриков мы не выявили нарушений. П.М. Бородин с соавт. [10] при электронно-микроскопическом исследовании межрасовых гибридов *S. araneus* наблюдали регулярное спаривание в тривалентах и квадрилентах даже при гетерозиготности по Rb с монобрахиальной гомологией.

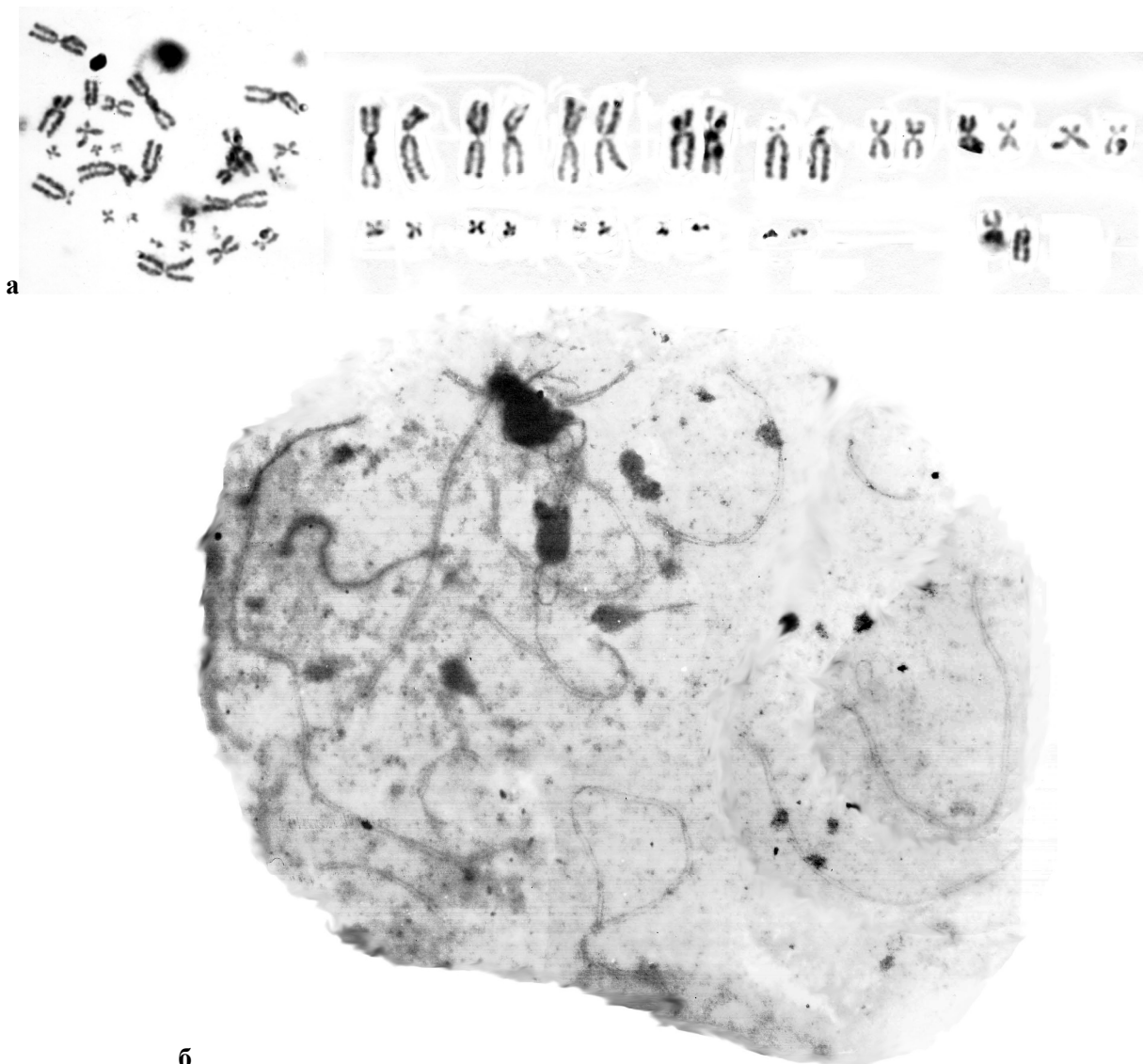


Рис. а – Метафазная пластинка и кариотип (световая микроскопия); б – распластанный сперматоцит (электронная микроскопия) самца-гибрида от скрещивания самки *Ph. sungorus* и самца *Ph. campbelli*; слева – несинаптирующие осевые элементы половых хромосом контактируют с бивалентом, соответствующим, по-видимому, первой по величине паре ауто сом

У мышей *Mus domesticus* из западно-европейских популяций с робертсоновской кариотипической изменчивостью, монобрахиальная гомология в метацентриках определяет стерильность у особей, гетерозиготных по таким Rb [11]. В сперматоцитах мышей формируется тетравалент, что свидетельствует о работе синаптической подгонки, тем не менее мейоз не завершен. У слепушонок *Ellobius* с робертсоновским полиморфизмом трудности для синапсиса в мужском мейозе, помимо брахиальной гомологии, создает гетерозиготность по множественным робертсоновским транслокациям. В большинстве клеток на стадии поздней пахитены гетерологичный синапсис

элементов разных метацентриков не полностью скорректирован, что влияет на выбраковку сперматоцитов и фертильность самцов [12].

Полный синапсис необходим для нормального завершения мейоза и созревания гамет. Факты о его затруднениях при гетерозиготности по Rb, свидетельствующие о наличии латентных репродуктивных барьеров в популяциях, вызвали дискуссии об определении вида и о хромосомном видообразовании [11 и др.] Однако наши исследования показали, что при обычном в популяциях полиморфизме по добавочному гетерохроматину коротких плеч хромосом, инверсиям, Rb, хромосомные различия в мейозе у гетерозигот ликвидирует

синаптическая подгонка. Таким образом, он не создает репродуктивных барьеров и напрямую не участвует в видообразовании.

Выводы

Анализ наших и литературных данных показал, что наряду с универсальностью синаптической подгонки в мейозе, есть видоспецифичные особенности её действия. Нужно с осторожностью обобщать и экстраполировать выводы, сделанные при анализе перестроек у одного таксона, на другие, тем более эволюционно отдаленные виды. Слияние акроцентрических хромосом в робертсоновские метацентрики обычно при становлении видовых различий в разных таксонах. Однако заключение о том, насколько именно эти и другие структурные перестройки хромосом участвуют в возникновении репродуктивных барьеров, невозможно

сделать без анализа мейоза в каждом конкретном случае. Кроме того, необходимо учитывать генетический фон – затруднения синапсиса хромосом могут быть вызваны дивергенцией систем контроля мейотических процессов. По-видимому, в становлении различий каждого таксона и группы близких видов участвует хромосомная и генетическая изменчивость, в комплексе с архитектурой ядра.

Тем более недопустима прямая экстраполяция микроэволюционных событий, направленных, по-видимому, на увеличение биоразнообразия внутри таксона и адаптацию к максимальному использованию экологических ниш, на события макроэволюции, в ходе которых возрастает сложность организации генома и происходит становление таксономической иерархии.

Литература

1. Dobzhansky Th. Genetics of natural populations. XZVI. Altitudinal and seasonal changes produced by natural selection in certain populations of *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis* // Genetics. – 1948. – 33. – P. 158–176.
2. Баскевич М.И. Проверка модели канализованной хромосомной эволюции на новом териологическом материале // 36. науч. пр.: Факторы экспериментальной эволюции организмов. // К.: Логос, 2013. – 12. – С. 13–17.
3. Проворов Н.А., Мыльников С.В. Генетические механизмы индивидуальных и кооперативных адаптаций // Экологическая генетика. – 2007. – 5. № 1. – С. 25–30.
4. Стегний В.Н. Принципы эволюционной и адаптационной значимости организации видовых геномов и их использование в селекции // 36. науч. пр.: Факторы экспериментальной эволюции организмов. // К.: Логос, 2013. – 12. – С. 161–164.
5. Стегний В.Н. Архитектура генома, системные мутации и эволюция. – Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 1993. – 111 с.
6. Сафронова Л.Д., Малыгин В.М., Левенкова Е.С., Орлов В.Н. Цитогенетические последствия гибридизации хомячков *Phodopus sungorus* и *Phodopus campbelli* // ДАН. – 1992. – 327, № 2. – С. 266–271.
7. Левенкова Е.С. Гибридные нарушения мейоза у некоторых видов грызунов. – Автореф. дисс. канд. биол. наук. – Москва: ИПЭЭ РАН. – 2001. – 21 с.
8. Hale D.W., Washburn L.L., Eicher E.M. Meiotic abnormalities in hybride mice of the C57B/6J x *Mus spretus* cross suggest a cytogenetic basis for Haldene's rule of hybride sterility // Cytogenet. Cell Genet. – 1993. – 63. – P. 224–234.
9. Малыгин В.М., Левенкова Е.С., Ахвердян М.Р., Сафронова Л.Д. Сравнение синаптонеменных комплексов самцов-гибридов кавказских кустарниковых полевок (*Rodentia, Microtinae, Terricola*) в контексте изучения гибридной стерильности // Зоол. ж. – 2000. – 79, № 3. – С. 348–356.
10. Borodin P.M., Ladygina T.Yu., Polyakov A.V., Rogacheva M.B. Chromosome Pairing in Robertsonian Heterozygotes of Common *Sorex araneus* and Musk *Sorex murinus* Shrew // Dokl. Ross. Akad. Nauk. – 1997. – 356, N 1. – P. 132–134.
11. Капанна Э. Изменчивость кариотипа и хромосомное видообразование у *Mus domesticus* // Зоол. ж. – 1988. – 67, Вып. 11. – С. 1699–1713.
12. Коломиец О.Л., Ляпунова Е.А., Мазурова Т.Ф., Янина И.Ю., Богданов Ю.Ф. Участие гетерохроматина в формировании цепочек синаптонеменных комплексов у животных, гетерозиготных по множественным робертсоновским транслокациям // Генетика. – 1986. – 22, № 2. – С. 273–280.

LEVENKOVA E.S.

AN Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences,
Russia, 119071, Moscow, Leninsky Prospekt, 33, e-mail: e-leven@mail.ru

STRUCTURAL CHROMOSOME REARRANGEMENTS IN THE MICROEVOLUTION

Aims. The study aims at clarifying the evolutionary role of chromosomal rearrangements. **Methods.** The results of long-term cytogenetic studies of rodents *Phodopus*, *Mus*, *Ruttus*, *Alexandromys*, *Sorex*, including

the electron microscopic analysis of synaptonemal complexes (SC), are presented. **Results.** We have analyzed causes of male sterility of hamsters, mice, voles interspecific hybrids. Non-homologous synapsis permits forming stable SC structure and provides further proceeding of meiosis. Probably, this process is under gene control. **Conclusions.** We caution against the direct transfer of the conclusions drawn in the study of species-specific chromosomal rearrangements, on the model of macroevolution.

Key words: speciation, polymorphism, interspecific hybrids, synaptonemal complex.

УДК 573.354:635.64

ЛІСОВСЬКА Т.П., КУЗЬМІШИНА І.І., КОЦУН Л.О., ВОЙТЮК В.П., АНДРЕЄВА В.В.

Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки,

Україна, 43025, м. Луцьк, пр. Воли, 13, e-mail: tlisovska@ukr.net

МЕЙОТИЧНА МУТАЦІЯ ТОМАТУ, ЩО ПОРУШУЄ КОНДЕНСАЦІЮ ХРОМАТИНУ

Мейотичний поділ клітин супроводжується складною реорганізацією хромосом, зокрема конденсацією і когезією сестринських хромосом, синапсисом гомологічних хромосом, регулярним розходженням до полюсів гомологів у першому і сестринських хроматид у другому поділі мейозу, що, зрештою, призводить до редукції числа хромосом вдвічі [15].

У профазі мітозу і мейозу хромосоми додатково конденсуються, хоча конденсація хромосом в мейозі відрізняється від мітотичної, що дозволяє здійснитися синапсису гомологічних хромосом і кросинговеру. В мітозі і мейозі суттєву роль у підтриманні структури хромосом і когезії сестринських хроматид відіграють білкові комплекси – конденсини і когезини. Когезія сестринських хроматид виникає в S-фазі і зберігається в ділянці центромери до анафази під час мітозу та до анафази II під час мейозу [7]. Когезія плеч сестринських хроматид в мейозі зникає до анафази I, що полегшує роз'єднання гомологів у місцях хіазм, але в ділянці центромери, де когезини захищені білком – шугошином, зберігається до анафази II. З'єднання сестринських хроматид у ділянці центромери забезпечує регулярне розходження гомологічних хромосом в анафазі I і регулярне розходження сестринських хроматид в анафазі II.

Останні генетичні та біохімічні дослідження почали проливати світло на молекулярні механізми, що лежать в основі когезії, конденсації і поділу хромосом під час мітотичного циклу клітин. Один з висновків полягає в тому, що конденсацію хромосом і когезію сестринських хроматид регулюють різні, але структурно схожі, мультисубодиничні

білкові комплекси, які називають конденсином і когезином, відповідно. В основі цих двох білкових комплексів лежать члени родини хромосомних АТФаз, так звані SMC (the structural maintenance of chromosomes) і нового класу білків – клейзинів. Конденсин складається з гетеродимерів білків АТФаз класу SMC2 і SMC4, і трьох субодиниць, які називають асоційованими з хромосомами поліпептидами (CAP у *Xenopus leavis* і *Homo sapiens*) [11, 13]. Когезини складаються із гетеродимерів SMC1 і SMC3 і клейзинів sc1 (клейзин α), Scc3 та деяких видоспецифічних. Хоча конденсини і когезини виконують аналогічні функції в обох поділах, в мейозі функціонують мейоз-специфічні ортологи мітотичних когезинів і конденсинів. Наприклад, в мейозі функціонує α -клейзин REC8, ортолог мітотичного Scc1 (Mcd1, Rad21) [16]. В мейозі, крім забезпечення когезії сестринських хроматид, когезини і конденсини задіяні у створенні поздовжніх осей гомологічних хромосом, які згодом формують латеральні елементи синаптонемного комплексу, тобто забезпечують синапсис гомологів в мейозі [17].

На сьогодні відомо про широке коло фенотипових ефектів порушень мейоза, які пов'язують з відсутністю або дефектом окремих конденсинів або когезинів. Показано, що значну гомологію до мейотичного когезина REC8 виявляють гени, мутації яких призводить до «злипання», фрагментації хромосом, порушення конденсації і довжини хромосом, ефектам десинапсису і асинапсису [4, 6, 18]. Заміну першого мейотичного поділу на мітотичний, який викликає мутація *afd* кукурудзи, також пояснюють дефектом гена з високою гомологією до REC8 [9].

До мутацій, які контролюють конденсацію