

ПЛОСКОГОРНАЯ ПОЛЕВКА ШИДЛОВСКОГО
MICROTUS SCHIDLOVSKII (RODENTIA, CRICETIDAE)
 САМОСТОЯТЕЛЬНЫЙ ВИД ФАУНЫ АРМЕНИИ

М. Р. АХВЕРДЯН*, И. Н. ВОРОНЦОВ**, Е. А. ЛЯПУНОВА**

*Институт зоологии АН РА, Ереван

**Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова АН СССР, Москва

Обсуждаются результаты гибридизации *Microtus schidlovskii* × *M. socialis binomialis* и анализ синаптомальных комплексов гибридных самцов первого поколения. Все гибридные самцы F1 оказались стерильными. При возвратном скрещивании ни разу не было получено приплода. Одна из вероятных причин стерильности—большой процент клеток, в которых отсутствовала ассоциация между X- и Y-хромосомами. Гибридные самки F1 размножились, однако их плодовитость была снижена. Делается вывод, что шидловские популяции *M. schidlovskii* из Западной Армении являются самостоятельным видом, в которых процессе видообразования, по-видимому, уже завершен.

Քննարկվում են *Microtus schidlovskii* × *M. socialis binomialis* հիբրիդիզացիայի և առաջին սերնդի հիբրիդացիկ արուների սինապտոմալային կոմպլեքսների վերլուծության արդյունքները: F1 սերնդի բոլոր հիբրիդացիկ արուները ամուլ էին: Հաջադարձ որսման հարցման ղեկավար ոչ մի անգամ սերունդի ստացվելու նմուռից հաջանական պատճառներից մեկը X- և Y-քրոմոսոմների միջև միավորում չունեցող բջջաների մեծ տոկոսի առկայությունն է: F1 հիբրիդացիկ էգերը բազմանում էին, սակայն նրանց պտղառտվածքները ցածր էր: Նախորդ հետազոտությունների հետ ստացված արդյունքները մեկտեղ թույլ են տալիս հաստատել, որ Արևմտյան Հայաստանից *M. schidlovskii* մեկրտացված պոպուլյացիաները հանդիսանում են ինքնուրույն տեսակ, որտեղ, բնա էրևույթին, տեսակառարացման պրոցեսները արդեն ավարտվել են:

The results of hybridization of *Microtus schidlovskii* × *M. socialis binomialis* and analyses of synaptonemal complexes of the hybrid males of the first generation is discussed. All F1 hybrid males are sterile. The offspring was not received during the backcrossing. One of the probable reasons of the sterility is the large percent of the cell, in which association between X- and Y-chromosomes was absent. F1 hybrid females were breeding but their productivity was reduced. Received results together with the preceding investigations allow to assert that isolated populations of *M. schidlovskii* from the Western Armenia were the independent species in watch process of species formation.

Полевка плоскогорная—гибридизация—комплекс синаптомальных.

Настоящая работа является продолжением предшествующего исследования, в котором рассматривался вопрос о видовой самостоятельности плоскогорной полевки Шидловского *Microtus schidlovskii* Argyropoulos 1933 [1]. Обсуждаются результаты гибридизации *M. schidlovskii* × *M. socialis binomialis* и анализа синаптомальных комплексов (СК) гибридных самцов первого поколения (F1).

Гибридологический метод в систематических исследованиях может быть с успехом применен при определении таксономического

(Вклейка к статье М. Е. Ахвердян и др.)



Рис. 1. Тотальный препарат синаптонемных комплексов 6-хромосомного гибридного самца F1 (№ 235-12), полученного от скрещивания *M. schidlovskii* (2n - NF = 63) и *M. r. binorinatus* (2n = NF = 62). Каротина состоит из 28 бивалентов, одного тривалента (T1) и цитовых хромосом. Стрелка указывает на короткое плечо акроцентрика (увеличение 2 тыс.).



Рис 2

Рис. 2. Мейотические хромосомы гибридного самца F_1 (№ 23125, 2п = NF 61). А. Тотальный препарат синаптонемных комплексов (увел. 12 тыс.); Б. Диссоциированные X и X-хромосома. Стрелка указывает на возможную конъюнкцию концевыми участками Y-хромосома и аутосомного бивалента (фрагмент, увел. 13 тыс.)



Рис 3.

Рис. 3. Фрагменты мейотических препаратов хромосом гибридного самца F_1 (№ 23125). А. Формирование тривалента (увел. 13 тыс.); Б. Предполагаемая ассоциация X- и Y-хромосомы на одном конце (стрелка, увел. 13 тыс.); в Г. Диссоциированные половые хромосомы (увел. 13 и 20 тыс. соответственно).

ранга форм на уровне «вид—подвид» [7], для установления степени родства близких видов. По методу гибридизации, как и другие методы, ограничен в своих возможностях, и одиночные результаты достигаются лишь в случае получения стерильных гибридов или доказанной невозможности получения потомства между двумя скрещиваемыми формами [7]. Данные хромосомного анализа могут дополнить или опровергнуть причину: генетическая несовместимость гибридных форм не во всех случаях. Например, известно, что представители некоторых родов имеют одинаковые диплоидные числа, однако гибридные самцы между ними стерильны [7]. Известно также, что между морфологически слабо различимыми видами возможны существенные различия в числе, форме и размерах хромосом [14—16]. В то же время сходство кариотипов само по себе не может служить доказательством видового единства, тогда как различия в диплоидных числах беспорочно свидетельствуют о видовой самостоятельности [2, 6], за исключением известных случаев хромосомного полиморфизма.

Попытка гибридизации плоскогорных полевок Шидловского и закавказских общественных полевых с целью выяснения их таксономического статуса была предпринята еще в 50-х годах Захаряном [3], который на основании полученных данных причисляет первых к *Microtus guentheri*. Позже скрещивание *M. schidlovskii* × *M. s. b. nominatus binominatus* проводил Орлов [8], обнаруживший стерильность гибридных самцов первого поколения. В начале 80-х годов опыты по гибридизации *M. schidlovskii* × *M. s. b. nominatus* были продолжены Палайян в Ереване, в Институте зоологии АН Армении, с целью более углубленного изучения этологии и экологии этих видов в экспериментальных условиях, а также с целью выяснения их систематического статуса. Скрещивание показало стерильность гибридных самцов F1 и фертильность самок [Палайян, личное сообщение; 5].

Вероятной причиной стерильности могло быть нарушение конъюгации аутосом или половых хромосом. Например, сцепление X-хромосомы с моносомными участками аутосом [11, 12]. Любое нарушение, связанное с инактивацией X-хромосомы, может лежать в основе блокирования сперматогенеза, а расположение аутосомного сегмента вблизи X-хромосомы может мешать нормальному расхождению аутосом к полюсам и явиться причиной нарушений в клеточном цикле [13].

Материал и методика. Материал собран в 1984—1987 гг. экспедициями Института зоологии АН Армении (Ереван) и Института биологии развития им. Н. К. Колдобова АН СССР (Москва). В опытах по гибридизации использовали полевых *M. schidlovskii* (окрестности с. Маггара, севернее г. Таллина 8 км) и *M. s. b. nominatus binominatus* (окрестности с. Баграташен, южнее г. Агрум 8 км). В питомнике ИБР АН СССР было сформировано 6 пар полевых в различных возрастах. Причем друг с другом скрещивались не только 62-хромосомные формы, но и 60-хромосомные *M. schidlovskii* с 62-хромосомными *M. s. b. nominatus*. Анализ сцепленных комплексов СК проведен у 7 гибридных самцов F1, двое из которых имели 2n=48-61 [10].

Результаты и обсуждение. Опыты по гибридизации нами были повторены в 1987 году в ИБР АН СССР. Результаты оказались сходными с таковыми предшествующих исследований [8, Палайян, лич-

ное сообщение]. Данные гибридизации одной пары между *M. schidlovskii* × *M. s. binominatus* приводятся в табл. 1. Плодовитость полевок оказалась высокой. Меньше чем за десять месяцев было получено 8 приплодов общей численностью 35 животных, т. е. в среднем 4.37 детеныша на помет (табл. 1). Смертности в постэмбриональный

Таблица 1. Результаты гибридизации *M. schidlovskii* (♂) × *M. s. binominatus* (♀)

№ приплодов	Количество детенышей	Соотношение полов		Интервал между приплодами, дни
		♂	♀	
1	4	2	2	36
2	6	5	1	40
3	3	3	—	39
4	8	8	—	23
5	3	1	2	37
6	6	4	2	41
7	1	1	—	41
8	4	4	—	67
Всего	35	28	7	327
В среднем	4.37	3.5	0.87	40.87

период не наблюдали, детеныши быстро подрастали и в некоторых случаях взрослые гибриды несколько превосходили своих родителей по размерам. При возвратном скрещивании, в парах, где содержались гибридные самцы первого поколения, приплода получено не было, но гибридные самки размножались, хотя их плодовитость была снижена и наблюдалась гибель новорожденных (табл. 2).

Таблица 2. Возвратное скрещивание *M. s. binominatus* (♀) × Гибрид F1 (*M. schidlovskii* × *M. s. binominatus*) (♂)

№ приплодов	Количество детенышей	Соотношение полов		Интервал между приплодами, дни
		♂	♀	
1	1	1	—	20
2	3	2	1*	25
3	1	—	1	21
4	2	?	?	22
5	2	?	2**	13
Всего	9	—	—	101
в среднем	1.8	—	—	20.2

* пала в возрасте 26 дней.

** пала в возрасте 7 дней.

Были исследованы также мейотические хромосомы гибридных самцов первого поколения от скрещивания 60-хромосомных *M. schidlovskii* и 62-хромосомных *M. s. binominatus*. Полученные гибриды F1 имели 61 хромосому, а в мейозе у самцов мы наблюдали 28 правильно сформированных бивалентов, один тривалент и обособленно лежащие X- и Y-хромосомы (рис. 1), рис. 3, А). В данном случае обна-

ружение тривалента послужило одним из доказательств существования в природе 60-хромосомных *M. schidlovskii* и, следовательно, свидетельством дальнейшей эволюции этого вида уже на хромосомном уровне.

Явных нарушений конъюгации хромосом на стадии пахитемы мы не обнаружили, хотя в единичных случаях был отмечен неспецифический синапсис бивалентов. Наиболее вероятная причина стерильности гибридных самцов F₁ — довольно большой процент клеток, в которых отсутствует ассоциация между X- и Y-хромосомой. В подавляющем большинстве случаев половые хромосомы расположены на периферии метафазной пластинки и лежат обособленно, что повышает вероятность их прикрепления к аутосомам и может привести тем самым к нарушениям в мейозе и стерильности самцов (рис. 2, А, Б). Изредка наблюдали ассоциацию X и Y-хромосомой (рис. 3, Б). Возможно, конъюгация половых хромосом длится очень короткое время и происходит не по всей длине Y-хромосомы, как это было описано для *Phodopus sungorus* и *Phodopus roborovskii* [10], а лишь одним из терминальных участков, как например, у крупного рогатого скота [20]. Уловить момент синапсиса сложно и поэтому в основном мы наблюдаем диссоциированные гетерохромосомы (рис. 3, В, Г). Такое явление отмечалось у гибридных самцов кустарниковых полёвок, оно известно для мышей [9] и, вероятно, широко распространено среди млекопитающих. Но так или иначе прямых свидетельств причины стерильности гибридных самцов F₁ от скрещивания *M. schidlovskii* × *M. s. binominatus* анализей войлочных хромосом не дал. Для этого необходимо изучение всех стадий мейоза, включая зиготену, когда формируются биваленты и полового комплекса только начинается.

Не исключено, что для каждого вида характерны свои специфические механизмы, определяющие конъюгацию аутосом и половых хромосом. Например, если у человека, у мышей ассоциация X-хромосомы с неспаренными аутосомами или аутосомными сегментами приводит к стерильности, то рекомбинация между X-хромосомой и аутосомой включается в механизм определения пола у 17-хромосомной слепушонки *Ellobius lutescens* [21]. Известно явление, когда формирование прицентромержей области первого элемента метацентрика у *Ellobius lancei* часто задерживается, и на препаратах распластанных ядер, где хроматин практически не окрашен, два фрагмента синаптономного комплекса формирующегося тривалента выглядят как два бивалента, которые на более поздней стадии сливаются и тривалент [4]. В 1981 году Мозесом с соавт. [18] был открыт механизм синаптической «пригонки» у мышей, гетерозиготных по тандемной дупликации и парацентрической инверсии. По мнению авторов, «пригонка» — это проявление функции общего и универсального механизма коррекции синапсиса [17, 18].

Приведенные сведения говорят о существовании индивидуальных и разнообразных механизмов синапсиса хромосом в мейозе. От-

сюда следует, что для решения общих и частных задач эволюции организмов необходим ступенчатый анализ всех стадий этого процесса.

Таким образом, гибридизация *M. schidlovskii* × *M. binominatus* показала, что гибридные самцы F₁ стерильны, и, следовательно, *M. schidlovskii* является самостоятельным видом, а не подвидом *M. socialis*. При транслокациях, инверсиях или дупликациях стерильность особи возникает из-за нарушения конъюгации гомологичных хромосом в процессе мейоза и неправильности расхождения хромосом при образовании гамет. В описанном же случае видообразование идет без видимых хромосомных перестроек и, вероятно, сводится к накоплению генных отличий и установлению тем или иным способом репродуктивной изоляции. Интересно отметить тот факт, что при гибридизации *M. schidlovskii* × *M. s. binominatus* в потомстве в большинстве случаев преобладают стерильные самцы (на 8 приплодов—28 самцов и 7 самок, табл. 1). Неизвестно, перекрывались или соприкасались когда-либо ареалы *M. schidlovskii* и *M. s. binominatus*, но обитание в различных экологических нишах и, как следствие, накопление морфологических, экологических, этологических и, по всей видимости, генных отличий в процессе длительной изоляции сыграли существенную роль в разобщении этих форм. Возможно, преобладавшие стерильные самцы в потомстве при гибридизации *M. schidlovskii* и *M. s. binominatus* и пониженная плодовитость гибридных самок являются следствием репродуктивной изоляции, а следовательно, одним из путей видообразования.

Географическая изоляция *M. schidlovskii* и *M. s. binominatus* с течением времени привела к репродуктивной изоляции, вероятно, некогда представлявших один вид. В настоящее время эти полевки аллопатричны, и *M. schidlovskii* по существу является горным изолятом. С отсутствием же симпатрии связано отсутствие гибридов в природе. Таким образом, исходя из результатов предшествующих исследований и вновь полученных данных, можно утверждать, что изолированные популяции *M. schidlovskii* являются самостоятельным видом, в которых процессе видообразования, по-видимому, уже завершился.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахвердян М. Р., Воронцов Н. Н., Ляпунова Е. А. Биолог. журн. Армении.
2. Воронцов Н. Н. Бюлл. МОИП, отд. биол., 63, 2, 5—36, 1958.
3. Захарян Х. А. Докл. АН АрмССР, 26, 2, 125—127, 1958.
4. Колодниц О. Я., Ляпунова Е. А., Анзурова Т. Ф., Янина И. Ю., Богданов Ю. Ф. Молекулярные механизмы генетических процессов, 72—84, М., 1985.
5. Микарян С. Р., Пашаян С. Б., Диджян К. М. Зоол. сборник Ин-та зоологии АН РА, Ереван, 1992 (в печати).
6. Мейер М. Н. Зоол. журн., 17, 6, 850—859, 1968.
7. Мейер М. Н. Тр. ЗИН АН СССР, 75, 3—62, 21, 1978.
8. Орлов В. П. Зоол. журн., 19, 6, 813—830, 1970.
9. Chandley A. C., Speed R. M. Chromosoma, 97, 345—349, 1987.
10. Dresser M. E., Moses M. J. Chromosoma, 76, 1—22, 1980.
11. Forrest J., Gregorová, Goetz P. Chromosoma, 82, 41—53, 1981.
12. Johannisson K. K., Gropp A., Winking H., Coerdt W., Pehder H., Schwinger E. Human Genet., 63, 132—138, 1983.

13. Lifschytz E., Lindsley D. L. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 69, 182—186, 1972.
14. Makino S. An atlas of the chromosome numbers in animals. Ames, Iowa, 1—290 1951.
15. Matthey R. Les chromosomes des vertebres. Lausanne, 1949.
16. Matthey R. Experientia, 8, 389—390, 1952.
17. Moses M. J., Poorman P. A. Chromosomes Today, 8, 90—103, 1984.
18. Moses M. J., Poorman P. A., Roderick T. H., Davissan M. T. Chromosoma, 84, 457—471, 1982.
19. Spyropoulos B., Ross P. D., Moens P. B., Cameron D. M. Chromosoma, 86, 397—408, 1982.
20. Swilonski M., Gustavsson J., Plöen I. Cytogenet. Cell Genet., 44, 105—111, 1987.
21. Vogel V., Steinbach P., Djafall M., Mehnert K., Ali S., Epplen J. T. Chromosoma, 96, 112—118, 1988.

Биолог журн. Армения, № 4.(44).1991

УДК 547.724.3

СИНТЕЗ И РОСТСТИМУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ФУНКЦИОНАЛИЗИРОВАННЫХ 4-ФУРИЛВИНИЛ γ - И δ -ЛАКТОНОВ

Г. С. МЕЛНИКЯН, А. А. АВЕТИСЯН, В. СЕКЕРКА

Ереванский государственный университет, кафедра органической химии,
Братиславский университет им. Я. А. Коменского,
кафедра генетики и молекулярной биологии

Синтезированы функционализированные α , β -ненасыщенные 4-фурилвинил- γ - и δ -лактоны. Определена их значительная ростстимулирующая активность в отношении колесонтилей пшеницы.

Միմիկացած և ֆունկցիոնալիզացված α , β -չնսպնցած 4-ֆուրիլ-միմիլ- γ և δ լակտոններ: Իրոշված է նրանց աճի խթանման Շառլո-Ֆրյունկերը սորբերի վրա-
վերջում:

Functionalized α , β -unsaturated 4-furylvinyl γ - and δ -lactones are synthesized. Their considerable growth stimulating activity is elucidated in relation with wheat

Растение пшеница— γ - и δ -лактоны

Соединения, содержащие γ - и δ -лактоновые циклы, обладают широким спектром биологической активности и являются составной частью ценных природных соединений [1, 5—7]. Ранее нами были синтезированы различные функционализированные производные ненасыщенных 3-циан-4-метил- γ - и δ -лактоноов, обладающие ростстимулирующей активностью [2, 3]. Были проведены систематические исследования по синтезу 3-циан-4-(R-винил)-5,5-диметил- Δ^3 -бутенолидов [8]. Изучена ростстимулирующая активность синтезированных функционализированных лактонов и определена ее зависимость от цис- или трансконфигурации [9]. Отмечено, что наиболее эффективным среди синтезированных производных γ -лактонов является 3-циан-4-фурилвинил-5,5-диметил- Δ^3 -бутенолид, который стимулировал рост колесонтилей летней пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в концентрации 10^{-4} М