

УДК 576.312.32 : 576.354.4 : 595.727

## ПОВЕДЕНИЕ С-ГЕТЕРОХРОМАТИНОВЫХ РАЙОНОВ ХРОСОМ В ПЕРВОЙ ПРОФАЗЕ МЕЙОЗА У САРАНЧОВОГО *STAURODERUS SCALARIS*

Л. В. Высоцкая

Лаборатория цитогенетики, Институт цитологии  
и генетики СО АН СССР, Новосибирск

### РЕЗЮМЕ

Использование С-метода дифференциального окрашивания хромосом позволило обнаружить различие в поведении районов прицентромерного гетерохроматина аутосом и половой хромосомы в первой профазе мейоза у *Stauroderus scalaris* (Acrididae, Orthoptera). Установлено, что гетерохроматинный район половой хромосомы в прелептотене конденсируется до размеров, характерных для него в метафазе I мейоза, и морфология его остается неизменной в течение всей профазы мейоза. В противоположность этому гетерохроматин аутосом в прелептотене представлен отдельными хромомерами, конденсация которых в плотные гетерохроматинные блоки происходит позднее, в лептотене. В конце зиготены гетерохроматинные блоки аутосом частично деконденсируются. При этом конъюгация распространяется на участки, ранее лежавшие в гетерохроматинной области. Наиболее четко сложная хромомерная структура прицентромерных районов аутосом выявляется в пахитене, во время диффузной стадии. Включение  $^3\text{H}$ -уридина в эти районы в поздней зиготене — пахитене подтверждает присутствие интеркалярного эухроматина в прицентромерных гетерохроматинных районах аутосом. Высказано предположение о том, что предлептонная конденсация хромосом и конденсация гетерохроматинных районов аутосом в лептотене имеют различную природу.

Поведение гетерохроматинных районов хромосом в мейозе постоянно привлекает внимание исследователей (Natarajan, Gropp, 1971; Unakul, Hsu, 1974; John, 1976; Pathak, Hsu, 1976). Однако трудность определения ранних стадий мейоза обычно не позволяет наблюдать поведение гетерохроматинных участков хромосом в прелептотене — зиготене. Поэтому такой объект, как представитель саранчовых *Stauroderus scalaris*, должен вызывать несомненный интерес, так как, во-первых, у него можно довольно легко идентифицировать ранние стадии профазы мейоза, и, во-вторых, его хромосомы обладают крупными блоками прицентромерного гетерохроматина.

Кариотип самцов этого вида ( $2n=16A+XO$ ) представлен 6 субметацентрическими и 11 акроцентрическими хромосомами. Самая большая из акроцентрических хромосом является половой. Крупные блоки гетерохроматина расположены в прицентромерных областях каждой хромосомы (у субметацентрических они несколько длиннее, чем у акроцентрических).

### Материал и методика

Самцы вида *S. scalaris scalaris* (F.-W.) были собраны в устье р. Чулышман (Горный Алтай) в июле 1977 г. Выделенные семенные фолликулы после 10-минутной обработки в 0,9%-ном растворе цитрата натрия фиксировали в смеси спирта с уксусной кислотой (3 : 1), затем отмывали и хранили в 70%-ном спирте. Давленные препараты окрашивали, используя С-метод дифференциального окрашивания хромосом (Jones et al., 1975). Инкубацию семенных фолликулов в растворе  $^3\text{H}$ -уридина (100 мкКи/мл, 22,5 Ки/ммоль) проводили в течение 30 мин, после чего материал фиксировали. Давленные препараты покрывали эмульсией типа М и через 30 сут проявляли амидоловым проявителем. Окрашивали препараты раствором метиленового синего. Аналогичным образом инкубировали семенники в растворе  $^3\text{H}$ -тимидина (200 мкКи/мл, 15 Ки/ммоль, 30 мин). Препараты, окрашенные по Фельгену, покрывали эмульсией и проявляли через 1 мес.



Правильность установления последовательности стадий ранней профазы мейоза проверялась на срезах и тотальных препаратах семенных фолликулов, где место расположения цист, содержащих сперматоциты на данной стадии, определяется последовательностью мейотических событий. Для того чтобы отличить стадию предмейотической репликации от прелептотены — стадии первичной спирализации хромосом, использовали препараты, меченные  $^3\text{H}$ -тимидином.

На стадии прелептотены хорошо видна конденсированная половая хромосома (рис. 1, *a*; см. вкл. VII). Ее прицентромерный район представлен крупным гетерохроматиновым блоком, размеры и форма которого остаются постоянными до конца профазы (рис. 1, *a—з*). К сожалению, при окрашивании хромосом с помощью С-метода нельзя установить морфологию эухроматиновой части X-хромосомы. Однако на фотографиях, выполненных Джоном (John, 1976) с препаратов, окрашенных орсеином, можно видеть, что в лептотене половая хромосома (более длинная, чем в диакинезе) скручивается в клубок и в таком состоянии остается до поздней пахитены. После этого она постепенно укорачивается примерно в 2 раза и выпрямляется.

Сопоставляя данные, полученные в настоящей работе, с данными Дюона, можно предположить, что только эухроматиновая часть X-хромосомы подвергается процессу конденсации в диплотене—диакинезе, а гетерохроматиновый прицентромерный район уже в прелептотене конденсируется до размеров его в диакинезе.

Что касается прицентромерных гетерохроматиновых областей аутосом, то их поведение отличается от поведения прицентромерного гетерохроматинового района половой хромосомы. На стадии прелептотены гетерохроматиновые области аутосом представлены отдельными небольшими хромомерами, собранными на одном из полюсов ядра (рис. 1, *a*). Затем происходит конденсация хромомеров с образованием крупных гетерохроматиновых блоков (рис. 1, *б*). Эта конденсация, по-видимому, происходит очень быстро, так как не удастся наблюдать стадий, промежуточных между представленными на рис. 1, *a* и *б*.

На стадии зиготены видно, что гетерохроматиновые блоки, по размерам сходные с наблюдаемыми в лептотене, хотя несколько менее конденсированные, сближены и расположены попарно (рис. 1, *в*). Однако они не конъюгируют. Частичную конъюгацию гетерохроматиновых областей можно видеть на более поздней стадии (рис. 1, *г*), когда заметно меняется морфология прицентромерных гетерохроматиновых районов аутосом: они частично декоонденсируются, при этом иногда удается заметить остаточную спираль (рис. 1, *д*).

Во время поздней пахитены (диффузная стадия) прицентромерные районы аутосом еще больше декоонденсируются и выявляется их хромомерная структура (рис. 1, *е*). После этого происходит постепенная конденсация гетерохроматиновых районов и хромосом в целом (рис. 1, *ж, з*).

Может возникнуть вопрос, не является ли наблюдаемая хромомерная структура прицентромерных областей аутосом результатом гипотонической обработки (см. раздел: «Материал и методика»), подобно тому, что описали Кардозо с соавторами (Cardoso et al., 1974). Однако очевидно, что если такая предобработка и способствует более четкому выявлению сложной хромомерной структуры прицентромерных районов аутосом, то она тем более подчеркивает различие между ними и гетерохроматином половой хромосомы, так же как и различие в структуре гетерохроматиновых областей на разных стадиях профазы мейоза.

Для того чтобы выяснить, не содержат ли районы прицентромерного гетерохроматина эухроматиновых участков, была использована автораддиография. При анализе давленных препаратов семенных фолликулов, инкубированных в растворе  $^3\text{H}$ -уридина, обнаружено включение метки на стадиях поздней зиготены—пахитены не только в эухроматиновые рай-



оны, но и в блоки прицентромерного гетерохроматина аутосом (рис. 2, а; см. вкл. VII). На более ранних стадиях зерна серебра обнаруживались только над эухроматиновыми районами аутосом (рис. 2, б). X-хромосома не содержала метки ни на одной из стадий профазы, как это неоднократно было показано многими авторами на других видах (Henderson, 1963, 1964; Das et al., 1965; Monesi, 1965). Нужно подчеркнуть довольно низкий уровень мечения хромосом в профазе мейоза по сравнению с хромосомами соматических клеток, что отмечалось другими авторами и не только у саранчовых (Hotta, Stern, 1963; Monesi, 1965).

Включение  $^3\text{H}$ -уридина в районы прицентромерного гетерохроматина аутосом свидетельствует о присутствии в этих районах у *S. scalaris* интеркалярного эухроматина, в отличие от того, что описано для гетерохроматина добавочных хромосом у *Murmeleotettix maculatus* и теломерных гетерохроматиновых участков некоторых аутосом у *Chorthippus parallelus* — представителей того же семейства саранчовых (Fox et al., 1974).

Присутствие больших блоков прицентромерного гетерохроматина во всех хромосомах у *S. scalaris* позволяет не только проследить за их поведением на протяжении профазы мейоза, но и сравнить его с поведением гетерохроматинизированной половой хромосомы и особенно ее прицентромерного гетерохроматинового района. Отмечая отличное от поведения X-хромосомы поведение гетерохроматиновых районов аутосом, прежде всего следует подчеркнуть функциональное различие между ними: во-первых, это отсутствие гомологичной X-хромосомы и, следовательно, конъюгации; во-вторых, отсутствие в X-хромосоме локусов, участвующих в мейотической транскрипции, что следует из отсутствия включения в X-хромосому меченого уридина (Henderson, 1963, 1964; Das et al., 1965; Monesi, 1965). Различие в поведении аутосом и X-хромосомы выявляется уже в прелептотене, когда гетерохроматиновые районы аутосом и X-хромосомы по-разному участвуют в первичной спирализации (рис. 1, а). X-хромосома конденсируется до размеров, характерных для нее в метафазе митоза. Это свидетельствует о наличии уже в прелептотенном ядре необходимых для конденсации хромосом условий, подобных тем, которые имеются в профазе митоза. То, что в этих условиях конденсация аутосом далеко не полная, может говорить о существовании внутри самих аутосом причин, препятствующих их полной конденсации. Одной из таких причин, возможно, является потенциальная способность к транскрипции, которая будет реализована в поздней зиготене—пахитене. На это указывает то, что хромомерная структура гетерохроматиновых областей, подобная прелептотенной, хорошо выявляется именно в то время, когда идет включение меченого уридина. Следует подчеркнуть, что первичная спирализация хромосом не связана с образованием и развитием синаптомемального комплекса, который, как известно, начинает формироваться только на стадии лептотены.

Хотелось бы обсудить обнаруженное явление конденсации—деконденсации прицентромерных блоков гетерохроматина аутосом на стадиях лептотены—поздней зиготены (рис. 1, б—г). Можно предположить, что конденсация происходит по типу эктопического спаривания под действием «сил конъюгации», которые обеспечивают сближение гомологов и делают возможным образование синаптомемального комплекса. По мере того, как формируется синаптомемальный комплекс по направлению от теломерных районов хромосом к центромерным, плотно конденсированные блоки гетерохроматина сближаются, но не конъюгируют до тех пор, пока не произойдет их деконденсация, т. е. исчезнут вышеупомянутые «силы конъюгации». Этот последний этап конъюгации можно интерпретировать как результат продолжающегося формирования синаптомемального комплекса после того, как достигнуто сближение гомологов под действием неспецифических «сил конъюгации». Наблюдаемое явление подтверждает мнение многих авторов о двухэтапности процесса конъюгации (см. обзоры: Голубовская, 1975; Груздев, 1975).



Следует отметить, что конъюгация дистальных участков прицентромерных гетерохроматиновых районов аутосом у *S. scalaris* не обнаруживается при окраске орсеином (John, 1976). По-видимому, это результат того, что на стадиях поздней зиготены—пахитены отдельные хромеры, ранее составлявшие гетерохроматиновый блок, отделены друг от друга такими большими деспирализованными участками, что их обычно относят к эухроматиновым районам хромосом. И только метод дифференциальной окраски подтверждает их принадлежность к районам прицентромерного гетерохроматина (рис. 1, е).

Таким образом, с помощью С-метода окрашивания хромосом удалось не только выявить сложную хромомерную структуру прицентромерного гетерохроматина аутосом, но и обнаружить явление конденсации—деконденсации гетерохроматиновых блоков в лептотене — поздней зиготене, которое может отражать появление и исчезновение «сил конъюгации» и иметь иную природу, чем конденсация хромосом в прелептотене и в ходе диплотены—диакинеза.

Автор благодарит А. Г. Истомина за предоставление части материала и И. И. Кикнадзе за участие в обсуждении результатов.

### Л и т е р а т у р а

- Голубовская И. Н. 1975. Генетический контроль поведения хромосом в мейозе. В кн.: Цитология и генетика мейоза. М., «Наука», 312—343. — Груздев А. Д. 1975. Гипотезы о механизме конъюгации хромосом. В кн.: Цитология и генетика мейоза. М., «Наука», 184—201. — Cardoso H., Saez F. A., Brum-Zorrilla N. 1974. Location, structure and behavior of C-heterochromatin during meiosis in *Dichroplus silveiraguidoi* (Acrididae: Orthoptera). *Chromosoma*, 48 : 51—64. — Das N. K., Siegal E. P., Alfert M. 1965. Synthetic activities during spermatogenesis in the locust. *J. Cell Biol.*, 25 : 387—395. — Fox D. P., Hewitt G. M., Hall D. J. 1974. DNA replication and RNA transcription of euchromatic and heterochromatic chromosome regions during grasshopper meiosis. *Chromosoma*, 45 : 43—62. — Henderson S. A. 1963. Differential ribonucleic acid synthesis of X and autosomes during meiosis. *Nature*, 200 : 1235. — Henderson S. A. 1964. RNA synthesis during male meiosis and spermatogenesis. *Chromosoma*, 15 : 345—366. — Hotta Y., Stern H. 1963. Synthesis of messenger-like ribonucleic acid and protein during meiosis in isolated cells of *Trillium erectum*. *J. Cell Biol.*, 19 : 45—58. — John B. 1976. Myths and mechanisms of meiosis. *Chromosoma*, 54 : 295—325. — Jones G. H., Stamford W. K., Perry P. E. 1975. Male and female meiosis in grasshoppers. II. *Chorthippus brunneus*. *Chromosoma*, 51 : 381—390. — Monesi V. 1965. Differential rate of ribonucleic acid synthesis in the autosomes and sex chromosomes during male meiosis in the mouse. *Chromosoma*, 17 : 11—21. — Natarajan A. T., Groppe A. 1971. The meiotic behavior of autosomal heterochromatic segments in hedgehogs. *Chromosoma*, 35 : 143—152. — Pathak S., Hsu T. C. 1976. Chromosomes and DNA of mus. The behavior of constitutive heterochromatin in spermatogenesis of *M. dunnii*. *Chromosoma*, 57 : 227—234. — Unakul W., Hsu T. C. 1974. Induction of chromosome banding in early stages of spermatogenesis by ethidium bromide. *Chromosoma*, 44 : 285—290.

Поступила 13 III 1979

### THE BEHAVIOR OF C-HETEROCHROMATIN DURING THE FIRST MEIOTIC PROPHASE IN A GRASSHOPPER *STAURODERUS SCALARIS*

L. V. Vysotskaya

Laboratory of Cytogenetics, Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk

### S U M M A R Y

Using C-banded preparations permitted to observe the behaviour of heterochromatin during the first meiotic prophase in *S. scalaris*. Different behavior of autosomal pro-centric heterochromatin and that of sex chromosome was revealed. The pro-centric heterochromatin of autosomes decondensed to some extent at the end of zygotene. Then the pairing of distal parts of the autosomal pro-centric heterochromatin was observed.  $^3\text{H}$ -uridine incorporation into the autosomal heterochromatic regions during the late zygotene-pachytene confirmed the presence of interstitial euchromatin in the pro-centric regions of autosomes. X-chromosome did not incorporate  $^3\text{H}$ -uridine and its heterochromatic region morphology remained constant during meiotic prophase.



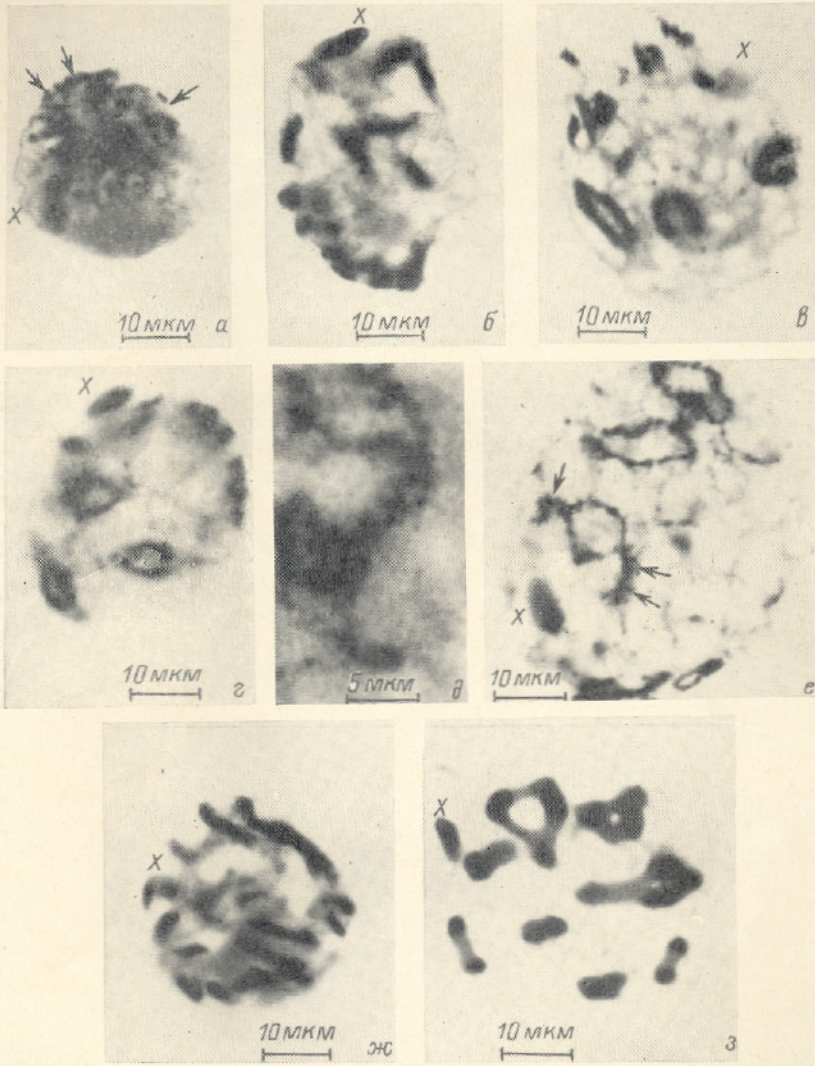


Рис. 1. Последовательные стадии первой профазы мейоза у *Stauroderus scalaris*.

*a* — прелептотена, *б* — лептотена, *в* — ранняя зиготена, *г*, *д* — поздняя пахитена, *ж* — диплотена, *з* — диакинез. Морфология прицентромерного гетерохроматинового района половой хромосомы (*X*) не меняется на протяжении всей профазы мейоза (*a*—*з*). Гетерохроматин аутосом в прелептотене (*a*) представлен отдельными хромомерами (стрелки), собранными на одном из полюсов ядра, в лептотене (*б*) хромомеры, конденсируясь, образуют крупные блоки хроматина. В зиготене (*в*) эти блоки сближаются и частично деконденсируются (*г*), при этом иногда выявляется остаточная спиральная структура (*д*). На стадии поздней пахитены (*е*) хорошо видна хромомерная организация гетерохроматиновых областей аутосом; стрелками показаны те участки, которые до деконденсации входили в состав гетерохроматинового блока. В диплотене—диакинезе (*ж*, *з*) происходит постепенная конденсация гетерохроматиновых районов и хромосом в целом. С-метод дифференциального окрашивания хромосом. Об. 100×, ок. 12.5×.

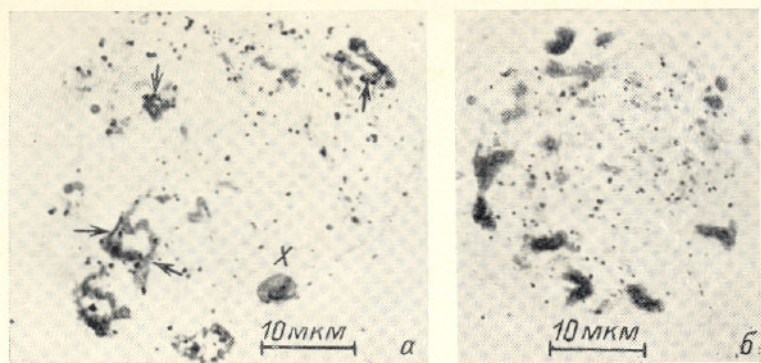


Рис. 2. Включение  $^3\text{H}$ -уридина в гетерохроматиновые районы аутосом (стрелки) на стадии поздней зиготены—пахитены (а) и отсутствие включения в плотно конденсированных блоках гетерохроматина на стадии лептотены (б).

Половая хромосома (X)  $^3\text{H}$ -уридин не включает. Метиленовый синий. Об. 100 $\times$ , ок. 12.5 $\times$ .