

**МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ
КРИПТИЧЕСКИХ ВИДОВ И ГИБРИДОВ НАДВИДОВОГО КОМПЛЕКСА
ОБЫКНОВЕННЫХ ПОЛЕВОК *MICROTUS ARVALIS* S. L.**

© Н. Ш. Булатова,^{1, *} С. В. Павлова,¹ С. А. Романенко,^{2, **} Н. А. Сердюкова,²
Ф. Н. Голенищев,³ В. М. Малыгин,⁴ Л. А. Лавренченко¹

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, Москва,

²Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск,

³Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург,

и ⁴Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова;
электронный адрес: *admin@sevin.ru; **rosa@mcb.nsc.ru

Методом FISH выявлены молекулярные маркеры скрытой цитогенетической дифференциации у грызунов хромосомно-полиморфного комплекса обыкновенных полевков *Microtus arvalis* sensu lato. Полипатия 46-хромосомного кариотипа по сайтам интеркалярной теломерной пробы (ITS) и рибосомальной ДНК подчеркивает генетическую обособленность *M. arvalis* sensu stricto и *M. obscurus*.

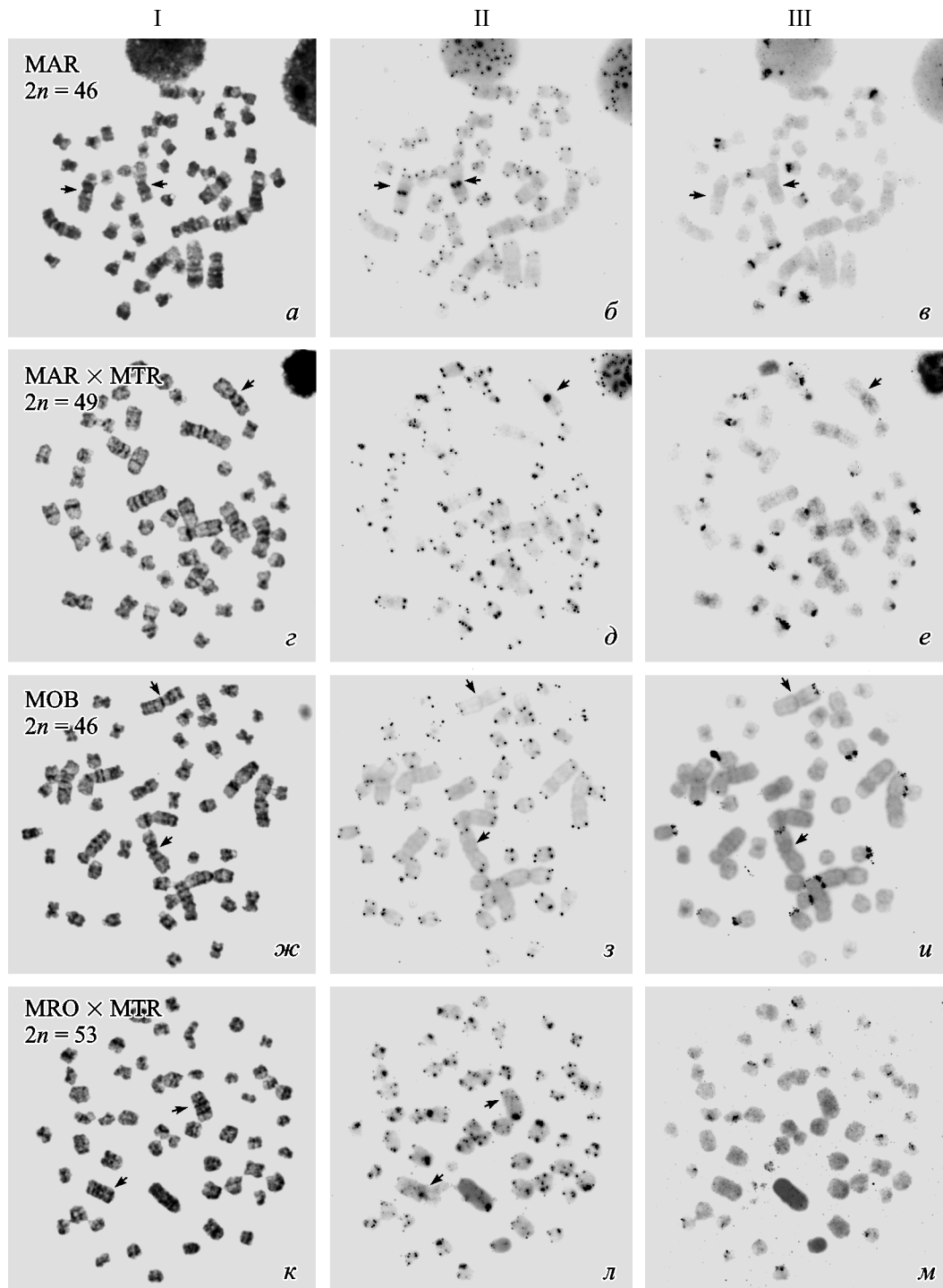
Ключевые слова: FISH, хромосомные маркеры ДНК (ITS, rDNA), виды-двойники, обыкновенные полевки.

Обыкновенные полевки — кариологически активно изучаемая группа грызунов, в которой исследования хромосом тесно связаны с проблемой вида. В Европе по хромосомам различают виды-двойники *Microtus arvalis* (2n = 46) и *M. rossiaemeridionalis* (2n = 54), перекрывающиеся своими ареалами и репродуктивно изолированные. Две 46-хромосомные формы — западная *arvalis*, известная только в Европе, и восточная *obscurus*, распространенная в Восточной Европе и сопредельных регионах Азии, — дифференцированы по мелким хромосомам и геномным признакам, но репродуктивно не изолированы, поэтому рассматриваются как полувида, т. е. номенклатурно самостоятельные виды (*M. arvalis* и *M. obscurus*) в составе надвидового комплекса *Microtus arvalis* s. l. (Лавренченко и др., 2009). Тандемные слияния участвуют в кариотипической дивергенции группы, увенчанной апоморфией 4 крупных метацентриков 46-хромосомного кариотипа, которые не изменяются структурно у *M. arvalis* и *M. obscurus*, но различаются локализацией района ядрышкового организатора (ЯОР) (Mazurok et al., 2001). Исследование молекулярных маркеров у европейских видов открыло новые перспективы анализа скрытой цитогенетической дифференциации разных групп полевков (Gornung et al., 2011; Rovatsos et al., 2011). В настоящей работе впервые изучены видоспецифические особенности распределения сайтов теломерной и рибосомальной ДНК на хромосомах доступных нам трех восточноевропейских таксонов и двух гибридов обыкновенных полевков.

Методом FISH изучено распределение последовательностей теломерной (TTAGGG) и рибосомальной (гены рРНК) ДНК на метафазных хромосомах 4 видов. Хромосомные препараты для сравнительного изучения получе-

ны от нескольких самцов и самок *M. arvalis* (в диагнозе 4 пары акроцентриков, Европейская Россия) и *M. obscurus* (10 пар акроцентриков, Армения). Еще 2 близких вида представлены гаплоидным набором в кариотипах гибридов от скрещивания самца *M. transcaspicus* (2n = 52) с самками *M. arvalis* (2n = 46) и *M. rossiaemeridionalis* (2n = 54). Суспензии клеток для хромосомных препаратов приготовлены по стандартным протоколам кариотипирования мелких млекопитающих из костного мозга и культуры тканей и сохраняются в коллекции лаборатории цитогенетики животных проф. А. С. Графодатского Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН. Сигналы FISH получены и проанализированы согласно протоколу, примененному для изучения полевков подрода *Terricola* того же рода (Gornung et al., 2011), с модификациями. В частности, вместо DAPI для индивидуализации хромосом использована стандартная окраска G-полос (см. рисунок).

В дополнение к классическому теломерному расположению на каждой хромосоме теломерная проба впервые локализована в прицентромерной (ITS) зоне одной из 4 крупных двуплечих пар *M. arvalis* и повторно показана для акроцентриков российских *M. rossiaemeridionalis*, как ранее для греческих (Rovatsos et al., 2011) (см. рисунок). На метафазах у гибрида сигнал ITS (см. рисунок, ж, з) виден на соответствующей непарной хромосоме *M. arvalis* (см. рисунок, з, д). У *M. obscurus* не выявлено ни одного сигнала ITS, как и у *M. arvalis* центральноевропейского происхождения (материал клеточной культуры) (Rovatsos et al., 2011). Сигнал FISH рибосомального гена присутствует в трех больших парах у *M. obscurus* (см. рисунок, ж, и), но не обнаруживается ни в одном крупном метацентрике



Метафазы видов и гибридов обыкновенных полевков: G-окраска (ряд I) и FISH (инвертированный сигнал) теломерной пробы (II) и рДНК (III).

a–в — *Microtus arvalis* (Россия); *г–е* — гибрид *M. arvalis* × *M. transcaasicus*; *ж–и* — *M. obscurus* (Армения); *к–м* — гибрид *M. rossiaemeridionalis* × *M. transcaasicus*. Стрелки указывают на метацентрики с центромерной локализацией теломерной пробы у *M. arvalis* (*a, б* — пара гомологов, *г* — непарный гомолог) и на их гомологи в кариотипе *M. obscurus* (*ж–и*), а также на различия сигнала в паре акроцентриков, гомологичных у *M. rossiaemeridionalis* и *M. transcaasicus* (*к, л*).

у собственно *M. arvalis* или гибрида (см. рисунок, *в, е*), что соответствует известным данным NOR-окраски (Mazurok et al., 2001). Различия по молекулярно-цитогенетическим маркерам показывают соответствие с другими цитогенетическими маркерами и маркерами дивергенции митохондриального генома между парапатрическими *M. arvalis* и *M. obscurus* по данным из гибридной зоны,

сопоставимыми по уровню (4.6 %) с нижней границей межвидовых различий (Лавренченко и др., 2009). Что касается различий по маркеру ITS между обыкновенными полевками из Восточной (настоящие данные) и Центральной (Rovatsos et al., 2011) Европы, остается узнать, имеют ли они отношение к разделению *M. arvalis* на 4 европейские группы по митотипам (Haynes et al., 2003).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 12-04-01283 и 12-04-90838), программы фундаментальных исследований президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» (подпрограммы «Динамика и сохранение генофондов» и «Биоразнообразие: состояние и динамика»).

Список литературы

Лавренченко Л. А., Потапов С. Г., Булатова Н. Ш., Голенищев Ф. Н. 2009. Изучение естественной гибридизации двух форм обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*) молекулярно-генетическими и цитогенетическими методами. Докл. РАН. 426 (1): 135—138.

Gornung E., Bezerra A. M. R., Castiglia R. 2011. Comparative chromosome mapping of the rRNA genes and telomeric repeats in

three Italian pine voles of the *Microtus savii* s. l. complex (Rodentia, Cricetidae). Compar. Cytogen. 5: 247—257.

Haynes S., Jaarola M., Searle J. B. 2003. Phylogeography of the common vole (*Microtus arvalis*) with particular emphasis on the colonization of the Orkney archipelago. Mol. Ecol. 12: 951—956.

Mazurok N., Rubtsova N., Isaenko A., Pavlova M., Slobodyanyuk S., Nesterova T., Zakian S. 2001. Comparative chromosome and mitochondrial DNA analyses and phylogenetic relationships within common voles (*Microtus*, Arvicolidae). Chromosome Res. 9: 107—120.

Rovatsos M. Th., Marchal J. A., Romero-Fernández I., Romero-Fernández F. J., Giagia-Athanosopoulou E. B., Sánchez A. 2011. Rapid, independent, and extensive amplification of telomeric repeats in pericentromeric regions in karyotypes of arvicoline rodents. Chromosome Res. 19: 869—882.

Поступила 26 XI 2012

MOLECULAR CYTOGENETIC MARKERS OF CRYPTIC SPECIES AND HYBRIDS OF THE COMMON VOLE SUPERSPECIES COMPLEX *MICROTUS ARVALIS* S. L.

N. Sh. Bulatova,¹ * S. V. Pavlova,¹ S. A. Romanenko,² ** N. A. Serdyukova,² F. N. Golenishchev,³
V. M. Malygin,⁴ L. A. Lavrenchenko¹

¹ A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Moscow, ² Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, ³ Zoological Institute RAS, St. Petersburg, and ⁴ Moscow State University; e-mail: *admin@sevin.ru; **rosa@mcb.nsc.ru

Molecular markers of cryptic cytogenetical differentiation were shown in chromosomal polymorphic Pan-European model group of rodents *Microtus arvalis* s. l. by FISH analysis. The polytypy of 46-chromosome karyotypes determined by the sites of interstitial telomeric sequences (ITS) and ribosomal DNA emphasizes the genetical isolation of *M. arvalis* s. s. and *M. obscurus*.

Key words: FISH, chromosomal DNA markers (ITS, rDNA), sibling species, common voles.