

**Элиминация и эндоредупликация геномов в ходе раннего гаметогенеза межвидовых гибридов зелёных лягушек комплекса *Pelophylax esculentus*: цитологический анализ**

**Научный руководитель – Дедух Дмитрий Викторович**

***Рюмин Сергей Сергеевич***

*Студент (магистр)*

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет,

Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: sergriumin@yandex.ru*

Межвидовая гибридизация - широко распространенное явление в природе, а сами межвидовые гибриды обладают высоким эволюционным потенциалом вследствие гетерозиса. Тем не менее, межвидовые гибриды большинства видов животных стерильны и не способны дать плодовитое потомство. Одной из причин стерильности являются различия в числе и в последовательностях ДНК хромосом двух различных геномов, сосуществующих в одном ядре. Эти различия приводят к нарушениям конъюгации и расхождения ортологичных хромосом в ходе мейоза и, в итоге, к остановке мейоза или формированию функционально неактивных анеуплоидных гамет. Однако, для ряда гибридов животных была обнаружена способность к преодолению таких межвидовых репродукционных барьеров путём перехода к клональной или гемиклональной стратегиям передачи геномов. Это достигается за счет изменения раннего гаметогенеза гибридного потомства - элиминации одного из родительских геномов (или его части) и эндорепликации оставшегося генома, которым зачастую может сопутствовать полиплоидизация. Цитологические механизмы этих процессов остаются мало изученными, а данные о частоте и механизмах селективной элиминации и эндорепликации геномов практически не описаны.

Удобной моделью для изучения раннего гаметогенеза гибридов различного уровня плоидности является комплекс зелёных лягушек *Pelophylax esculentus*. В его состав входят два родительских вида - озёрная лягушка *P. ridibundus* (RR) и прудовая лягушка *P. lessonae* (LL), а также их естественный гибрид - съедобная лягушка *P. esculentus*. Полуклональное воспроизводство диплоидных гибридных форм (RL) характеризуется гаметной зависимостью от одного из родительских видов. Однако, в ряде популяционных систем гибриды воспроизводятся независимо за счёт появления триплоидных гибридных форм (RRL и LLR).

Чтобы обнаружить селективность в выборе элиминируемого и эндореплицируемого геномов при формировании гамет у ди- и триплоидных гибридов *Pelophylax esculentus*, мы провели серию лабораторных скрещиваний гибридов друг с другом и с особями родительского вида с последующей идентификацией геномов полученных головастиков путем детекции интерстициальных сайтов теломерного повтора и перичентромерного тандемного повтора RrS1 методом FISH. Мы показали, что диплоидные гибриды могут производить гаметы с различной геномной композицией - как гаплоидные гаметы с R-геномом, так и редкие гаплоидные гаметы с L-геномом. Кроме того, диплоидные гибридные самки могут производить диплоидные гаметы с RL-геномной композицией. Напротив, триплоидные LLR-гибриды сохраняют и передают в гаплоидные гаметы только L-геном.

Для описания процесса элиминации мы провели морфологический анализ гонад гибридных головастиков с помощью лазерной сканирующей конфокальной микроскопии, обнаружив в цитоплазме клеток зародышевой линии DAPI-позитивные микроядра. С помощью CREST-антител мы показали наличие кинетически активной центромеры в составе

микроядер. Проанализированные микроядра содержали только один хромоцентр, что может свидетельствовать об элиминации хромосом поотдельности и наличии в микроядрах только 1 хромосомы. Для выявления типа элиминируемого генома в составе микроядер мы провели на диссектированных гонадах головастиков 3D-FISH с зондами к повтору RrS1. Так, в результате анализа гонад 46 диплоидных и 23 триплоидных гибридных головастиков мы показали наличие хромосом R-генома в составе 15% и 80% микроядер соответственно. С помощью антител к различным модификациям гистонов мы показали отличия в эпигенетическом статусе хроматина в составе микроядер по сравнению с ядрами клеток зародышевой линии - микроядра обеднены маркерами транскрипционно активного хроматина и обогащены маркерами гетерохроматина.

Мы можем заключить, что хромосомы одного родительского вида элиминируются последовательно в клетках зародышевой линии диплоидных и триплоидных гибридов, посредством формирования микроядер. У большинства диплоидных гибридов (RL) происходит избирательная элиминация генома *P. lessonae*, в то время как у большинства триплоидных гибридов (LLR) происходит избирательная элиминация генома *P. ridibundus*, что соответствует результатам лабораторных скрещиваний.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-74-00115 с использованием оборудования ресурсных центров Научного парка СПбГУ "Развитие молекулярных и клеточных технологий" и "Обсерватория экологической безопасности".