

ОСОБЕННОСТИ В-ХРОМОСОМ ВОСТОЧНОАЗИАТСКОЙ МЫШИ *Apodemus peninsulae* (Thomas, 1906) ЗАБАЙКАЛЬЯ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА, ВЫЯВЛЕННЫЕ FISH МЕТОДОМ

© 2015 г. Н. Б. Рубцов¹, И. В. Картавец², Г. В. Рослик², Т. В. Карамышева¹,
М. В. Павленко², М. А. Иваса³, Х. С. Ко⁴

¹Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск 630090
e-mail: rubt@bionet.nsc.ru

²Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690022
e-mail: roslik_g@mail.ru, irina-kar52@rambler.ru, mv_pavlenko@mail.ru

³Nihon University, Kameino 1866, Fujisawa, Kanagawa 252-8510, Japan
e-mail: iwasa.masahiro@nihon-u.ac.jp

⁴Department of Biology, Chungbuk University, Cheongju 361-763, Korea
e-mail: syskoss@chungbuk.ac.kr

Поступила в редакцию 03.07.2014 г.

Восточноазиатская мышь *Apodemus peninsulae* является широкоареальным видом, распространенным в лесах Азии. Для вида характерна высокая частота животных с В-хромосомами, при этом их число, морфология и состав ДНК в различных географических регионах отличаются. Нами впервые проведен сравнительный анализ результатов *in situ* гибридизации ДНК-проб, полученных из В-хромосом, с метафазными хромосомами восточноазиатских мышей Забайкалья и Дальнего Востока, включая Дальний Восток России, Японию и Южную Корею. Показана низкая изменчивость ДНК В-хромосом у особей с Дальнего Востока России и высокая — в популяциях Забайкалья и Японии. В-хромосомы экземпляров *A. peninsulae* из Южной Кореи имеют незначительные отличия от таковых у восточноазиатских мышей Дальнего Востока России. Обсуждаются возможное происхождение В-хромосом *A. peninsulae* в исследованном регионе в сравнении с ранее полученными нами данными от восточноазиатских мышей из Сибири и Прибайкалья, а также пути расселения вида.

DOI: 10.7868/S001667581503011X

Восточноазиатская мышь, *Apodemus peninsulae* Thomas, 1906, широко распространена в смешанных лесах России от Западной Сибири до берегов Тихого океана, а также в Монголии, Корее, Китае и Японии на острове Хоккайдо [1]. Для кариотипа особей этого вида помимо 48 акроцентрических А-хромосом основного набора характерно наличие добавочных В-хромосом, число и морфология которых могут значительно варьировать. У большинства особей из популяций Центральной Сибири их количество составляет от 0 до 24 [2]. Описаны кариотипы мышей и с большим числом В-хромосом [3]. У восточноазиатских мышей Дальнего Востока России число В-хромосом варьирует от 0 до 7 [4–7], в Корее — от 1 до 6 [8, 9], в Монголии — от 1 до 13 [10–12], в Китае — от 0 до 14 [13], в Японии — от 0 до 13 [14]. Для популяций материковой части ареала вида характерен большой процент животных с добавочными хромосомами [2, 5, 15]. Сравнительный анализ состава ДНК В-хромосом, выполненный созданием микродиссекционных ДНК-проб из В-хромосом и их районов, а также прицентромерных С-позитив-

ных районов аутосом с последующей флуоресцентной гибридизацией *in situ* (FISH) с метафазными хромосомами анализируемых образцов, показал, что В-хромосомы состоят преимущественно из повторенных последовательностей, а некоторые содержат активные ядрышкообразующие районы [6, 16, 17]. Было также установлено, что В-хромосомы и районы В-хромосом могут содержать различные повторенные последовательности [6, 16, 18, 19]. По крайней мере, часть повторов, характерных для плеч большинства В-хромосом особей из популяций Дальнего Востока, также присутствуют в виде диспергированных повторов в С-негативных районах хромосом основного набора. Были выявлены повторы, типичные для слабо конденсированных районов макро и микро В-хромосом. Также в ряде В-хромосом были обнаружены и описаны районы, не содержащие ДНК, гомологичной перечисленным выше повторам. Полученные данные о гомологии ДНК прицентромерных районов В-хромосом и хромосом основного набора позволили предположить, что В-хромосомы особей популяций За-

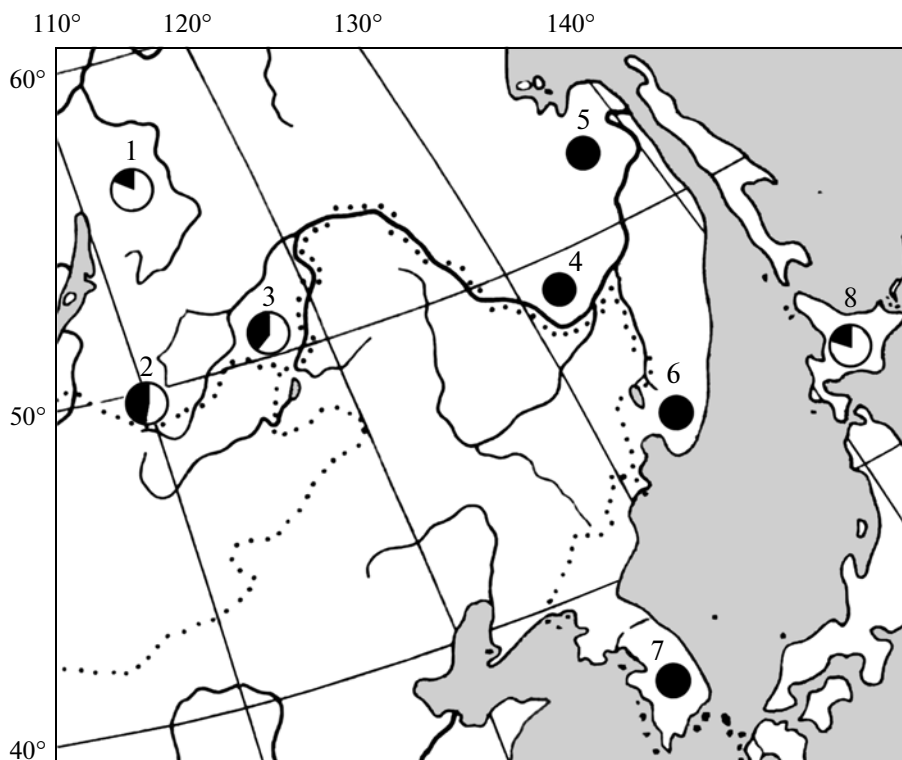


Рис. 1. Точки отлова *Apodemus peninsulae* и распределение двух FISH типов В-хромосом восточноазиатской мыши в различных географических регионах Забайкалья и Дальнего Востока. *Забайкалье*: 1 – БМ – Бурятия, Муйский р-н, 14 км восточнее станции Таксимо ($N=5$); Баргузинская котловина, окр. с. Баргузин ($N=1$); 2 – ЗК-З – Забайкальский край, запад: Сохондинский заповедник ($N=9$); 3 – ЗК-В – Забайкальский край, восток: Балейский р-н, окр. с. Ундино-Поселье ($N=1$), Борзинский р-н, окр. с. Усть-Озерное ($N=2$); *Дальний Восток, Россия*: 4 – ЕАО – Еврейская автономная область, окр. г. Биробиджан ($N=2$); 5 – ХК – Хабаровский край: окр. г. Комсомольск-на-Амуре ($N=4$), окр. оз. Эворон ($N=15$); 6 – ПК – Приморский край: Шкотовский р-н, с. Новонежино ($N=1$), Находкинский р-н, окр. пос. Авангард ($N=1$), Пограничный р-н, верховье р. Гранитная, Борисовское плато ($N=3$); *Дальний Восток, Южная Корея*: 7 – ЮК, Национальный парк Соннисан ($N=4$); *Дальний Восток, Япония*: 8 – Я-Х – о. Хоккайдо, 7–8 км восточнее г. Томакомэй ($N=7$). N – число изученных особей. Цветом обозначены типы В-хромосом по FISH сигналам: I тип – белый цвет; II тип – черный.

падной Сибири происходят преимущественно из аутосом, тогда как В-хромосомы особей популяций Дальнего Востока – преимущественно из половых хромосом. На основании сведений о составе и морфологии В-хромосом восточноазиатских мышей из различных популяций были предложены гипотезы о происхождении и дальнейшей эволюции В-хромосом [20].

В настоящей работе проведен анализ влияния путей и времени расселения восточноазиатской мыши после окончания последнего ледникового периода из рефугиумов в Центральной Сибири, Забайкалье и на Дальнем Востоке на формирование современных систем В-хромосом у этого вида млекопитающих.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе выполнено молекулярно-цитогенетическое исследование 197 В-хромосом, выявленных в кариотипах 55 восточноазиатских мы-

шей из восьми популяций Забайкалья и Дальнего Востока РФ, а также Южной Кореи и Японии (рис. 1, табл. 1).

Морфологический анализ и классификация В-хромосом. Препараты метафазных хромосом готовили по общепринятым методикам. Красители Гимза или DAPI использовали согласно стандартным протоколам. В-хромосомы с четко видимой морфологией, длина которых в хорошо распластаных метафазных пластинках превосходила их ширину, были отнесены к макро В-хромосомам; В-хромосомы меньшего размера, в составе которых удавалось выявить хотя бы одно плечо, – к мини В-хромосомам; маленькие, точкоподобные В-хромосомы, в составе которых не удавалось выявить плечи даже в прометафазных пластинках, – к микро В-хромосомам. В свою очередь, по размеру мы выделяли крупные, средние и мелкие макро В-хромосомы по сравнению с хромосомами основного набора и в соответствии с ранее разработанными критериями [21]. При обозначе-

Таблица 1. Районы отлова *Apodemus peninsulae* и число изученных В-хромосом

Географический регион, годы отлова и число (N) отобранных для FISH-анализа особей	Число В-хромосом у исследованных мышей	Всего изучено В-хромосом
1. БМ, 2007 г., N = 6	4–5*/3–4*/2/1–2*/3/0**	16
2. ЗК-З, 2004 г., N = 9	2/2/5/0–4*/6–7*/8/3/6/2–5*	40
3. ЗК-В, 2004 г., N = 3	5–8*/6/5–6*	17
4. ЕАО, 2004 г., N = 2	1–2*/2	3
5. ХК, 2001, 2002 гг., N = 19	3–4*/1–2*/2–3*/0–2*/1–3*/2–3*/0**/2–4*/1–3*/2/2–3*/1–2*/4/2–3*/2–3*/0–1*/1–3*/1–2*/5–7*	54
6. ПК, 1999, 2000, 2002 гг., N = 5	1–4*/4/4–7*/0–2*/2–4*	19
7. ЮК, 2003 г., N = 4	1–3*/0–1*/2–3*/1–3*	8
8. Я-Х, 1998, 2005 гг., N = 7	6–8*/5–8*/3–4*/4–6*/6/5/7	40
N = 55		197

Примечание. Номера 1–8 и сокращения географических регионов соответствуют таковым на рис. 1; / – косая черта разделяет числа В-хромосом у каждого отдельного животного; * – пределы варьирования чисел В-хромосом у особей-мозаиков; ** – отсутствие В-хромосом у двух особей: № 1380 из Хабаровского края и № 2275 из Бурятии.

нии В-хромосом использовали следующую номенклатуру: номер зоологического образца, символ “В”, номер В-хромосомы данного животного (номера присваивались всем макро и мини В-хромосомам в порядке уменьшения их размера, затем произвольно микро В-хромосомам). Таким образом, В-хромосома 9В3 является третьей по размеру В-хромосомой образца № 9.

Микродиссекционные ДНК-пробы. ДНК-пробы получали из ранее приготовленных микродиссекционных ДНК-библиотек введением в их ДНК биотина и дигоксигенина [6, 16, 17]. Обозначение ДНК-проб, полученных из целых В-хромосом (WCP – Whole Chromosome Paint), указывало на конкретные В-хромосомы, из которых они были получены. В работе использовали ДНК-пробы, полученные из целых В-хромосом мышей сибирских (WCP-9В8, WCP-9В9) и дальневосточных популяций (WCP-1505В1, WCP-1505В2, WCP-1507В1, WCP-1508В1, WCP-1508В2). Были также использованы ДНК-пробы, полученные из отдельных районов хромосом (PCP – Partial Chromosome Paint): PCP11В2rq была получена из р- и q-плеч В-хромосомы 11В2, PCPAC – из прицентромерного района нескольких аутосом особи из сибирской популяции [16].

FISH и микроскопия хромосомных препаратов. Гибридизацию *in situ* микродиссекционных ДНК-проб с метафазными хромосомами анализируемых образцов, детекцию сигнала (авидин-FITC/биотинилированный, антиавидин/авидин-FITC и антидигоксигенин-Су3) проводили по стандартным методикам [16]. Для окрашивания хромосом после гибридизации *in situ* использовали краситель DAPI.

Результаты дифференциального окрашивания и FISH анализировали с помощью микроскопа AXIOSKOP 2 Plus (“Zeiss”), для регистрации и обработки микроизображений использовали CCD-камеру, соответствующие комплекты фильтров фирм “Chroma” и “Zeiss”, программное обеспечение ISIS3 (METASystems “GmbH”, Германия). В работе использовалось оборудование ЦКП микроскопического анализа биологических объектов СО РАН и ДВО РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфологический и молекулярно-цитогенетический анализ В-хромосом

В результате проведения молекулярно-цитогенетического анализа 197 В-хромосом, обнаруженные в кариотипах 53 из 55 исследованных животных, были разделены на два основных типа по составу ДНК их прицентромерных районов. К В-хромосомам первого типа (тип I) отнесены В-хромосомы, в прицентромерных районах которых были выявлены последовательности, гомологичные последовательностям прицентромерных районов аутосом: В-хромосомы, в прицентромерных районах которых после FISH PCPAC были выявлены положительные сигналы. Ко второму типу (тип II) были отнесены В-хромосомы, в прицентромерных районах которых FISH PCPAC, как и в прицентромерных районах половых хромосом, не выявила присутствия ДНК, гомологичной ДНК прицентромерных районов аутосом. К этому же типу были отнесены В-хромосомы трех животных, отловленных в Хабаровском крае (№ 1381, 1510) и Приморском крае (№ 1212). Результаты проведения FISH PCPAC с их В-хромосо-

Таблица 2. Частоты встречаемости вариантов В-хромосом *A. peninsulae* в различных географических регионах

Регион и место отлова особей*	Типы В-хромосом														
	I						II								
	Варианты В-хромосом														
	1	2	3	4	5	Итого I	6	7	8	9	10	11	12	13	Итого II
Забайкалье															
1. БМ	0.5	0	0	0.19	0.12	0.81	0	0.19	0	0	0	0	0	0	0.19
2. ЗК-З	0	0	0.38	0.15	0.07	0.6	0	0.1	0	0.02	0.1	0	0	0.18	0.4
3. ЗК-В	0	0	0.12	0	0.41	0.53	0	0.24	0.12	0	0	0	0	0.12	0.47
Дальний Восток															
4. ЕАО	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
5. ХК	0	0	0	0	0	0	0.04	0.67	0.24	0.04	0	0	0.02	0	1
6. ПК	0	0	0	0	0	0	0.16	0.79	0	0	0	0.05	0	0	1
7. ЮК	0	0	0	0	0	0	0	0.63	0.25	0.12	0	0	0	0	1
8. Я-Х	0.25	0.05	0.08	0.02	0.4	0.8	0	0.02	0	0	0.18	0	0	0	0.2

* Номера 1–8 и сокращения географических регионов соответствуют таковым на рис. 1 и в табл. 1.

сомами позволили предположить наличие в прицентромерных районах следовых количеств ДНК, гомологичной ДНК прицентромерных районов аутосом.

Сравнительный анализ морфологии и состава ДНК районов В-хромосом I типа, выполненный с помощью FISH микродиссекционных ДНК-проб WCP-1505B1, WCP-1505B2, WCP-1507B1, WCP-1508B1, WCP-1508B2, PCP11B2pq, PCPAC (рис. 2, табл. 1, 2), выявил пять отличающихся друг от друга вариантов. Аналогичный анализ В-хромосом II типа позволил выделить восемь вариантов. Образцы различных вариантов В-хромосом приведены на рис. 2. Там же дано их описание.

Сравнительный анализ В-хромосом восточноазиатских мышей из различных регионов

Забайкалье. У пяти изученных нами мышей из Муйской долины (Бурятия) всего обнаружено 16 В-хромосом: у разных экземпляров было выявлено от одной до пяти метацентрических макро В-хромосом средних и мелких размеров, а также 0–2 микро В-хромосомы. Из 16 В-хромосом 13 были первого типа (варианты № 1, 4 и 5) и три – второго (вариант № 7). В кариотипе одной мыши из Баргузинской котловины В-хромосомы не обнаружены. Сравнение акроцентрических и метацентрических В-хромосом позволяет предположить, что метацентрические В-хромосомы являются производными от акроцентрических В-хромосом. Хромосомы вариантов 1 и 4 отличаются друг от друга лишь размерами, и это может указывать на различный уровень амплификации определенных последовательностей их ДНК (рис. 2, а, д, е). Так как

варианту 1 (средние по размеру В-хромосомы) соответствует половина исследованных В-хромосом, можно предположить, что в процессе эволюции В-хромосомы варианта 4 за счет амплификации их ДНК достаточно быстро переходят в вариант 1.

У девяти животных Сохондинского государственного заповедника число В-хромосом варьировало от 2 до 8, а их размер – от средних до микро. Анализ FISH 40 В-хромосом выявил как В-хромосомы первого типа (варианты № 3, 4 и 5), так и второго (варианты № 7, 9, 10, 13) (рис. 2, в, г, у, ф). Примечательно, что В-хромосомы животных Сохондинского заповедника имеют максимальное разнообразие по морфологии и составу ДНК среди всех исследованных в настоящей работе восточноазиатских мышей. Общее число вариантов В-хромосом обоих типов в Сохондинском заповеднике равно семи.

В-хромосомы трех мышей из окрестностей сел Удино-Поселье и Усть-Озерное имели сходные характеристики с В-хромосомами экземпляров из Сохондинского государственного заповедника. Так, число В-хромосом у особей первых двух пунктов варьировало от 3 до 7 и от 3 до 8 соответственно. Число микро В-хромосом изменялось от 1 до 5, и они встречались, как правило, в комбинациях с метацентрическими В-хромосомами. Девять В-хромосом было отнесено к первому типу (варианты № 3 и 5), восемь – ко второму (варианты № 7, 8 и 13). В отличие от популяции западной части региона (Сохондинского государственного заповедника) здесь не обнаружен вариант 4 типа I, а также варианты 9 и 10 типа II.

Следует отметить, что в варианте В-хромосом № 13 у мышей Забайкальского края сигнал FISH ДНК-пробы РСР11В2pq выявлялся за границами В-хромосомы, определяемыми с помощью окраски красителем DAPI (рис. 2, у, ф). Возможно, сигнал за пределами данных В-хромосом обусловлен сниженным уровнем конденсации их хроматина.

Дальний Восток, Россия. У двух исследованных животных из окрестностей г. Биробиджан Еврейской автономной области проанализированы 3 метацентрические В-хромосомы, по размерам варьирующие от среднего до мелкого или даже размера мини В-хромосомы. Все они были отнесены к варианту № 7 второго типа.

Число В-хромосом в кариотипах восточноазиатских мышей из окр. г. Комсомольск-на-Амуре и оз. Эворон (Хабаровский край) варьировало от 0 до 4 и от 0 до 7 соответственно. У одной особи из окрестностей оз. Эворон не было выявлено В-хромосом, а 18 других мышей имели разнообразные морфотипы В-хромосом — от крупных до мелких и мини В-хромосом, преимущественно метацентрической морфологии. Все 54 В-хромосомы, выявленные у животных Хабаровского края, были отнесены к вариантам № 6, 7, 8, 9 и 12 второго типа (рис. 2, к, л, н, с, т).

В кариотипах пяти исследованных экземпляров Приморского края (окрестности с. Новонезино, пос. Авангард и Борисовского плато) найдено в общей сложности 19 В-хромосом. Вариации числа и морфологии В-хромосом были сходны с таковыми у особей из Хабаровского края. Число В-хромосом варьировало от 0 до 7, размер метацентрических В-хромосом — от средних до мелких и мини В-хромосом. Все В-хромосомы, так же как и вышеупомянутые В-хромосомы других популяций Дальнего Востока, были отнесены ко второму типу (варианты № 6, 7 и 11; см. рис. 2, и, р).

Следует отметить, что во всех изученных регионах Дальнего Востока существенно преобладал вариант № 7 (табл. 2).

Дальний Восток, Южная Корея. У исследованных нами четырех восточноазиатских мышей из Южной Кореи (окрестности Национального парка Соннисан) число В-хромосом варьировало от 0 до 3. Они были представлены метацентриками средних и мелких размеров, что согласуется с ранее опубликованными данными [8, 9]. Анализ FISH микродиссекционных ДНК-проб с В-хромосомами этих образцов показал, что преобладающим вариантом, так же как и в российских популяциях Дальнего Востока, был вариант 7 типа II. Кроме него здесь выявлены варианты 8 и 9 (табл. 2). В отличие от В-хромосом варианта 8 у экземпляров из популяций Дальнего Востока РФ, для которых характерен непрерывный сигнал FISH ДНК-пробы РСР11В2pq, в плечах В-хромосом

особей *A. peninsulae* из корейской популяции районы, окрашенные с использованием этой же пробы, чередовались с районами, которые не несли такого сигнала (подвариант 8а; см. рис. 2, м). Сигнал FISH в данном случае напоминал картину прерывистого распределения сигнала FISH ДНК-пробы РСР11В2pq в хромосомах восточноазиатских мышей Сибири [16, 17].

Дальний Восток, Япония. У семи исследованных особей из Японии (отловленных близ г. Томакомы, о. Хоккайдо) число В-хромосом варьировало от 3 до 8: 0–3 макро В-хромосом разных размеров и морфологии и 2–6 микро В-хромосом. Результаты анализа числа и морфологии В-хромосом согласуются с ранее опубликованными данными [2, 9, 14]. Нами исследовано 40 В-хромосом восточноазиатских мышей из Японии и выявлено семь вариантов распределения сигналов FISH (табл. 2). 32 В-хромосомы отнесены к типу I (варианты № 1–5) и 8 В-хромосом — к типу II (варианты № 7 и 10; рис. 2, б, ж, з, о, п). Преобладающими вариантами В-хромосом были № 1, 5 и 10 (табл. 2). Другие варианты, указанные в таблице, отмечены как редкие. Вариант 10, помимо восточноазиатских мышей Японии, выявлен также у особей запада Забайкальского края. В-хромосомы вариантов № 4 типа I и № 7 типа II, кроме Японии, были обнаружены также у экземпляров Бурятии и запада Забайкалья, хотя частоты их встречаемости в этих регионах сильно отличались.

Следует отметить, что вариант 7 типа II В-хромосом является наиболее распространенным — он был выявлен у животных всех изученных регионов.

В целом, как следует из картины распределения В-хромосом восточноазиатских мышей различных географических регионов, наибольшее сходство имеют В-хромосомы из популяций Дальнего Востока (России и Южной Кореи), с одной стороны, из популяций Японии и Бурятии — с другой стороны, из популяций запада и востока Забайкалья — с третьей. Однако следует отметить, что при общем сходстве состава ДНК и морфологии В-хромосом внутри этих групп существуют значительные различия по частотам встречаемости разных вариантов В-хромосом (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Происхождение В-хромосом

Анализ организации и состава В-хромосом у восточноазиатских мышей показал, что исследованные популяции четко разделяются на две группы. Одна из них представлена популяциями Хабаровского края, Приморского края, Еврейской автономной области и Южной Кореи, особи которых несут В-хромосомы только второго типа. Другая группа состоит из популяций, в которых

встречаются В-хромосомы и первого, и второго типов, причем иногда — в кариотипе одного и того же экземпляра (рис. 3). Однако в отличие от первой группы популяций, занимающей единую территорию, вторая оказалась географически разорванной: с одной стороны, это были популяции Восточной Сибири, с другой — популяция о. Хоккайдо (Япония).

Вероятно, выявленные различия состава ДНК прицентромерных районов В-хромосом являются следствием их различного происхождения, что обусловлено особенностями организации хромосом основного набора. Наличие в прицентромерных районах В-хромосом ДНК, гомологичной ДНК прицентромерных районов аутосом, указывает на происхождение В-хромосом из аутосом, тогда как отсутствие такой ДНК — на происхождение из половых хромосом. Ранее нами были рассмотрены возможные механизмы возникновения и дальнейшей эволюции В-хромосом у этого вида [20]. Также, учитывая данные о наличии горячих точек хромосомных перестроек в хромосомах человека, определяющих высокую частоту возникновения малых сверхчисленных маркерных хромосом из хромосом 15 и 22, мы предполагаем, что в хромосомах восточноазиатской мыши присутствуют подобные горячие точки перестроек, определяющие высокую частоту возникновения сверхчисленных хромосом. В пользу гипотезы о наличии горячих точек в прицентромерных районах хромосом этого вида свидетельствуют данные о высокой частоте среди В-хромосом изохромосом и хромосом, которые, вероятно, являются продуктом эволюции таких изохромосом.

Различия в структурной организации хромосом основного набора у восточноазиатских мышей из различных регионов обуславливают возникновение малых сверхчисленных хромосом, состоящих из прицентромерных районов разных хромосом. Последующая эволюция возникших сверхчисленных хромосом приводит к формированию современных вариантов В-хромосом, содержащих различные повторенные последовательности ДНК, но сохраняющих неизменным состав ДНК прицентромерного района. Полученные в настоящем исследовании данные указывают на то, что популяции восточноазиатских мышей из различных регионов могут отличаться локализацией таких точек, и как следствие, составом прицентромерных районов В-хромосом. Половые хромосомы мышей из популяций Хабаровского и Приморского краев, Еврейской автономной области и Южной Кореи, вероятно, несут одну или несколько горячих точек хромосомных перестроек в прицентромерном районе, что и определяет отсутствие в прицентромерных районах В-хромосом повторенных последовательностей, характерных для прицентромерных районов аутосом. Исключение представляют три В-хромосомы,

найденные у одного экземпляра с Борисовского плато в Приморском крае. В их прицентромерных районах были выявлены слабые сигналы после проведения FISH с ДНК-пробой РСРАС. Эти результаты указывают на наличие в данных В-хромосомах либо очень небольшого числа повторов, гомологичных повторам прицентромерных районов аутосом, либо частично гомологичных им последовательностей. То, что все три такие В-хромосомы были обнаружены у одной особи, позволяет предположить их общее происхождение. Аналогичным образом, по-видимому, можно объяснить и происхождение еще двух таких же В-хромосом в кариотипах двух особей из окр. оз. Эворон Хабаровского края.

Для уточнения границ между популяциями с различными типами В-хромосом требуется проведение крупномасштабных исследований. Данные о стабильности этих границ или их перемещении позволили бы оценить направление и эффективность естественного отбора, действующего на определенный тип В-хромосом.

Состав ДНК В-хромосом

В-хромосомы у *A. peninsulae* сильно варьируют по размеру. Состав их ДНК зависит не только от происхождения В-хромосом, но и от интеграции в них новых фрагментов ДНК и амплификации конкретных последовательностей. На процесс переноса ДНК в В-хромосомы указывает присутствие в ряде В-хромосом рДНК [17]. В хромосомах основного набора кластеры рДНК локализованы в теломерных районах длинных плеч двух пар средних аутосом [17]. Выявление кластеров рДНК в В-хромосомах предполагает перенос в них, по крайней мере, небольшого числа копий рДНК с последующей их амплификацией. Такое предположение кажется логичным, так как кластеры рДНК являются наиболее “мобильными” в эволюции кариотипов эукариот. Однако нельзя исключить и другой механизм формирования в В-хромосомах кластеров рДНК: прицентромерный район исходной А-хромосомы может уже содержать одну или несколько копий рДНК, которая не выявляется при проведении стандартной FISH, но в результате амплификации формирует достаточно крупный кластер в процессе эволюции В-хромосом, производных от данной А-хромосомы.

Значительный размер районов В-хромосом, обогащенных определенными повторами, свидетельствует о том, что амплификация ДНК вносит большой вклад в эволюцию В-хромосом. У особей *A. peninsulae* Восточной Сибири были выявлены различия в составе ДНК плеч В-хромосом первого и второго типа. Плечи В-хромосом первого типа полностью окрашивались при проведении FISH с ДНК-пробой PCP11B2pq. Различия

между плечами В-хромосом заключались в основном в их размере и числе. В отличие от них, плечи В-хромосом второго типа часто содержали районы, в которых отсутствовали последовательности, гомологичные ДНК хотя бы одной из используемых ДНК-проб.

В-хромосомы восточноазиатских мышей, отловленных на о. Хоккайдо, по своей организации близки к В-хромосомам животных из Восточной Сибири. Результаты FISH микродиссекционных ДНК-проб указывают на то, что часть В-хромосом возникла из аутосом, а другая часть — из половых хромосом. Однако, несмотря на общее небольшое число исследованных животных (7 экземпляров), у двух из них были обнаружены В-хромосомы первого типа, плечи которых состояли из районов, обогащенных как ДНК, гомологичной РСР11В2pq, так и районов, не содержащих ДНК, гомологичной хотя бы одной из использованных в работе микродиссекционных ДНК-проб. Подобных В-хромосом за пределами о. Хоккайдо найдено не было. У трех животных с о. Хоккайдо были описаны В-хромосомы второго типа, одно из плеч которых содержало район, обогащенный повторами, гомологичными ДНК прицентромерных районов аутосом (рис. 3,б). Подобная хромосома была обнаружена только у одного животного из Сохондинского государственного заповедника. Таким образом, необходимо признать, что наряду со сходством состава прицентромерных районов В-хромосом популяций *A. peninsulae* о. Хоккайдо и Восточной Сибири существуют и различия в организации их плеч.

Различия выявляются у большинства, хотя и не у всех В-хромосом. В результате сравнительного анализа В-хромосом первого типа у особей Восточной Сибири и Дальнего Востока РФ нами показано, что В-хромосомы, несмотря на одинаковое или сходное их происхождение, имеют различия в организации своих хромосомных плеч.

Механизмы возникновения и последующей эволюции В-хромосом

Рассматривая вопрос об организации В-хромосом восточноазиатских мышей из разных регионов, необходимо коснуться истории расселения вида, а также вопроса о механизмах и времени возникновения горячих точек перестроек в хромосомах основного набора. Возможно, что до последнего оледенения существовал сходный паттерн распределения разного типа В-хромосом и горячих точек перестроек в хромосомах основного набора на всем ареале *A. peninsulae*. Однако в последний ледниковый период некоторые популяции, переживая в рефугиумах изменение климата, могли пройти через резкое падение численности. Результатом эффекта “бутылочного горлышка” стала потеря вариантов аутосом с

горячими точками хромосомных перестроек. После завершения ледникового периода данные популяции восточноазиатских мышей заселили юг нынешнего Дальнего Востока: Хабаровский и Приморский края, Еврейскую автономную область и Южную Корею. Возможен и другой сценарий: сходный с современным паттерн распределения В-хромосом и присутствия горячих точек перестроек в хромосомах основного набора существовал в этих регионах уже до последнего оледенения и просто восстановился после его окончания, при возвращении животных, переживших смену климата. Нельзя также исключить, что современные варианты кариотипа в различных районах сложились уже в постгляциальное время, и сходство популяций Восточной Сибири и Японии является результатом случайного совпадения. Однако следует отметить, что почти все варианты В-хромосом, описанные у особей из популяций Восточной Сибири, были найдены и у животных с о. Хоккайдо. Такое совпадение сложно объяснить случайным сходством изменчивости хромосомных элементов.

Тем не менее гипотеза случайного совпадения находит подтверждение в результатах молекулярно-генетических исследований мтДНК, показывающих наибольшее генетическое разнообразие популяций *A. peninsulae* российского Дальнего Востока, а также сходство мышей Дальнего Востока России и Хоккайдо, с одной стороны, и Сибири и Кореи — с другой [22–24]. Считается, что в финале позднего плейстоцена — начале голоцена существовала сухопутная связь между материком, Сахалином и Хоккайдо в период регрессии океана [25, 26], причем эта связь происходила неоднократно [27]. К этому же периоду (между 15 и 8 тыс. л.н.) относят и формирование современной териофауны Сахалина [25, 28], в том числе и грызунов [29], и появление *A. peninsulae* на Хоккайдо в голоцене как вселенца с материка через о. Сахалин, поскольку палеонтологические находки этого вида на других островах Японии нет [27]. Несмотря на межпопуляционные отличия, суммарный анализ молекулярно-генетических данных позволил предположить наличие единого ареала вида на территории Сибири, Забайкалья, Российского Дальнего Востока, Китая, Кореи и Японии (Хоккайдо) в плейстоцене [23, 24], что согласуется с гипотезой, подразумевающей флуктуацию ареала вида и неоднократное заселение разных регионов мышами из различных рефугиумов.

Мы считаем необходимым рассмотреть еще одну гипотезу возникновения различий сибирских и дальневосточных популяций *A. peninsulae* по числу и морфологии В-хромосом. Известно, что восточноазиатская мышь является носителем вируса клещевого энцефалита (КЭ), вирулентность которого не одинакова в Сибири и на Дальнем Востоке [22, 30, 31]. Показано, что в различ-

ных регионах Европы и северо-востока Азии (в Сибири и на Дальнем Востоке) циркулируют штаммы вирусов КЭ с разнообразными антигенными характеристиками [32], вирулентностью и некоторыми особенностями геномной ДНК [33]. Ранее Т.С. Бекасовой и Н.Н. Воронцовым была высказана гипотеза о связи инфицированности вирусом энцефалита и появлением добавочных хромосом у *A. peninsulae* [4]. Позже, в лабораторных условиях, было проведено экспериментальное заражение беременной самки восточноазиатской мыши из Приморского края (где микро В-хромосомы отсутствуют) вирусом КЭ. В результате в кариотипе ее потомства появились добавочные макро и микро В-хромосомы [34]. Эти результаты указывают на то, что нельзя исключить возможность влияния вирусной инфекции (возможно, связанной не только с КЭ) на возникновение и дальнейшую эволюцию В-хромосом [2]. Многие авторы, изучающие проблему клещевого энцефалита, отмечают тот факт, что в природных очагах КЭ совместно могут циркулировать возбудители разных заболеваний — вирусы, бактерии и простейшие [31, 35 и др.]. Многие из них, не представляющие опасности для человека, исследованы слабо, хотя именно они вызывают губительные для популяций грызунов эпизоотии и могут участвовать в интенсификации хромосомных перестроек у восточноазиатских мышей.

Примечательно, что в работах, посвященных вирусу КЭ, говорится об эволюционных преобразованиях его штаммов. Также указывается, что штамм, выделенный из сибирских популяций *A. peninsulae*, является наиболее древним [22, 31 и др.]. К сожалению, в современной литературе нет данных, которые позволили бы провести более детальный анализ пространственного распределения штаммов вируса КЭ, мтДНК и вариантов В-хромосом у восточноазиатских мышей в сибирских и японских популяциях. Исследования гена *cyt b* мтДНК особей *A. peninsulae* из популяций Японии, Хабаровского и Приморского края пока не выявили каких-либо существенных межпопуляционных различий [22–24].

Анализ у восточноазиатских мышей размера, морфологии и состава ДНК современных В-хромосом указывает на высокие темпы их эволюции. Помимо амплификации ДНК, вероятно, происходят другие варианты перестроек. Плечи части В-хромосом второго типа состоят из чередующихся районов с разным составом ДНК, возможно — вследствие внутривхромосомных перестроек. Например, в результате инверсии в В-хромосоме второго типа часть ее прицентромерного района могла быть перенесена в интеркалярное положение, а последующая амплификация этого участка могла привести к возникновению достаточно крупного фрагмента с соответствующим составом ДНК. Нельзя исключить и межхромосомные

перестройки. На существование такого механизма реорганизации В-хромосом, кроме выявления в них кластеров рДНК, указывают результаты кариотипического анализа одного животного из Сохондинского государственного заповедника и трех особей с о. Хоккайдо. В кариотипах этих экземпляров были описаны В-хромосомы второго типа, одно из плеч которых содержало район, обогащенный повторами, гомологичными ДНК прицентромерных районов аутосом.

Распределение повторенных последовательностей, характерных для В-хромосом, в хромосомах основного набора

Повторенные последовательности, наиболее типичные для В-хромосом, представлены и в А-хромосомах. Более того, показано их неравномерное распределение в хромосомах основного набора [6, 14, 16]. Если гомология ДНК прицентромерных районов аутосом и прицентромерных районов возникших из них В-хромосом является ожидаемой и естественной, то объяснить обогащение С-негативного района Y-хромосомы, С-негативного района X-хромосомы, расположенного между центромерой и интеркалярным блоком С-гетерохроматина, а также дистального района q-плеча 3-й пары аутосом, последовательностями, характерными для плеч большинства В-хромосом (гомологичными последовательностям, присутствующим в PCP11B2pq), значительно сложнее. FISH пробы PCP11B2pq с метафазными хромосомами указывают на то, что PCP11B2pq содержит значительное количество диспергированных повторов. Концентрация некоторых из них повышена в перечисленных выше районах половых хромосом и дистальных районах q-плеча 3-й пары аутосом. Остается невыясненным, обогащены ли районы половых хромосом и дистальный район q-плеча хромосомы 3 гомологичными повторами или они обогащены совершенно разными последовательностями, которые одновременно присутствуют в микродиссекционных ДНК-пробах. Решение этого вопроса требует дополнительных исследований, включающих создание набора микродиссекционных ДНК-проб из отдельных районов хромосом и последующего проведения многоцветной FISH.

Вероятнее всего, последовательности ДНК, интенсивно амплифицирующиеся в В-хромосомах, представляют собой повторы, характерные и для хромосом основного набора. Причем их “расселение” в А-хромосомах оказывается хромосомо- и районоспецифично. Вопрос, существует ли взаимное влияние на амплификацию и “расселение” таких повторов в В-хромосомах и хромосомах основного набора, остается открытым. Возможно, ответ на него может быть получен при изучении распределения этих повторов в хромо-

сомах восточноазиатских мышей из популяций, свободных от В-хромосом, таких как популяции островов Сахалин и Стенина.

Настоящее исследование механизмов возникновения и состава современных В-хромосом у восточноазиатских мышей, населяющих огромный ареал, позволило не только дать описание конкретных систем В-хромосом, сформулировать гипотезы об особенностях организации хромосом основного набора у особей из различных регионов, возможных механизмах возникновения и последующей эволюции В-хромосом, но также поставило новые вопросы о коэволюции ДНК А-и В-хромосом, возможном влиянии В-хромосом на паттерны распределения повторенных последовательностей в различных районах аутосом и половых хромосом. Продолжение исследований, включающее подробный молекулярно-цитогенетический анализ хромосом восточноазиатских мышей из популяций островов Сахалин и Стенина, получение микродиссекционных ДНК-проб конкретных районов хромосом основного набора позволят получить ответы, по крайней мере, на часть поставленных вопросов.

Работа выполнена при частичном финансировании грантом РФФИ № 14-04-00086а и интеграционным проектом ДВО РАН № 12-II-CO-06-018.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Громов И.М., Ербаева М.А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. Определитель. Санкт-Петербург: Зоологич. ин-т РАН, 1995. Вып. 167. 522 с.
2. Kartavtseva I.V., Roslik G.V. A complex B chromosome system in the Korean field mouse, *Apodemus peninsulae* // Cytogenet. Genome Res. 2004. V. 106. № 2–4. P. 271–278.
3. Борисов Ю.М., Афанасьев А.Г., Лебедев Т.Т., Боцкарев М.Н. Множество микро-В-хромосом в сибирской популяции мышей *Apodemus peninsulae* ($2n = 48 + 4 - 30$ В-хромосом) // Генетика. 2010. Т. 46. № 6. С. 798–804.
4. Бекасова Т.С., Воронцов Н.Н. Популяционный хромосомный полиморфизм азиатских лесных мышей *Apodemus peninsulae* (Rodentia, Muridae) // Генетика. 1975. Т. 11. № 6. С. 89–94.
5. Kartavtseva I.V., Roslik G.V., Pavlenko M.V. et al. The B-chromosome system of the Korean field mouse *Apodemus peninsulae* in the Russian Far East // Chromosome Sci. 2000. V. 4. P. 21–29.
6. Рубцов Н.Б., Карамышева Т.В., Картавецва И.В. и др. В хромосомы: ДНК, происхождение, эволюция // Биологич. мембраны. 2005. Т. 22. № 3. С. 196–211.
7. Рослик Г.В., Картавецва И.В. Полиморфизм и мозаицизм по числу В-хромосом у восточноазиатской мыши *Apodemus peninsulae* (Rodentia) Дальнего Востока России // Цитология. 2009. Т. 51. № 11. С. 929–939.
8. Koh H.S. Systematic studies of Korean Rodents. II. A chromosome analysis in Korean field mice, *Apodemus peninsulae peninsulae* Thomas (Muridae, Rodentia), from Mungyong, with the comparison of morphometric characters of these Korean field mice to sympatric Striped field mice, *A. agrarius corea* Thomas // Korean J. Syst. Zool. 1986. V. 2. № 1. P. 1–10.
9. Abe S., Han S.H., Kojima H. et al. Differential staining profiles of B-chromosomes in the East-Asiatic wood mouse *Apodemus peninsulae* // Chromosome Sci. 1997. V. 1. № 1. P. 7–12.
10. Zima J., Macholán M. B chromosomes in the wood mice (genus *Apodemus*) // Acta Theriologica. 1995. Suppl. 3. P. 75–86.
11. Борисов Ю.М., Малыгин В.М. Клиальная изменчивость системы В-хромосом восточноазиатской мыши *Apodemus peninsulae* из Бурятии и Монголии // Цитология. 1991. Т. 33. № 1. С. 106–111.
12. Борисов Ю.М., Шефтель Б.И., Сафронова Л.Д., Александров Д.Ю. Устойчивость популяционных систем В-хромосом восточноазиатской мыши *Apodemus peninsulae* Прибайкалья и Северной Монголии // Генетика. 2012. Т. 48. № 10. С. 1190–1199.
13. Wang J., Zhao X., Qi H. et al. Karyotypes and B chromosomes of *Apodemus peninsulae* (Rodentia, Mammalia) // Acta Theriol. Sinica. 2000. V. 20. № 4. P. 289–296.
14. Hayata I. Chromosomal polymorphism caused by supernumerary chromosomes in the field mouse, *Apodemus giliacus* // Chromosoma. 1973. V. 42. P. 403–414.
15. Картавецва И.В. Кариосистематика лесных и полевых мышей (Rodentia, Muridae). Владивосток: Дальнаука, 2002. 142 с.
16. Karamysheva T.V., Andreenkova O.V., Bochkarev M.N. et al. B chromosomes of Korean field mouse *Apodemus peninsulae* (Rodentia, Murinae) analyzed by microdissection and FISH // Cytogenet. Genome Res. 2002. V. 96. P. 154–160.
17. Rubtsov N.B., Karamysheva T.V., Andreenkova O.V. et al. Comparative analysis of micro and macro B chromosomes in the Korean field mouse *Apodemus peninsulae* (Rodentia, Murinae) performed by chromosome microdissection and FISH // Cytogenet. Genome Res. 2004. V. 106. P. 289–294.
18. Matsubara K., Nishida-Umehara C., Tsuchiya K. et al. Karyotypic evolution of *Apodemus* (Muridae, Rodentia) inferred from comparative FISH analyses // Chromosome Res. 2004. V. 12. P. 383–395.
19. Matsubara K., Yamada K., Umemoto S. et al. Molecular cloning and characterization of the repetitive DNA sequences that comprise the constitutive heterochromatin of the A and B chromosomes of the Korean field mouse (*Apodemus peninsulae*, Muridae, Rodentia) // Chromosome Res. 2008. V. 16. P. 1013–1026.
20. Рубцов Н.Б., Борисов Ю.М., Карамышева Т.В., Боцкарев М.Н. Механизмы происхождения и эволюции В хромосом у восточноазиатских мышей *Apodemus peninsulae* (Mammalia, Rodentia) // Генетика. 2009. Т. 45. № 4. С. 449–457.
21. Рослик Г.В., Картавецва И.В. Морфотипы В-хромосом *Apodemus peninsulae* (Rodentia) Дальнего Востока России // Цитология. 2012. Т. 54. № 1. С. 66–77.
22. Hayasaka D., Ivanov L., Leonova G. N. et al. Distribution and characterization of tick-borne encephalitis vi-

- ruses from Siberia and far-eastern Asia // J. General Virol. 2001. V. 82. P. 1319–1328.
23. Serizawa K., Suzuki H., Iwasa M. et al. A spatial aspect on Mitochondrial DNA genealogy in *Apodemus peninsulae* from East Asia // Biochem. Genet. 2002. V. 40. P. 149–161.
 24. Sakka H., Quéré J.P., Kartavtseva I. et al. Comparative phylogeography of four *Apodemus* species (Mammalia: Rodentia) in the Asian Far East: evidence of Quaternary climatic changes in their genetic structure // Biol. J. Linnean Soc. 2010. V. 100. № 4. P. 797–821.
 25. Василевский А.А. Каменный век острова Сахалин. Южно-Сахалинск: Изд-во Сахалинского гос. ун-та, 2008. 412 с.
 26. Микушин Ю.А., Гвоздева И.Г., Петренко Т.И. Ранний голоцен Сахалина // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2010. № 12. С. 432–437.
 27. Kawamura Y. Quaternary Rodent Faunas in the Japanese Islands (Part 2) // Memoirs Faculty Science Kyoto University Ser. Geol. and Mineral. 1989. V. 54. № 1–2. 235 p.
 28. Кириллова И. В. Остатки позвоночных из грота Тронный (центральный Сахалин) // Краеведческий бюллетень: проблемы истории Сахалина, Курил и сопредельных территорий. Южно-Сахалинск: Сахалинский гос. ун-т. 2003. № 2. С. 128–137.
 29. Бурковский О.А. История становления фауны грызунов (Mammalia, Rodentia) Сахалина // Растительный и животный мир Сахалина: Мат. Междунар. сахалинского проекта. Ч. 1. Владивосток: Дальнаука, 2004. С. 238–248.
 30. Злобин В.И., Беликов С.И., Джиоев Ю.П. и др. Новая концепция природной генетической variability вируса клещевого энцефалита // Тихоокеанск. мед. журн. 2001. № 2. С. 75–78.
 31. Злобин В.И. Клещевой энцефалит в Российской Федерации: этиология, эпидемиология и стратегия профилактики // Terra Medica nova. 2010. № 2. С. 13–21.
 32. Леонова Г.Н. О нозологической однородности и эволюции клещевого энцефалита // Тихоокеанск. мед. журн. 2010. № 3. С. 19–22.
 33. Golovljova I., Katargina O., Geller J. et al. Unique signature amino acid substitution in Baltic tick-borne encephalitis virus (TBEV) strains within the Siberian TBEV subtype // Internat. J. Med. Microbiol. 2008. V. 298. P. 108–120.
 34. Roslik G.V., Kartavtseva I.V., Kosoy M. Dot-like B-chromosomes in Korean field mice (*Apodemus peninsulae*, Rodentia) originated from a female artificially infected with tick-borne encephalitis virus // Abstr. Intern. Symp. “Modern achievements in population, evolutionary and ecological genetics”. Vladivostok, 1998. P. 15.
 35. Ястребов В.К. Клещевой энцефалит в Сибири: эпидемиология, сочетанность природных очагов // Бюл. СО РАМН. 2007. № 4. С. 89–93.

Features of the B Chromosome in Korean Wood Mice *Apodemus peninsulae* (Thomas, 1906) from Transbaikalia and the Far East Identified by the FISH Method

N. B. Rubtsov^a, I. V. Kartavtseva^b, G. V. Roslik^b, T. V. Karamysheva^a,
M. V. Pavlenko^b, M. A. Iwasa^c, and H. S. Koh^d

^aInstitute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

^bInstitute of Biology and Soil Science, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia

^cNihon University, Kameino 1866, Fujisawa, Kanagawa 252-8510, Japan

^dDepartment of Biology, Chungbuk University, Cheonju 361-763, Korea

e-mail: rubt@bionet.nsc.ru, irina_kar52@rambler.ru,
twasa.masahiro@nihon-u.ac.jp, syskoss@chungbuk.ac.kr

Korean field mice (*Apodemus peninsulae*) are widely distributed throughout northeastern Asia, including the Russian Far East, northern China, the Korean peninsula, Sakhalin, and Hokkaido. This mouse species is characterized by a high frequency of animals with B chromosomes differing in their number, morphology, and DNA composition in different geographical regions. For the first time a comparative analysis of DNA probes from B chromosomes with metaphase chromosomes of mice from Transbaikalia, the Far East (including the Russian Far East), Japan, and South Korea was conducted by *in situ* hybridization. B chromosomes in mice from the Russian Far East were shown to exhibit low variability in DNA content; however, the DNA composition of B chromosomes in species from Transbaikalia and Japan were highly variable. B chromosomes in *A. peninsulae* from the South Korean population demonstrate minor differences from those from the Russian Far East. We discuss the origin of B chromosomes in the studied region in comparison with previously obtained data for mice from Siberia and the Baikal region, as well as the dispersal routes of the Korean field mouse.

English translation of paper is published in “Russian J. Genetics” (2015, vol. 51, no. 3), www.maik.ru.

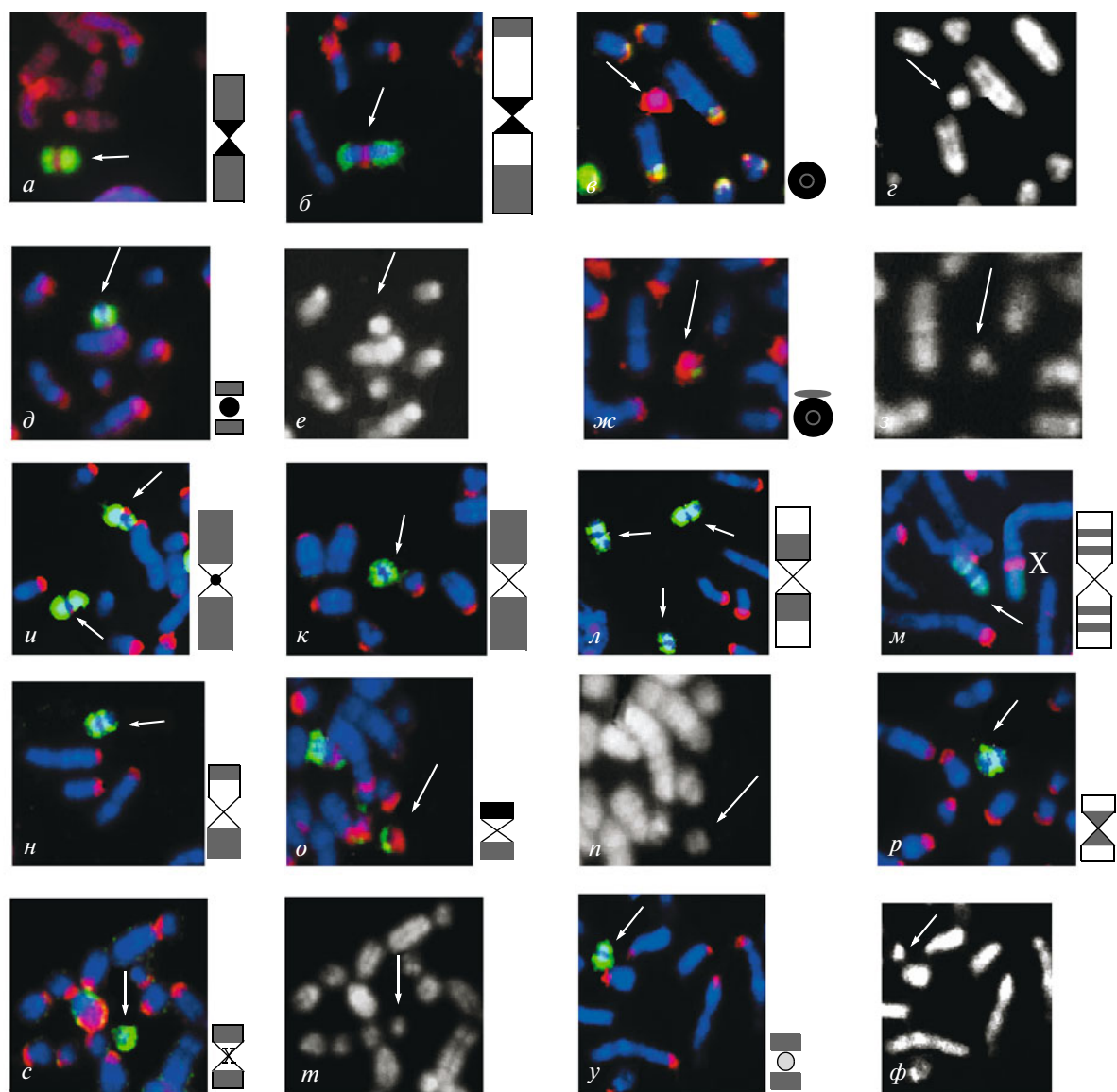


Рис. 2.

Рис. 2. Варианты добавочных хромосом *A. peninsulae* из различных популяций Забайкалья и Дальнего Востока по характеру FISH-окрашивания: *a* — тип I, вар. 1 (PCPAC+/PCP11B2rq+, сигналы PCPAC+ отмечены в прицентромерных районах, а PCP11B2rq+ — в районах плеч В-хромосом средних и мелких размеров) — Бурятия, Муйская котловина, образец № 2236 ♂; *б* — тип I, вар. 2 (PCPAC+/PCP11B2rq+, сигналы PCPAC+ отмечены в прицентромерных районах, а PCP11B2rq+ расположены асимметрично в теломерных районах, затрагивая лишь часть плеч крупных В-хромосом) — Япония, о. Хоккайдо, близ г. Томакомай, образец № 1834 ♂; *в*, *г* — тип I, вар. 3 (PCPAC+/PCP11B2rq-, сигнал PCPAC+ затрагивает целиком микро В-хромосому и прилежащую к ней область, а сигнал PCP11B2rq отсутствует) — Забайкальский край, Сохондинский заповедник, образец № 1698 ♂; *д*, *е* — тип I, вар. 4 (PCPAC+/PCP11B2rq+, сигнал PCPAC+ затрагивает целиком область микро В-хромосомы, а сигнал PCP11B2rq+ расположен симметрично за ее пределами) — Бурятия, Муйская котловина, образец № 2249 ♀; *ж*, *з* — тип I, вар. 5 (PCPAC+/PCP11B2rq+, PCPAC+ сигнал затрагивает целиком микро В-хромосому и прилежащие к ней районы, а PCP11B2rq+ сигнал — одну прилежащую область, вне микро В-хромосомы) — Япония, о-в Хоккайдо, близ г. Томакомай, образец № 1834 ♂; *и* — тип II, вар. 6 (PCPAC+/PCP11B2rq+, сигнал PCPAC+ регистрируется в следовых количествах в прицентромерных районах, а PCP11B2rq+ целиком окрашивает плечи средних В-хромосом) — Приморский край, Уссурийский р-н, верховье р. Гранитная, Борисовское плато, образец № 1212 ♂; *к* — тип II, вар. 7 (PCPAC-/PCP11B2rq+, сигнал PCPAC отсутствует, а сигнал PCP11B2rq+ целиком затрагивает плечи крупных, средних, мелких и мини В-хромосом) — Хабаровский край, окр. оз. Эворон, образец № 1509 ♂; *л* — тип II, вар. 8 (PCPAC-/PCP11B2rq+, сигнал PCPAC отсутствует, а сигнал PCP11B2rq+ затрагивает центральные области плеч В-хромосом крупных, средних и мелких размеров) — Хабаровский край, окр. г. Комсомольск-на-Амуре, образец № 1418 ♀; *м* — тип II, вар. 8а (PCPAC-/PCP11B2rq+, сигнал PCPAC отсутствует, а сигнал PCP11B2rq+ прерывистый, затрагивает по 1–2 центральные области плеч В-хромосом средних и мелких размеров) — Южная Корея, образец № 1604 ♂; *н* — тип II, вар. 9 (PCPAC-/PCP11B2rq+, сигнал PCPAC отсутствует, а сигнал PCP11B2rq+ асимметричный, затрагивает околотеломерные области плеч мелких В-хромосом) — Хабаровский край, окр. оз. Эворон, образец № 1510 ♂; *о*, *п* — тип II, вар. 10 (PCPAC+/PCP11B2rq+, сигнал PCPAC+ затрагивает одно плечо, но не прицентромерную область, а PCP11B2rq+ расположен в другом плече мини В-хромосомы) — Япония, о. Хоккайдо, близ г. Томакомай, образец № 1836 ♂; *р* — тип II, вар. 11 (PCPAC-/PCP11B2rq+, сигнал PCPAC отсутствует, а сигнал PCP11B2rq+ затрагивает прицентромерную область и немного — теломерные районы плеч мини В-хромосомы) — Приморский край, Шкотовский р-н, с. Новонежино, образец № 84–99 ♀; *с*, *т* — тип II, вар. 12 (PCPAC-/PCP11B2rq+, сигнал PCPAC отсутствует, а сигнал PCP11B2rq+ затрагивает две области вне пределов мини В-хромосомы) — Хабаровский край, окр. оз. Эворон, образец № 1507 ♂; *у*, *ф* — тип II, вар. 13 (PCPAC-/PCP11B2rq+, сигнал PCPAC отсутствует, а PCP11B2rq+ затрагивает две симметричные области, вне пределов микро В-хромосомы) — Забайкальский край, Сохондинский заповедник, р. Енда, образец № 1679 ♂. Рядом с каждым вариантом приводится схема FISH В-хромосомы этого варианта. На схеме серый цвет соответствует зеленому FISH-сигналу PCP11B2rq+, черный — красному FISH-сигналу PCPAC+, белый или бледно-желтый — отсутствие сигнала. Знаками *x* (рис. 2, *с*) или круга (рис. 2, *в*, *д*, *ж*, *у*) обозначены границы мини В-хромосомы или микро В-хромосом, которые либо окрашены, либо нет.

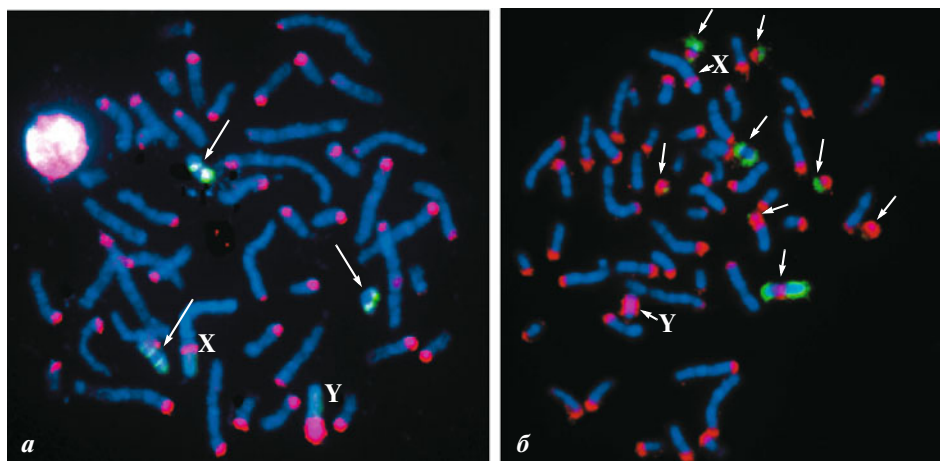


Рис. 3. Примеры FISH-окрашивания метафазных пластинок *A. peninsulae*: *a* — Южная Корея, образец № 1604, 3 В-хромосомы второго типа, *б* — о. Хоккайдо, Япония, образец № 1834, 8 В-хромосом первого и второго типов. В-хромосомы указаны стрелками, X и Y — половые хромосомы.