

В. Н. ВЕРЕЙСКАЯ, Т. А. ВИННИК

**ОСОБЕННОСТИ МЕЙОЗА САМОК У ОДНОЙ ИЗ МЕЧЕННЫХ
ПО ПОЛУ ПОРОД ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА (BOMBUX MORI L.)**

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 11 III 1971)

Радиационным методом В. А. Струнников вывел у тутового шелкопряда (*Bombyx mori* L.) породы с генетической маркировкой пола (³, ⁴). В этих породах фрагмент X аутосомы транслоцирован на W-хромосому, определяющую женский пол. Оставшийся нетранслоцированный фрагмент в ходе дальнейших скрещиваний был заменен целой X-аутосомой и, таким образом, возникла самка с трисомией по транслоцированному участку X аутосомы. Свободные аутосомы X пары у этой самки конъюгируют и расходятся независимо от половых хромосом. В последующих опытах была получена линия (³), генетический анализ которой показал, что из двух свободных X аутосом в кариотипе самок сохранилась только одна. Благодаря этому передача признаков, контролируемых этой аутосомой, происходит сцещенно с полом. Гены-маркеры свободной X аутосомы всегда передаются потомству вместе с ZX-хромосомой. Это заставило предположить (³), что в овогенезе этой линии мейоз проходит необычно. По-видимому, свободная X аутосома конъюгирует со своим неполным партнером, транслоцированным на W-хромосому. Таким образом, в метафазе первого деления созревания хромосомы Z, W с транслокантом X аутосомы и свободная X аутосома должны объединиться в один сложный бивалент или двойную тетраду ZWXX. Если это так, то в метафазе первого деления созревания число бивалентов должно быть 27, а не 28, как в норме (у тутового шелкопряда $n = 28$). После редукции и расхождения хромосом в метафазах второго деления созревания число элементов в той пластинке, в которую попадает W, X, должно быть равно 27, а в другой — с Z и X свободной аутосомой 28. Чтобы выяснить, так ли это в действительности, мы и предприняли исследование мейоза у самок этой транслокантной линии цитологическими методами.

Куколки-самки были получены из лаборатории генетики Среднеазиатского научно-исследовательского института шелководства. Яйца оплодотворенных самок фиксировали смесью и покладочно в жидкости Карнуа (⁵) сразу и через час после откладки. В общей сложности была собрана гrena от 55 самок. После длительного (не меньше месяца) хранения в 70° спирте их по мере необходимости освобождали от хориона и помещали в ацетокармин и далее в термостат с температурой 60° на 30 мин. — 1 час. Затем окрашенные яйцелетки переносили в насыщенный раствор хлорал-гидрата и снова помещали в термостат на 15—20 мин. Набухшие яйца в капле хлорал-гидрата переносили на предметное стекло и раздвигали покровным. Е. Р. Терская первая в нашей лаборатории применила эту методику для яиц тутового шелкопряда. Элементы метафаз первого и второго делений созревания изучали и подсчитывали в микроскопе типа Люмипан (Цейс), объектив Н1 90×/1,3, окуляр РК 10, К 20×I. Фотографии сделаны с помощью того же микроскопа и микрофотонасадки ФМ 24×36 к микроскопу NfrK2 (объектив Н1 100×/1,25, окуляр Р 3,2).

Несмотря на то, что на давленных препаратах можно значительно точнее, чем на срезах, определить количество хромосомных элементов, их форму и величину, и здесь мы снова столкнулись со многими трудностями, о которых ранее писали цитологи, изучавшие на срезах хромосомные комплексы овоцитов (⁵, ⁹). В сильно набухших в хлорал-гидрате яйцеклетках хромосомные элементы после раздавливания нередко оста-

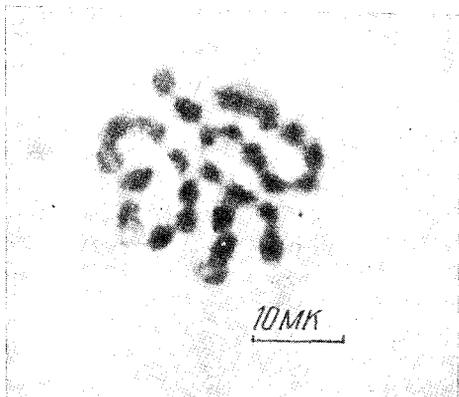


Рис. 1. Метафаза первого деления созревания.

вались компактно расположенными. Кроме того большое количество плотного желтка в яйце в свою очередь тоже часто препятствовало получению четких цитологических картин. Хромосомные элементы располагались на разных уровнях в толще желтка, а дополнительное надавливание на метафазную пластинку очень часто либо не изменяло расположения хромосом, либо просто портило препарат. Тем не менее на давленных препаратах все же значительно чаще, чем на парафиновых срезах, удавалось получать такие метафазные пластинки, в которых не только легко было точно сосчитать число элементов, но также и изучить их строение. Метафазы первого и

второго деления созревания были изучены в яйцах, зафиксированных смесью и покладочно.

После раздавливания хромосомы оставались либо соединенными в цепочки, как на парафиновых срезах (⁵, ⁹), либо лежали обособленно друг от друга. В цепочках часто бывала хорошо видна связующая отдельные хромосомы нить. Эта нить характерна для овоцитов *Lepidoptera* (⁶). И в том и в другом случаях можно было увидеть и широкую редукционную щель, заполненную сравнительно слабо окрашенным веществом так называемого элиминационного хроматина (¹⁰), и узкую эквационную щель. В материалах второго деления созревания хромосомы обычно состояли из двух тесно соприкасающихся хроматид; в некоторых случаях можно было четко видеть эквационную щель.

Все пластинки, в которых хромосомные элементы располагались относительно друг друга чрезмерно плотно или были нечеткими, при исследовании не учитывались.

Тетрады в метафазах первого деления созревания были сосчитаны в 124 пластинках. В 111 из них (89,5%), как и ожидалось, вместо обычно наблюдаемых 28, насчитывалось 27 элементов (рис. 1), а в 13 (10,5%) было 28 элементов.

В метафазе с 27 элементами очень часто обнаруживался более крупный элемент, расположенный, как правило, на периферии экваториальной пластинки (рис. 1). В некоторых случаях удавалось рассмотреть его тонкое строение. Тогда было видно, как к более крупному партнеру присоединен меньший по размеру (рис. 2) или три примерно одинаковых элемента образовывали равносторонний треугольник. Видимо, именно здесь мы видим две половые хромосомы *WX* и *Z* и присоединившуюся к ним *X* свободную аутосому.

Почему появляется относительно небольшое количество метафазных пластинок с 28 элементами, пока не совсем ясно. В нашем материале их присутствие, хотя бы в некоторых случаях, можно было, по-видимому, объяснить следующим. Во время приготовления давленных препаратов мы иногда наблюдали, как в метафазе с 27 четко окрашенными элемен-

тами после дополнительного раздавливания от крупного элемента сложной структуры отделялась одна из составляющих его хромосом, и метафазная пластинка с 27 элементами превращалась в пластинку с 28 элементами. Какая именно из этих хромосом отошла от своего партнера, пока сказать нельзя. Мы предполагаем, что скорее всего это была X свободная аутосома, отошедшая от своего транслоцированного гомологичного фрагмента. По всей вероятности, большинство метафаз с 28 элементами, с которыми нам пришлось столкнуться, явились результатом этого артефакта, так как почти во всех таких метафазах присутствовали мелкие элементы, напоминавшие по своему виду униваленты.

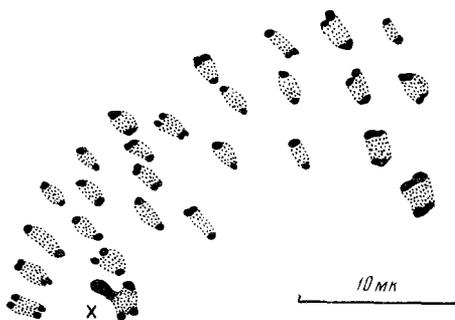


Рис. 2. Тонкое строение метафазы первого деления созревания с 27 элементами

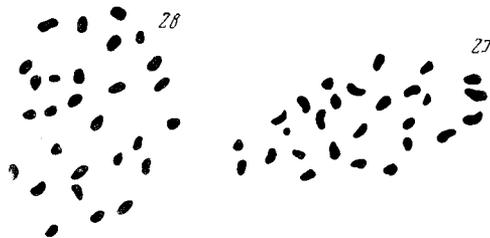


Рис. 3. Метафазы второго деления созревания

Очень четкую картину дали подсчеты элементов в метафазах второго деления созревания. В 31 яйце удалось просчитать число элементов в обеих метафазных пластинках. В каждой такой яйцеклетке без исключения в одной метафазе было 27 хромосом, в другой — 28 (рис. 3).

В общей сложности были просчитаны 94 метафазы второго деления созревания. В 50 из них (53,2%) насчитывалось 27 элементов, в 44 (46,8%) было 28 элементов, что соответствует ожидаемому отношению 1:1 ($\chi^2 = 0,38$).

Таким образом цитологические наблюдения, проведенные на овцитах этой линии, полностью совпадают с результатами генетического анализа (4). Самки исследованной породы действительно имеют только одну свободную аутосому X пары, которая конъюгирует со своим фрагментом, транслоцированным на W-хромосому; после первого деления созревания свободная X аутосома отходит к тому же полюсу веретена, что и Z-хромосома.

Приведенные выше данные помимо подтверждения результатов генетического анализа представляют интерес и для рассмотрения хромосомных перестроек у *Lepidoptera* в эволюционном плане. Исследованиями кариотипов бабочек (2, 7, 12, 13, 15) было доказано, что фрагментации и слияния отдельных элементов сыграли большую роль в эволюции чешуекрылых, изменяя число хромосом и их величину, но почти не затрагивая количества ДНК в ядре (12-14). В частности, у тутового шелкопряда таким образом, по-видимому, возникла островная японская раса *B. mandarina*: эта раса имеет 27 хромосом, тогда как исходная материковая 28 (1).

Хромосомным перестройкам, несомненно, способствует диффузный кинетохор (6, 8, 11, 12), благодаря которому отдельные фрагменты не утрачивают способности к нормальному распределению между дочерними клетками и не теряются во время деления, а слившиеся между собой элементы начинают функционировать, как единое целое. Без значительных потерь наследственных факторов в результате перестроек, например транслокаций, могут появиться новые жизнеспособные линии и

формы с измененными свойствами и типом наследования признаков, контролируемых аутосомами. Эксперименты В. А. Струнникова (³, ⁴) служат тому бесспорным доказательством и помимо практического значения имеют также большой теоретический интерес. Безусловно, изучение хромосомных перестроек у тутового шелкопряда откроет много новых интересных фактов. Не исключено также, что этим путем возможно будет цитологически идентифицировать отдельные хромосомы; у тутового шелкопряда это сделано пока только для половых хромосом (⁹).

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

Поступило
5 III 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. Л. Астауров, М. Д. Голышева, И. С. Рогинская, Цитология, **1**, 3, 327 (1959). ² Н. К. Беляев, Zs. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre, **54**, 3/4, 369 (1930). ³ В. А. Струнников, Л. М. Гуламова, Генетика, **5**, 52 (1969). ⁴ В. А. Струнников, ДАН, 201, № 5 (1971). ⁵ С. Л. Фролова, Тр. Инст. цитол., гистол. и эмбриол. АН СССР, **3**, 1, 162 (1948). ⁶ Н. Bauer, Chromosoma (Berl.), **22**, 2, 101 (1967). ⁷ H. Federley, Zs. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre, **9**, 1, 1 (1913). ⁸ H. Federley, Hereditas (Lund), **29**, 205 (1943). ⁹ E. Kawaguchi, Zs. Zellforsch. u. mikr. Anat., **7**, 4, 519 (1928). ¹⁰ J. Seiler, Arch. Zellforsch., **10**, 2, 159 (1914). ¹¹ J. Seiler, Arch. J. Klaus-Stiftung, **1**, 1, 63 (1925). ¹² E. Suomalainen, Chromosoma (Berl.), **16**, 2, 166 (1965). ¹³ E. Suomalainen, In: Chromosomes Today, **2**, 132 (1969). ¹⁴ E. Suomalainen, Chromosoma (Berl.), **28**, 3, 298 (1969). ¹⁵ M. J. D. White, Survey Biol. Progr., **3**, 109 (1957).