

СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ ХРОМОСОМ

УДК 599. 323. 4

АЗИЗОВ И.В.¹, КУЛИЕВ Г.Н.², МАМЕДРЗАЕВА Э.Т.², ШАМИЛОВ Э.Н.³,
АБДУЛЛАЕВ А.С.³, ШАМИЛЛИ В.Э.³, КУЛИЕВ А.Г.³

¹ Институт Ботаники НАН Азербайджана,

Азербайджан, AZ1073, г. Баку, Бадамдарское шоссе, 40, e-mail: ibrahim.azizov47@gmail.com

² Институт Зоологии НАН Азербайджана,

Азербайджан, AZ1073, г. Баку, ул. А. Аббасов, переул. 1128, пр. 50, e-mail: qiyaq@mail.ru

³ Институт Радиационных Проблем НАН Азербайджана,

Азербайджан, AZ114, г. Баку, ул. Б. Вагабзаде, 9, e-mail: elshanshamil@gmail.com

КАРИОТИПЫ *MICROTUS OBSCURUS* НА ТЕРРИТОРИИ АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

Серые полевки в роде *Microtus* представлены многочисленными видами и являются одной из наиболее интересных групп для изучения кариологии. В этой группе с помощью комплексных методов, в том числе кариологических, обнаружены несколько криптических видов [1, 2]. Таксономия некоторых видов определена только путем кариологических данных. Определены также некоторые кариоморфы в обыкновенных полевок, отличающиеся между собой числом хромосомных плеч [3, 4]. Обнаружена гибридная зона между двумя 46-хромосомными формами *Microtus arvalis*. Последние годы активно ведутся исследования кариологии *M. arvalis* Поволжья М.И. Баскевичем и сотрудниками [5-8].

Целью нашей работы являлось изучение кариотипов *M. obscurus* на территории Азербайджана.

Материалы и методы

Материал обыкновенной полевки собран в восьми различных местах территории Азербайджана. Исследованиями охвачены изолированные друг от друга территории Большого и Малого Кавказа, Нахичеванской Республики и Ленкоранской природной области. Всего изучено 103 экземпляра.

Для выполнения работы использованы методы Форда и Хамертона [9]. Окрашивание полученных метафазных пластинок проводили методом дифференциального окрашивания, предложенным С.И. Раджабли и Е.П. Крюковой [10]. Окраска на гетерохроматин получена по методу Самнера [11]. AgNOR (ядрышкообразующие регионы (ЯОР)) получены по методу Howell W.M., Black D.A. [12].

Результаты и обсуждение

Кариотип обыкновенной полевки из Кедабекского района (Малый Кавказ). Диплоидное число хромосом равно 46. Аутосомы этого вида по величине можно распределить на две группы: в первую входят 4 пары крупных мета- и субметацентриков и одна пара крупных субтелоцентриков; во вторую – 7 пар мелких мета- и субметацентрических и 10 пар мелких акроцентрических хромосом. X-хромосома является средним метацентриком, Y-хромосома – одним из мелких акроцентриков. На некоторых препаратах на слабоспирализованных метафазных пластинках выявлена мелкая субтелоцентрическая хромосома, которая при сильной спирализации обнаруживается как акроцентрик. На этих пластинках увеличиваются основные числа хромосомных плеч [13].

Дифференциальная окраска показала, что особи из Кедабекской популяции обыкновенных полевок имеют 11-12 пар хромосом с центромерными блоками структурного гетерохроматина (в 5–6 мелких парах метацентрических и 6 парах акроцентрических хромосом). Ядрышкообразующие районы располагаются в 4 парах: в 2 крупных метацентриках и 2 средних акроцентриках. В крупных пар, включая X-хромосомы, не выявляются C-окрашенные блоки.

Особи из Пиркулинкой популяции (Большой Кавказ) имели центромерные блоки гетерохроматина в 6 парах мелких метацентриков и в 5 парах акроцентриков. Y-хромосома в обеих популяциях имела акроцентрическую форму и интенсивно окрашивалась на гетерохроматин. У крупных

пар, включая X-хромосомы, С-окрашенные блоки не выявлены. У-хромосома является одним из мелких акроцентриков в особей как Кедабекской, так и Пиркулинский популяций. ЯОР в особей Пиркулинский популяции располагаются только в 2 средних акроцентриках; в крупных парах они не обнаружены.

Структурный гетерохроматин в обыкновенных полевках из Чайкендской популяции выявлен в 5 метацентрических и 7 акроцентрических хромосомах. У-хромосома, представленная мелким метацентриком, полностью гетерохроматизирована. У крупных пар, включая X-хромосомы, не выявляются С-окрашенные блоки.

Структурный гетерохроматин у обыкновенных полевков Ленкоранской природной области обнаружен четко в 9-ти и нечетко – в двух парах мелких хромосом. Кариотип обыкновенный полевки из Нахичеванской Республики совпадает по кариотипу этого же вида из Кедабекской популяции.

У обыкновенной полевки при тотальном окрашивании отмечен как внутривидовой полиморфизм, так и межвидовые различия, а также по гетерохроматину и ЯОР. У некоторых особей Кедабекской популяции наблюдается полиморфизм 5-й пары хромосом: одна хромосома акроцентрическая, другая – метацентрическая. Следует отметить, что у большинства полевков эти пары метацентрические. G-окраска хромосом показала, что эта мутация является следствием достаточно редкой у млекопитающих перичентрической инверсии. Размеры 5-й пары хромосом неодинаковы. Размер акроцентрической хромосомы превосходит размер субтелоцентрической. Применение С-метода окраски хромосом показало, что у акроцентрика имеется крупный гетерохроматиновый блок, тогда как у субтелоцентрика он не обнаружен. Увеличение размеров акроцентрика, по видимому, связано с дополнительным гетерохроматиновым материалом.

Хромосомный полиморфизм, связанный с перичентрической инверсией гомологов 5-й пары крупных аутосом, описан также в работах [2, 10]. В результате G-окраски также подтверждено, что акроцентрической хромосома становится в результате перичентрической инверсии. Для инвертированной хромосомы характерно появление крупного блока С-гетерохроматина, охватывающего практически весь район инверсии [2]. Необходимо отметить, что в мутантном кариотипе в

У-хромосоме не обнаружен гетерохроматиновый блок, тогда как в особей нормального кариотипа она является гетерохроматиновой. Возможно, увеличение гетерохроматина в мутантном акроцентрике связано с гетерохроматином У-хромосомы.

Гетероморфность пятой пары хромосом была отмечена в 1978–1983 годах у 5 особей Кедабекской популяции из 103 исследованных (4,87 %). Однако, в различных исследованных за последние годы популяциях обыкновенной полевки, в том числе и из Кедабекской популяции, гетероморфность пятой пары хромосом не отмечалась. Вероятнее всего, возникшая новая мутация не закрепилась в популяции. Последние исследования показали, что в этих местностях радиоактивное излучение превышает нормы, и имеет локальный характер. В связи с этим, кариологические исследования грызунов, в том числе обыкновенных полевков, в этих местностях продолжаются.

М.И. Баскевич и др. [8] на территории Нижегородья провели хромосомный анализ собранного в 2013 году материала и среди 12-ти кариотипированных экземпляров *Microtus arvalis obscures* выявили лишь одну особь, гетерозиготную по 5-ой паре хромосомной мутации. По мнению авторов, возможными причинами наблюдаемого явления можно рассматривать отдаленные последствия химического и радиационного загрязнения, эффект краевого положения популяции и ее формирование в историческом контексте из общего для Приволжской возвышенности рефугиума. Мы полностью согласны с мнением М.И. Баскевич и др., 2014 [8] и предполагаем, что в кариотипе *M. obscurus* среди хромосомный пар самыми неустойчивый к загрязнению и радиации являются крупные субтелоцентрические пары. Возможно, этих животных можно считать индикаторами загрязнения местности в горных районах, учитывая то, что этот вид в Азербайджане распространен предпочтительно в горных территориях.

Как отмечалось выше, в кариотипе особей Кедабекской популяции обыкновенных полевков, центромерная часть 11–12-ти пар хромосом (5–6 пар метацентрические и 6 пар акроцентрические) обладает гетерохроматиновым блоком. ЯОР находятся в четырех парах хромосом (2 пары – крупные метацентрические, и 2 пары – акроцентрические, среднего размера). В кариотипе особей Пиркулинской популяции центромерные гетерохроматиновые блоки отмечены в 11-ти парах хромосом (6 пар –

метацентрические, и 5 пар – акроцентрические). ЯОР обнаруживаются только в двух парах акроцентрических хромосом среднего размера. Y-хромосома у обеих популяций имеет акроцентрическую форму и интенсивно окрашивается.

Проведено 4 вариантов скрещиваний обыкновенных полевков: 1. Кедабек ♀ x Пиркули ♂; 2. Пиркули ♀ x Кедабек ♂; 3. Кедабек ♀ x Кедабек ♂; 4. Пиркули ♀ x Пиркули ♂.

В вариантах скрещиваний полевков с различных географически изолированных популяций Малого и Большого Кавказа число особей в выводках оказалось крайне низким и составило 2,1–2,5. При этом отмечено уменьшение интенсивности размножения (на 25 и 33 %). Смертность среди рожденных полевков была высокой, в среднем 65 %. Большая часть полевков доживала только до 10–15 дневного срока. Особи поколения F₁ популяций Пиркули x Кедабек оказались стерильными.

В кариотипе гибридных особей гетерохроматин был обнаружен в 12 парах хромосом (рис. 1). В одной из акроцентрических пар среднего размера, гетероморфизм, связанный с гетерохроматином, встречается только у одного гомолога. Акроцентрическая Y-хромосома полностью гетерохроматинизирована. ЯОР отмечены в 4-х парах хромосом: в двух парах крупных хромосом, у одного из гомологов, и в двух акроцентрических парах хромосом среднего размера (рис. 2).

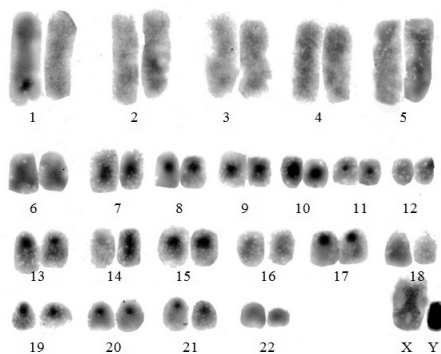


Рис. 1. Структурный гетерохроматин в гибридного самца *M. obscurus* (Пиркули ♀ x Кедабек ♂)

Список литературы

1. Орлов В.Н., Булатова Н.Ш. Сравнительная цитогенетика и кариосистематика млекопитающих. – М.: Наука, 1983. – 405 с.
2. Мейер М.Н., Голинищев, Ф.Н., Раджабли С.И., Саблина О.Л. Серые полевки Фауны России и сопредельных территорий. – С-Пб, 1996. – 320 с.

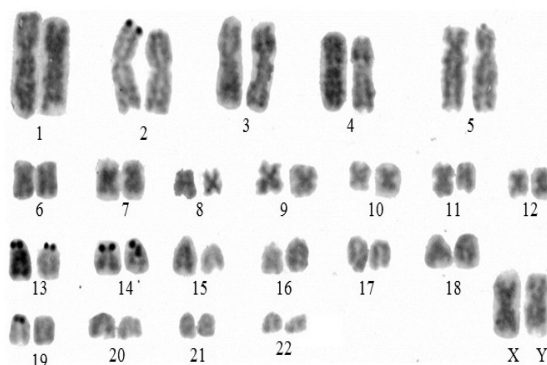


Рис. 2. ЯОР у гибрида самки *M. arvalis* (Пиркули ♀ x Кедабек ♂)

Кроме того, хорошо окрашенные ЯОР заметны у одного гомолога среди мелких акроцентрических аутосом. В мейозе F₁ гибридных самцов не обнаружено нарушений в конъюгации хромосом на стадиях диакинез–метафаза–I и метафаза–II. Число сперматозоидов и устойчивость мейотической конфигурации показывают, что гибридные самцы должны быть фертильными. Характер распределения гетерохроматина, а также мелкие и устойчивые отличия в локализации и числе ЯОР, могут рассматриваться как индикаторы генетических различий, имеющих отношение к генетической изоляции [14].

Выводы

1. Установлены кариотипы обыкновенной полевки на территории Азербайджана. Кариотип этого вида включает: 5 пар крупных мета-, субметацентрических, субтелоцентрических хромосом, а также мелкие аутосомные хромосомы – 10 пар двуплечих и 7 акроцентрических.

2. Гетероморфность пятой пары хромосом была отмечена у 5 особей (4,87 % от общего числа исследованных) Кедабекской популяции из 103 исследованных в 1978–1983 годах с разных районов Азербайджана.

3. Проведена гибридизация между отличающимися по гетерохроматину и ядрышкообразующим районам двух популяций – обыкновенной полевки Большого Кавказа (популяции Пиркули) и Малого (Кедабекской популяции). Полученные гибриды были стерильными.

3. Golenischev F.N., Meyer M.N., Bulatova N.Sh. The hybride zone between two karyomorphs of *Microtus arvalis* (Rodentia, Arvicolidae) // Proc. Zool. Inst. RAS. – 2001. – 289. – P. 89–94.
4. Булатова Н.Ш., Голенищев Ф.Н., Ковальская Ю.М., Емельянова Л.Г., Быстракова Н.В., Павлова С.В., Наджафова Р.С., Лавренченко Л.А. Цитогенетическое изучение парapatрической зоны контакта двух 46-хромосомных форм обыкновенной полевки в Европейской России // Генетика. – 2010. – 46, № 4. – С. 502–508.
5. Баскевич М.И., Окулова Н.М., Миронова Т.А., Кривоногов Д.М., Маслов В.Ю., Трушкова М.А. Хромосомные и некоторые морфологические особенности у фоновых видов грызунов (Mammalia: Rodentia) из Арзамасского района Нижегородской области // Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы его диагностики: материалы XI международной научно-практической конференции. – Белгород: «Политерра», 2010. – С. 198–199.
6. Баскевич М.И., Окулова Н.М., Миронова Т.А., Кривоногов Д.М., Маслов В.Ю., Трушкова М.А. Серые полёвки Нижегородской области в свете кариологических данных // Териофауна России и сопредельных территорий (IX съезд Териологического общества): материалы Международного совещания. – М.: КМК, 2011. – С. 42.
7. Баскевич М.И., Окулова Н.М., Миронова Т.А., Кривоногов Д.М., Маслов В.Ю., Трушкова М.А. Динамика популяционно-генетической структуры *Microtus arvalis* формы *obscurus* (Rodentia, Arvicolinae) во времени: по материалам трёхлетнего цитогенетического контроля популяции из Арзамасского района Нижегородской области // Структурно-функциональные изменения в популяциях и сообществах на территориях с разным уровнем антропогенной нагрузки: материалы XII международной конференции. – Белгород: ИД «Белгород», 2012. – С. 18–19.
8. Баскевич М.И., Миронова Т.А., Окулова Н.М., Кривоногов Д.М., Маслов В.Ю., Трушкова М.А. Хромосомные исследование серых полевок (Rodentia Arvicolinae, *Microtus*) из Нижегородской области // Зоологические исследования регионов России и сопредельных территорий. Материалы III Международной научной конференции. Нижний Новгород, 2014. – С. 253–258.
9. Ford C.E., Hamerton J.L. A colchicines hypotonic citrate squash sequence for mammalian chromosomes // Stain Technol. – 1956. – 31. – P. 247–251.
10. Раджабли С.И., Крюкова Е.П. Сравнительный анализ дифференциальной окраски хромосом двух видов хомячков: даурского и китайского // Цитология. – 1973. – 15. – С. 1527–1531.
11. Sumner A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin // Exp. Cell. Res. – 1972. – 75. – P. 304–306.
12. Howell W.M., Black D.A. Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a step method // Experientia. – 1980. – 36. – P. 1014–1015.
13. Кулиев Г.Н. Изучение кариотипов обыкновенных полевок из разных географических точек Азербайджанской ССР // Известия АН Азербайджанской ССР. Серия биологических наук. – 1978. – № 5. – С. 84–88.
14. Кулиев Г.Н. Попытка гибридизации трех видов лесных мышей (*Sylvaemus uralensis*, *S. fulvipipectus*, *S. ponticus*) различных географических популяций обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*) Азербайджана // Вестник Харьковского Университета имени Каразина, серия «Биология». – 2012. – Вып. 15, № 1008. – С. 129–135.

AZIZOV I.V.¹, **QULIYEV G.N.**², **MEMMEDRZAYEVA E.T.**², **SHAMILOV E.N.**³, **ABDULLAYEV A.S.**³, **SHAMILI V.E.**³, **QULIYEV A.Q.**³

¹ Institute of Radiation Problems of Azerbaijan National Academy of Sciences, Azerbaijan, AZ114, Baku, B. Vahabzada str., 9, e-mail: elshanshamil@gmail.com

² Institute of Zoology of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, Azerbaijan, Baku, AZ1073, A. Abasov str., 1128 lane, 504 block, e-mail: qiyas_q@mail.ru

³ Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Azerbaijan, Azerbaijan, AZ1073, Baku, Badamdar road, 40, e-mail: ibrahim.azizov47@gmail.com

KARYOTYPES OF MICROTUS OBSCURUS IN THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF AZERBAIJAN

Aims. Karyotypes of common vole (*Microtus obscurus*) distributed in mutations have been registered. **Methods.** The structure of this chromosome was analyzed by G and C-banding methods. In the fifth pair of chromosomes in some specimens of common vole caught in the Azerbaijan territory (Kedabek district). Due to the fact that in one of the chromosome at which the mutation was detected occurs pericentric inversions, it is converted into the acrocentric form. **Conclusions.** A hybridization between different of heterochromatine

and constituent parts of the nucleolus two populations of common voles Big (population of Pirguli) and Lesser Caucasus (population of Kedabek) was carried out. **Results.** The resulting hybrids were sterile.

Key words: heterochromatine, chromosome, C-banding, population.

УДК 575.8 + 599.323

ЛЕВЕНКОВА Е.С.

Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Россия, 119071, г. Москва, Ленинский пр., 33, e-mail: e-leven@mail.ru

СТРУКТУРНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ ХРОМОСОМ В МИКРОЭВОЛЮЦИИ

Связь хромосомного полиморфизма и экологических условий обитания видов продемонстрирована многократно, начиная с работ Добржанского [1, 2 и др.] Вероятно, микроволуционные преобразования, которые приводят к образованию комплекса близких видов, адаптационны и направлены на максимальное использование экологических ниш. Вопрос о том, каким образом эти события связаны с возрастанием сложности организации генома в ходе макроэволюционных изменений, обсуждается, но пока не имеет однозначного ответа [3–5].

Видоспецифичные хромосомные различия у млекопитающих связаны с наличием дополнительных гетерохроматиновых районов, инверсиями, транслокациями, центрическими слияниями акроцентриков и др. Роль структурных изменений хромосом оценивают по-разному – как причину, или как побочное следствие видообразования. Наше исследование гибридного мейоза в разных таксонах грызунов показало, что хромосомные перестройки сами по себе, без дополнительных условий, не создают репродуктивных барьеров. По-видимому, становление видовых особенностей происходит одновременно при условии генной, хромосомной дивергенции и изменений в архитектонике ядра, причем значимость этих изменений для каждого таксона различна. Вероятно, в ходе макроэволюционных преобразований происходит еще более значительная реорганизация генома, при которой увеличивается сложность взаимодействия всех его компонентов.

Материал и методы

Многолетние исследования мейоза у видов и гибридов выполнены на разных таксонах грызунов: хомячков *Phodopus*, мышей *Mus*, крыс *Rattus*, полевок *Alexandromys*, землероек *Sorex*. Комплексный цитогенетический анализ проводили методами светового

анализа митотических и мейотических хромосом, и электронной микроскопии синаптонемных комплексов (СК) в пахитене мейоза.

Результаты и обсуждение

Первым объектом исследования гибридного мейоза стали джунгарские хомячки *Phodopus sungorus* ($2n = 28$, $NF = 56$), *Ph. campbelli* ($2n = 28$, $NF = 52$) и гибриды от их скрещивания [6]. Исходные виды хорошо различимы морфологически и по занимаемым ареалам, гибридные самцы оказались стерильны, у самок была выявлена пониженная плодовитость.

Кариотипические различия джунгарских хомячков связаны с наличием добавочных гетерохроматиновых плеч на двух самых мелких аутосомах у *Ph. sungorus*, у обоих видов выявлен полиморфизм по наличию добавочного гетерохроматина на X-хромосоме. По G-окраске оказались гомологичны почти все элементы кариотипа, за исключением ширины полос в прицентромерном районе первой пары, при C-окраске выявили различия в локализации блоков гетерохроматина на трех первых, шестой парах аутосом, и внутривидовой полиморфизм по этому признаку. При электронно-микроскопическом анализе синаптонемные комплексы самцов обоих видов оказались сходны и представлены 13 аутосомными и половым бивалентами. Гетерохроматин коротких плеч самых мелких аутосом и половых хромосом оказался практически не представлен на СК.

При исследовании мейоза гибридных самцов в сперматоцитах на стадии пахитены обнаружили множественные нарушения синапсиса хромосом. При световом анализе только в единичных мейоцитах обнаружили полностью сформированные СК, однако и они оказались аномальны. С помощью электронной микроскопии в таких клетках выявили