



Сопоставление характеристик кариотипа и мейоза криптических форм живородящей ящерицы *Zootoca vivipara* и видов близкородственного рода *Takydromus* (Squamata: Lacertidae)

Л.А. Куприянова^{1*} и Л.Д. Сафронова²

¹ Зоологический институт Российской академии наук, Университетская наб. 1, 199034 Санкт-Петербург, Россия; e-mail: larissakup@zin.ru

² Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Ленинский проспект 33, 119071 Москва, Россия.

Представлена 3 октября 2023; после доработки 30 октября 2023; принята 11 декабря 2023.

РЕЗЮМЕ

В работе приведены характеристики кариотипа и раннего мейоза 2 самцов криптической «западной» формы вида *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) (род *Zootoca* Wagler, 1830), имеющих множественные половые хромосомы (самцы $Z_1Z_1Z_2Z_2/Z_1Z_2W$ самки). Полученные данные сопоставлены с таковыми самцов: 1) другого местонахождения «западной» формы, 2) другой криптической формы вида, также с множественными половыми хромосомами и 3) видов близкородственного рода *Takydromus* Daudin, 1802 с простой системой половых хромосом (ZZ/ZW). Множественные половые хромосомы, по мнению исследователей, могут приводить к определенным нарушениям хода мейоза. Как и в предшествующих работах, в кариотипе двух исследованных самцов «западной» криптической формы *Z. vivipara* обнаружены 36 акроцентрических (А) хромосом с 4-мя половыми хромосомами ($2n=36A, Z_1Z_1Z_2Z_2$). В ходе раннего сперматогенеза мейотические хромосомы сперматогоний находились на ранних и продвинутых стадиях профазы 1 (распластанные синаптонемные комплексы [СК], диакинез) и метафазы 11 мейоза. Визуализированы 18 СК бивалентов, включая полностью синаптированные СК биваленты половых хромосом. В процессе мейоза регулярно формировался гаплоидный сперматоцит 11 порядка ($n=18, Z_1Z_2$). Таким образом, у изученных ранее и в настоящей работе самцов «западной» формы вида с множественными половыми хромосомами не выявлено нарушений течения мужского мейоза и поведения хромосом в нем. Более того, характеристики мужского мейоза совпали с таковыми у другой криптической (русской) формы этого вида (также $Z_1Z_1Z_2Z_2$), однако они отличались от поведения хромосом в мейозе (и митозе) видов близкородственного рода *Takydromus* (ZZ/ZW). Полученные результаты согласуются с существующим мнением о том, что у *Z. vivipara* существуют генетические факторы, обеспечивающие 1) стабильность течения мейоза и митоза, 2) сохранение множественных половых хромосом и высокого криптического разнообразия вида в целом.

Ключевые слова: кариотип, криптические формы, Lacertidae, мейотические хромосомы, половые хромосомы, род *Takydromus*, синаптонемный комплекс, *Zootoca vivipara*

Comparison of characteristics of the karyotype and meiosis of cryptic forms of the viviparous lizard *Zootoca vivipara* and species of the closely related genus *Takydromus* (Squamata: Lacertidae)

L.A. Kupriyanova^{1*} and L.D. Safronova²

* Автор-корреспондент/Corresponding author

¹ Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Universitetskaya Emb. 1, 199034 Saint Petersburg, Russia; e-mail: larissakup@zin.ru

² Institute of Ecology and Evolution A.N. Severtsov of the Russian Academy of Sciences, Leninsky Prospect 33, 119071 Moscow, Russia.

Submitted October 3, 2023; revised October 30, 2023; accepted December 11, 2023.

ABSTRACT

Characteristics of the karyotype and early meiosis of two males of the cryptic “western” form of the viviparous lizard (*Zootoca vivipara* Lichtenstein, 1823) (genus *Zootoca* Wagler, 1830) with multiple sex chromosomes (female $Z_1Z_2W/Z_1Z_1Z_2Z_2$ male) were examined. The data obtained were compared with 1) those of the males of the same cryptic form from other locality, with 2) those of the males of other cryptic form also possessing the multiple sex chromosomes and with 3) those of the species of closely related genus *Takydromus* Daudin, 1802 with simple sex chromosomes, ZW/ZZ . Multiple sex chromosomes may influence meiosis and play a role in isolation. The males of cryptic western form of *Z. vivipara* studied revealed the karyotype with 36 acrocentric chromosomes ($2n=36A$). In early meiosis the spreading of synaptonemal complexes (SC) of the bivalents of these males were obtained and analyzed. Eighteen SC were observed, including SC of the Z_1Z_1 (pair 6) sex chromosomes. Characteristics of SC are compared with the number and the shape of bivalents and chromosomes at the diakinesis and metaphase 11 stages of the meiosis of the males from other population and with those in the other cryptic Russian form of the species. Comparative analysis of two cryptic forms has demonstrated some differences in the morphology of SC Z_1Z_1 sex chromosomes at the early stages of prophase 1 of meiosis (the late zygotena – the middle pachytene stages). However both the SC of sex chromosomes and SC of all remained chromosomes were fully synapsed. All 18 bivalents were regular segregated forming haploid spermatocyte II with 18 chromosomes, including two sex chromosomes ($n=8, Z_1Z_2$). Thus characteristics of karyotype and early meiosis of the males of western form belonging to different localities are fully coincident with those of Russian cryptic forms of *Z. vivipara* with multiple sex chromosomes as well. However, these features were differed from those for the species of the closely related genus *Takydromus* with simple sex chromosome system (ZW) where some disturbances in the course of mitoses and meiosis were observed. The results are in agreement with those suggested previously about the genomic factor(s) stabilizing the meiosis and the maintenance of multiple sex chromosome in the different cryptic forms of complex *Z. vivipara*.

Key words: karyotype, cryptic forms, Lacertidae, meiotic chromosomes, sex chromosomes, the genus *Takydromus*, synaptonemal complex, *Zootoca vivipara*

ВВЕДЕНИЕ

Представители подотряда рептилий, ящерицы, характеризуются рядом особенностей генома, кариотипа и разными способами определения пола. Например, они имеют температурное и генетическое определение пола, мужскую и женскую гетерогаметию и большое разнообразие полоопределяющих механизмов. Семейство настоящих ящериц Lacertidae – одно из семейств подотряда, которое имеет ряд характеристик, отличающих его от других семейств, поскольку его представители обнаруживают только женскую гетерогаметию (ZW, Z_1Z_2W), специфичность и консервативность генетической структуры Z половой хромосомы и генетическое определение пола (исключая один случай предположительно температур-

ного определения пола (Rovatsos et al. 2019)). У большинства кариотипированных видов семейства (более 100) самки имеют ZW половые хромосомы и только самки 4 видов – множественные половые хромосомы Z_1Z_2W (Куприянова и Руди [Kupriyanova and Rudy] 1990; Olmo et al. 1990; Odierna et al. 1993; Odierna et al. 1998; Ezaz et al. 2009, 2017; Rovatsos et al. 2016; Mezasalma et al. 2021).

Настоящая статья является продолжением цитогенетических, молекулярных, иммуноцитохимических, геномных исследований авторов одного из этих 4 видов, а именно, живородящей ящерицы *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823). Среди морфологически слабо различающихся особей по всему транспалеарктическому ареалу вида было установлено межпопуляционное хромосомное и молекулярное

(митохондриальный, мт, гаплотип) разнообразие (Kupriyanova et al. 2003, 2006; Surget-Groba et al. 2006). Так, например, в кариотипах особей разных популяций Европы присутствовали: 1) $2n=36/36$ акроцентрических (A) хромосом; самка – $2n=36$: $34A+Zw$ половые хромосомы; самец – $2n=36$: $34A+ZZ$ половые хромосомы; 2) $2n=35/36$, самка – $2n=35$: $32A+Z_1Z_2W$ половые хромосомы, где W относится к макрохромосоме (5-я по линейным размерам), возникшей, предположительно, в результате тандемного слияния Z_1 половой и Z_2 аутосомы; самец – $2n=36A$: $32A$ аутосомы+ $4A$ половые хромосомы, Z_1 (6 по линейным размерам) и Z_2 (13 по линейным размерам), $Z_1Z_1Z_2Z_2$ (см. Odierna et al. 1993). К настоящему времени все полученные цитогенетические и молекулярные сведения о *Z. vivipara* привели исследователей к заключению, что вид представляет собой «криптическую» группу, состоящую из таксонов разного ранга, которые характеризуются: 1) разными способами размножения (яйцекладущие и яйцеживородящие популяции); 2) разными географическими ареалами; 3) разными митохондриальными гаплотипами; 4) разными кариотипами, включая диплоидные числа, морфологию и цитогенетическую структуры половых хромосом (Табл. 1) (Куприянова, [Kupriyanova] 2017; Kupriyanova and Böhme 2020). В результате в комплексе *Z. vivipara* сейчас описаны 1 новый вид, 1 новый подвид и 4–5 криптических хромосомных форм, различающихся, в первую очередь, по морфологии и цитогенетической структуре половых хромосом (Табл. 1).

Очевидно, что интенсивные процессы видо-, подвидо- и формообразования в комплексе сопровождались (и сопровождаются) реорганизацией кариотипа и, в частности, простых (ZZ/Zw) или множественных ($Z_1Z_1Z_2Z_2/Z_1Z_2W$) половых хромосом. Множественные половые хромосомы и перестройки в них, как известно, могут влиять на процесс мейоза и вызывать некоторые нарушения в нем. Такие системы половых хромосом рассматриваются как одно из селективных преимуществ, обеспечивающее более надежную изоляцию при видообразовании (King 1977).

Следует также указать на еще одну особенность живородящей ящерицы: в геномах всех видов, подвидов и форм вида недавно были

описаны две последовательности (SINE-Z.v.700 и SINE-Z.v.300) ДНК, содержащие сегменты Squam 2, которые относятся к транспозонным элементам (TE). Одна из них (SINE-Z.v.300) присутствует во многих группах животных, тогда как другая (SINE-Z.v.700) – только в геноме *Z. vivipara*. Эти молекулярные маркеры локализованы в определенных (околотеломерных) районах хромосом и могут также влиять на процесс мейоза (Petraccioli et al. 2019). Важная роль TE в видообразовании разных групп организмов и конкретно в мейозе, неоднократно обсуждалась и обсуждается в литературе (Serrato-Carpuchina and Matute 2018).

В связи с вышеизложенным в своих исследованиях авторы сосредоточили внимание на характеристиках кариотипов и особенностях оогенеза, сперматогенеза и раннего мейоза двух криптических форм *Z. vivipara* («западная» и «русская» формы), которые обитают в западном и северо-западном районах России. Самцы и самки рассматриваемых форм имеют сходную систему множественных половых хромосом ($Z_1Z_1Z_2Z_2/Z_1Z_2W$), но вследствие перестройки, вероятно перичентрической инверсии, различаются по морфологии W половой хромосомы (5-я по линейным размерам) (Табл. 1). Кроме того, в результате реорганизации генома, они имеют также разную цитогенетическую структуру W -половой хромосомы (Kupriyanova et al. 2003). На основании хромосомных данных в западном регионе России были установлены ареалы этих криптических форм, показано их аллопатрическое распределение и найдены 2 зоны контакта (Куприянова [Kupriyanova] 2004; Куприянова и др. [Kupriyanova et al.] 2007). В настоящее время продолжается поиск других возможных зон контакта этих форм.

Все перечисленные сведения усилили интерес к процессу мейоза криптических форм *Z. vivipara*, в особенности из зоны их возможных контактов, поскольку характеристики мейоза позволяют изучить ряд кариологических особенностей, в том числе – уточнить гомологию хромосом, поведение и расхождение множественных половых хромосом в мейозе, чтобы также лучше понять их возможную роль в эволюции новых криптических таксонов вида.

Исследование оогенеза и мужского мейоза одной из этих форм, «русской» формы вида, по-

Таблица 1. Характеристика кариотипов и распределение видов, подвидов и хромосомных форм комплекса *Zootoca vivipara* в Европе и Азии.**Table 1.** Karyotype characteristics and distribution of species, subspecies and chromosomal forms of the complex *Zootoca vivipara* in Europa and Asia.

№	2n ♂/♀	Система половых хромосом ♂/♀ System of sex chromosomes	Морфология w/W половых хромосом Morphology of w/W sex chromosomes,	Яйцекладущие/ живородящие, Я/Ж Ovi/viviparous, O/V	Места обитания Localities	Вид, подвид, хромосомная форма Species, subspecies, chromosomal form
1.	36A/36A	ZZ/Zw	a	Я О	Центральная и Юго-западная Европа Central and south-western Europa	<i>Z. carniolica</i> (ранее – <i>Z. vivipara</i>) (former <i>Z. v. vivipara</i>)
2.	36A/36A	ZZ/Zw	a	Ж V	Центральная Европа Central Europe	<i>Z. vivipara</i> , «венгерская» форма <i>Z. vivipara</i> , Hungarian form
3.	36A/35 (34A+1 A/ST)	Z ₁ Z ₁ Z ₂ Z ₂ / Z ₁ Z ₂ W	A, ST	Я О	Западная Европа Western Europe	<i>Z. v. louislantzi</i> (ранее <i>Z. v. vivipara</i> , «пиренейская» форма) (former <i>Z. v. vivipara</i> , Pyrenean form)
4.	36A/35 (34A+1 ST/A)	Z ₁ Z ₁ Z ₂ Z ₂ / Z ₁ Z ₂ W	ST/A	Ж V	Центральная Европа Central Europe	<i>Z. vivipara</i> , «австрийская» форма подвида <i>Z. v. vivipara</i> (?) Pannonian lowland form of <i>Z. v. vivipara</i> (?)
5.	36A/35 (34A+1A/ST)	Z ₁ Z ₁ Z ₂ Z ₂ / Z ₁ Z ₂ W	A/ST	Ж V	Восточная Европа, Балтийский регион, Азия Eastern Europe, Baltic region, Asia	<i>Z. vivipara</i> , «русская» форма (<i>Z. vivipara sensu lato</i>) <i>Z. vivipara</i> , Russian form
6.	36A/35 (34A+1 SV)	Z ₁ Z ₁ Z ₂ Z ₂ / Z ₁ Z ₂ W	SV	Ж V	Западная и Центральная Европа, Балтийский регион Western and Central Europe, Baltic region	<i>Z. vivipara</i> , «западная» форма (<i>Z. vivipara sensu lato</i>) <i>Z. vivipara</i> , Western form

Примечания. Приведены хромосомные формы, подвиды и виды и их распределение в Европе и Азии на основании характеристик кариотипов, полученных в серии работ (Kupriyanova and Rudy 1990; Kupriyanova et al. 2006; Kupriyanova and Böhme 2020). *Обозначения:* 2n – диплоидные числа; ZZ/ZW; Z₁Z₁Z₂Z₂/Z₁Z₂W – системы половых хромосом; морфология w/W половых хромосом: a – акроцентрическая микрохромосома; макрохромосомы: A – акроцентрическая, ST – субтелоцентрическая, SV – субметацентрическая.

Notes. The chromosomal forms, subspecies and species and their distribution in Europe and Asia are given based on the characteristics of karyotypes obtained in a series of works (Kupriyanova and Rudy, 1990; Kupriyanova et al. 2006; Kupriyanova and Böhme 2020). *Designations:* 2n – diploid numbers; ZZ/ZW; Z₁Z₁Z₂Z₂/Z₁Z₂W – systems of sex chromosomes; morphology of w/W sex chromosomes: a – acrocentric microchromosome; macrochromosomes: A – acrocentric, ST – subtelocentric, SV – submetacentric.

зволюли высказать предположение о существовании факторов, позволяющих сохранять основные характеристики процесса мейоза криптической формы рода *Zootoca* с множественными половыми хромосомами (Куприянова и др. [Kupriyanova et al.] 2021).

Помимо этого, согласно данным по морфологии, роды *Zootoca* и *Takydromus* Daudin, 1802 из

юго-восточной и восточной Азии рассматриваются как сестринская близкородственная группа (Arnold et al. 2007); они оказались сходными и по многим из 79 новых молекулярных маркерных признаков ядерной ДНК (Horreo et al. 2018). В связи с этими данными сопоставление хромосомных характеристик представителей этих родов также представляло большой интерес.

Задачи настоящей работы состояли: 1) в выяснении основных характеристик кариотипа и мужского мейоза «западной» формы *Z. vivipara* из ранее не обследованных местонахождений из зоны контакта в западном районе России; 2) в сопоставлении полученных результатов с имеющимися сведениями для А) других локалитетов «западной» формы вида; Б) другой, «русской», формы вида и В) для видов близкородственного рода *Takydromus*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использована суспензия клеток из хромосомной коллекции лаборатории герпетологии ЗИН, которая хранится в морозильной камере при температуре -22°C . Для изучения кариотипа и мейоза двух самцов западной формы *Z. vivipara* (регистрационные номера ЗИН № 9391, № 9391А) были взяты фиксированные смесью Карнуа клетки крови и гонад и фиксированные параформальдегидом клетки семенников, полученные у особей из окрестностей пос. Дружное ($54^{\circ}47'$ с.ш., $20^{\circ}21'$ в.д.) Зеленоградского р-на Калининградской области, западный регион России.

Для приготовления хромосомных препаратов суспензию клеток крови и семенников помещали сначала в 0.9% раствор цитрата натрия и затем фиксировали в смеси Карнуа (3 части 96% метанола и 1 часть ледяной уксусной кислоты). Хромосомные препараты окрашивали по стандартной методике 5 минут 5% красителем Гимза и анализировали под микроскопом Amplital Ахиорпан Karl Zeiss. Для разных целей использовали разное количество клеток; их количество зависело от конкретных задач и указано в тексте.

Для микроскопического анализа препараты синаптонемных комплексов (СК) тотальных ядер сперматоцитов готовили из клеточной суспензии семенников по методу (Dresser and Moses 1980). Распластывание сперматоцитов 1 порядка проводили на капле 0.5% раствора NaCl. Препараты фиксировали в 4% параформальдегиде. СК контрастировали 50% раствором нитрата серебра. Клетки просматривали и фотографировали под световым микроскопом Leica (Германия).

Для СК-кариотипирования самцов «западной» формы *Z. vivipara* были отобраны ядра

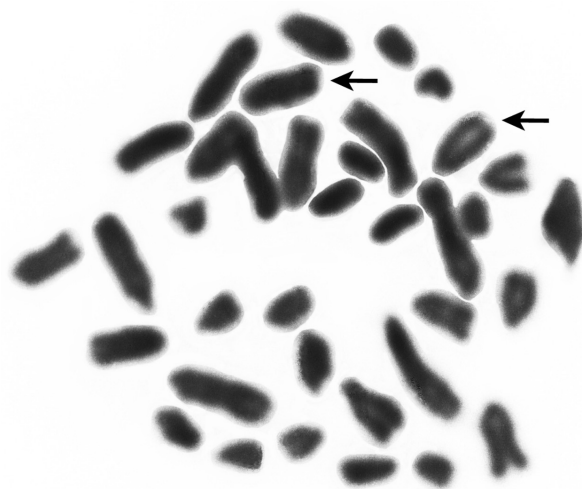


Рис. 1. Метафаза клетки самца «западной» формы живородящей ящерицы *Zootoca vivipara* ($2n=36:32A+Z_1Z_1Z_2Z_2$). Стрелка указывает на Z_1 половые хромосомы (6-е по линейным размерам). Измерение длин хромосом с помощью программы Leica Application Suite V3 (мкм): 1 – 3.5; 2 – 3.4; 3 – 3.3; 4 – 3.1; 5 – 3.0; 6 – 2.9; 7 – 2.8; 8 – 2.8; 9 – 2.7; 10 – 2.7; 11 – 2.6; 12 – 2.5; 13 – 2.5; 14 – 2.4; 15 – 2.3; 16 – 2.2; 17 – 2.2; 18 – 2.1. Стандартная окраска красителем Гимза.

Fig. 1. Metaphase plate of male of *Zootoca vivipara* (western form) ($2n=36:32A+Z_1Z_1Z_2Z_2$). Arrow points to Z_1 sex chromosomes (pair 6 of acrocentric chromosome). The chromosome lines were measured using the Leica Application Suite software: 1 – 3.5; 2 – 3.4; 3 – 3.3; 4 – 3.1; 5 – 3.0; 6 – 2.9; 7 – 2.8; 8 – 2.8; 9 – 2.7; 10 – 2.7; 11 – 2.6; 12 – 2.5; 13 – 2.5; 14 – 2.4; 15 – 2.3; 16 – 2.2; 17 – 2.2; 18 – 2.1. Standard Giemsa staining.

сперматоцитов на стадии средней пахитены. На основе анализа СК в ядрах 10 сперматоцитов «западной» формы *Z. vivipara* были визуализированы биваленты. Раскладку и нумерацию СК-бивалентов и хромосом проводили в порядке убывания их линейных размеров. Измерения проводили с помощью программы Leica Application Suite.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как указано ранее, митотические клетки самцов *Z. vivipara* имеют 36 хромосом. В кариотипе исследованных самцов из окрестностей пос. Дружное также были обнаружены 36 хромосом (15 из 17 клеток) акроцентрической (А) формы, которые постепенно уменьшались в своих размерах (Рис. 1). В клетках присутствуют 32 аутосомы и 4 половых хромосомы ($Z_1Z_1 - 5-6$ -я пара по линейным размерам хромосом

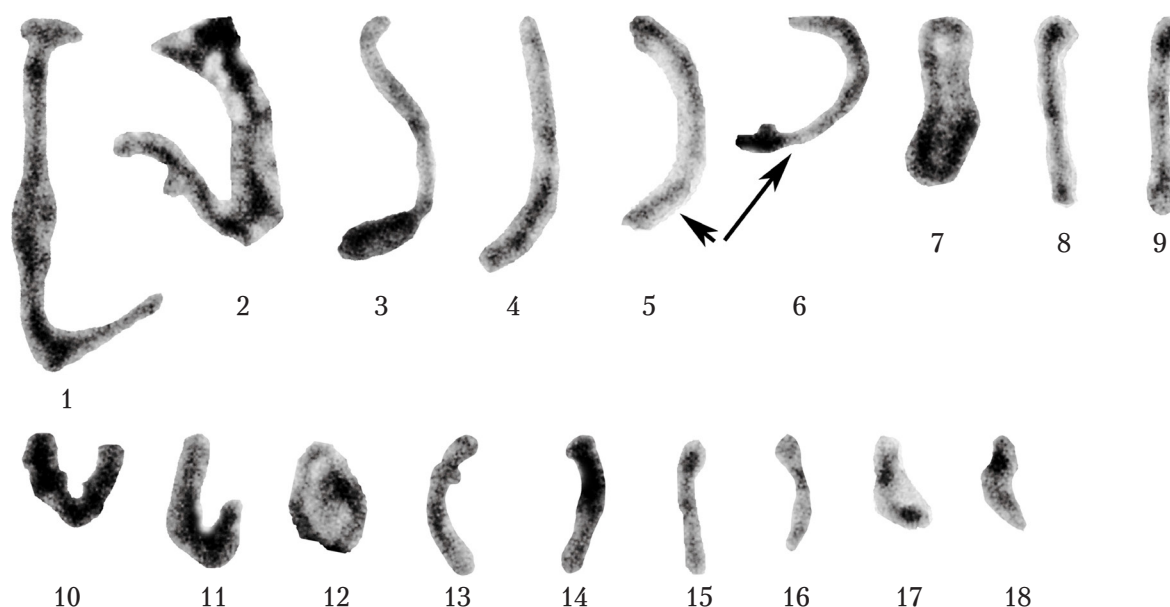


Рис. 2. Ядро сперматоцита самца «западной» формы живородящей ящерицы *Zootoca vivipara*, распластанные на стадии средней пахитены. Латеральные элементы СК полностью синапированы и не имеют волнообразной формы. СК-кариотип: 16 аутомсомных бивалентов и 2 половых бивалента ($n=18$). Стрелки указывают на СК Z_1Z_1 половых хромосом (5–6-я по линейным размерам). Измерение длин СК бивалентов с помощью программы Leica Application Suite V3 (мкм): 1 – 6.4; 2 – 4.6; 3 – 4.5; 4 – 4.5; 5 – 3.6; 6 – 3.5; 7 – 3.4; 8 – 3.3; 9 – 3.2; 10 – 3.1; 11 – 3.0; 12 – 2.9; 13 – 2.7; 14 – 2.1; 15 – 1.8; 16 – 1.8; 17 – 1.8; 18 – 1.7. Окраска азотнокислым серебром.

Fig. 2. The spread spermatocyte nuclei of male of *Zootoca vivipara* (western form) at the middle pachytene stage. Lateral elements of SCs are fully synaptic and do not have wave-shaped morphology. SC-karyotype: 16 autosomal bivalents and 2 bivalents of sex chromosomes ($n=18$). Arrows point to SC Z_1Z_1 sex chromosomes (pair 5 or 6 according their lengths). The chromosome lines were measured using the Leica Application Suite software. 1 – 6.4; 2 – 4.6; 3 – 4.5; 4 – 4.5; 5 – 3.6; 6 – 3.5; 7 – 3.4; 8 – 3.3; 9 – 3.2; 10 – 3.1; 11 – 3.0; 12 – 2.9; 13 – 2.7; 14 – 2.1; 15 – 1.8; 16 – 1.8; 17 – 1.8; 18 – 1.7. Silver-nitrate staining.

и Z_2Z_2 – 13-я пара). Формула кариотипа самца: $2n=36A:32A+4A(Z_1Z_1Z_2Z_2)$.

Исследование СК. На основе анализа окрашенных азотнокислым серебром сперматоцитов на стадии ранней и средней пахитены были описаны СК биваленты. В результате в раннем мейозе профазы 1 у диплоидных самцов с $2n=36$ количество СК соответствовало стандартному гаплоидному числу хромосом ($n=18$). На стадии средней пахитены все СК биваленты визуализировались как полностью синапированные, включая 16 аутомсомных, половой Z_1Z_1 бивалент (5-6-й по линейным размерам) и Z_2Z_2 бивалент (13-й по линейным размерам) (Рис. 2).

На стадии диакинеза профазы 1 мейоза в сперматоцитах самцов «западной» формы были обнаружены 18 бивалентов, включая половые, без нарушений конъюгации хромосом (25 из 30 просмотренных клеток). Все биваленты были представлены крестообразными,

кольцевидными и палочковидными фигурами (Рис. 3). На стадии метафазы 11 мейоза постоянно присутствовали 18 хромосом (Рис. 4).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в ходе раннего сперматогенеза у обследованных диплоидных самцов «западной» формы *Z. vivipara* ($2n=36A$) мейотические хромосомы сперматогоний находятся на ранних и продвинутых стадиях профазы 1 (распластанные синаптонемные комплексы, диакинез) и метафазы 11 мейоза. В процессе раннего сперматогенеза формируются сперматоциты 1 порядка со стандартным числом бивалентов ($n=18$) (Рис. 3) и происходит их регулярное расхождение с образованием сперматоцитов 11 порядка со стандартным гаплоидным числом хромосом ($n=18$) (Рис. 4).

Сравнительный анализ митотических и мейотических хромосом этих и изученных

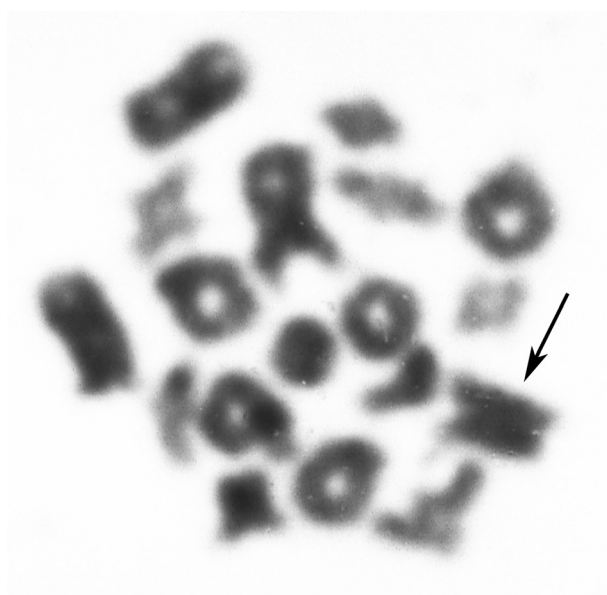


Рис. 3. Мейотическая клетка сперматоцита самца «западной» формы *Zootoca vivipara* на стадии диакинеза ($n=18$). Стрелка указывает на бивалент Z_1 половой хромосомы (6-ая по линейным размерам). Обнаружена конъюгация 18 бивалентов, включая половые биваленты. Стандартная окраска красителем Гимза.

Fig. 3. Meiotic testis cell of male specimen of western form of *Zootoca vivipara* at the diakinesis stage ($n=18$). Arrow points to the bivalent of Z_1Z_1 sex chromosomes (pair 6 according to their lengths). A conjugation of 18 bivalents, including the sex bivalents, was discovered. Standard Giemsa staining.

нами ранее особей (Kupriyanova and Safronova 2023) показывает совпадение основных характеристик их кариотипа и мейоза. Однако при сравнении течения мейоза «западной» и другой, «русской», формы вида отмечены различия в морфологии СК-кариотипов этих форм, поскольку у последней формы установлена волнообразная морфология СК Z_1Z_1 полового элемента (5–6-й по линейным размерам) (Сафронова и Куприянова [Safronova and Kupriyanova] 2016), тогда как у «западной» формы волнообразная морфология СК не выявлена. Тем не менее сравнительный анализ мейоза двух рассматриваемых криптических форм *Z. vivipara* продемонстрировал полное синаптирование всех СК бивалентов, включая СК бивалентов Z_1Z_1 половых хромосом, формирование бивалентов с концевыми хиазмами, а затем регулярное прохождение 1 и 11 делений мейоза и завершение процесса мужского мейоза.



Рис. 4. Мейотическая клетка сперматоцита самца «западной» формы *Zootoca vivipara* на стадии метафазы II мейоза. Обнаружено 18 хромосом ($n=18$). Стрелка указывает на Z_1 половую хромосому (6-ая по линейным размерам). Стандартная окраска красителем Гимза.

Fig. 4. Meiotic testis cell of male specimen of western form of *Zootoca vivipara* at the metaphase II stage ($n=18$). Arrow points to the bivalent of Z_1Z_1 sex chromosomes (pair 6 according to their lengths). Standard Giemsa staining.

Вместе с тем сравнительный хромосомный анализ таксонов рода *Zootoca* и видов близкородственного рода *Takydromus* выявил отличия в характеристиках их кариотипов и процессов мейоза. Так, например, в соматических клетках видов рода *Takydromus* диплоидное число хромосом ($2n$) выше, чем у представителей рода *Zootoca*, $2n$ равно 38–42A (Куприянова [Kupriyanova] 1986; Olmo et al. 1990). Кроме того, у *T. dorsalis* STEJNEGER, 1904 и *T. sexlineatus* Daudin, 1802 ($2n=42A$) отмечены ZW половые хромосомы (простая система), относящиеся (по линейным размерам) к средней размерной группе хромосом, где W половая хромосома полностью гетерохроматизирована (Olmo et al. 1984; Olmo et al. 1990).

Следует напомнить, что у лацертидных ящериц генетическая структура Z-хромосомы очень специфична и консервативна – не имеет гомологии с половыми хромосомами других рептилий (Rovatsos et al. 2016). Наряду с этим фактами,

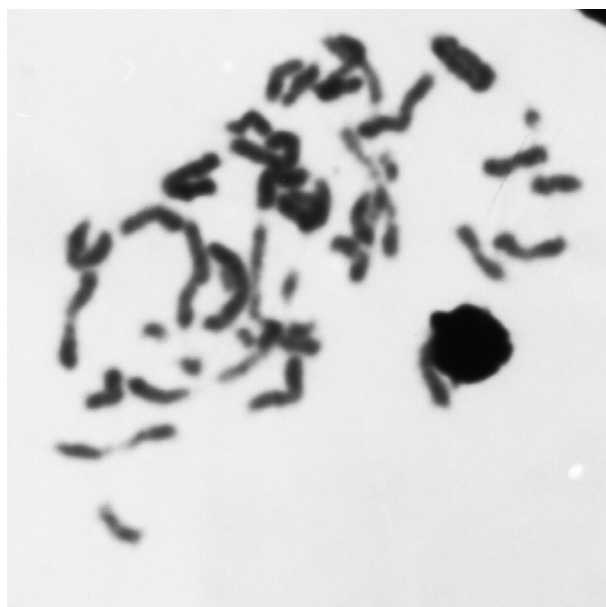


Рис. 5. Метафаза клетки самки *Takydromus amurensis*, $2n=39-40A$. Стандартная окраска красителем Гимза.

Fig. 5. Metaphase plate of female *Takydromus amurensis*, $2n=39-40A$. Standard Giemsa staining.

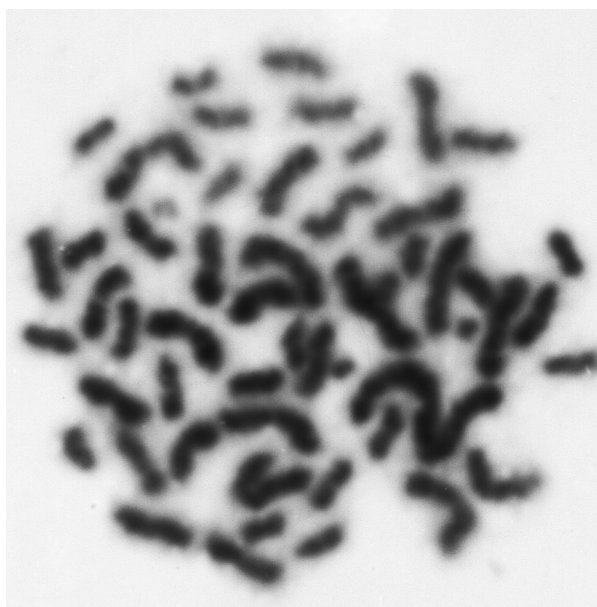


Рис. 6. Полиплоидная метафаза клетки самки *Takydromus amurensis*, $3n=54-55A$. Стандартная окраска красителем Гимза (Рис. 2 Г из статьи: Куприянова [Kupriyanova] 1986).

Fig. 6. Polyploid metaphase plate of female *Takydromus amurensis*, $3n=54-55A$. Standard Giemsa staining (Fig. 2 G from: Kupriyanova 1986).

новые молекулярные исследования обнаружили частичную гомологию Z-хромосомы *T. sexlineatus* и X-хромосомы живородящих млекопитающих. Помимо этого, Z-хромосома геккона *Gekko hokouensis* Pore, 1928 частично гомологична Z-хромосомам птиц и X-хромосоме черепах (Ezaz et al. 2017). Кроме того, целесообразно напомнить о редкости сообщений о переопределении пола у лацертид. Так, например, в природной популяции гибридных диплоидных партеногенетических самок рода *Darevskia* Arribas, 1997 (прежде – *Lacerta*), *D. armeniaca* (Méhely, 1909) была найдена одна мужская особь этого вида. Кариотип этого самца оказался сходным с таковым самок ($2n=38$) и имел Zw половые хромосомы, поэтому авторы объяснили возникновение самца нарушениями функционирования Zw половых хромосом в гибридных геномах партеногенетических самок (Darevskii and Kupriyanova 1982). Позднее нарушения такого же типа были установлены и у редких мозаичных (диплоидных/триплоидных) гибридов партеногенетических лацертид (Kupriyanova 1989).

У самок другого вида рода *Takydromus*, *T. amurensis* Peters, 1881, в кариотипе ранее была

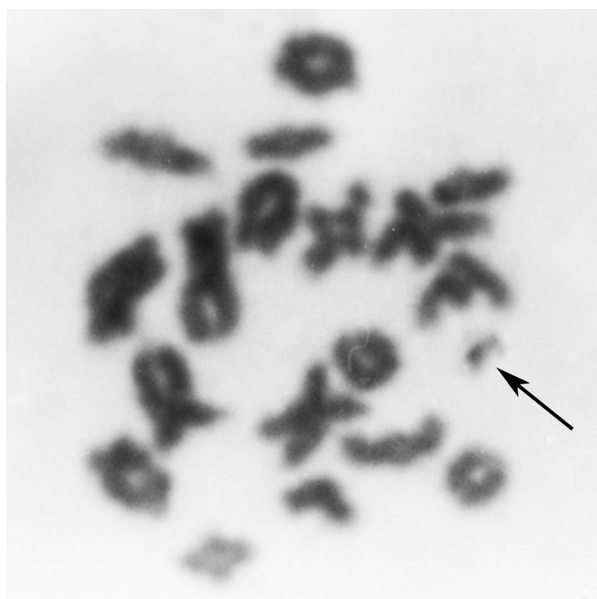


Рис. 7. Мейотическая клетка сперматоцита самца *Takydromus amurensis* на стадии диакинеза, $n=19$. Стрелка указывает на бивалент микрохромосом. Стандартная окраска красителем Гимза.

Fig. 7. Meiotic testis cell of male specimen of *Takydromus amurensis* at the diakinesis stage, $n=19$. Arrow points to the bivalent of microchromosomes. Standard Giemsa staining.

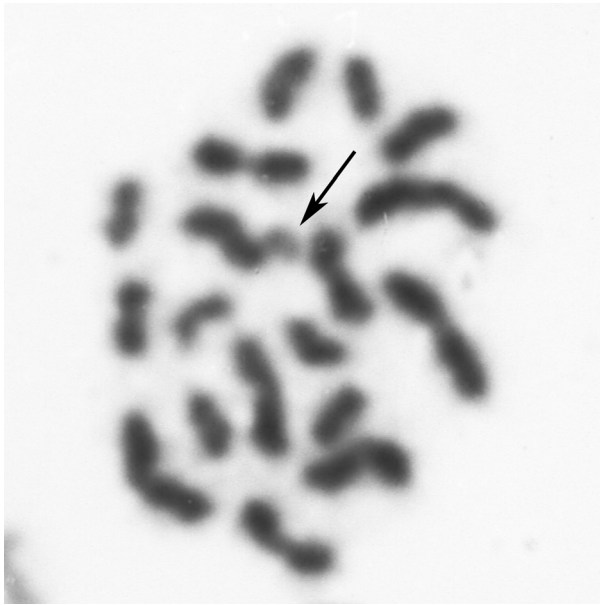


Рис. 8. Мейотическая клетка сперматоцита самца *Takydromus amurensis* на стадии метафазы II, $n=19$. Стрелка указывает на микрохромосому. Стандартная окраска красителем Гимза.

Fig. 8. Meiotic testis cell of male specimen of *Takydromus amurensis* at the metaphase II stage, $n=19$, arrow points to the bivalent of microchromosomes. Standard Giemsa staining.

отмечена значительная вариабельность в количестве хромосом, конкретно – их увеличение до 40–41 и в полиплоидных клетках – до 55 (Куприянова [Kupriyanova] 1986) (Рис. 5, Рис. 6). Однако в соматических клетках самцов *T. amurensis* модальное число хромосом было равно 38, на стадии метафазы I число бивалентов равно 19 и на стадии метафазы – 11 – 19А соответственно (Рис. 7, Рис. 8), что является типичным для семейства Lacertidae, но отличается от характеристик кариотипов самок *T. amurensis* и *Z. vivipara* (Куприянова [Kupriyanova] 1986). Кроме того, следует также отметить некоторые нарушения процесса мужского мейоза *T. amurensis*, а именно – мозаицизм клеток, конкретно – значительное количество полиплоидных клеток на стадии метафазы I мейоза ($n=38$ бивалентов) (до 7% клеток) (Рис. 9) (Куприянова [Kupriyanova] 1986), что отсутствует в мейозе таксонов *Z. vivipara*.

Таким образом, несмотря на близость этих родов по морфологическим и генетическим маркерам, сравнительный хромосомный анализ

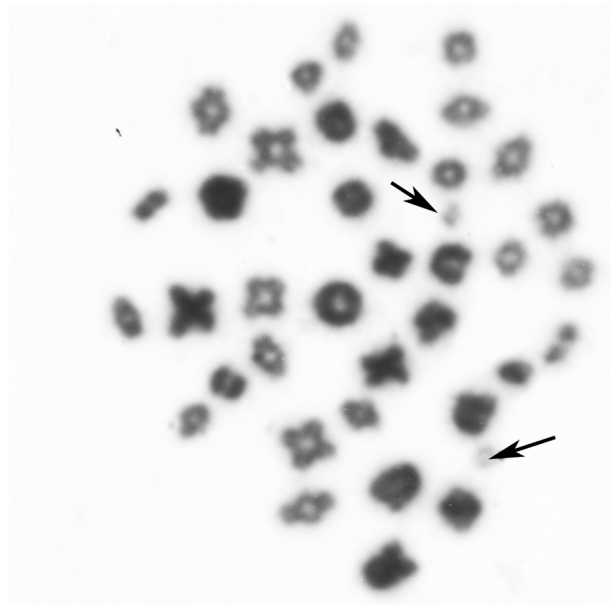


Рис. 9. Полиплоидная мейотическая метафаза I самца *Takydromus amurensis*, $n=38$. Стрелка указывает на биваленты микрохромосом. Стандартная окраска красителем Гимза (рис. 2Б из статьи: Куприянова [Kupriyanova] 1986).

Fig. 9. Polyploid meiotic metaphase I plate of male *Takydromus amurensis*, $n=38$. Arrows point to the bivalents of microchromosomes. Standard Giemsa staining (fig. 2B from: Kupriyanova 1986). Standard Giemsa staining.

показывает различия по нескольким характеристикам их кариотипа и мейоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В итоге сравнительный анализ кариотипов и процесса мейоза особей «западной» криптической формы *Z. vivipara* из двух местообитаний западного района России демонстрирует совпадение их основных характеристик по числу и морфологии хромосом, структуре кариотипа и мейотических хромосом. Процесс мейоза у самцов этой формы *Z. vivipara* с множественными $Z_1Z_1Z_2Z_2$ половыми хромосомами происходит без нарушений. СК биваленты мейотических Z_1Z_1 половых хромосом выглядят полностью синаптированными. В ходе мейоза возникают клетки с гаплоидным числом бивалентов, которые регулярно расходятся, образуя сперматоциты 1 порядка и 11 порядка со стандартным гаплоидным числом бивалентов и хромосом ($n=18$, Z_1Z_2). Мозаицизм в числе хромосом и полиплоидия отсутствуют.

Сравнительный анализ процесса мейоза особей разных криптических форм («западной» и «русской») вида показывает, что, несмотря на некоторые отличия в морфологии их СК Z_1Z_1 половых хромосом, биваленты также регулярно расходятся, образуя сперматоциты 1 порядка, затем сперматоциты 11 порядка со стандартным гаплоидным числом хромосом ($n=18, Z_1Z_2$). Мозаицизм и полиплоидия не установлены, процесс мейоза у самцов двух криптических форм *Z. vivipara* с множественными $Z_1Z_1Z_2Z_2$ половыми хромосомами проходит без нарушений. Вместе с тем сопоставление кариотипов, течения мейоза и поведения мейотических хромосом этих двух криптических форм *Z. vivipara* с таковыми для видов близкородственного рода *Takydromus* демонстрирует существенные различия по нескольким важным параметрам: по $2n$, по вариативности числа хромосом в митозе и мозаицизму клеток в мейозе, по отсутствию множественных половых хромосом и криптических форм в пределах рода.

Очевидно, что роль половых хромосом, в частности, множественных хромосом, и их преобразований в процессе видообразования рептилий требует дальнейших исследований. В настоящее время полученные данные свидетельствуют о вариативности системы половых хромосом двух близкородственных родов ящериц семейства Lacertidae. Однако анализ материала подтверждает выводы о том, что в геноме *Z. vivipara* существуют генетические факторы, обеспечивающие 1) стабильность течения мейоза и митоза, 2) сохранение множественных половых хромосом и в итоге 3) криптическое разнообразие вида в целом.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность коллегам за помощь на разных этапах работы и А.П. Рыскову за оказанную поддержку при подготовке рукописи. Мы благодарны рецензентам за положительную оценку нашей статьи и полезные замечания. Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта № 122031100282–2.

ЛИТЕРАТУРА

Arnold N., Arribas O. and Carranza S. 2007. Systematics of the Palaearctic and Oriental Lizard tribe Lacertini

(Squamata: Lacertidae: Lacertinae), with descriptions of eight new genera. *Zootaxa*, **1430**(1), 86 p. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.1430.1.1>

Darevskii I. and Kupriyanova L. 1982. Rare males in parthenogenetic lizard *Lacerta armeniaca* Méhely. *Vertebrata Hungarica*, **21**: 69–75.

Dresser M. and Moses M. 1980. Synaptonemal complex karyotyping in spermatocytes of the Chinese hamster (*Cricetus gricus*). IV. Light and electron microscopy of synapsis and nucleolar development by silver staining. *Chromosoma*, **76**: 122. <https://doi.org/10.1007/BF00292222>

Ezaz T., Sarre S., Meally D., Graves J.M.M. and Georges A. 2009. Sex chromosome evolution in lizards: independent origins and rapid transitions. *Cytogenetic and Genome Research*, **127**: 249–260. <https://doi.org/10.1159/000300507>

Ezaz T., Srikulnath K. and Marshall G.J. 2017. Origin of amniote sex chromosomes: an ancestral super-sex chromosome, or common requirements? *Journal of Heredity*, **108**(1): 94–105. <https://doi.org/10.1093/jhered/esw053>

Horreo J., Peláez M., Suárez T. and Fitze P. 2018. Development and characterization of 79 nuclear markers amplifying in viviparous and oviparous clades of the European common lizard. *Genetica*, **146**: 115–121. <https://doi.org/10.1007/s10709-017-0002-y>

King M. 1977. The evolution of sex chromosomes in lizards. In: J. Calaby and H. Tyndale-Briscoe (Eds). *Evolution and Reproduction*. Australian Acad. Sci., Canberra: 55–60.

Kupriyanova L. 1986. Possible pathways of karyotype evolution in lizards. *Proceeding of the Zoological Institute USSR Academy of Science*, **157**: 86–100. [In Russian].

Kupriyanova L. 1989. Cytogenetic evidence for genome interaction in hybrid lacertid lizards. In: R. Dawley and J. Bogart (Eds). *Evolution and ecology of unisexual vertebrates*. New York State Museum, Albany, NY, USA. *Bull.* **466**: 236–240.

Kupriyanova L. 2004. Cytogenetical approaches to the problem of form-formation and subspeciation in the complex *Lacerta (Zootoca) vivipara* (Lacertidae, Sauria). *Ititologia*, **46**(7): 649–658. [In Russian].

Kupriyanova L. 2017. Results and perspectives of chromosomal and molecular investigations of the model Euroasian species viviparous lizard *Zootoca vivipara* (intraspecific structure, biodiversity, distribution and conservation. In: T. Asanovich (Ed.). *Materials of the Anniversary reporting scientific session dedicated to the 185th anniversary of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences* (St. Petersburg, Russia, November 13–16, 2017). Collection of papers. Zoological Institute of Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg: 108–111. [In Russian].

- Kupriyanova L. and Böhme W. 2020.** A review of the cryptic diversity of the viviparous lizard, *Zootoca vivipara* (Lichtenstein, 1823) (Squamata: Lacertidae) in Central Europe and its postglacial recolonization out of the Carpathian basin: chromosomal and molecular data. In: E.A. Thygesen (Ed.). Europe: Environmental, Political and Social Issues. Nova Science Publisher, NY, USA: 25–43.
- Kupriyanova L. and Rudi H. 1990.** Comparative karyological analysis of *Lacerta vivipara* (Lacertidae, Sauria) populations. *Zoologicheskii Zhurnal*, **69**: 93–101. [In Russian].
- Kupriyanova L. and Safronova L. 2023.** A brief review of meiotic chromosomes in early spermatogenesis and oogenesis and mitotic chromosomes in the viviparous lizard *Zootoca vivipara* (Squamata: Lacertidae) with Multiple Sex Chromosome. *Animals*, **13**: 19. <https://doi.org/10.3390/ani13010019>
- Kupriyanova L., Mayer W. and Böhme W. 2006.** Karyotype diversity of the Eurasian lizard *Zootoca vivipara* (Jacquin, 1787) from Central Europe and the evolution of viviparity. In: M. Vences, J. Köler, T. Ziegler and Böhme W. (Eds). *Herpetologia Bonnensis II: Proceedings of the 13th Ordinary General Meeting of the Societas Europea Herpetologica*: Bonn, Germany, 27 September – 2 October 2005. Koenig Museum, Bonn and SHE, Bonn: 1–5.
- Kupriyanova L., Melashchenko O. and Alekseev P. 2007.** Karyological investigations of populations of the lizard *Zootoca vivipara* (Juaquin, 1787) from the Baltic Sea Basin (western region of Russia). *Tsitologia*, **49**(5): 601–609. [In Russian].
- Kupriyanova L., Odierna G., Capriglione T., Olmo E. and Aprea G. 2003.** Chromosomal changes and form-formation, subspeciation in the wideranged Europasian species *Zootoca vivipara* (evolution, biogeography). In: Ananjeva N. and Tsinenko O. (Eds). *Herpetologia Petropolitana. Proceedings of the 12th Ordinary General Meeting of the Societas Europea Herpetologica*, St. Petersburg, Russia, 12–16 August 2003. St. Petersburg, Russia, **12**: 47–52.
- Kupriyanova L., Safronova L. and Chekunova A. 2021.** Problems of the maintenance of stability in a cryptic speciation: early oogenesis and early meiosis of model species of cryptic group *Zootoca vivipara*. In: E. Dunayev and N. Poyarkov (Eds). *Problems of Herpetology. Program and abstracts of the VII congress of the A.M. Nikolsky Herpetological Society (NHS) of the Russian Academy of Sciences “Current herpetological research in Eurasia”, October 3–9, 2021*. Zvenigorod Biological Station of Lomonosov Moscow State University. KMK Scientific Press, Moscow: 150–151. [In Russian].
- Mezzasalma M., Guarino F. and Odierna G. 2021.** Lizards as model organisms of sex Chromosome evolution: What we really know from a systematic distribution of available data? *Gene*, **12**: 1341. <https://doi.org/10.3390/genes12091341>
- Odierna G., Aprea G., Capriglione T., Arribas O., Kupriyanova L. and Olmo E. 1998.** Progressive differentiation of the W sex chromosome between oviparous and viviparous populations of *Zootoca vivipara* (Reptilia, Lacertidae). *Italian Journal of Zoology*, **65**: 295–302. <https://doi.org/10.1080/11250008809386761>
- Odierna G., Kupriyanova L., Capriglione T. and Olmo E. 1993.** Further data on sex chromosomes of Lacertidae and a hypothesis on their evolutionary. *Amphibia-Reptilia*, **14**: 1–11. <https://doi.org/10.1163/156853893X00147>
- Olmo E., Cobror D., Morescalchi A. and Odierna G. 1984.** Homomorphism sex chromosomes in the lacertid lizard *Takydromus sexlineatus*. *Heredity*, **53**(2): 457–459. <https://doi.org/10.1038/hdy.1984.103>
- Olmo E., Odierna G., Capriglione T. and Cardone A. 1990.** DNA and chromosome evolution in Lacertid lizards. In: E. Olmo (Ed.). *Cytogenetics of Amphibians and Reptiles World Congress of Herpetology (1st: 1989)*. Canterbury, England: 181–204.
- Petraccioli A., Guarino F., Kupriyanova L., Mezzasalma M. Odierna G., Picariello O. and Caprogliione T. 2019.** Isolation and characterization of interspersed repeated sequences in the European common lizard, *Zootoca vivipara*, and their conservation in Squamata. *Cytogenet and Genome Research*, **157**(2): 65–76. <https://doi.org/10.1159/000497304>
- Rovatsos M., Vukić J., Almanova M., Johnson Pokorná M., Moravec J. and Kratochvil L. 2016.** Conservation of sex chromosomes in lacertid lizards. *Molecular Ecology*, **25**: 3120–3126. <https://doi.org/10.1111/mec.13635>
- Rovatsos M., Vukić J., Mrugala A., Suwala C., Lymberakis P., and Kratochvil L. 2019.** Little evidence for switches to environmental sex determination and turnover of sex chromosomes in lacertid lizards. *Scientific Reports*, **9**: 7832. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44192-5>
- Safronova L. and Kupriyanova L. 2016.** Metaphase and meiotic chromosomes, Synaptonemal complexes (SC) of some males of the lizards *Zootoca vivipara*. *Russian Journal of Genetics*, **52**(11): 1186–1191. <https://doi.org/10.1134/S1022795416110120>
- Serrato-Capuchina A. and Matute D. 2018.** The role of Transposable elements in speciation. *Genes*, **9**(254): 1–28. <https://doi.org/10.3390/genes9050254>
- Surget-Groba Y., Heulin B., Guillaume C.-P., Puky M., Semenov D., Orlova V., Kupriyanova L., Ghira I. and Smajda B. 2006.** Multiple origins of viviparity, or reversal from viviparity to oviparity and the evolution of parity. *Biological Journal of the Linnean Society*, **87**: 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2006.00552.x>