

УДК 575.113:598.816

АНАЛИЗ ГЕНОМОВ ВОРОН (CORVIDAE, PASSERIFORMES) ИЗ ЗОНЫ ПЕРЕКРЫВАЮЩИХСЯ АРЕАЛОВ И ГИБРИДИЗАЦИИ

© 1992 г. КРЮКОВ А.П., УФЫРКИНА О.В., ЧЕЛОМИНА Г.П.

Проведен рестрикционный анализ яДНК и электрофоретический анализ сывороточных белков крови серой *Corvus cornix*, черной *C. corone* ворон и их естественных гибридов. У родительских форм различий не обнаружено. Гибриды характеризуются повышенной изменчивостью количества повторов ДНК в рестриктных фрагментах, а также наличием собственных вариантов альбумина, посттрансферрина и эстеразы. Подтверждены общие принципы организации генома птиц и наследования признаков у гибридов.

Одним из наиболее известных примеров естественной гибридизации животных является скрещивание серой и черной ворон. Несмотря на то, что он описан во многих учебниках по теории эволюции, систематике, зоогеографии, ситуация до сих пор не изучена во многих отношениях: на уровне структуры генома, аллозимной изменчивости, оценки потока генов между скрещивающимися формами. Не определен также таксономический статус гибридизующих форм, и разными авторами серой и черной вороном придается либо видовой, либо подвидовой ранг.

Целью настоящей работы является анализ геномов гибридов между серой *Corvus cornix* L. и черной *C. corone* L. воронами в сравнении с фенотипически «чистыми» исходными формами. Молодых птиц отлавливали в окрестностях пос. Итат и Тисуль Кемеровской обл., где находится центр их узкой стабильной зоны гибридизации [1]. В сборе материала принимали участие В.Н. Блинов и Л.Н. Пашкова.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В молекулярно-генетических исследованиях был использован метод рестрикционного анализа ДНК [2]. Препараты ДНК получали индивидуально из ядер печени 17 особей стандартным фенольно-детергентным способом с обработкой РНКазой и проназой. Гидролиз ДНК, разделение рестриктных фрагментов и денситометрию выполняли, как описано ранее [3]. Использовали три тетрануклеатидные нуклеазы рестрикции: *AluI*, *BspRI* и *Sau3a*, выпускаемые НПО «Фермент» (Вильнюс). Биохимические исследования основывались на анализе в полиакриламидных гелях некоторых белков крови 34 особей. Альбумины и эстеразы анализировали по методике Дэвиса [4], остальные белки — по Ганэ [5].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ОБСУЖДЕНИЕ

Картины расщепления яДНК оказались нуклеазоспецифичными. Однако качественных различий в организации генома разных форм ворон не обнаружено (рис. 1). Нуклеаза *Sau3a* выявила по одному дискретному фрагменту в низко- и высокомолекулярной областях спектра размером примерно 660 пн (минорный компонент) и 23 пн соответственно. Рестриктаза *AluI* во всех геномах обнаружила повторяющуюся ДНК с типичной тандемной организацией, где длина единицы повторяемости составляет 210 пн. С помощью *BspRI* идентифицирован повтор, организованный более сложно. Размеры *BspRI*-фрагментов кратны $n \times 30$, $n \times 35$ или $(n \times 30) + 5$ пн. Следо-

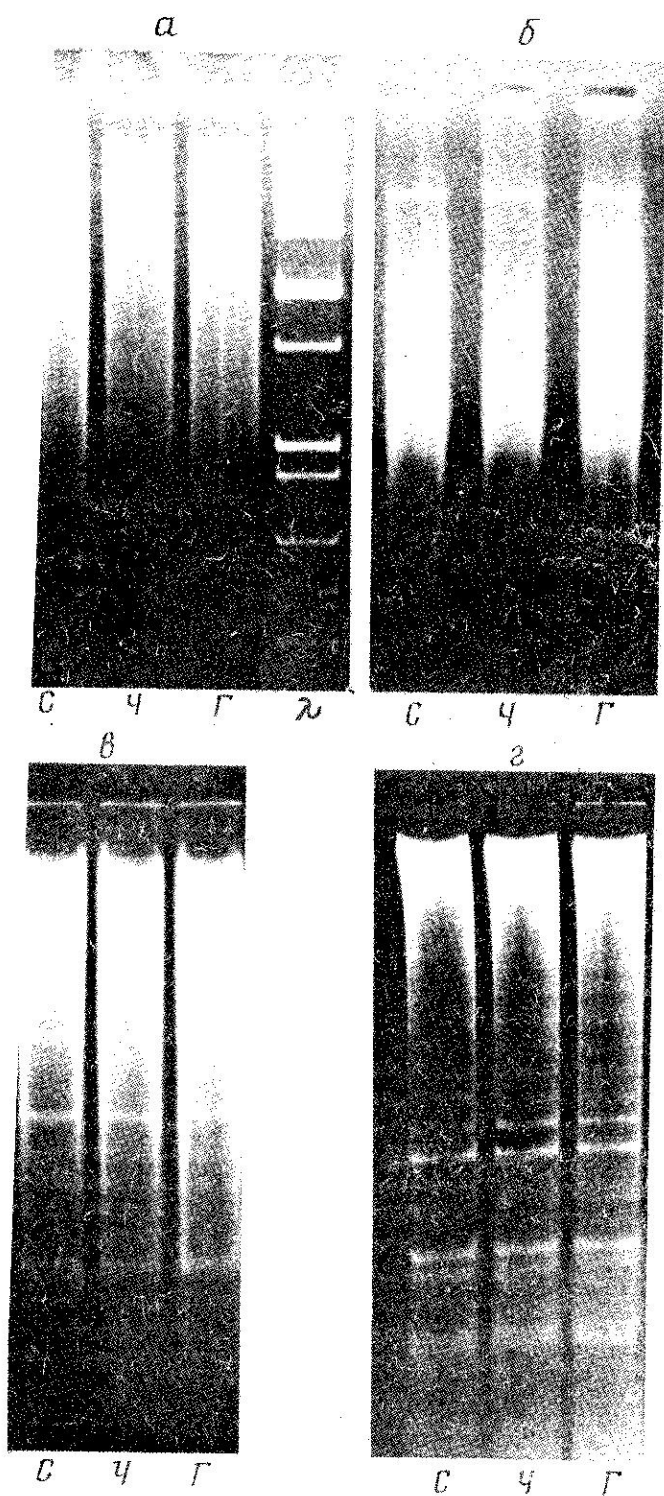


Рис. 1. Электрофорез в 1%-ном агарозном (*а*), 3,5%-ном (*б—г*) полиакриламидном гелях яДНК серой (*С*), черной (*Ч*) ворон и их гибридов (*Г*), гидролизованной рестриктазами *Sau3a* (*а, б*), *AluI* (*в*) и *BspRI* (*г*). *λ* — *PstI*-гидролизат ДНК фага лямбда

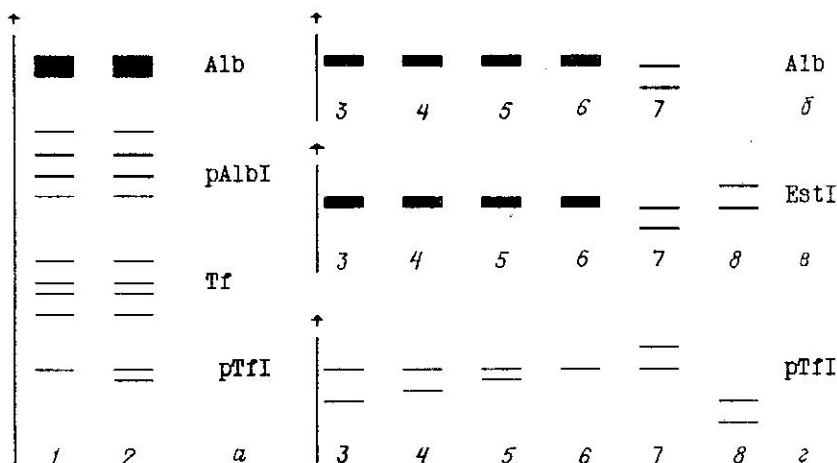


Рис. 2. Электрофоретические варианты белков сыворотки крови серой, черной ворон и их гибридов: а — спектр общего белка, б — альбумины при разведении 1:15, в — эстеразы, г — посттрансферрины; 1—6 — варианты белков, встречающихся как у «чистых» особей, так и у гибридных; 7, 8 — только у гибридных особей

вательно, базисной последовательностью этого повтора может быть пентануклеотид, подобно тому, как это описано для генома цыпленка [6].

Результаты количественного анализа (микроденситометрии) ДНК, представленной в форме дискретных фрагментов, показали, что для каждой нуклеазы индивидуальная изменчивость количества повторов в геномах фенотипически «чистых» особей обоих родительских видов находится в более узком диапазоне значений, чем в геномах гибридов, и характеризуется разными средними значениями. Так, доля ДНК в дискретных (длинных) *Sau3A*-фрагментах в геномах гибридов несколько выше — 8,1%, а в *BspRI* ниже — 5,4%, чем в родительских, где их содержание равно 7 и 6,5% соответственно. Количество *AluI*-последовательностей в геномах всех ворон составляет около 6,2%. Если указанные нуклеазы выщепляют различные семейства повторов, нами в целом охарактеризовано примерно 19—21% генома ворон. В пересчете на повторяющуюся фракцию ДНК это составляет не менее 70%, так как в геномах птиц содержание повторяющихся последовательностей равно 20—30% [7].

Аналогичные результаты получены с помощью биохимических методов. Фенотипически «чистые» формы ворон по всем исследованным белкам оказались идентичными (рис. 2). Сывороточные эстераза и альбумины представлены у них единственным однополосным вариантом, постальбумины — четырехполосным. Не выявлено также различий по трансферрину, хотя у многих птиц этот белок полиморфен и поэтому широко используется в таксономических исследованиях [7].

Единственным полиморфным белком из числа проанализированных у «чистых» особей оказался белок, мигрирующий за трансферрином и названный посттрансферрин I. Всего выявлено шесть фенотипов рТf, причем четыре из них встречаются как у чистых особей, так и у гибридных, а два — только среди гибридных.

У двух гибридных особей выявлен новый вариант альбумина (см. рис. 2, в7); у двух гибридов также обнаружены новые варианты эстераз I (см. рис. 2, 7, 8). Являются ли новые электрофоретические варианты «гибридами» [9], покажут дальнейшие исследования, так как не исключено, что при увеличении числа точек сбора материала и его объема выявленные особенности гибридных особей будут нивелированы. Постальбумины и трансферрины у гибридов представлены каждый тем же вариантом, что и у родительских форм.

Итак, результаты наших исследований ДНК и аллозимов подтверждают основные принципы организации и экспрессии генома птиц, а также близкое генетическое родство серой и черной ворон. Обнаруженная нами повышенная изменчивость по количеству повторов ДНК и аллозимным спектрам коррелирует с хорошо известным фенотипическим разнообразием гибридов, в том числе и у ворон. Характер и размах такой изменчивости зависят от степени генетического сходства скрещивающихся форм. Так, при скрещивании более отдаленных видов растений и млекопитающих были обнаружены не только выраженные количественные изменения, но и структурные реорганизации повторяющейся ДНК [10—12]. Что касается птиц, то у них генетические дистанции гибридизирующих таксонов ниже, чем для случаев гибридизующих представителей других классов позвоночных [13]. Это, вероятно, определяется значительным отставанием молекулярной эволюции генома птиц от их морфологической и этологической дивергенции [7, 14]. По-видимому, с этим же связан высокий уровень межвидовой гибридизации, достигающий 10% мировой орнитофауны [15]. Вопросы о причинах и биологическом значении повышенной изменчивости гибридов, о роли гибридизации в эволюции, о возможности оценки таксономического ранга скрещивающихся форм представляют несомненный интерес и нуждаются в дальнейшей разработке с применением комплекса современных методических подходов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Крюков А.П., Блинов В.Н. Взаимодействие серой и черной ворон (*Corvus cornix* L., *C. corone* L.) в зоне симпатрии и гибридизации: есть ли отбор против гибридов? // Журн. общ. биологии. 1989. Т. 50. № 1. С. 128—135.
2. Маннати Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 479 с.
3. Челомина Г.Н., Коробицына К.В., Картавцева И.В. Повторяющаяся ДНК, хромосомный полиморфизм и видообразование песчанок // Генетика. 1990. Т. 26. С. 1469—1477.
4. Davis B.J. Disc electrophoresis. II Method and application to human serum proteins // Ann. N.Y.: Acad. Sci. 1964. V. 121. P. 404—427.
5. Gahne B.R., Kumer J., Crolmus J. Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, posttransferrin, albumin, postalbumin in the blood plasma of cattle // Animal Blood Group and Biochemical Genetics. 1977. V. 8. № 3. P. 127—137.
6. Dybvig K., Clark C.D., Aliperti G., Schlesinger M.I. A chicken repetitive DNA sequence that is highly sensitive to singlestrand specific endonucleases // Nucl. Acids. Res. 1983. V. 11. P. 8495—8508.
7. Бириштейн В.Я. Цитогенетические и молекулярные аспекты эволюции позвоночных. М.: Наука, 1987. 284 с.
8. Montag D.G., Dahlgren R.B. Transferrin polymorphism in the Ring-necked Pheasant // Auk. 1973. V. 90. P. 318—323.
9. Woodruff D.S. Genetic anomalies associated with Cerion hybrid zone: The origin and maintenance of new electromorphic variants called hybridzymes // J. Linn. Soc. 1989. V. 36. № 3. P. 281—294.
10. Мирошниченко Г.П., Волков Р.А., Костишин С.С. Дивергенция полинуклеотидных последовательностей ДНК в межвидовых гибридах бобовых // Биохимия. 1983. Т. 53. С. 565—572.
11. Свитаев С.К., Вершинин А.В., Першина Л.А. и др. Анализ гибридных геномов *Hordeum* × *Secale* // Докл. АН СССР. 1988. Т. 298. С. 483—496.
12. Турарбеков М.З., Саитбеков Н.Д., Шубина Е.А. и др. Полиморфные повторяющиеся последовательности ДНК в геномах диких и домашних овец // Докл. АН СССР. 1988. Т. 302. С. 1265—1268.
13. Grudzien T.A., Moore W.S. Genetic differentiation between the Yellow-shafted and Red-shafted subspecies of the Northern Flicker // Biochem. Syst. Ecol. 1986. V. 14. № 4. P. 451—453.

14. Prager E.M., Wilson A.C. Slow evolutionary loss of the potential for interspecific hybridization in birds: a manifestation of slow regulatory evolution // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1975. V. 72. № 1. P. 200—204.
15. Панов Е.Н. Гибридизация и этологическая изоляция у птиц. М.: Наука, 1989. 512 с.

Биолого-почвенный институт
ДВО Российской Академии наук,
Владивосток

Поступила в редакцию
26.VIII.1991

ANALYSIS OF CROW GENOMES (CORVIDAE, PASSERIFORMES)
FROM THE ZONE OF OVERLAPPING AREAS
OF HABITATION AND HYBRIDIZATION

KRYUKOV A.P., UPHYRKINA O.V., CHILOMINA G.N.

*Institute of Biology and Pedology, Russian Academy of Sciences,
Far East Division, Vladivostok*

S u m m a r y

The restriction analysis of nDNA and electrophoretic analysis of serum proteins were performed on the Hooded and Carrion Crows (*Corvus cornix* L., *C. corone* L.) and their natural hybrids. The parental species did not differ. The hybrid forms were characterized by increase in variability of repeated DNA amount in restricted fragments and by some new variants of albumine, posttransferrin and esterase. These results support common principles of molecular organization of geneomes in Aves and their inheritance in hybrids.