

Теломерный пентамер (TTAGG)_n как молекулярный маркер реципрокной транслокации хромосом при формировании *de novo* нео-XY/нео-XX механизма определения пола у саранчовых

Telomeric (TTAGG)_n repeats as molecular markers of a chromosome translocation in origin of the neo-XY/neo-XX sex determination in grasshoppers

А.Г. Бугров^{*,**}, И.Е. Джетыбаев^{*,***}
A.G. Bugrov^{*,**}, I.E. Jetybayev^{*,***}

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

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

** Новосибирский госуниверситет, ул. Пирогова 2, Новосибирск 630090 Россия.

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

*** Институт цитологии и генетики СО РАН, пр. Лаврентьева 10, Новосибирск 630090 Россия. E-mail: jetybayev@bionet.nsc.ru.

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

Ключевые слова: саранчовые, аутосома, X-хромосома, Y-хромосома, теломерный повтор (TTAGG)_n, флуоресцентная гибридизация нуклеиновых кислот (FISH).

Key words: grasshoppers, autosome, X and Y chromosomes, telomeric (TTAGG)_n repeats, FISH analysis.

Резюме. Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) теломерной ДНК-пробы (TTAGG)_n с хромосомами саппорской кобылки, *P. sapporensis*, и саранчовых семейства Pamphagidae показала, что у видов, обладающих нео-XY♂/нео-XX♀ определением пола теломерные повторённые последовательности локализованы только в теломерных и субтеломерных районах длинных и коротких плеч хромосом. Анализ локализации этого маркера в кариотипах исследованных видов показал, что в месте транслокации первоначальной акроцентрической X-хромосомы и одной из акроцентрических аутосом кластер теломерных последовательностей отсутствует. Этот результат подтверждает, что транслокация X-хромосомы и аутосомы произошла в данном случае с утратой мелких вторых плеч акроцентрических хромосом, участвующих в хромосомной перестройке. Таким образом, в исследуемой модели ключевым моментом дифференциации Y-хромосомы стала центромерная транслокация, приведшая к утрате структурной гомологии между аутосомным плечом нео-X и нео-Y хромосомой.

Abstract. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) of (TTAGG)_n telomeric repeats with the chromosomes of grasshoppers have a neo-XY/neo-XX sex chromosome determination was analyzed. Telomeric repeats were located on the ends of chromosome arms only. No hybridization signal with this probe in the region of autosome-X-chromosome fusion.

Probably it is the result of deletion of euchromatic part of the autosome came into the translocation with the X chromosome. It seems the deletion is primary reason of loss a homology between autosome part of the neo-X chromosome and the neo-Y chromosome.

Половые хромосомы играют уникальную роль во многих биологических процессах и явлениях и, прежде всего, в определении пола. По современным представлениям половые хромосомы возникли из пары аутосом. Ключевым моментом этого превращения было подавление рекомбинации в данной паре, возникшее, вероятно, вследствие инверсий в небольшом участке хромосомы. Блокирование рекомбинации стало распространяться далее по хромосоме, пока не заняло почти всю её длину. Это привело к тому, что прото-Y-хромосома начала накапливать мутации и деградировать. На заключительном этапе эволюции этой гоносомы для неё становятся характерны специфические черты, резко отличающие её от других хромосом набора, такие как обеднённость генами и присутствие значительных гетерохроматиновых районов [Charlesworth et al., 2005; Traut et al., 2007].

Широкое разнообразие систем цитологического определения пола у насекомых [Blackman, 1995] по-

METASYSTEMS GmbH и AxioVision GmbH (Германия).

Результаты и обсуждение

Самцы *A. muricatus* имеют стандартный для Pamphagidae кариотип, состоящий из 18 акроцентрических аутосом и одной акроцентрической X-хромосомы ($2n^{\sigma} = 18 + X0$) (рис. 1а). У двух других видов этого семейства *A. turritus* и *O. fuvvus* кариотип сам-

цов включает 16 акроцентрических аутосом, метацентрическую X-хромосому и акроцентрическую Y-хромосому ($2n^{\sigma} = 16 + \text{нео-X} + \text{нео-Y}$) (рис. 1б, в). Кариотип саппорской кобылки *P. sapporensis* представлен 20 акроцентрическими аутосомами, метацентрической X-хромосомой и акроцентрической Y-хромосомой ($2n^{\sigma} = 20 + \text{нео-X} + \text{нео-Y}$) (рис. 1г).

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) теломерной ДНК-пробы (TTAGG)_n с хромосомами исследованных видов показала, что теломерные повто-

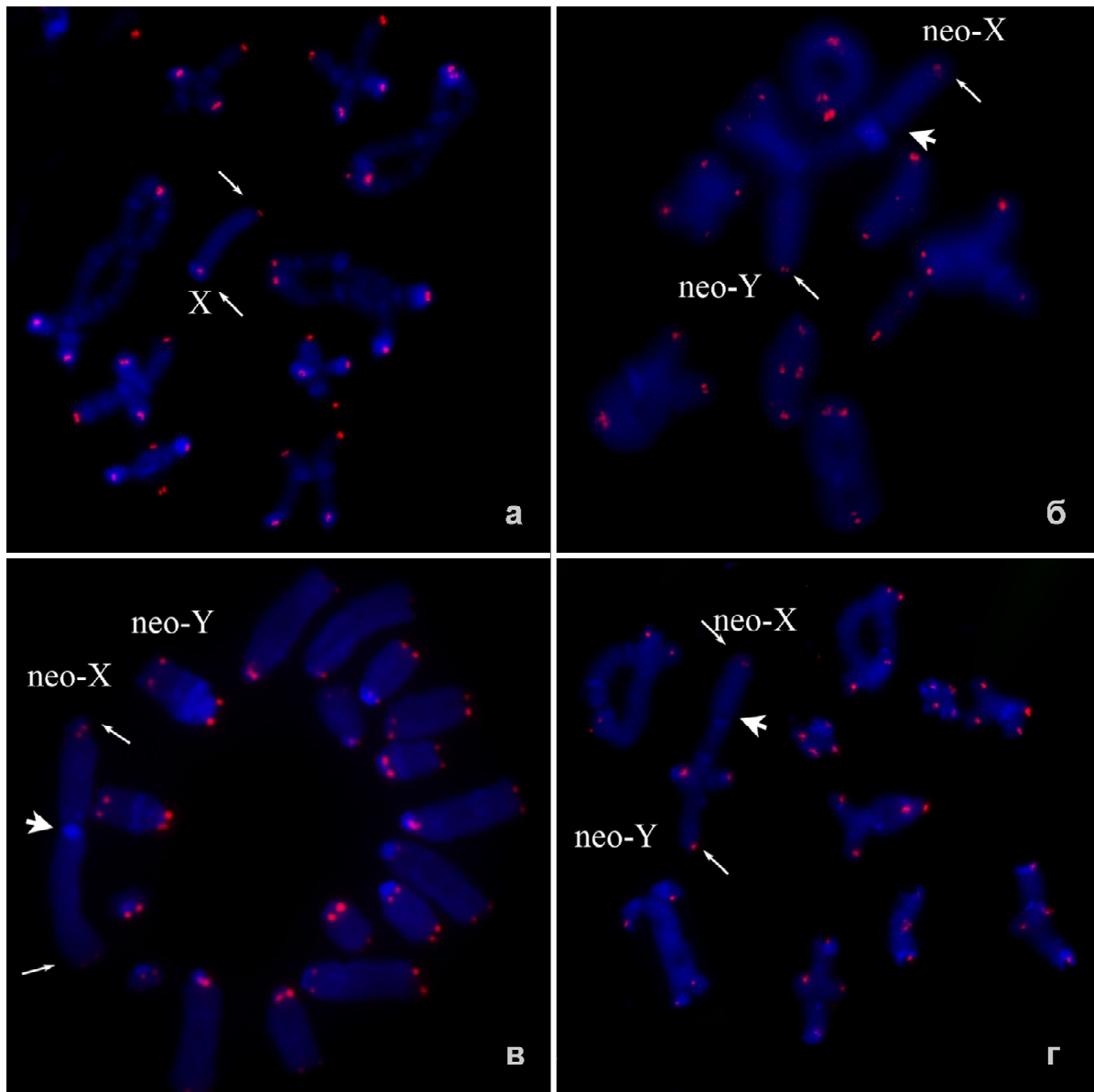


Рис. 1. FISH теломерной ДНК-пробы (TTAGG)_n (красный сигнал) с хромосомами саранчовых: а — *Asiotmethis muricatus*, метафаза I мейоза; б — *Asiotmethis turritus*, метафаза I мейоза; в — *Oronothrotres fuvvus*, метафаза клетки эмбриона, г — *Podisma sapporensis*, метафаза I мейоза. Тонкими стрелками обозначены кластеры теломерных повторов в половых хромосомах. Толстыми стрелками обозначены районы реципрокной транслокации аутосомы и X-хромосомы.

Fig. 1. FISH of telomeric DNA probe (TTAGG)_n (red signal) with the chromosomes of grasshoppers: a — *Asiotmethis muricatus*, metaphase I of meiosis; б — *Asiotmethis turritus*, metaphase I of meiosis; в — *Oronothrotres fuvvus*, metaphase cell of the embryo, г — *Podisma sapporensis*, metaphase I of meiosis. Thin arrows indicate clusters of telomeric repeats in the sex chromosomes. Thick arrows indicate areas of reciprocal translocation of autosomes and the X chromosome.

рѐнные последовательности локализованы только в терминальных районах аутосом, а также в терминальных районах длинного и очень коротко плеча в акроцентрической X-хромосоме *A. muricatus* (рис. 1а–г). Анализ локализации этого маркера в хромосомах у видов с нео-XY механизмом определения пола показал, что в зоне транслокации первоначально акроцентрической X-хромосомы и одной из акроцентрических аутосом, кластер теломерных последовательностей отсутствует. Этот результат подтверждает предположение, что транслокация X-хромосомы и аутосомы произошла в данном случае с утратой мелких вторых плеч акроцентрических хромосом, участвующих в хромосомной перестройке. На этой основе вероятно предположить, что в исследуемой модели исходным моментом дифференциации Y-хромосомы стала центромерная транслокация, приведшая к утрате структурной гомологии между аутосомным плечом нео-X и нео-Y хромосомой (рис. 2).

Полученные результаты позволяют по-новому взглянуть на начальные этапы формирования XY♂/XX♀ гетерогаметного пола из X0♂/XX♀. Исходя из предложенной выше гипотезы, причиной утраты гомологии между парными хромосомами могли быть не инверсии, нарушающие группы сцепления генов [Charlesworth et al., 2005], а делеция, в результате которой произошла утрата части хромосомы, маркированная кластером теломерной ДНК. Такая делеция может привести либо к элиминации хромосомы, либо к слиянию (транслокации) с другой хромосомой. Собственно, эти сценарии развития эволюционных событий описал ещё Уильям Робертсон [Robertson, 1916], однако в то время не была известна функциональная роль теломер в защите целостности хромосомных плеч [Жданова и др., 2007]. В случае транслокации пары акроцентрических аутосом и двух акроцентрических X-хромосом у самок исследованных нами прямокрылых насекомых, две новообразованные двуплечие X-хромосомы состоят из исходных X-хромосом и гомологичных аутосом, вступивших в транслокацию. У самцов единственная X-хромосома сливается только с одной аутосомой из пары по описанному выше и иллюстрированному рисунком 2 сценарию, а вторая аутосома из этой пары становится гетерохромосомой. Присутствие теломерных кластеров на обоих концах этой хромосомы отличает её от своего бывшего гомолога (аутосомной части нео-X хромосомы) (рис. 1б,в,г) и свидетельствует о появлении структурных различий между первоначально изоморфными гомологами вследствие утраты короткого плеча аутосомы. Не исключено, что масштаб такой хромосомной перестройки может отличаться у разных групп насекомых, так как исследованные виды отражают разные стадии гетероморфизации первоначальных гомологов — X_R-плеча нео-X хромосомы и нео-Y хромосомы. Так, у представителей рода *Asiotmethis* и *P. sapporensis* X_R и нео-Y хромосома изоморфны за исключением кластера теломерного повтора, что

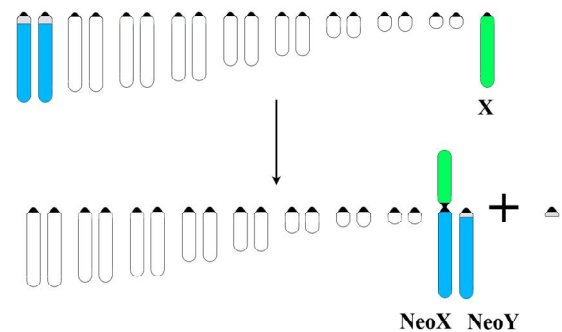


Рис. 2. Схема эволюции кариотипа при формировании гетерогаметного XY/XX механизма определения пола. Голубым цветом окрашена пара акроцентрических аутосом, зелёным — акроцентрическая X-хромосома (объяснение в тексте).

Fig. 2. Scheme of karyotype evolution in the formation of the heterogametic XY/XX sex determination mechanism. Blue colored pair of acrocentric autosomes, green — acrocentric X chromosome (explanation in text).

позволяет им нормально конъюгировать в профазе I мейоза, формируя бивалент с двумя или тремя хизмами (рис. 1б, г). Этот этап гетероморфизации может считаться исходным на пути эволюции XY-гетерогаметного пола. Пример более продвинутой гетероморфизации половых хромосом демонстрируют саранчовые трибы *Nocarodeini*, у которых нео-Y хромосома не только значительно короче исходно гомологичного ей X_R плеча нео-X хромосомы (рис. 1в), но и в значительной степени гетерохроматинизирована, что блокирует рекомбинацию между этими хромосомами [Bugrov, Warchalowska-Śliwa, 1997; Bugrov, Grozeva, 1998]. Видимо, в этом случае блокирование рекомбинации заняло почти всю длину Y-хромосомы, что и привело к её структурной и генетической деградации.

Таким образом, последовательность процессов, приводящих к деградации Y-хромосомы у других гетерозиготных животных, прослеживается и у исследованных нами насекомых. Вместе с тем, в отличие от ранее предложенных моделей эволюции Y-хромосомы при гетерогаметном XY/XX механизме определения пола (двукрылые, млекопитающие), мы имеем возможность на примере саранчовых проследить разные этапы эволюции этой гоносомы, начиная от исходного аутосомного состояния.

Благодарности

Авторы благодарны доктору Гаяне Карагян и доктору Марку Калашяну (Научный центр зоологии и гидроэкологии Национальной Академии наук Армении) за всестороннюю помощь во время совместных полевых исследований в Армении, а также Мустафе Уналу (Университет Абант Иззет Байсал, Болу, Турция) за помощь в организации экспедиции в Турцию.

Работа поддержана грантом РФФИ №12-04-01233-а.

Литература

- Жданова Н.С., Рубцов Н.Б., Минина Ю.М. 2007. Терминальные районы хромосом млекопитающих: пластичность и роль в эволюции // Генетика. Т.43. No.7. С.873–886.
- Bidau C.J., Dardo A.M., Castillo E.R. 2011. Inexorable spread: inexorable death? The fate of neo-XY chromosomes of grasshoppers // Journal of Genetics. Vol.90. No.3. P.1–4.
- Blackman R.L. 1995. Sex determination in insects // Leather S.R., Hardie J. (Eds): Insect Reproduction. Boca Raton, Florida: CRC Press. P.57–94.
- Bugrov A.G. 1996. Karyotypes of the short-horned Orthopteran insects (Orthoptera, Caelifera) from Russia, Kazakhstan, Central Asia, and the Caucasus // Folia biologica (Krakow). Vol.44. Nos 1–2. P.15–25.
- Bugrov A., Grozeva S. 1998. Neo-XY chromosome sex determination in four species of the pamphagid grasshoppers (Orthoptera, Acridoidea, Pamphagidae) from Bulgaria // Caryologia. Vol.51. No.2. P.115–121.
- Bugrov A.G., Warchalowska-Śliwa E. 1997. Chromosome numbers and C-banding patterns in some Pamphagidae grasshoppers (Orthoptera, Acrididae) from the Caucasus, Central Asia, and Transbaikalia // Folia biologica (Krakow). Vol.45. Nos 3–4. P.133–138.
- Bugrov A.G., Warchalowska-Śliwa E., Tatsuta H., Akimoto S. 2001. Chromosome polymorphism and banding variation of the brachypterous grasshopper *Podisma sapporensis* Shir. (Orthoptera, Acrididae) in Hokkaido, northern Japan // Folia Biologica (Krakow). Vol.40. Nos 1–2. P.137–152.
- Castillo E.R.D., Bidau C.J., Martí D.A. 2010. Neo-sex chromosome diversity in neotropical melanopline grasshoppers (Melanoplinae, Acrididae) // Genetica. Vol.138. No.7. P.775–786.
- Charlesworth D., Charlesworth B., Marais G. 2005. Steps in the evolution of heteromorphic sex chromosomes // Heredity. Vol.95. No.1. P.118–128.
- Hewitt G.M., John B. 1972. Inter-population sex polymorphism in the grasshoppers *Podisma pedestris*. II. Population parameters // Chromosoma. Vol.37. No.1. P.23–42.
- Ijdo J.W., Baldini A., Ward D.C., Reeders S.T., Wells R.A. 1991. Origin of human chromosome 2: an ancestral telomere-telomere fusion // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.88. P.9051–9055.
- Mesa A., Fontanetti C.S., Garsia Novo P. 2001. Does an X-autosome centric fusion in Acridoidea condemn the species to extinction? // Journal of Orthoptera Research. Vol.10. P.141–146.
- Pinkel D., Straume T., Gray J.W. 1986. Cytogenetical analysis using quantitative, high sensitivity, fluorescence hybridization // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.83. P.2934–2938.
- Robertson W.R.B. 1916. Chromosome studies. I. Taxonomic relationships shown in the chromosomes of Tettigidae and Acrididae: V-shaped chromosomes and their significance in Acrididae, Locustidae, and Gryllidae: Chromosomes and variation // Journal of Morphology. Vol.27. No.2. P.179–331.
- Traut W., Sahara K., Marec F. 2007. Sex chromosomes and sex determination in Lepidoptera // Sexual Development. Vol.1. No.6. P.332–346.
- White M.J.D. 1973. Animal Cytology and Evolution. 3rd edition. London: Cambridge University Press. 961 p.

Поступила в редакцию 16.10.2014