

AGATA KAWAŁKO, JAN MAREK WÓJCIK

*Zakład Badania Ssaków  
Polskiej Akademii Nauk  
Waszkiewicza 1c, 17-230 Białowieża  
e-mail: akawalko@zbs.bialowieza.pl,  
jwojcik@zbs.bialowieza.pl*

## SPECJACJA U MYSZY DOMOWYCH, *MUS MUSCULUS* – MECHANIZMY IZOLUJĄCE

### WPROWADZENIE

Współczesna teoria specjacji rozwijała się wraz z rozwojem genetyki populacyjnej i nadal jest dziedziną, która żywo interesuje badaczy. Specjacja, czyli proces powstawania gatunków, jest kluczowym zagadnieniem w zakresie biologii ewolucyjnej. Szczegółowe zrozumienie mechanizmów specjacji wymaga wyjaśnienia genetycznych uwarunkowań tego procesu. Biolodzy-ewolucjoniści poszukują związku pomiędzy informacją genetyczną a odpowiednimi cechami fenotypowymi, przyczyniającymi się do wykształcania izolacji rozrodczej pomiędzy różnicującymi się populacjami. Badanie mechanizmów specjacji daje możliwość poznawania zmian zachodzących w genomie pojedynczego osobnika, jak i jego interakcji z pulą genową populacji. Jest to niezwykle trudne wyzwanie wynikające między innymi z braku precyzyjnej definicji gatunku oraz z trudności, a często niemożności bezpośredniego badania specjacji w warunkach naturalnych (SEARLE 1998). Przez pojęcie gatunku często rozumie się izolowaną pulę genową, w obrębie której dochodzi do swobodnego przepływu genów. W przypadku populacji (gatunków) sympatrycznych wymianę genów pomiędzy nimi ograniczają mechanizmy izolujące. Wynikają one z właściwości samych organizmów, które zapobiegają skutecznemu kojarzeniu międzygatunko-

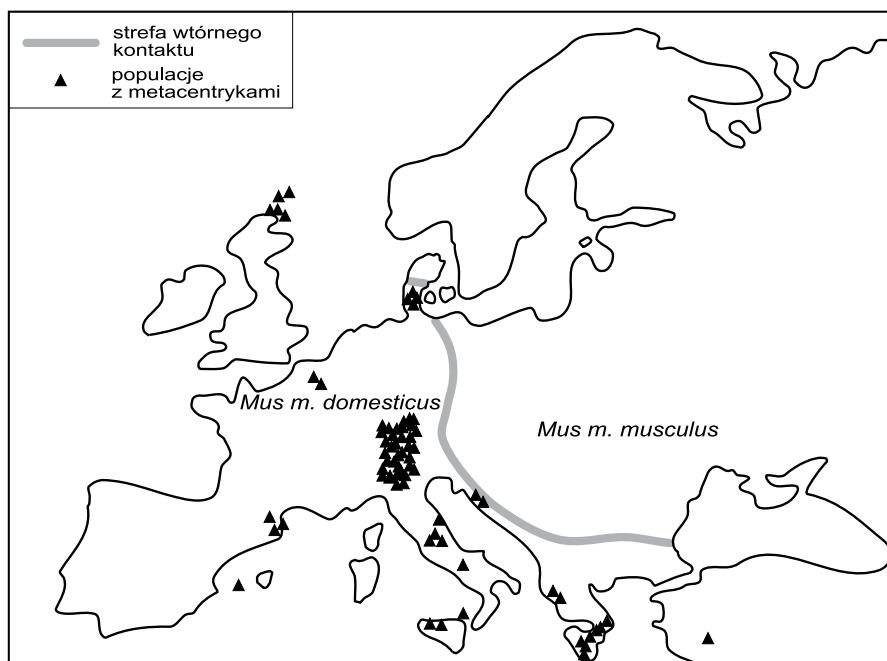
wemu i mogą być skutkiem różnic morfologicznych, fizjologicznych bądź behawioralnych. Natomiast w przypadku populacji (gatunków) allopatrycznych czynnikiem izolacji są bariery geograficzne, uniemożliwiające migrację osobników i wymianę genów.

Do izolacji rozrodczej może dochodzić w wyniku działania mechanizmów izolacji prezygotycznej oraz postzygotycznej. Te pierwsze zapobiegają kojarzeniu międzygatunkowemu na skutek, na przykład braku synchronizacji miejsca i czasu rozrodu osobników należących do różnych gatunków bądź odmiennej morfologicznie budowy plemników jednego i komórek jajowych drugiego gatunku. Natomiast mechanizmy izolacji postzygotycznej nie zapobiegają zapłodnieniu i powstaniu mieszańcowego potomstwa (hybrydów), jednak mogą ograniczać przepływ genów poprzez obniżanie żywotności (aż do letalności) mieszańców lub ich płodności. Genetyczna niezgodność u mieszańcowych samców może prowadzić nawet do ich sterylności (*sensu stricto*) spowodowanej zaburzeniami w przebiegu spermatogenezy. Nieprawidłowości te mogą wynikać z nieobecności plemników bądź niezdolności do zapłodnienia komórki jajowej z powodu ich deformacji (STORCHOVÁ i współaut. 2004).

## MYSZ DOMOWA JAKO OBIEKT BADAŃ NAD SPECJACJĄ

Mysz domowa, *Mus musculus*, jest modelowym gatunkiem, bardzo dogodnym do badań genetycznych nad izolacją postzygotyczną. Po pierwsze, zgromadzono olbrzymi zasób danych o genach tego gatunku, tzn. została poznana kompletna sekwencja nukleotydowa jego genomu (MOUSE GENOME SEQUENCING CONSORTIUM 2002). Istnieją dokładne mapy mikrosatelitarnych markerów obejmujących cały genom (DIETRICH i współaut. 1996) oraz znanych jest ponad 10 ty-

uważane są za pełne gatunki (patrz WÓJCIK 1982). Jakkolwiek formy te wyodrębniły się prawdopodobnie pomiędzy 1 000 000 a 350 000 lat temu (SHE i współaut. 1990, SILVER 1995), nadal tworzą strefę wtórnego kontaktu i hybrydyzacji (Ryc. 1). Strefa hybrydyzacji pomiędzy tymi podgatunkami przebiega w Europie od Półwyspu Jutlandzkiego do bułgarskich wybrzeży Morza Czarnego na dystansie ok. 2500 km (BOURSOT i współaut. 1993, SAGE i współaut. 1993, MA-



Ryc. 1. Schematyczny przebieg strefy wtórnego kontaktu i hybrydyzacji dwóch podgatunków myszy domowej *Mus musculus musculus* i *Mus musculus domesticus* w Europie.

Na mapie zaznaczono również przybliżone miejsca występowania populacji należących do *M. m. domesticus*, w których stwierdzono chromosomy dwuramienne (metacentryki) w kariotypie myszy (wg PIÁLKA i współaut. 2005, zmieniona). Standardowy kariotyp myszy domowej zawiera tylko jednoramienne chromosomy (akrocentryki).

sięcy markerów polimorfizmu punktowego (ang. single nucleotide polymorphism, SNP) (patrz PLETCHER i współaut. 2004). Po drugie, u myszy domowej zidentyfikowano gen odpowiedzialny za sterility (*Hst-1* obecny na chromosomie 17). Po trzecie, stosunkowo łatwo można odłowić znaczną liczbę dzikich myszy. W warunkach laboratoryjnych kojarzą się łatwo wydając kolejne pokolenia średnio co 10–12 tygodni, dlatego możliwe jest uzyskanie dużej liczby osobników w krótkim czasie. Po czwarte, w naturze występują dwa blisko spokrewnione podgatunki *M. m. musculus* i *M. m. domesticus* (np. MUSSER i CARLETON 2005), które przez niektórych badaczy

CHOLÁN i współaut. 2003). Może ona być wykorzystywana jako „naturalne laboratorium” do testowania molekularnych markerów (genów), odgrywających istotną rolę w procesie specjacji.

Hybrydyzacja i introgresja (wzajemny przepływ genów pomiędzy gatunkami) obserwowana jest znacznie częściej u roślin niż u zwierząt. Występuje u przynajmniej 25% gatunków roślin i 10% gatunków zwierząt i dotyczy głównie „najmłodszych” gatunków (MALLET 2005). Natomiast u ssaków jest zjawiskiem bardzo rzadkim, co sprawia, że podgatunki myszy domowych stanowią cenny obiekt w badaniach nad specjacją.

## ZMIENNOŚĆ CHROMOSOMOWA A SPECJACJA

Badanie mechanizmów izolujących u myszy domowych musi uwzględniać dwie kwestie. Z jednej strony występuje wspomniana

strefa hybrydyzacji pomiędzy dwoma podgatunkami, z drugiej zaś, w obrębie zachodnioeuropejskiego podgatunku *M. m. domesticus*

są populacje, które wyróżniają się odmiennymi od standardowego zestawami chromosomów w kariotypach. Myszy domowe charakteryzują się rzadko obserwowaną u ssaków zmiennością chromosomów w kariotypie. Spośród innych gatunków ssaków występujących w Europie podobną zmienność kariotypu stwierdzono jedynie u ryjówki aksamitnej, *Sorex araneus* L. (patrz SEARLE I WÓJCIK 1998).

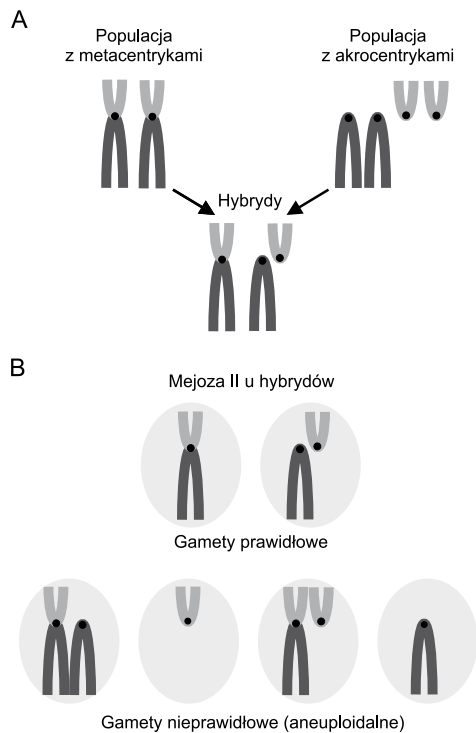
Standardowy kariotyp myszy domowej zawiera 19 par jednoramiennych autosomów (akrocentryków) oraz jedną parę jednoramiennych chromosomów płci, zatem diploidalna liczba chromosomów wynosi  $2n = 40$ . Jednakże u podgatunku *M. m. domesticus*, w wielu populacjach występują dwuramienne chromosomy (metacentryki), powstałe, jak się zakłada, głównie w wyniku fuzji Robertsona (Ryc. 1). Fuzja zachodzi w wyniku połączenia się dwóch akrocentryków w miejscu ich centromerów, tworząc jeden chromosom metacentryczny posiadający centralnie umieszczony centromer. Utrwalenie i kumulacja fuzji Robertsona skutkuje zmniejszeniem liczby chromosomów w kariotypie myszy danej populacji. Stwierdzono, że diploidalna liczba chromosomów w różnych populacjach *M. m. domesticus* może zmieniać się w zakresie od  $2n = 22$  do  $2n = 39$ , jednak nie zmniejsza się ogólna liczba ramion chromosomów. Liczne badania potwierdzają udział wszystkich 19 akrocentrycznych autosomów w fuzjach Robertsona u myszy. Obecnie znane są łącznie 103 różne metacentryki, a oczekiwana liczba wszystkich możliwych fuzji wynosi 171 (PIĄLEK i współaut. 2005). Ponadto chromosomy metacentryczne mogą powstawać w wyniku wzajemnej translokacji całych ramion (ang. whole-arm reciprocal translocations, WART). W tym przypadku ramię jednego chromosomu metacentrycznego zostaje wymienione z ramieniem innego metacentryka bądź akrocentrykiem, co może znacznie zwiększyć ogólną zmienność pomiędzy populacjami. Takiej zmienności chromosomów nie stwierdzono u drugiego podgatunku *M. m. musculus*. Poza jedną populacją, w której zaobserwowano pojedyncze fuzje, charakteryzuje się on standardowym akrocentrycznym kariotypem (ZIMA i współaut. 1990).

Pierwszą rasę z fuzjami Robertsona u *M. m. domesticus* stwierdzono w 1969 r. w Szwajcarii (GROPP i współaut. 1969), a do 2005 r. opisano łącznie 97 różnych ras (PIĄLEK i współ-

aut. 2005). Tak ogromną zmienność chromosomową u tego podgatunku można zobrazować następującym przykładem. W populacjach występujących w centralnych Alpach, na obszarze nieco ponad 40 000 km<sup>2</sup> obecne są co najmniej 24 rasy kariotypowe, zawierające łącznie 55 różnych metacentryków (PIĄLEK i współaut. 2001). W powstawaniu takiej zmienności biorą udział bariery geograficzne, które sprzyjają specjacji poprzez ograniczanie przepływu genów pomiędzy populacjami. W takich małych izolowanych populacjach nowo powstające fuzje mogą łatwiej się utrzymywać na skutek działania czynników losowych, np. dryfu genetycznego.

Badania przeprowadzone na Maderze, małej wulkanicznej wyspie Atlantyku, jednoznacznie wskazują na szybkie tempo gromadzenia się fuzji Robertsona w małych populacjach myszy. Jednocześnie sugerują możliwość pojawienia się kilku ras chromosomowych, izolowanych rozrodczo w czasie krótszym niż 500 lat, bez wyraźnego udziału procesów adaptacyjnych (BRITTON-DAVIDIAN i współaut. 2000). Na wyspie tej opisano 6 ras chromosomowych oddzielonych od siebie pasmami górskimi. Występowanie barier spowodowało, iż w każdej z ras kumulowały się odrębne fuzje w wyniku dryfu genetycznego. W konsekwencji każda z nich charakteryzuje się specyficznym zestawem chromosomów. Jeżeli doszłoby do wtórnego kontaktu, hybrydy (których do tej pory nie odnaleziono) prawdopodobnie odznaczałyby się obniżoną płodnością bądź sterylnością. U potencjalnych hybrydów w czasie mejozy tworzyłyby się złożone konfiguracje chromosomowe, przybierające kształt pierścienia lub łańcucha powodując nondysjunkcję, tj. zaburzoną segregację chromosomów (BRITTON-DAVIDIAN i współaut. 2000).

Heterozygotyczne osobniki posiadające jeden chromosom metacentryczny oraz odpowiadające jego ramionom dwa chromosomy akrocentryczne (Ryc. 2A), wykazują na ogół obniżoną płodność w porównaniu do osobników homozygotycznych. Przyczyną tej dysfunkcji jest nierównomierny rozdział chromosomów w mejozie i zamieranie nieprawidłowych (aneuploidalnych) gamet (Ryc. 2B). W wyniku tego dochodzi do zmniejszenia się całkowitej liczby komórek płciowych bądź podwyższenia śmiertelności wśród embrionów, które powstały z udziałem aneuploidalnych gamet. Wszystkie autosomalne monosomiki (brak jednego chromosomu w garniturze diploidalnym)



Ryc. 2. (A) Schemat powstawania heterozygot Robertsona u hybrydów myszy domowej w wyniku kojarzenia się osobników posiadających kariotyp akrocentryczny oraz zawierający metacentryki. (B) Schemat segregacji chromosomów do prawidłowych i nieprawidłowych gamet w mejozie II u hybrydów.

giną jeszcze przed implantacją, podczas gdy autosomalne trisomie (dodatkowy chromosom w garniturze diploidalnym) utrzymują się przy życiu nawet do czterech tygodni po urodzeniu (NACHMAN i SEARLE 1995). Natomiast nondysjunkcja u heterozygot, u których fuzje dotyczą chromosomu X, nie powoduje obniżenia żywotności potomstwa XO i XXY. Jednakże w takim przypadku obserwuje się różny poziom zaburzenia płodności. Stopień obniżenia płodności (zaburzenia gametogenezy) zależy w znacznej mierze od liczby fuzji Robertsona uczestniczących w mejozie.

Powyższe przykłady potwierdzają, iż przekształcenia wśród chromosomów mogą prawdopodobnie odgrywać istotną rolę w procesie specjacji, sprzyjając powstawaniu mechanizmów izolujących, ograniczających przepływ genów pomiędzy populacjami. Jednakże z drugiej strony dzikie myszy będące heterozygotami z 1–3 metacentrykami wykazują stosunkowo niską nondysjunkcję (poniżej 10% u samców). Tym samym poziom ich płodności jest zbliżony do osobników homozygotycznych o standardowym kariotypie. W związku z tym należy uznać, iż także inne mechanizmy mają znaczenie w procesie specjacji u myszy domowych.

#### IZOLACJA PREZYGOTYCZNA

Dotychczas istnieje niewiele doniesień na temat genetycznego podłoża izolacji prezygotycznej u myszy domowych, ponieważ większość badań koncentrowała się na zagadnieniu izolacji postzygotycznej. Istnieją przypuszczenia, że interakcja pomiędzy plemnikiem a komórką jajową może mieć istotne znaczenie ewolucyjne, jako jeden z mechanizmów izolacji prezygotycznej. Ścisłej rzecz ujmując czynnikiem determinującym może być niezgodność genetyczna pomiędzy białkami plemników i białkami otoczki komórek jajowych różnych podgatunków myszy. Nawet w przypadku prawidłowego przebiegu sper-

matogenezy, skutkiem owej niezgodności będzie brak zapłodnienia. SWANSON i VACQUIER (2002) przytaczają kilka przykładów działania selekcji w przypadku niezgodności białek związanych z rozrodem, co może sprzyjać dywergencji. Na przykład, w plemnikach myszy domowych opisano 2 loci odpowiedzialne za interakcje plemnika z komórką jajową: gen *TCIE1* (ang. T-complex-associated testes-expressed) oraz gen *Izumo* (JUNEJA i współaut. 1998, INOUE i współaut. 2005). Zatem, geny te mogą mieć udział w powstawaniu mechanizmów izolujących pomiędzy podgatunkami myszy domowej.

#### MECHANIZMY IZOLACJI POSTZYGOTYCZNEJ – PODSTAWY TEORETYCZNE

Badania nad genetycznym podłożem postzygotycznej izolacji rozrodczej opierają się w zasadzie na dwóch głównych teoretycznych modelach, regule Haldane'a oraz modelu Dobzhansky'ego-Mullera. W 1922 r. HALDANE sformułował twierdzenie powszechnie

akceptowane w biologii ewolucyjnej, znane po dzień dzisiejszy jako reguła Haldane'a. Zgodnie z tą regułą, hybrydy  $F_1$  reprezentujące płęć heterogametyczną (tzn. o chromosomach płci XY) wykazują niższe dostosowanie w porównaniu do homogametycznego

rodzeństwa (tzn. o chromosomach płci XX). Okazało się, że geny związane ze sterility lub/i niezdolnością do życia mieszańców są najczęściej umiejscowione na chromosomie X. Reguła ta dotyczy samców, w przypadku ssaków i muchówek oraz samic w przypadku ptaków i motyli. WU i współaut. (1996) oraz JOHNSON (2000) podają trzy różne hipotezy, wskazujące mechanizmy, które mogą w istotny sposób wpływać na obniżenie płodności u hybrydów płci heterogametycznej.

(1) Mechanizm zaburzenia równowagi X – autosomy (inaczej teoria dominacji) zaproponowany przez MULLERA (1940). Zakłada on, iż geny zlokalizowane na chromosomie X i geny znajdujące się na autosomach wykazują większą dysharmonię u płci heterogametycznej. Płeć homogametyczna posiada po jednym haploidalnym zestawie genów na autosomach i chromosomach X, odziedziczonym od każdego z rodziców, dlatego ekspresja tych genów powinna być bardziej zrównoważona niż u płci heterogametycznej. Natomiast płęć XY posiada geny związane z chromosomem X od jednego rodzica, a geny autosomalne od obu, dlatego może występować większa dysharmonia ich funkcji. Ponadto zgodnie z regułą Haldane'a, na chromosomie X zlokalizowane są geny odpowiedzialne za prawidłową produkcję męskich komórek płciowych. Zakłócone współdziałanie pomiędzy genami na chromosomie X i genami na autosomach może objawiać się zaburzeniami w gametogenezie, w ostateczności prowadząc do sterility. Teoria ta ma swoje genetyczne uzasadnienie w sytuacji, gdy obniżone dostosowanie warunkowane jest recesywnymi genami. Wszystkie geny na chromosomie X występujące u płci XY są w stanie hemizygotycznym, tj. w pojedynczej kopii, stąd ujawniają się fenotypowo u każdego z tych osobników. W znacznie korzystniejszym położeniu jest płęć XX, gdyż efekt „szkodliwego” recesywnego allelu w jednym chromosomie może zostać zamaskowany przez dominujący allel na drugim chromosomie X, w rezultacie dając prawidłowy fenotyp.

(2) Hipoteza szybkiej ewolucji genów sterility u hybrydowych samców. Ponieważ dobór płciowy działa znacznie intensywniej u samców, ich cechy związane z rozrodem ewoluują szybciej. Pomimo, iż hipoteza ta odnosi się głównie do badań nad *Drosophila*, prawdopodobnie jest także uzasadniona w przypadku myszy domowych. Problem pojawia się, gdy chcemy zestawić tę hipotezę z teorią dominacji. Jeżeli samce są płcią hetero-

gametyczną (ssaki, muchówki), ich znacznie szybsza ewolucja jest zgodna z teorią dominacji, natomiast, jeżeli samice posiadają chromosomy XY (ptaki, motyle), to szybsza ewolucja samców nie ma uzasadnienia w jej założeniach. Hipoteza szybkiej ewolucji genów sterility u hybrydowych samców ma raczej bytu przynajmniej w stosunku do gatunków z samcami XY. Może ona jedynie odnosić się do płodności płci heterogametycznej, ale nie do jej żywotności.

(3) Matczyno-zygotyczne oddziaływania. Niezgodność matczyno-zygotyczna mogłaby tłumaczyć odstępstwa od reguły Haldane'a odnoszące się do żywotności samców, gdy reprezentują one płęć homozygotyczną (ptaki, motyle). W tym ujęciu samice zawsze byłyby płcią faworyzowaną w heterogametycznych taksonach.

W pierwotnym brzmieniu reguła Haldane'a nie odnosiła się szczegółowo do aspektów z dziedziny genetyki, jednakże dała impuls do głębszego poznawania specjacji z wykorzystaniem narzędzi genetyki. Powyżej przedstawione hipotezy dotyczące tej reguły są dorobkiem późniejszych badań.

Z genetycznego punktu widzenia, proces specjacji po raz pierwszy został opisany przez DOBZHANSKY'EGO (1937) i MULLERA (1942). Model Dobzhansky'ego-Mullera wyjaśnia przyczyny postzygotycznej izolacji rozrodowej, które powodują różnicowanie się dwóch populacji. Przyjmuje zatem założenie, iż obecność przynajmniej dwóch pierwotnie zgodnych (komplementarnych) loci jest koniecznym warunkiem specjacji. Najprostszy schemat tego modelu zamyka się w stwierdzeniu, że ancestralna (pierwotna) populacja o genotypie *aabb* stanowi punkt wyjścia dla dwóch alternatywnych genotypów: *AAbb* i *aaBB*, które utrwały się w różnych (sub) populacjach i odznaczają się doskonałym dostosowaniem. Zakłada się, iż zmiany te pojawiły się w wyniku niezależnych mutacji, początkowo w jednym locus (allel *A*) jednej populacji oraz w innym locus (allel *B*) drugiej, a następnie utrwały się w populacjach potomnych. Jeżeli więc osobniki o genotypach *AAbb* i *aaBB* skojarzą się ze sobą, to w konsekwencji u hybrydów wystąpi niezgodność między pierwotnie komplementarnymi genami. Ta niezgodność może spowodować obniżenie płodności hybrydów (aż do sterility) lub ich żywotności (aż do letalności).

W modelu Dobzhansky'ego-Mullera izolacja rozrodowa ewoluuje niezależnie od selekcji skierowanej przeciwko niedostosowanym

(ang. maladaptive) genotypom *AaBb* (HAYASHI i KAWATA 2002). Jednak w rozszerzonej wersji tego modelu zakłada się, że więcej niż dwa „niezgodne” geny mogą się kumulować w populacjach, a specjacja zachodzi na skutek epistatycznych interakcji, czyli współdziałania między allelami różnych loci. Należy podkreślić, że większość hipotez w odniesieniu do tego modelu opracowano na bazie

badania prowadzonych przede wszystkim na muszkach owocowych *Drosophila melanogaster* (m.in. COYNE i ORR 1989, 1997, 1998; WU i DAVIS 1993; TRUE i współaut. 1996; WU i HOLLOCHER 1998; HOWARD i współaut. 2002; PRESGRAVES 2003). Sprawdzenie go w badaniach nad myszami domowymi mogłoby dać odpowiedź na pytanie, czy model ten ma zastosowanie w przypadku zwierząt wyższych.

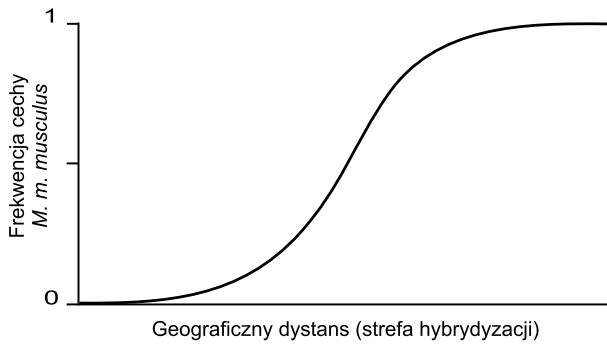
#### MARKERY DNA – SKUTECZNE NARZĘDZIA DO BADAŃ STERYLNOŚCI HYBRYDÓW

W ostatnim dziesięcioleciu wzrosło na nowo zainteresowanie genetycznym podłożem izolacji postzygotycznej (np. COYNE i ORR 1998, TURELLI i współaut. 2001, WU 2001, SAETRE i współaut. 2003, BRITTON-DAVIDIAN i współaut. 2005). Jednakże zainteresowanie to zostało skierowane przede wszystkim na poznanie tego mechanizmu u muszki owocowej *D. melanogaster* (m.in. WU i HOLLOCHER 1998, TAO i współaut. 2003) oraz u słoneczników z rodzaju *Helianthus* (RIESEBERG 2001). Dysponując bardzo dogodnym obiektem badań, jakim jest mysz domowa, można podejmować próby analizowania genetycznego podłoża izolacji postzygotycznej u ssaków. Badania takie mogą dostarczyć cennych danych o mechanizmach specjacji oraz pozwolić na zweryfikowanie niektórych hipotez odnoszących się głównie do muszek owocowych.

W przypadku takich badań, istotne znaczenie może mieć występowanie naturalnej strefy wtórnego kontaktu i hybrydyzacji pomiędzy dwoma podgatunkami myszy domowych *M. m. musculus* i *M. m. domesticus*. Teoretycznie stwarza ona możliwość jednoczesnej analizy cech genetycznych, morfologicznych, fizjologicznych i behawioralnych, jak i ich potencjalnych korelacji w warunkach naturalnych. Jednakże bezpośrednie badanie „genów specjacji” w strefie wtórnego kontaktu jest zadaniem praktycznie niewykonalnym. W związku z tym stosuje się szereg dostępnych genetycznych narzędzi badawczych, mianowicie molekularnych markerów, szeroko stosowanych w badaniach nad sterility hybrydowych samców. W tym celu niezbędna jest znajomość molekularnych markerów, właściwych dla rozpatrywanych podgatunków z jednoczesną wiedzą na temat ich lokalizacji w genomie. Ponadto należy brać pod uwagę wpływ czynników, które w istotny sposób mogą maskować efekty selek-

cji, takich jak dryf genetyczny czy nielosowość próby.

Przepty markerów DNA (genów) pomiędzy kontaktującymi się populacjami analizowany jest zwykle w odniesieniu do frekwencji wariantów (allelów) w próbach pozyskanych w transekcie przechodzącym w poprzek strefy hybrydyzacji. Wyniki analizy częstości cech, przedstawione graficznie przyjmują postać klinów (linii o sigmoidalnym kształcie). Każdy pojedynczy klin frekwencji obrazuje losy danego markera, począwszy od jednej rodzicielskiej populacji aż do drugiej. W przypadku myszy domowych kliny frekwencji obserwuje się na transektach pomiędzy populacjami podgatunków *M. m. musculus* a *M. m. domesticus*, w strefie ich wtórnego kontaktu (Ryc. 3). Z przebiegu klinów można wnioskować o sile selekcji skierowanej przeciwko hybrydom. Jeżeli badany marker o określonym wariantcie (allelu) utrwalonym np. u podgatunku *M. m. domesticus* poddany jest działaniu słabej selekcji, to stwierdza się występowanie łagodnego klina w strefie hybrydyzacji z *M. m. musculus*. W przypadku działania silnej selekcji, przebieg klinów jest „stromy”. Liczne dane eksperymentalne wskazują, iż w strefie hybrydyzacji tych dwóch podgatunków występują najczęściej strome kliny. Najprościej rzecz ujmując, zależność pomiędzy kształtem klinów a siłą procesu specjacji jest następująca: im silniejszy dobór przeciw mieszańcom tym węższa strefa hybrydyzacji i bardziej strome kliny. Jeżeli strefa mieszańcowa jest stabilna to może ona działać jako bariera oddzielająca podgatunki myszy. Jeżeli zaś badany marker związany jest z konkretnym locus, to na jego podstawie można sądzić o selekcji w stosunku do konkretnego genu. W związku z tym, porównując kształty klinów różnych cech możemy wskazać obszar w genomie, który jest poddany



Ryc. 3. Stylizowany klin frekwencji przykładowej cechy utrwalonej u jednego podgatunku myszy domowej w strefie hybrydyzacji *M. m. musculus* i *M. m. domesticus*.

Podobne wzorce uzyskano np. w badaniach przepływu genów (z użyciem markerów związanych z chromosomem X oraz mitochondrialnym DNA) w „czesko-bawarskiej” strefie hybrydyzacji (patrz BOŽÍKOVA i współaut. 2005).

silnej selekcji i tym samym ma potencjalnie większy wpływ na proces specjacji.

Badania nad mechanizmami izolującymi można wykonać w warunkach naturalnych, jednak wymaga to ogromnego nakładu pracy. Z uwagi na wysoki polimorfizm mikrosatelitarnych markerów w dzikich populacjach, mapowanie genów u myszy pochodzących bezpośrednio ze strefy hybrydyzacji byłoby bardzo trudnym zadaniem. Wystarczy wspomnieć, iż w jednej populacji myszy może występować do 18 alleli w jednym locus (Vyskočilová i Piálek, dane niepublikowane). Można zatem przypuszczać, że mikrosatelitarne markery, przydatne w mapowaniu genów powiązanych z obniżeniem płodności (sterylności) hybrydów, także odznaczają się wysoką zmiennością. W tej sytuacji prostszym rozwiązaniem jest przeprowadzenie odpowiednich krzyżówek hodowlanych pomiędzy osobnikami z dzikich populacji i myszami linii inbredowych. W osobnych liniach wyprowadzonych od dzikich osobników używa się w celu wyselekcjonowania określonej cechy fenotypowej związanej np. ze sterylnością samców, nie ograniczając przy tym istotnie zmienności innych cech. Analiza markerów w połączeniu z cechami fenotypowymi u myszy z krzyżówek wstecznych pomiędzy osobnikami dzikimi i linii testowych pozwala na wnioskowanie o procesach w naturalnych populacjach.

W większości badań nad sterylnością hybrydów myszy domowych wykorzystuje się markery zlokalizowane na chromosomach

płci oraz autosomie 17. Biorąc pod uwagę regułę Haldane’a, wybór chromosomów płci, zwłaszcza chromosomu X do tego typu analiz, jest w pełni uzasadniony. U różnych gatunków zwierząt potwierdzono, że na chromosomie X występuje więcej loci przyczyniających się do izolacji rozrodczej, niż na pojedynczych autosomach (COYNE i ORR 1989, TAO i współaut. 2003). U myszy domowych wykazano, iż geny warunkujące sterylnosc (wyrażającą się deformacją i zredukowaną liczbą plemników oraz niższą masą jąder) zlokalizowane są również na chromosomie X (ELLIOTT i współaut. 2001, OKA i współaut. 2004, STORCHOVÁ i współaut. 2004). Strome kliny w strefie hybrydyzacji, zarówno w odniesieniu do markerów chromosomu X, jak i Y, potwierdzają istnienie silnej selekcji skierowanej przeciw genom występującym właśnie na tych chromosomach (TUCKER i współaut. 1992, DOD i współaut. 1993, PAYSEUR i współaut. 2004, PAYSEUR i NACHMAN 2005).

Chromosom 17 jest również zaangażowany w ujawnianie się mechanizmów izolujących pomiędzy podgatunkami *M. m. musculus* a *M. m. domesticus*, związanych ze sterylnością hybrydów (FOREJT i IVÁNYI 1975, VYSKOČILOVÁ i współaut. 2005). Następstwem skojarzenia laboratoryjnej linii C57BL/10 (otrzymanej z *M. m. domesticus*) z dzikimi osobnikami *M. m. musculus* jest sterylnosc hybrydowych samców  $F_1$  oraz brak obniżenia płodności samic  $F_1$ . Wydaje się być to zgodne z założeniami reguły Haldane’a. Sterylnosc samców objawia się całkowitym zahamowaniem procesu spermatogenezy, niższą masą jąder oraz nieobecnością plemników, mimo prawidłowego poziomu testosteronu we krwi. Natomiast inna inbredowa linia (oznaczana symbolem C3H/Di) po skrzyżowaniu z osobnikami dzikich populacji *M. m. musculus* produkuje tylko płodne potomstwo. Udało się potwierdzić związek fenotypowych różnic pomiędzy liniami C57BL/10 i C3H/Di z genem zlokalizowanym na chromosomie 17, zwanym genem sterylności hybrydów  $F_1$  – *Hst1*. Przyjęto więc następujący sposób oznaczania stwierdzonych alleli: w przypadku linii C57BL/10 – allel *Hst1<sup>s</sup>* (ujawniający się sterylnym fenotypem), a w przypadku linii C3H/Di – allel *Hst1<sup>f</sup>* (płodny fenotyp). U dzikich osobników *M. m. musculus* gen *Hst1<sup>w</sup>* na autosomie 17 posiada dwa allele *Hst1<sup>ws</sup>* oraz *Hst1<sup>wf</sup>*. Gen ten jest polimorficzny u dzikich myszy i należy do tej samej grupy sprzężeń co powyżej wspomniany gen *Hst1*, ale nie

ma dowodów na to, że zajmują one to samo locus. Tylko kombinacja alleli *Hst1<sup>s</sup>/Hst<sup>us</sup>* odpowiada za sterility, a wszystkie pozostałe

układy homozygotyczne i heterozygotyczne są związane z płodnymi fenotypami.

#### PODSUMOWANIE

Mimo wczesnego zainteresowania zagadnieniem specjacji (począwszy od Karola Darwina), bogaty już zasób wiedzy teoretycznej oraz szeroki wybór molekularnych „narzędzi” genetycznych, nie pozwoliły jeszcze satysfakcjonująco wyjaśnić genetycznego podłoża tego procesu u myszy domowych. Dopiero stosunkowo niedawno zaczęto badać to zagadnienie w szerszym zakresie, podejmując próby korelowania danych molekularnych z danymi fenotypowymi u osobników pochodzących z dzikich populacji i kojarzeń eksperymentalnych. Większość dotychczas uzyskanych danych pochodzi z krzyżówek pomiędzy liniami laboratoryjnymi otrzymanymi przy użyciu osobników *M. m. domesticus* (WADE i współaut. 2002) oraz *M. spretus* (FOREJT 1996, PILDER 1997) lub *M. molossinus* (OKA i współaut. 2004), które rzadko hybrydują w warunkach naturalnych (ORTH i współaut. 2002). Tymczasem zainteresowanie *M. m. domesticus* i *M. m. musculus*, podgatunkami, które swobodnie krzyżują się w naturze, nastąpiło stosunkowo niedawno (STORCHOVÁ i współaut. 2004, BRITTON-DAVIDIAN i współaut. 2005, VYSKOČILOVÁ i współaut. 2005).

Chociaż istnieje niezbyt rozległa wiedza na temat izolacji postzygotycznej, to udało się ustalić, iż geny ją warunkujące są typowymi genami funkcjonalnymi w genomie. Prawdopodobnie w wyniku epistatycznych interakcji, w które wchodzi te geny, pojawia się izolacja rozrodcza. Z dotychczasowych badań również może wynikać, że geny te ewoluują bardzo szybko i są pod silną presją selekcyjną.

Nadal jednak bez odpowiedzi pozostaje wiele pytań, np.: (1) Jak wiele genów uczestniczy w epistatycznych interakcjach? (2) Jak geny te ewoluują oraz czy ewoluują losowo w dowolnych miejscach genomu, czy może tworzą grupy w określonych miejscach? (3) Jaka jest zależność pomiędzy czasem dywergencji a liczbą niekompatybilnych genów? (4) Czy hipotezy odnoszące się do badań nad *Drosophila* można również zastosować do innych taksonów? Chęć znalezienia odpowiedzi na takie pytania powoduje, że myszy domowe nadal pozostają wyjątkowo atrakcyjnym obiektem badań w biologii ewolucyjnej.

#### SPECIATION IN THE HOUSE MOUSE, *MUS MUSCULUS* – MECHANISMS OF ISOLATION

##### Summary

Speciation, the formation of species, is a central problem in evolutionary biology. The genetic basis and evolution of reproductive isolation between taxa is a key for understanding speciation. The house mouse *Mus musculus* is an excellent model for the study of reproductive isolation. Two subspecies, *M. m. musculus* and *M. m. domesticus* that diverged from each other approximately between 1,000,000-350,000 years ago, form a narrow hybrid zone that extends across Europe. The standard chromosome complement of this species consists of 40 acrocentric chromosomes. However, in *M. m. domesticus* there are many local karyotypic races that are characterised by different sets of acrocentrics and meta-

centrics. Accumulation of chromosomal rearrangements may lead to reproductive isolation between populations. The first theoretical model of this process was postulated by Dobzhansky (1937) and Muller (1942). They expressed the idea that speciation is a by-product of independent divergence between populations. The hybrid zone between sister mouse taxa can be used to identify genomic regions underlying reproductive isolation. Variation in the degree of gene flow across the hybrid zone is measured using molecular markers. Thus, mice offer a unique opportunity to study relationships between genotype and phenotype.

#### LITERATURA

- BOURSOT P., AUFRAY J. C., BRITTON-DAVIDIAN J., BONHOMME F., 1993. *The evolution of house mice*. Ann. Rev. Ecol. Syst. 24, 119-152.
- BOŽÍKOVÁ E., MUNCLINGER P., TEETER K., TUCKER P., MACHOLÁN M., PIÁLEK J., 2005. *Mitochondrial DNA in the hybrid zone between Mus musculus musculus and Mus musculus domesticus: a comparison of two transects*. Biol. J. Linn. Soc. 84, 363-378.
- BRITTON-DAVIDIAN J., CATALAN J., RAMALHINHO M. G., GANEM G., AUFRAY J. C., CAPELA R., BISCOITO M., SEARLE J. B., DA LUZ MATHIAS M., 2000. *Rapid*



- chromosomal evolution in island mice.* Nature 403, 158.
- COYNE J. A., ORR H. A., 1989. *Patterns of speciation in Drosophila.* Evolution 43, 362-381.
- COYNE J. A., ORR H. A., 1997. *"Patterns of speciation in Drosophila" revisited.* Evolution 51, 295-303.
- COYNE J. A., ORR H. A., 1998. *The evolutionary genetics of speciation.* Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 353, 287-305.
- DIETRICH W. F., MILLER J., STEEN R., MERCHANT M. A., DAMRON-BOLES D., HUSAIN Z., DREDGE R., DALY M. J., INGALLS K. A., O'CONNOR T. J., EVANS C. A., DEANGELIS M. M., LEVINSON D. M., KRUGLYAK L., GOODMAN N., COPELAND N. G., JENKINS N. A., HAWKINS T. L., STEIN L., PAGE D. C., LANDER E. S., 1996. *A comprehensive genetic map of the mouse genome.* Nature 380, 149-152.
- DOBZHANSKY T., 1937. *Genetics and the Origin of Species.* Columbia University Press, New York.
- DOD B., JERMIIN L. S., BOURSOT P., CHAPMAN V. H., NIELSEN J. T., BONHOMME F., 1993. *Counterselection on sex chromosomes in the Mus musculus European hybrid zone.* J. Evol. Biol. 6, 529-546.
- ELLIOTT R. W., MILLER D. R., PEARSALL R. S., HOHMAN C., ZHANG Y. K., POSLINSKI D., TABACZYNSKI D. A., CHAPMAN V. M., 2001. *Genetic analysis of testis weight and fertility in an interspecies hybrid congenic strain for chromosome X.* Mamm. Genome 12, 45-51.
- FOREJT J., 1996. *Hybrid sterility in the mouse.* Trends in Genetics 12, 412-417.
- FOREJT J., IVÁNYI P., 1975. *Genetic studies on male sterility of hybrids between laboratory and wild mice (Mus musculus L.).* Genet. Res. 24, 189-206.
- GROPP A., TETTENBORN U., VON LEHMANN E., 1969. *Chromosomenuntersuchungen bei der Tabakmaus (M. poschiavinus) und bei den Hybriden mit der Laboratoriumsmaus.* Experientia 25, 875-876.
- HALDANE J. B. S., 1922. *Sex-ratio and unisexual sterility in hybrid animals.* J. Genetics 12, 101-109.
- HAYASHI T. I., KAWATA M., 2002. *How genes causing unfit hybrids evolve within populations: a review of models of postzygotic isolation.* Popul. Ecol. 44, 157-163.
- HOWARD D. J., MARSHALL J. L., HAMPTON D. D., BRITCH S. C., DRANEY M. L., CHU J., CANTRELL R. G., 2002. *The genetics of reproductive isolation: A retrospective and prospective look with comments on ground crickets.* Am. Nat. 159 (Suppl.), S8-S21.
- INOUE N., IKAWA M., ISOTANI A., OKABE M., 2005. *The immunoglobulin superfamily protein Izumo is required for sperm to fuse with eggs.* Nature 434, 234-238.
- JOHNSON N. A., 2000. *Speciation: Dobzhansky-Muller incompatibilities, dominance and gene interactions.* TREE 15, 480-482.
- JUNEJA R., AGULNIK S. I., SILVER L. M., 1998. *Sequence divergence within the sperm-specific polypeptide TCIE1 is correlated with species-specific differences in sperm binding to zona-intact eggs.* J. Andrology 19, 183-188.
- MACHOLÁN M., KRYŠTUFEK B., VOHRALÍK V., 2003. *The location of the Mus musculus/M. domesticus hybrid zone in the Balkans: Clues from morphology.* Acta Theriol. 48, 177-188.
- MALLET J., 2005. *Hybridization as an invasion of the genome.* TREE 20, 229-237.
- MOUSE GENOME SEQUENCING CONSORTIUM, 2002. *Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome.* Nature 420, 520-562.
- MULLER H. J., 1940. *Bearing of the "Drosophila" work on systematics.* [W:] *The new systematics.* HUXLEY J. (red.). Oxford University Press, London, 185-268.
- MULLER H. J., 1942. *Isolating mechanisms, evolution and temperature.* Biol. Symp. 6, 71-125.
- MUSSER G. G., CARLETON M. D., 2005. *Superfamily Muroidea.* [W:] *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference.* Wydanie 3. WILSON D. E., REEDER D. A. (red.). The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 894-1531.
- NACHMAN M. W., SEARLE J. B., 1995. *Why is the house mouse karyotype so variable?* TREE 10, 397-402.
- OKA A., MITA A., SAKURAI-YAMATANI N., YAMAMOTO H., TAKAGI N., TAKANO-SHIMIZU T., TOSHIMORI K., MORIWAKI K., SHIROISHI T., 2004. *Hybrid breakdown caused by substitution of the X chromosome between two mouse subspecies.* Genetics 166, 913-924.
- ORTH A., BELKHIR K., BRITTON-DAVIDIAN J., BOURSOT P., BENAZZOU T., BONHOMME F., 2002. *Natural hybridisation between two sympatric species of mice Mus musculus domesticus L. and Mus spretus Lataste.* C. R. Biologies 325, 89-97.
- PAYSEUR B. A., NACHMAN M. W., 2005. *The genomics of speciation: investigating the molecular correlates of X chromosome introgression across the hybrid zone between Mus domesticus and Mus musculus.* Biol. J. Linn. Soc. 84, 523-534.
- PAYSEUR B. A., KRENZ J. G., NACHMAN M. W., 2004. *Differential patterns of introgression across the X chromosome in a hybrid zone between two species of house mice.* Evolution 58, 2064-2078.
- PIÁLEK J., HAUFFE H. C., RODRIGUEZ-CLARK K. M., SEARLE J. B., 2001. *Radiation and speciation in house mice from the Alps: the role of chromosomes.* Mol. Ecol. 10, 613-625.
- PIÁLEK J., HAUFFE H. C., SEARLE J. B., 2005. *Chromosomal variation in the house mouse.* Biol. J. Linn. Soc. 84, 535-563.
- PILDER S. H., 1997. *Identification and linkage mapping of Hst7, a new M. spretus/M. m. domesticus chromosome 17 hybrid sterility locus.* Mamm. Genome 8, 290-291.
- PLETCHER M. T., MCCLURG P., BATALOV S., SU A. I., BARNES S. W., LAGLER E., KORSTANJE R., WANG X., NUSSKERN D., BOGUE M. A., MURAL R. J., PAIGEN B., WILTSHIRE T., 2004. *Use of a dense single nucleotide polymorphism map for in silico mapping in the mouse.* PLoS Biology 2, 2159-2169.
- PRESGRAVES D. C., 2003. *A fine-scale genetic analysis of hybrid incompatibilities in Drosophila.* Genetics 163, 955-972.
- RIESEBERG L.H., 2001. *Chromosomal rearrangements and speciation.* TREE 16, 351-358.
- SAGE R. D., ATCHLEY W. R., CAPANNA E., 1993. *House mice as models in systematic biology.* Syst. Biol. 42, 523-561.
- SAETRE G. P., BORGE T., LINDROOS K., HAAVIE J., SHELDON B. C., PRIMMER C., SYVANEN A. C., 2003. *Sex chromosome evolution and speciation in Ficedula flycatchers.* Proc. R. Soc. London B 270, 53-59.
- SEARLE J. B., 1998. *Speciation, Chromosomes, and Genomes.* Genome Research 8, 1-3.
- SEARLE J. B., WÓJCIK J. M., 1998. *Chromosomal evolution: the case of Sorex araneus.* [W:] *Evolution of Shrews.* WÓJCIK J. M., WOLSAN M. (red.). Mammal Research Institute, Białowieża, 219-268.
- SHE J., BONHOMME F., BOURSOT P., THALER L., CATZEFELIS F., 1990. *Molecular phylogenies in the genus Mus: Comparative analysis of electrophoretic, scnDNA hybridization, and mtDNA RFLP data.* Biol. J. Linn. Soc. Lond. 41, 83-103.
- SILVER L. M., 1995. *Mouse Genetics. Concepts and Applications.* Oxford University Press, New York.
- STORCHOVÁ R., GREGOROVÁ S., BUCKIOVÁ D., KYSELOVÁ V., DIVINA P., FOREJT J., 2004. *Genetic analysis*

- of *X-linked hybrid sterility in the house mouse*. *Mamm. Genome* 15, 515-524.
- SWANSON W. J., VACQUIER V. D., 2002. *Reproductive protein evolution*. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 33, 161-179.
- TAO Y., CHEN S., HARTL D. L., LAURIE C. C., 2003. *Genetic dissection of hybrid incompatibilities between *Drosophila simulans* and *D. mauritiana*. I. Differential accumulation of hybrid male sterility effects on the X and autosomes*. *Genetics* 164, 1383-1397.
- TRUE J. R., WEIR B. S., LAURIE C. C., 1996. *A genome-wide survey of hybrid incompatibility factors by the introgression of marked segments of *Drosophila mauritiana* chromosomes into *Drosophila simulans**. *Genetics* 142, 819-837.
- TUCKER P. K., SAGE R. D., WARNER J., WILSON A. C., EICHER E. M., 1992. *Abrupt cline for sex chromosomes in a hybrid zone between two species of mice*. *Evolution* 46, 1146-1163.
- TURELLI M., BARTON N. H., COYNE J. A., 2001. *Theory and speciation*. *TREE* 16, 330-342.
- VYSKOČILOVÁ M., TRACHTULEC Z., FOREJT J., PIÁLEK J., 2005. *Does geography matter in the hybrid sterility in house mice?* *Biol. J. Linn. Soc.* 84, 663-674.
- WADE C. M., KULBOKAS E. J., KIRBY A. W., ZODY M. C., MULLIKIN J. C., LANDER E. S., LINDBLAD-TOH K., DALY M. J., 2002. *The mosaic structure of variation in the laboratory mouse genome*. *Nature* 420, 574-578.
- Wójcik A. M., 1982. *Problemy systematyki myszy domowej*. *Przeł. Zool.* 26, 459-464.
- WU C.-I., 2001. *The genic view of the process of speciation*. *J. Evol. Biol.* 14, 851-865.
- WU C.-I., DAVIS A. W., 1993. *Evolution of postmating reproductive isolation: the composite nature of Haldane's rule and its genetic bases*. *Am. Nat.* 142, 187-212.
- WU C.-I., HOLLOCHER H., 1998. *Subtle is nature. The genetics of species differentiation and speciation*. [W:] *Endless Forms. Species and speciation*. HOWARD D. J., BERLOCHER S. H. (red.). Oxford University Press, Oxford, 339-351.
- WU C.-I., JOHNSON N. A., PALOPOLI M. F., 1996. *Haldane's rule and its legacy: why are there so many sterile males?* *TREE* 11, 281-284.
- ZIMA J., GAICHENKO V. A., MACHOLÁN M., RADJABLI S. I., SABLINA O. V., WÓJCIK J. M., 1990. *Are Robertsonian variations a frequent phenomenon in mouse populations in Eurasia?* *Biol. J. Linn. Soc. Lond.* 41, 229-233.