

БИОЛОГИЯ

УДК 575, 576

И.Э. Вассерлауф

ИЗМЕНЕНИЕ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ В ЯДРАХ ТРОФОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПРИ ИНБРИДИНГЕ И ГИБРИДНОМ ДИСГЕНЕЗЕ

Изучено влияние низкой температуры на архитектуру хромосом в ядрах трофоцитов яичников лабораторных линий *Drosophila melanogaster*, длительно изолированных друг от друга, инбредных линий 30-го поколения, высокоинбредных линий на НА (низкоактивные) и ВА (высокоактивные). Обнаружено, что экстремальная температура и длительный инбридинг являются значимыми факторами, оказывающими влияние на синапсирование хромосом. Установлено, что следствием инбридинга является феномен гибридного дисгенеза, который также оказывает влияние на архитектуру хромосом в ядре.

Выявленная на малярийных комарах реорганизация архитектуры хромосом в ядрах генеративной системы клеток при сальтационном видообразовании (системная мутация) [1. С. 110] является общеприродным феноменом, характерным как для видов подгруппы *D. melanogaster* [2. Т. 30. С. 5], так и для группы *D. virilis* [3. Т. 32. С. 4]. Предположили, что возможными факторами, приводящими к системной мутации при видообразовании, могут являться экстремальные температуры, инбридинг и как его следствие – гибридный дисгенез [1. С. 110]. Основанием такого предположения служили данные о том, что на периферии видовых ареалов доминируют экстремальные абиотические факторы среды обитания, что обуславливает низкую численность особей популяции, в дальнейшем приводящую к инбредному размножению, усилению мутационного процесса и дестабилизации генома за счет активации мобильных генетических элементов.

В ряде работ показано, что под влиянием инбридинга происходит транспозиция дефектных (неактивных) МГЭ и их встраивание в другие районы генома [4. Т. 77. С. 3]. Инбридинг на фоне экстремальных температур может также приводить к активации МГЭ [5. Т. 33. С. 10; 6. Т. 39. С. 7], способных встраиваться в любые участки генома, особенно в β -гетерохроматиновые районы [7. Т. 98. С. 9], отвечающие за прикрепление хромосом к оболочке ядра [8. Т. 27. С. 7]. Следовательно, можно предположить, что основой изменения территориальности хромосом в ядре может являться инбридинг в сочетании с экстремальной температурой развития.

В связи с этим нами изучалось влияние низкой температуры на архитектуру хромосом в ядрах трофоцитов яичников лабораторных линий *Drosophila melanogaster*, давно изолированных друг от друга, инбредных линий 30-го поколения и линий НА (низкоактивные по половой активности самцов) и ВА (высокоактивные по половой активности самцов, полученные Л.З. Кайдановым с сотрудниками [9 Т. 33. С. 7]) с длительным инбредным размножением.

В линии *D. melanogaster Oregon R* был проведен тесный братско-сестринский инбридинг до 30-го поколения. Сравнительный анализ ядер трофоцитов яичников *Oregon R* (рис. 1, а, б) и инбредной (F_{30}) линий (рис. 1, в, г), выращенных при 24 и 16°C, выявил ориентацию хромосом в ядре, характерную для вида *D. melanogaster* – хромосомы не имеют общего хромо-

центра, плечи хромосом рассредоточены и прицентроммерными районами связаны с оболочкой ядра, X-хромосома ассоциирована с хромосомой 3, а хромосома 2 обособлена от них [2. Т. 30. С. 5].

Иногда в ядрах трофоцитов яичников наблюдается асинапсирование гомологичных хромосом, что характерно для питающих клеток яичников, в среднем таких ядер встречается $20,4 \pm 2,5\%$ (табл. 1). Однако, по сравнению с лабораторной линией *Oregon R* (рис. 1, а), у инбредной линии (F_{30}), культивируемой при 24°C (рис. 1, в), и у исходной *Oregon R*, выращенной при 16°C (рис. 1, б), было обнаружено возрастание количества асинапсисов прицентроммерных районов хромосом (см. табл. 1, рис. 2).

Попарное сравнение выборок при помощи U-теста Манна–Уитни показало, что достоверных различий между выборками самок лабораторной и инбредной (F_{30}) линий, выращенных при 24°C ($p = 0,248$) и 16°C, не было выявлено ($p = 0,657$) (рис. 2). Однако выборки из лабораторной линии, содержащиеся при нормальной и пониженной температурах (на рис. 2 обозначены как F_0), по числу асинапсисов значимо различаются между собой ($p = 0,001$), так же как и выборки, взятые из инбредных линий (F_{30}) и содержащиеся при разных температурах ($p = 0,001$).

В инбредной линии, выращенной при 16°C (рис. 1, г), наблюдался тот же эффект, что и при рассмотрении этих факторов отдельно друг от друга. При воздействии двух факторов – инбридинга и температуры (16°C) – проявились те же эффекты, что и при раздельном их действии. В целом наши результаты показывают, что температура оказывает гораздо более сильное воздействие на синапсис гомологов, чем инбридинг (табл. 1, рис. 2).

С целью выявления возможных изменений в ориентации хромосом в ядре при инбридинге и воздействии низкой температурой нами были поставлены прямое и обратное скрещивания между инбредной F_{30} и исходной F_0 линиями *Oregon R* (при температурах 16°C и 24°C). Таким способом можно выявить изменения в местах локализации прикреплений хромосом к ядерной оболочке и в ориентации хромосом в пространстве ядра. Возможно, что в зиготе межлинейных гибридов будет сохраняться позиция гомологичных хромосом, характерная для родительских форм. Если в инбредной линии произошли изменения в локализации мест прикреплений хромосом на ядерной оболочке и во взаим-

ном расположении хромосом, то такие изменения визу-
ально проявятся только у межлинейных гибридов, у
которых в ядрах гомологи будут пространственно ра-
зобщены, асинапированы. Достоверных отличий меж-

ду реципрокными скрещиваниями $F_0 \times F_{30}$; $F_{30} \times F_0$ как
при нормальной (рис. 1 д, ж), так и при пониженной
(рис. 1, е, з) температуре не было выявлено ($p = 0,596$ и
 $p = 0,153$ соответственно) (рис. 2).

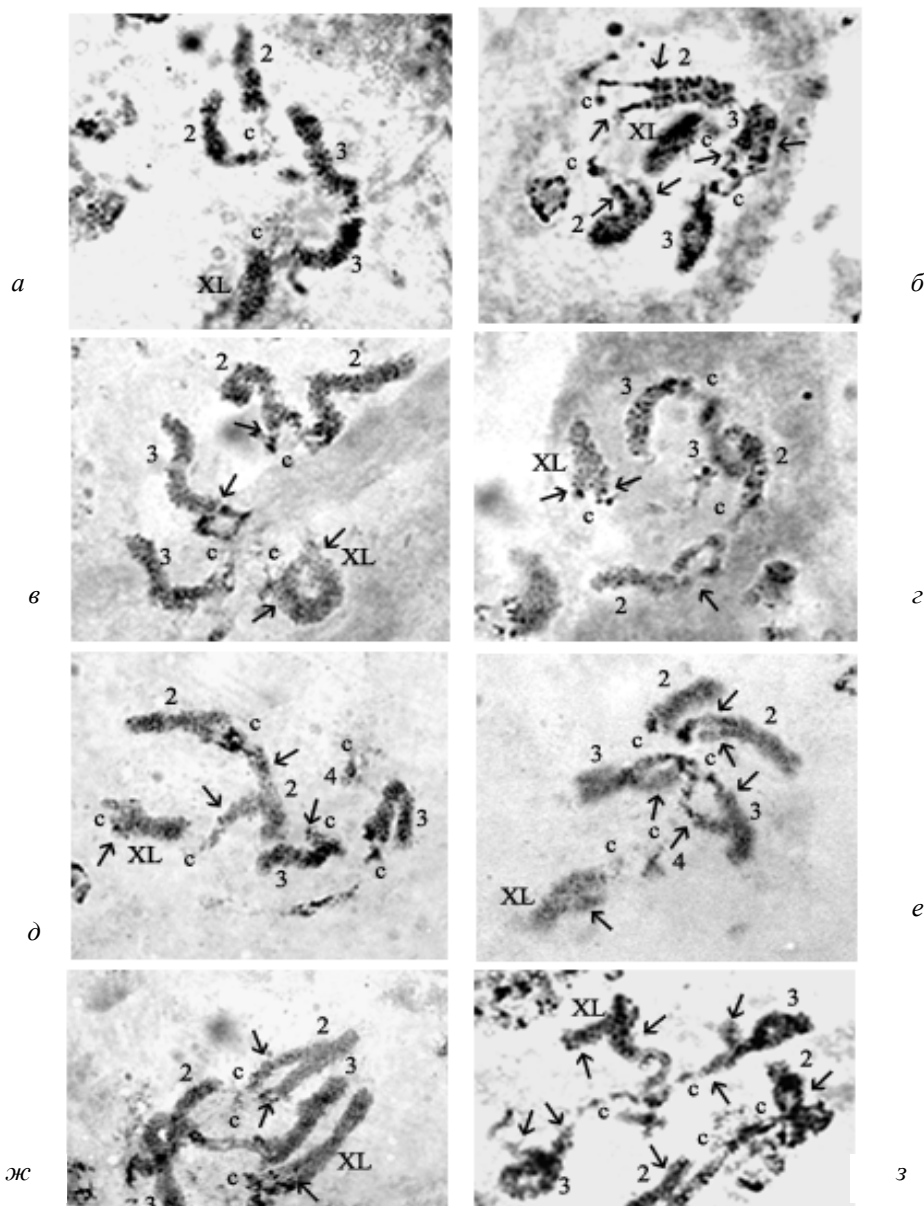


Рис. 1. Первичные политенные хромосомы в ядрах трофобластов яйцевых камер $S_4 - S_5$ *Oregon R* (а, б),
инбредной F_{30} поколения (в, г) линий и их межлинейных гибридов ($F_{30} \times F_0$ (д, е); $F_0 \times F_{30}$ – (ж, з)),
выращенных при оптимальной температуре 24°C (а, в, д, ж) и при воздействии
пониженной температурой 16°C (б, г, е, з). XL, 2, 3 – хромосомы; С – прицентромерные районы хромосом.
Стрелками указаны асинапированные районы хромосом

Т а б л и ц а 1

Влияние температурных режимов на характер синапирования гомологичных хромосом в ядрах трофобластов
яичников линий *Drosophila melanogaster* и их межлинейных гибридов

Температурный режим, $^\circ\text{C}$	Линии и гибриды	Кол-во проанализированного мате- риала		Среднее кол-во ядер с асинапиро- ванными хромосомами $\pm$ ошибка средней, %
		особей	ядер	
24	<i>Oregon R</i> , F_0	8	247	$20,4 \pm 2,5$
	<i>Oregon R</i> , F_{30}	8	172	$31,2 \pm 6,1$
	<i>Oregon R</i> , $F_{30} \times F_0$	9	187	$32,3 \pm 4,9$
	<i>Oregon R</i> , $F_0 \times F_{30}$	10	254	$35,3 \pm 5,4$
16	<i>Oregon R</i> , F_0	10	254	$66,1 \pm 7,4$
	<i>Oregon R</i> , F_{30}	8	205	$75,4 \pm 4,3$
	<i>Oregon R</i> , $F_{30} \times F_0$	8	154	$72,4 \pm 5,6$
	<i>Oregon R</i> , $F_0 \times F_{30}$	9	272	$70,0 \pm 5,0$

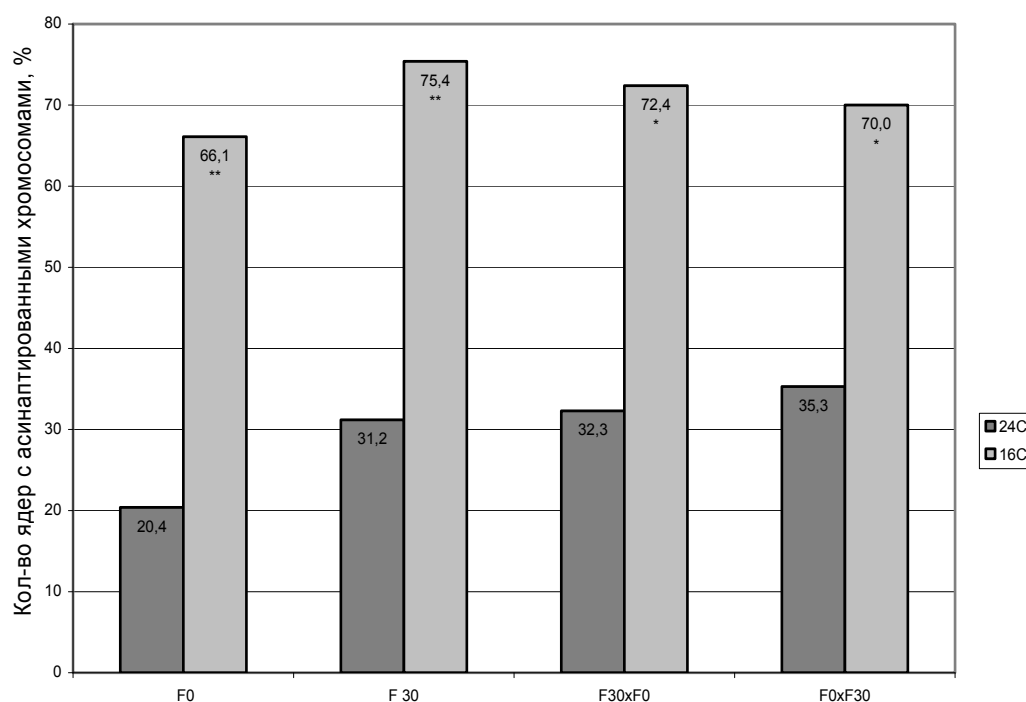


Рис. 2. Сравнение результатов двух экспериментов с линией *Oregon R* при разных температурных режимах:
* – достоверное отличие на уровне значимости $p < 0,05$, ** – на уровне значимости $p < 0,01$ по сравнению с соответствующим значением при 24°C

Для выборок мух, культивировавшихся при 24°C, можно отметить следующее: при сравнении лабораторной линии *Oregon R* с гибридами, полученными как в прямом, так и в обратном направлении скрещиваний, выявляются достоверные различия (для пары F_0 и $F_{30} \times F_0$ $p = 0,034$ и для пары F_0 и $F_0 \times F_{30}$ $p = 0,033$); при сравнении инбредной линии с гибридами достоверных отличий нет (для пары F_{30} и $F_{30} \times F_0$ $p = 0,374$ и для пары F_{30} и $F_0 \times F_{30}$ $p = 0,564$) (см. рис. 2).

Лабораторная линия *Oregon R* и гибриды при 16°C достоверно не отличаются по числу асинхтонизмов (для пары F_0 и $F_{30} \times F_0$ $p = 0,756$ и для пары F_0 и $F_0 \times F_{30}$ $p = 0,447$). Статистически достоверные различия между инбредной линией и гибридами наблюдаются только в одном из направлений скрещивания $F_{30} \times F_0 - p = 0,041$ (однако p довольно высока, что не позволяет говорить о сильных различиях), в реципрокном скрещивании отличий не было выявлено – $p = 0,793$) (рис. 2). В то же время при сравнении межлинейных гибридов, выращенных при разных температурах, можно говорить о достоверных различиях: для $F_{30} \times F_0$ при 24°C и 16°C $p = 0,001$ и для $F_0 \times F_{30} - p = 0,002$.

Таким образом, только пониженная температура (16°C) является экстремальным фактором, оказывающим влияние на синапсирование хромосом, а инбридинг F_{30} -поколения не оказывает значительного влияния на локализацию мест прикреплений прицентромерными районами хромосом к оболочке ядра. В связи с этим нами было изучено влияние длительного инбридинга на синапсирование хромосом в ядрах трофоцитов.

Были проанализированы ядра трофоцитов яичников низкоактивных (НА) (рис. 3, а) и высокоактивных (ВА)

(рис. 3, б) высокоинбредных линий (F_{928}) *D. melanogaster*, у которых была выявлена ориентация хромосом в ядрах трофоцитов, характерная для вида *D. melanogaster*, и не было обнаружено асинхтонизмов гомологов. При скрещиваниях ВА × НА (рис. 3, в) и НА × ВА (рис. 3, г) (дисгенные скрещивания *H-E (hobo)* в системе гибридного дисгенеза [10. Т. 35. С. 5]) в ядрах трофоцитов межлинейных гибридов были выявлены как асинхтонизмы в прицентромерных районах хромосом, так и полное нарушение синапсирования гомологичных хромосом, которое проявлялось практически во всех ядрах ($90 \pm 0,3\%$ ядер). Такая же картина была обнаружена и у межлинейных гибридов (НА × *Canton'S*; *Canton'S* × НА) (было выявлено $95 \pm 0,2\%$ ядер с асинхтонизированными гомологами) (рис. 3, д, е).

Лабораторные линии *D. melanogaster* долгое время находятся в изолированном состоянии от мух из природных популяций и являются в некоторой степени инбредными. Известно, что у их гибридов (от скрещивания мух лабораторной линии с мухами, взятыми из природной популяции (*D. melanogaster*)), может проявляться эффект гибридного дисгенеза. Хромосомы асинхтонизированы в ядрах трофоцитов этих межлинейных гибридов. Полагают, что хромосомы отцовского происхождения могут терять информацию, необходимую для их строгой ориентации в ядре зиготы [11. Т. 29. С. 13]. В связи с этим для сравнения и выявления изменений в архитектуре ядер трофоцитов яичников, происходящих у инбредных и высокоинбредных линий мух, нами были поставлены скрещивания с мухами, взятыми из природной популяции г. Сочи.

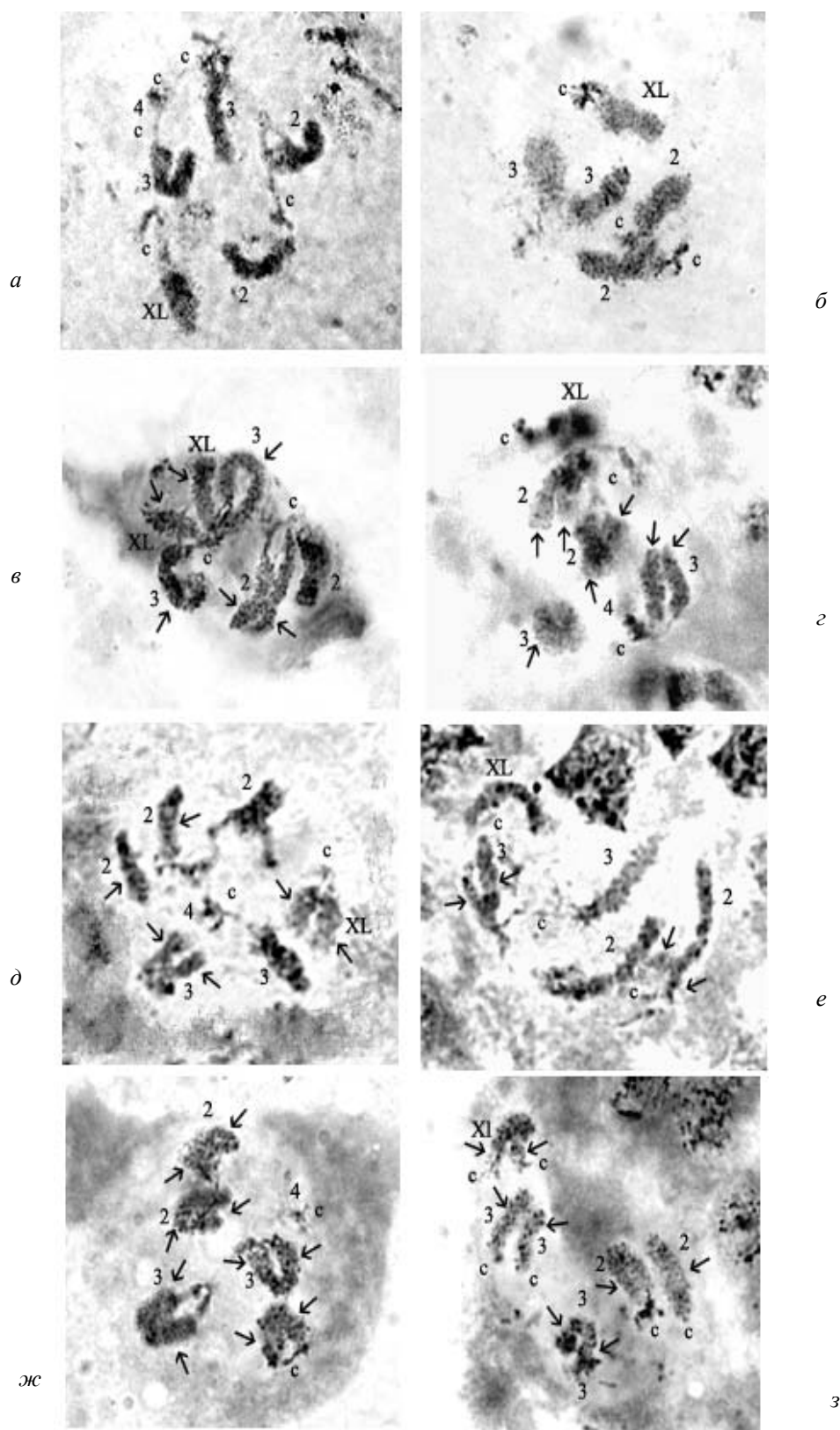


Рис. 3. Первичные политенные хромосомы в ядрах трофобlastов яйцевых камер $S_4 - S_5$ высокоинбредных линий HA F₉₂₈ (а) и BA F₉₂₈ (б) и их межлинейных гибридов – BA x HA (в), HA x BA (г); Canton'S x HA – (д) и HA x Canton'S – (е) и BA x Сочи – (ж) и Сочи x BA (з). XL, 2, 3 – хромосомы; С – прицентромерные районы хромосом. Стрелками указаны асинхтонированные районы хромосом

При скрещиваниях инбредных (F₃₀) и высокоинбредных линий (BA) с мухами *D. melanogaster* из природных популяций (г. Сочи) у гибридов также выявлялись нарушения в спаривании гомологичных хромосом

(рис. 3, ж, з). Количество таких ядер у межлинейных гибридов значительно выше при скрещивании с высокоинбредными линиями (было обнаружено $93,0 \pm 0,4\%$ ядер с нарушением спаривания хромосом), чем с ин-

бредными мухами 30-го поколения линии *Oregon R* (выявлено $25,0 \pm 0,5\%$ ядер с асинептированными хромосомами) (см. рис. 2). Отсюда следует, что значительные изменения в состоянии синапсиса гомологов произошли только у высокоинбредных линий мух *D. melanogaster*.

Таким образом, длительный инбридинг (линии НА и ВА), возможно, может приводить к изменению локализации мест прикрепления хромосом на оболочке ядра трофоцитов.

За последнее время появился ряд работ, где показано влияние инбридинга и экстремальных температур на геном дрозофил [4. Т. 77. С. 3; 5. Т. 33. С. 10; 6. Т. 39. С. 7; 12. Т. 35. С. 5; 13. Т. 318. С. 4; 14. Т. 6. С. 6; 15. Т. 77. С. 3]. Инбридинг, изогенизация линий и воздействие различных факторов (температура, гамма-облучение, этанол и другие химические реагенты) оказывают влияние на определенные районы генома, что приводит к инициации и перемещению МГЭ по геному, вызывая всплески мутабельности [5. Т. 33. С. 10; 15. Т. 77. С. 3].

В настоящей работе было выявлено, что низкая температура (16°C) – сильный фактор, оказывающий влияние на синапсирование гомологичных хромосом в ядрах трофоцитов как в линии *Oregon R*, так и в инбредной линии F_{30} . Инбридинг 30-го поколения практически не оказывает влияния на взаимное расположение хромосом в ядре. Было установлено, что только более длительный инбридинг (F_{928} поколение) может оказывать такое влияние. На воздействие этих двух сильных факторов (пониженная температура и длительный инбридинг (F_{928})), возможно, реагирует гетерохроматин, локализованный в прицентромерных и в некоторых интеркалярных районах хромосом. Известно, что одним из свойств гетерохроматина является эктопическая конъюгация, с помощью которой поддерживается ориентация хромосом в пространстве ядра. Гетерохроматин играет важную роль в адаптации организма и является уязвимым при воздействии неблагоприятных факторов. Известно, что у особей из популяций северных широт, обитающих в экстремальных условиях (пониженная температура и в малых популяциях – инбридинг), проявляется изменение в количестве и локализации гетерохроматина в хромосомах [16. Т. 44. С. 6; 17. Т. 26. С. 3; 18. Т. 97. С. 4; 19. Т. 37. С. 13]. Предполагают, что в таком перераспределении гетерохроматиновых блоков по геному важную роль играют МГЭ [20. Т. 103. С. 8; 21. Т. 32. С. 8; 22. Т. 85. С. 11; 23. Т. 17. С. 11; 24. Т. 1. С. 23]. В пользу такого предположения есть данные, показывающие различия по количеству и локализации МГЭ в геноме *Drosophila melanogaster*, происходящих из популяций различных климатических зон [25. Т. 5. С. 17]. Экспериментально было доказано, что экстремальная температура является сильным фактором, оказывающим влияние на геном дрозофил. Так, при ступенчатом воздействии экстремальных температур ($29-18^{\circ}\text{C}$) в «температурных» линиях дрозофил по сравнению с исходной линией возникало существенное изменение в локализации МГЭ [5. Т. 33. С. 10; 6. Т. 39. С. 7; 14. Т. 6. С. 6].

Можно предположить, что и в нашем эксперименте при воздействии пониженной температуры могли произойти изменения в количестве и локализации гетеро-

хроматина в хромосомах трофоцитов. Это может привести к разнокачественности гомологичных хромосом и, как следствие, к их асинептированию.

Однако есть данные, показывающие, что при низкой температуре синапсирование гомологичных хромосом усиливается. Как правило, это характерно для соматических тканей (политенные хромосомы слюнных желез) и, вероятно, для вторичных политенных хромосом трофоцитов яичников (линия *otu-11 D. melanogaster* [26. С. 460] и инбредные линии *Calliphora erythrocephala*) [27. Т. 74. С. 29].

В настоящей работе мы изучали первичные политенные хромосомы, которые значительно отличаются по длине и структуре от классических политенных хромосом. Первичные политенные хромосомы трофоцитов очень короткие, и, возможно, какие-либо произошедшие линейные точечные изменения в этих хромосомах при воздействии пониженной температуры и длительного инбридинга более значимы, чем в политенных хромосомах слюнных желез, у которых такие изменения визуально могут не проявляться. Возможно поэтому при воздействии низкой температуры и инбридинга у первичных политенных хромосом обнаруживается не усиление синапсиса, а нарушение в синапсировании гомологичных хромосом.

Известно, что количество и локализация гетерохроматина определяют пространственную ориентацию хромосом в ядре. Можно также предположить, что если под действием экстремальных факторов произошли изменения в количестве и локализации гетерохроматина в хромосомах, то следствием такой модификации может являться изменение мест локализации прикреплений прицентромерных районов к оболочке ядра.

Показатель такого изменения – межлинейные гибриды, у которых практически во всех ядрах трофоцитов выявляются нарушения в спаривании гомологичных хромосом. Это связано с тем, что, возможно, у высокоинбредных мух произошли какие-либо изменения во взаимном расположении хромосом в ядре, а в аутбредной линии может сохраняться исходное позиционирование хромосом. Возможно поэтому при скрещивании этих линий проявляется нарушение в спаривании гомологичных хромосом. Также асинепсис у межлинейных гибридов можно связать с различным количеством и локализацией гетерохроматиновых блоков у гомологичных хромосом этих линий. Известно, что высокоинбредные линии НА и ВА различаются по количеству и месту локализации копий МГЭ в геноме, скрещивания между этими линиями являются дисгенными в *hobo*-системе гибридного дисгенеза. При дисгенных скрещиваниях происходит взрыв перемещений МГЭ, что, на наш взгляд, может вызывать нарушение в спаривании гомологичных хромосом у межлинейных гибридов [9 Т. 33. С. 7; 10. Т. 35. С. 5]. Известно, что *hobo*-элементы в основном накапливаются в прицентромерном β -гетерохроматине, отвечающем за прикрепление хромосом к оболочке ядра.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что экстремальная температура и длительный инбридинг являются достаточно значимыми факторами, оказывающими влияние на ориентацию хромосом в пространстве ядер питающих клеток.

Таким образом, эти данные подтвердили наше предположение, что возможными факторами, приводящими к системной мутации при видообразовании, могут являться экстремальные температуры, инбридинг и как его следствие – гибридный дисгенез [1. С. 110]. В связи с этим интересна модель И.А. Сведы [11. Т. 29. С. 13], которая теоретически объясняет поведение хромосом в пространстве ядра в случае гибридного дисгенеза. Эта модель трактуется в следующих постулатах: 1) нормальное функционирование ядра обеспечивается определенной пространственной организацией хромосом, существующей за счет хромосомно-мембранных связей; 2) хромосомы сохраняют пространственную упорядоченность, унаследованную от родительских самок, т.к. мембраны и ассоциированные хромосомы напрямую передаются от них; 3) в геномах самцов пространственная упорядоченность хромосом сохраняется нестрого. Тем не менее отцовские хромосомы несут информацию, дающую возможность формирования правильной организации внутри зиготы; 4) гибридный дисгенез осуществляется в том случае, когда хромосоме (хромосомам) от отцовской линии недостает информации, чтобы строго организовать в ядре зиготы, ядерная мембрана которой формируется из яйцевого ядра. В некоторой степени данная гипотеза объясняет механизм, лежащий в основе системной мутации. Поэтому нам было интересно рассмотреть эту модель экспериментальным путем.

Целью нашей работы также являлось изучить архитектуру ядер трофоцитов у межлинейных и дисгенных гибридных мух. Известно, что хромосомы в пространстве ядра строго упорядочены, причем архитектура ядер трофоцитов яичника видоспецифична (у видов рода *Anopheles* [1. С. 110], *Drosophila melanogaster* [2. Т. 30. С. 5] и *D. virilis* [3. Т. 32. С. 4]), отсюда можно полагать, что в процессе видообразования происходит реорганизация архитектуры ядра (системная мутация) [1. С. 110]. Исходя из гипотезы И.А. Сведы [11. Т. 29. С. 13], мы предположили, что у дисгенетического потомства F_1 гомологичные хромосомы будут асиаптированы подобно гомеологам межвидовых гибридов [1. С. 110].

Нами рассматривались Р-М и I-R системы гибридного дисгенеза, которые сходны по своему проявлению, однако они отличаются по такому признаку, как стерильность. В Р-М системе стерильность затрагивает оба пола, тогда как в I-R стерильность характерна только для самок. Проведенный нами цитогенетический анализ всех линий *Drosophila melanogaster* (рис. 4, д; рис. 6, д, е), в том числе и дисгенных (рис. 4, е; рис. 5, в, з), показал видовую специфичность архитектуры ядер трофоцитов, характерную для данного вида [2. Т. 30. С. 5]. Как правило, практически во всех ядрах не было выявлено асиаптирования хромосом.

В большинстве ядер трофоцитов дисгенных мух (Р-М – система дисгенеза (рис. 4, а–в); I-R – система дисгенеза (рис. 5, а, д, е)) и мух от реципрокных скрещиваний ($\pi_2 \times Berlin$ (рис. 4, з); $W \times JA$; (рис. 5, б)) было обнаружено асиаптирование гомологичных хромосом в прицентромерных районах (рис. 4, а, в, з) или полное отсутствие конъюгации гомологичных плеч (рис. 4, б; рис. 5, а, б, д, е), которое в основном чаще наблюдалось у гибридов I-R – системы дисгенеза. Полный аси-

напис гомологичных хромосом в ядре наблюдался как по одному плечу, так и по нескольким одновременно, вплоть до полного расхождения всех гомологов, как это наблюдается у межвидовых гибридов [1. С. 110].

Анализ каждого в отдельности фолликула показал наличие или отсутствия синапсиса гомологичных хромосом во всех ядрах одного фолликула, т.е. выявляется «фолликулоспецифичность», которая может проявиться в дефективности яиц, развивающихся из подобных фолликулов.

Количественный анализ показал, что средняя частота встречаемости ядер с нарушениями спаривания гомологичных хромосом составила от 60,4 до 76% (табл. 2, 3). Попарное сравнение выборок при помощи U-теста Манна–Уитни показало наличие достоверных различий по числу асиапсисов (при заданном уровне значимости $p = 5\%$) между выборками самок, полученными при скрещиваниях $Canton'S \times Berlin$ и $JA \times W^{1118}$ ($p = 0,002\%$), $Canton'S \times \pi_2$ и $JA \times W^{1118}$ ($p = 4,14\%$). Достоверных различий между выборками самок F_1 $Canton'S \times Berlin$ и $Canton'S \times \pi_2$ выявлено не было ($p = 12,98\%$).

Таким образом, полученные данные согласуются с моделью, выдвинутой И.А. Сведом [11. Т. 29. С. 13]. Согласно ей, при скрещивании мух из лабораторных и природных популяций возникает несоответствие взаиморасположения родительских хромосом в пространстве ядра. Хромосомы отцовской линии дезинтегрированы по отношению к хромосомам материнской линии. Хорошей иллюстрацией, подтверждающей данное положение, являются полученные нами данные, выявляющие асиапсисы гомологичных хромосом в ядрах трофоцитов яичника у дисгенных мух как в Р-М, так и I-R системах гибридного дисгенеза. Однако эти результаты также показывают, что взаимоотношения гомологов у гибридных мух от дисгенных и реципрокных скрещиваний Р-М и I-R систем не зависят от самого явления гибридного дисгенеза, т.к. он проявляется только в одном направлении скрещивания, а нарушение спаривания гомологов наблюдается как в прямом, так и в обратном скрещивании. Возможно, это связано с разнокачественностью гомологов: накоплением мобильных генетических элементов (МГЭ) в геноме [28. Т. 88. С. 7], которые могут привести к точковым мутациям или к малым хромосомным перестройкам, к накоплению повторов [29. Т. 17. С. 3]. Поэтому был интересен вопрос, как будут себя вести гомологичные хромосомы в пространстве ядра в результате скрещивания между собой обычных лабораторных линий (не несущих активных I- и Р-элементов).

Были поставлены прямые и реципрокные межлинейные скрещивания: $Berlin \times Canton'S$; $Canton'S \times Berlin$; $Berlin \times Oregon$; $Canton'S \times Oregon$ (рис. 6, а–з). Результаты оказались такими же, что и у дисгенных мух: в большинстве ядер трофоцитов межлинейных гибридов наблюдалось нарушение в спаривании гомологичных хромосом в прицентромерных районах (рис. 6, а, б, з) или полное их асиаптирование (рис. 6, в; табл. 3).

Полученные результаты показывают, что линии *D. melanogaster*, визуально сходные по архитектонике хромосом в ядрах трофоцитов, при скрещивании между собой проявляют некоторые различия в пространственной организации хромосом в ядре.

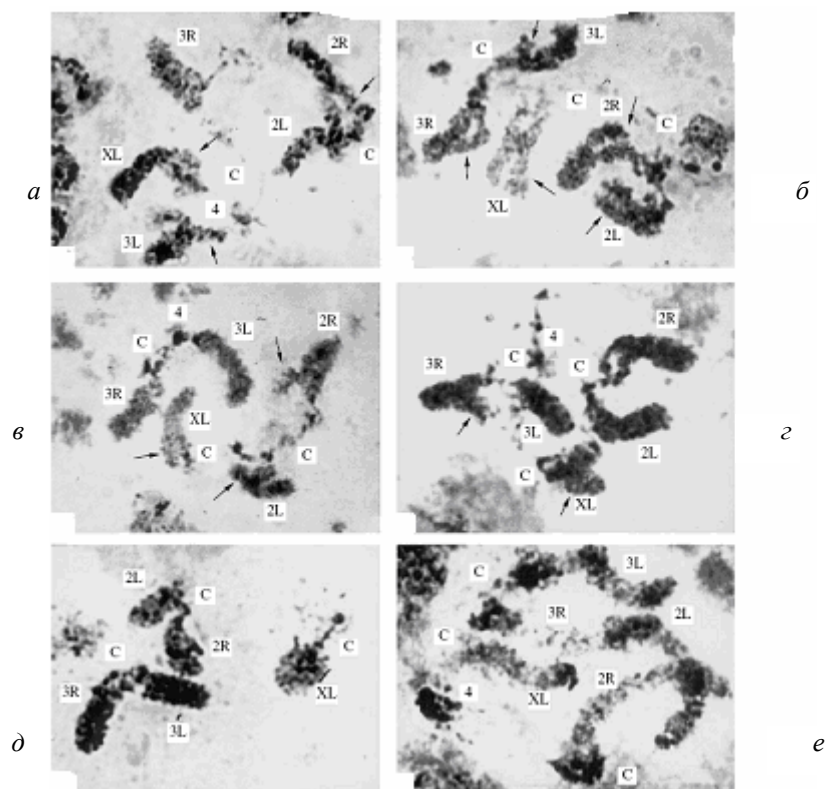


Рис. 4. Взаиморасположение первичных политенных хромосом в ядрах трофоцитов яичника дисгенных мух в Р-М системе гибридного дисгенеза *M-chorio* × π_2 (а), *Canton'S* × π_2 (б), *Berlin* × π_2 (в), π_2 × *Berlin* (г) и линий *Drosophila melanogaster* – *Canton'S* (д), π_2 (е). С – центромерные районы; XL, 2R, 2L, 3R, 3L – плечи хромосом. Стрелками указаны асинэпированные районы хромосом

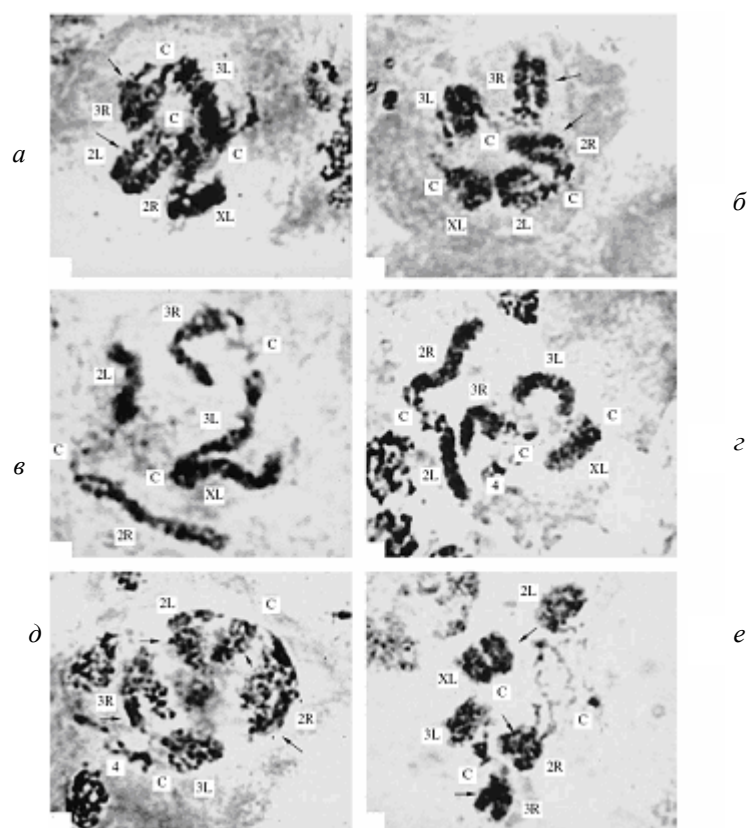


Рис. 5. Архитектоника ядер трофоцитов яичника дисгенных мух в I-R системе гибридного дисгенеза *JA* × W^{118} (а), W^{118} × *JA* (б), *Cha* × *Lu* (в), *JA* × *Lu* (г) и дисгенных линий – *JA*; реактивная линия (б); W^{118} ; (индуцированная линия) (е). С – центромерные районы; XL, 2R, 2L, 3R, 3L – плечи хромосом. Стрелками указаны асинэпированные районы хромосом

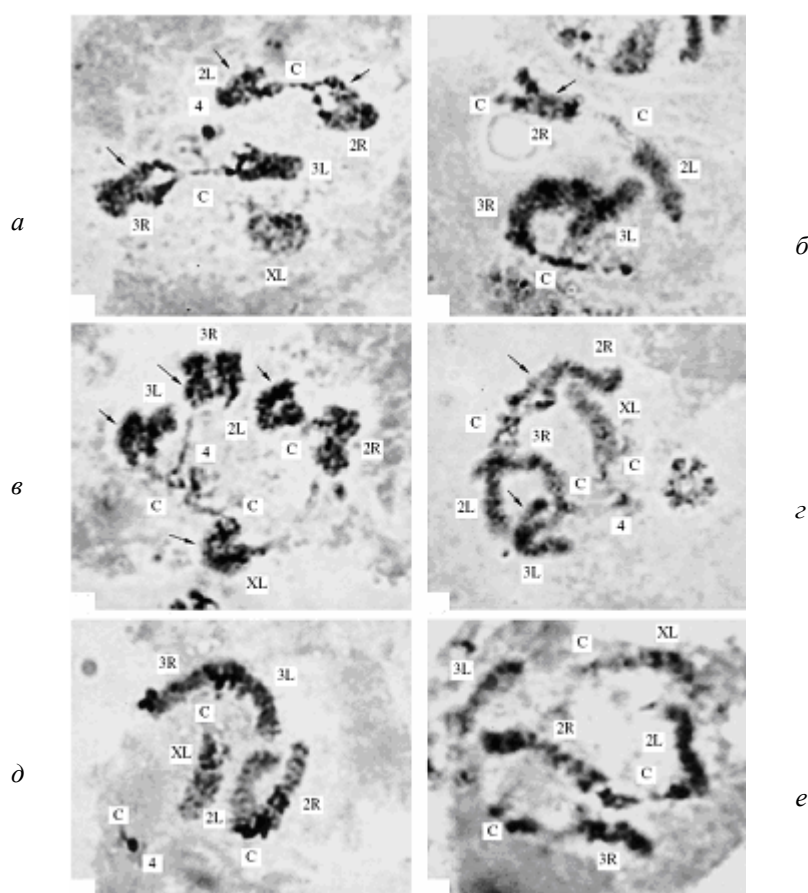


Рис. 6. Взаиморасположение первичных политенных хромосом в ядрах трофоцитов межлинейных гибридов *Berlin* × *Canton'S* (а), *Canton'S* × *Berlin* (б), *Berlin* × *Oregon R* (в), *Canton'S* × *Oregon R* (г) и линий *Berlin* (д), *Oregon R* (е). С – центромерные районы; XL; 2R; 2L; 3R; 3L – плечи хромосом. Стрелками указаны асинатпированные районы хромосом

Таблица 2

Характеристика изученного материала

Схема скрещивания (♀ × ♂)	Кол-во проанализированного материала	
	самок	гибридных ядер
<i>Canton'S</i> × <i>Berlin</i>	20	396
<i>Canton'S</i> × π_2	20	398
<i>JA</i> × W^{1118}	20	458
Всего	60	1252

Таблица 3

Частота встречаемости ядер трофоцитов яичников с нарушением синапсиса у межлинейных гибридов *D. melanogaster*

Схема скрещивания (♀ × ♂)	Частота встречаемости ядер с нарушениями синапсиса гомологичных хромосом у межлинейных гибридов, %		
	минимальная	максимальная	средняя
<i>Canton'S</i> × <i>Berlin</i>	40,0	80,0	60,4±0,3
<i>Canton'S</i> × π_2	45,0	80,0	66,3±0,3
<i>JA</i> × W^{1118}	60,0	84,0	76,0±0,1

Возможно, это связано с дисгенезом по другим мобильным элементам, и эти линии могут различаться по количеству и распределению МГЭ на хромосомах, вследствие чего проявляется нарушение в спаривании гомологичных хромосом, которое не зависит от направления скрещиваний между линиями *D. melanogaster*.

Таким образом, гибридный дисгенез, проявляющийся только в одном направлении, не оказывает влияния на спаривание хромосом. Также асинатпсис наблюдается и у межвидовых гибридов как в прямом, так и в обратном

направлении скрещивания между видами. Однако у межвидовых гибридов нарушение в спаривании хромосом выявляется во всех ядрах трофоцитов яичников, при этом гомеологи соблюдают свою видоспецифичную ориентацию в пространстве ядра [1. С. 110].

Суммируя полученные данные, можно сказать, что наблюдаемые нарушения синапсиса гомологов в ядрах трофоцитов яичников межлинейных гибридов *D. melanogaster*, возможно, связаны с различиями распределения МГЭ в их геномах. Известно, что все лабораторные

линии *D. melanogaster* в какой-то мере являются инбредными и не имеют активных МГЭ [30. Т. 86. С. 15]. Есть данные, показывающие, что под влиянием инбридинга происходит транспозиция дефектных (неактивных) МГЭ и их встраивание в другие районы генома [31], возможно, отвечающие за пространственную организацию ядра [11. Т. 29. С. 13; 30. Т. 86. С. 15]. Таким образом, у инбредных мух может произойти некоторое изменение в архитектуре ядра, а в других линиях может остаться исходная организация ядра. Поэтому при скрещивании различных линий, в том числе дисгенных, выявляется нарушение в спаривании гомологичных хромосом, которое в отличие от межвидовых гибридов проявляется в среднем от 60,4 до 76% ядер. В связи с этим можно полагать, что в основе изменения архитектоники хромосом в ядре лежит инбридинг, вследствие которого могут происходить перемещения мобильных генетических элементов (МГЭ) и встраивание их в другие районы генома [31. Т. 77. С. 3]. В пользу этого предположения существует много данных о том, что МГЭ способны внедряться в сайтспецифичные локусы генома, тем самым вызывая мутации и разнообразные хромосомные перестройки [30. Т. 86. С. 15; 31. Т. 77. С. 3; 32. Т. 103. С. 8; 33. Т. 117. С. 15; 34. Т. 32. С. 8]. Как правило, мишенями для встраивания МГЭ в геном являются гетерохроматические районы хромосом, содержащие сателлитную ДНК. МГЭ всегда рассматривались как минорные компоненты гетерохроматина, которые главным образом аккумулированы в прицентромерном гетерохроматине. Так, например, I-элемент и *hobo* встраиваются в некоторые плечи хромосом, но в основном накапливаются в β -гетерохроматине [30. Т. 86. С. 15; 32. Т. 103. С. 8; 32. Т. 103. С. 8; 35. Т. 98. С. 9], отвечающем за прикрепление хромосом к оболочке ядра [36. Т. 27. С. 7].

Существуют данные, показывающие, что видообразование идет за счет изменения количества гетерохроматина или его перераспределения в геноме [37. Т. 85. С. 11]. Предполагают, что одним из механизмов перераспределения гетерохроматина в ходе эволюции являются МГЭ, которые как бы «растаскивают» кусочки гетерохроматиновой ДНК по ячейкам генома [34. Т. 32. С. 8; 37. Т. 85. С. 11]. Л.И. Корочкин полагает, что «гетерохроматин и сателлитная ДНК, возможно, оказывают эффект во время экспрессии генов двояким способом: они могут ассоциироваться с определенным классом белков, которые влияют на структуру хроматина, они могут также влиять на трехмерную организацию интерфазного ядра», что может привести к системной мутации [38. Т. 17. С. 11; 39. Т. 1. С. 5]. Все эти положения соответствуют гипотезе И.А. Сведом о дезинтеграции хромосом в ядре при гибридном дисгенезе [11. Т. 29. С. 13].

Что касается I-R системы гибридного дисгенеза, то она наиболее подходит для объяснения механизма ре-

организации архитектоники ядра. Во-первых, в данном случае дисгенез проявляется на уровне клеток зародышевого пути, причем стерильность проявляется только у самок, в то же время системная мутация также возникает в генеративной системе клеток. Во-вторых, дефектные I-элементы локализованы непосредственно в β -гетерохроматин, отвечающий за прикрепление хромосом к оболочке ядра [36. Т. 27. С. 7]. Возможно, что от количества I-элемента и его перемещения вследствие инбридинга может произойти изменение в локализации мест прикрепления хромосом на оболочке ядра и, следовательно, к изменению архитектуры ядра в целом.

В то же время взрывоподобный всплеск перемещений МГЭ также непосредственно проявляется у межлинейных и дисгенных гибридов. Интересно, что такое явление было выявлено и у межвидовых гибридов *Drosophila* [40. Т. 16. С. 6], при этом, как и при дисгенных скрещиваниях, были обнаружены перемещения мобильных элементов. Зарегистрировано, что скорость перемещений МГЭ у межвидовых гибридов гораздо выше, чем у негибридов, что может приводить к асинхронизации гомологичных хромосом. Так, у межвидовых гибридов *D. buzzatii* $\times$ *D. koepferae* на политемных хромосомах были выявлены новые инсерции ретротранспозона *Oswaldo* в районах асинхронизации и в инверсионной петле. Скрещивание имело признаки дисгенности (несовместимости), т.к. сопровождалось высокой частотой новых хромосомных перестроек. Полагают, что сходные механизмы с гибридным дисгенезом могут лежать в основе ранних этапов видообразования [41. Т. 245. С. 13].

Суммируя вышеприведенные данные, можно полагать, что при скрещиваниях межлинейных и дисгенных линий, а также и межвидовых, совершается взрывоподобный всплеск перемещений МГЭ, в результате чего происходит несовместимость родительских геномов, что, вероятнее всего, приводит к асинхронизации гомологов или гомеологов (в случае межвидовых гибридов) в пространстве ядра. В то же время перемещение МГЭ у межлинейных или межвидовых гибридов может быть следствием реорганизации хромосом в пространстве ядра родительских форм, которые были долго изолированы друг от друга (в случае инбридинга) или при видообразовании. Все эти результаты хорошо согласуются с гипотезой, выдвинутой И.А. Сведом. В связи с этим выявленная ранее дезориентация гомеологов в пространстве гибридного ядра генеративной системы клеток межвидовых гибридов малярийных комаров [1. С. 110] и дрозофил [2. Т. 30. С. 5; 3. Т. 32. С. 4] позволяет считать, что механизм системной мутации при видообразовании непосредственно связан с проявлением инбридинга и, как его следствия, гибридного дисгенеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стегний В.Н. Архитектоника генома, системные мутации и эволюция. Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 1993. 110 с.
2. Стегний В.Н., Вассерлауф И.Э. Видовая архитектура хромосом генеративной ткани и проблемы филогенетических отношений в подгруппе *melanogaster* рода *Drosophila* (*Sophophora*) // Генетика. 1994. Т. 30, № 4. С. 478–483.
3. Стегний В.Н., Вассерлауф И.Э., Ананьина Т.В. Взаиморасположение первичных политемных хромосом яичников у 12 видов группы «*virilis*» рода *Drosophila* (*Sophophora*) // Генетика. 1996. Т. 32, № 6. С. 750–754.
4. Biemont C., Arnault C., Heizmann A. Massive changes in genomic localizations of P elements in an inbred line of *Drosophila melanogaster* // Naturwissenschaften. 1990. Vol. 77. P. 485–488.

5. Васильева Л.А., Ратнер В.А., Бубеницкова Е.В. Стрессовая индукция транспозиций ретротранспозонов дрозофилы: реальность явления, характерные особенности и возможная роль в быстрой эволюции // Генетика. 1997. Т. 33, № 8. С. 1083–1093.
6. Васильева Л.А., Ратнер В.А. Сравнительный анализ паттернов МГЭ 412 в 18 изогенных линиях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2003. Т. 39, № 3. С. 349–356.
7. Vauray C., Bucheton A., Pellison A. The β -heterochromatic sequences flanking the I elements are themselves defective transposable elements // Chromosoma. 1989. Vol. 98. P. 215–224.
8. Стегний В.Н., Шарахова М.В. Системная реорганизация архитектуры полигенных хромосом в онто- и филогенезе малярийных комаров. Структурные особенности зон прикрепления хромосом к ядерной мембране // Генетика. 1991. Т. 27, № 5. С. 828–835.
9. Кайданов Л.З., Мельников С.В., Галкин А.П. и др. Генетические эффекты дестабилизирующего отбора при селекции по адаптивно важным признакам в линиях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1997. Т. 33, № 8. С. 1102–1109.
10. Кулигина Е.Ш., Имяитов Е.Н., Смирнов А.Ф., Кайданов Л.З. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма мобильного генетического элемента hobo в геноме длительно селекционируемых линий *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1999. Т. 35, № 10. С. 1373–1378.
11. Sved J.A. Hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*: A possible explanation in terms of spatial organization of chromosomes // Aust. J. Biol. Sci. 1976. Vol. 29. P. 375–388.
12. Ильинская Н.Б., Будаева С.В. Влияние толерантных температур на уровень компактности полигенных хромосом слюнных желез личинок *Chironomus melanotus* // Цитология. 1993. Т. 35, № 1. С. 53–58.
13. Медведева А.В., Саватеева Е.В. Влияние температуры на пространственную организацию полигенных хромосом мутантов дрозофилы с измененными функциями кальмодулина // Докл. АН СССР. 1991. Т. 318, № 4. С. 988–991.
14. Ратнер В.А., Васильева Л.А. Индукция транспозиций мобильных генетических элементов стрессовыми воздействиями // Соросовский образовательный журнал. 2000. Т. 6, № 6. С. 14–20.
15. Biemont C., Arnault C., Heizmann A. Massive changes in genomic localizations of P elements in an inbred line of *Drosophila melanogaster* // Naturwissenschaften. 1990. Vol. 77. P. 485–488.
16. Кикнадзе И.И., Истомина А.Г., Салова Т.А. Функциональная морфология полигенных хромосом хирономиды *Chironomus pilicornis* F. из водоёмов криолитозоны // Цитология. 2002. Т. 44, № 1. С. 89–95.
17. Baimai V., Andre R.G., Harrison B.A. Heterochromatin variation in the sex chromosomes in Thailand populations of *Anopheles dirus* A (Diptera: Culicidae) // Can. J. Genet. Cytol. 1984. Vol. 26, № 5. P. 633–636.
18. Baimai V., Treesucon A., Kijchalao U. Heterochromatin variation in chromosome X in natural population of *Anopheles willmori* (Diptera: Culicidae) of Thailand // Genetica. 1996. Vol. 97, № 2. P. 235–239.
19. Baimai V. Heterochromatin accumulation and karyotypic evolution in some dipterian insects // Zoological studies. 1998. Vol. 37, № 2. P. 75–88.
20. Carmona M., Gonzalez C. Transposable elements map in a conserved pattern of distribution extending from beta-heterochromatin to centromeres in *Drosophila melanogaster* // Chromosoma. 1995. Vol. 103. P. 676–684.
21. Евгеньев М.Б., Миджоян Е.И., Зеленцова Е.С. и др. Мобильные элементы и видообразование // Молекулярная биология. 1998. Т. 32, № 1. С. 184–192.
22. Evgeniev M., Yenikolopov G., Peunova N., Ilyin Y. Transposition of mobile genetic elements of interspecific hybrids of *Drosophila* // Chromosoma. 1982. Vol. 85, № 3. P. 375–386.
23. Корочкин Л.И. Эволюционное значение генетических подвижных элементов. Гипотеза // Цитология и генетика. 1983. Т. 17, № 4. С. 67–78.
24. Корочкин Л.И. Гены, онтогенез и проблемы эволюционного развития // Эволюционная биология: Материалы конф. «Проблема вида и видообразования». Томск: Изд-во Том. ун-та, 2001. Т. 1. С. 49–72.
25. Anxolabehere D., Kidwell M.G., Periquet G. Molecular characteristics of diverse population are consistent with the hypothesis of a recent invasion of *Drosophila melanogaster* by mobile P elements // Molec. Biol. Evol. 1988. Vol. 5, № 3. P. 252–269.
26. Жимулев И.Ф. Полигенные хромосомы: морфология и структура. Новосибирск: Наука, 1992. 480 с.
27. Ribbert D. Chromomeres and puffing in experimentally induced polytene chromosomes of *Calliphora erythrocephala* // Chromosoma. 1979. Т. 74. P. 269–298.
28. Riede L., Renz M. Study on the somatic pairing of polytene chromosomes // Chromosoma. 1983. Vol. 88. P. 116–123.
29. Евгеньев М.Б. Изучение конъюгации полигенных хромосом у межвидовых гибридов *Drosophila* группы *virilis*. Равнозначность участков хромосомы в отношении конъюгации // Цитология. 1975. Т. 17, № 10. С. 1128–1131.
30. Bucheton A., Vauray C., Chaboissier M.-C. et al. I elements and the *Drosophila* genome // Genetica. 1992. Vol. 86. P. 175–190.
31. Biemont C., Arnault C., Heizmann A. Massive changes in genomic localizations of P elements in an inbred line of *Drosophila melanogaster* // Naturwissenschaften. 1990. Vol. 77. P. 485–488.
32. Carmona M., Gonzalez C. Transposable elements map in a conserved pattern of distribution extending from beta-heterochromatin to centromeres in *Drosophila melanogaster* // Chromosoma. 1995. Vol. 103. P. 676–684.
33. Гришаева Т.М., Иващенко Н.И. Проблемы структурно-функционального взаимодействия в системах гибридного дисгенеза // Успехи современной биологии. 1997. Т. 117, № 1. С. 52–67.
34. Евгеньев М.Б., Миджоян Е.И., Зеленцова Е.С. и др. Мобильные элементы и видообразование // Молекулярная биология. 1998. Т. 32, № 1. С. 184–192.
35. Vauray C., Bucheton A., Pellison A. The β heterochromatic sequences flanking the I elements are themselves defective transposable elements // Chromosoma. 1989. Vol. 98. P. 215–224.
36. Стегний В.Н., Шарахова М.В. Системная реорганизация архитектуры полигенных хромосом в онто- и филогенезе малярийных комаров. Структурные особенности зон прикрепления хромосом к ядерной мембране // Генетика. 1991. Т. 27, № 5. С. 828–835.
37. Evgeniev M., Yenikolopov G., Peunova N., Ilyin Y. Transposition of mobile genetic elements of interspecific hybrids of *Drosophila* // Chromosoma. 1982. Vol. 85, № 3. P. 375–386.
38. Корочкин Л.И. Эволюционное значение генетических подвижных элементов. Гипотеза // Цитология и генетика. 1983. Т. 17, № 4. С. 67–78.
39. Корочкин Л.И. Гены, онтогенез и проблемы эволюционного развития // Эволюционная биология: Материалы конф. «Проблема вида и видообразования». Томск: Изд-во Том. ун-та, 2001. Т. 1. С. 49–72.
40. Labrador M., Fares M., Utzer F., Fontdevila A. Interspecific hybridization increases transposition rates of *Osvaldo* // Mol. Biol. Evol. 1999. Vol. 16, № 7. P. 931–937.
41. Labrador M., Fontdevila A. High transposition rates of *Osvaldo*, a new *Drosophila buzzatii* retrotransposon // Mol. Gen. Genet. 1994. Vol. 245, № 6. P. 661–674.

Статья представлена научной редакцией «Биология» 20 июня 2008 г.