

Analiza kariotipa vrste *Rhinolophus euryale* (Chiroptera, Mammalia)

Analiziran je hromozomski komplement vrste Rhinolophus euryale u odnosu na morfologiju hromozoma, distribuciju heterohromatina i položaj nukleolusnog organizatora. Kariotipska determinacija ove vrste upotpunjuje podatke o filogenetskim odnosima u okviru roda Rhinolophus.

Uvod

Rod *Rhinolophus* (familija Rhinolophidae) broji oko 70 vrsta od kojih pet naseljava Evropu. U Petničkoj pećini su zabeležene tri vrste ovog roda: *Rhinolophus euryale*, *Rhinolophus ferrumequinum* i *Rhinolophus hipposideros*. Areal južnog potkovičara (*R. euryale*) ograničen je na južnu Evropu. U Jugoslaviji naseljava pećine i kraška pobrđa (Paunović i Marković 1995).

Za familiju Rhinolophidae karakterističan je varijabilan broj hromozoma, koji se kreće od $2n=54$ do $2n=58$. Najveći broj autozoma je akrocentričnog tipa, a uz jasno diferencirane polne hromozome prisutna su i 2 do 4 para malih metacentričnih hromozoma. Literaturni podaci prikazuju kariotip *R. euryale* sa karakterističnim diploidnim brojem od $2n=58$ hromozoma, pri čemu autori navode različite fundamentalne brojeve (NF=58 i NF=60) (Capanna i Civitelli 1970).

Morfologija kariotipova slepih miševa se razlikuje ne samo u okviru reda, već i u okviru familije i roda. Pojava ovakvih hromozomskih promena objašnjava se čestim hromozomskim rearanžmanima Robertsonovog tipa. Odnos broja hromozoma i njihovih krakova je bitna indicija evolutivnog trenda u kario-sistematici.

Postoji nekoliko studija o evolutivnim promenama kariotipa unutar roda *Rhinolophus* (Capanna 1968), ali u većini studija je primenjena samo tehnika konvencionalnog bojenja hromozoma. Detaljna uporedna analiza kariotipova slepih miševa zahteva diferencionalno bojenje regiona konstitutivnog heterohromatina (C-trake) i nukleolusnog organizatora (NOR).

Andrija Savčić (1976),
Beograd, Skender Begova 11a, učenik 4.
razreda Pete beograd-
ske gimnazije, Beograd

MENTOR:
Olivera Spasić, Institut
za biološka istraživanja
"Šiniša Stanković",
Beograd

Ovaj rad predstavlja prilog poznavanju hromozomskog komplementa slepih miševa i prezentuje podatke koji omogućavaju analizu hromozomskih rearanžmana koji su se odigrali tokom evolucije Rhinolophidea.

Materijal i metode

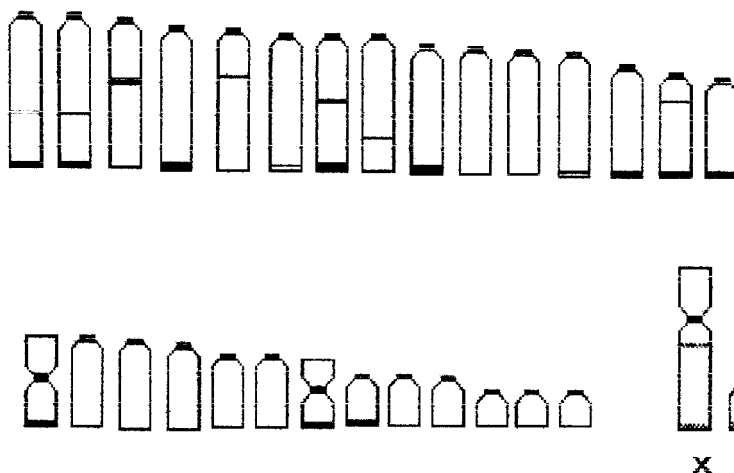
Preparacija hromozoma vršena je na dve jedinke (dva mužijaka) vrste *Rhinolophus euryale* (lokalitet Petnička pećina). Jedan sat pre preparacije jedinke su tretirane citostatikom kolhicinom koncentracije 200 GAMA u količini od 0.3 ml. Preparacija hromozoma iz koštane srži vršena je po standardnoj tehnici (Hsu i Patton 1969). Preparati su sušeni flame-drying postupkom i obojeni 10% GIEMSA-om.

Za izradu C-traka primenjena je modifikovana metoda po Sumner-u (1972): preparati su tretirani zasićenim $Ba(OH)_2$ 30 do 40 sekundi na $43^\circ C$, a zatim inkubirani jedan sat u 2 X SSC na $65^\circ C$ i obojeni 2% GIEMSA-om.

Nukleolusni organizator je markiran primenom standardne tehnike (Howell i Black 1980).

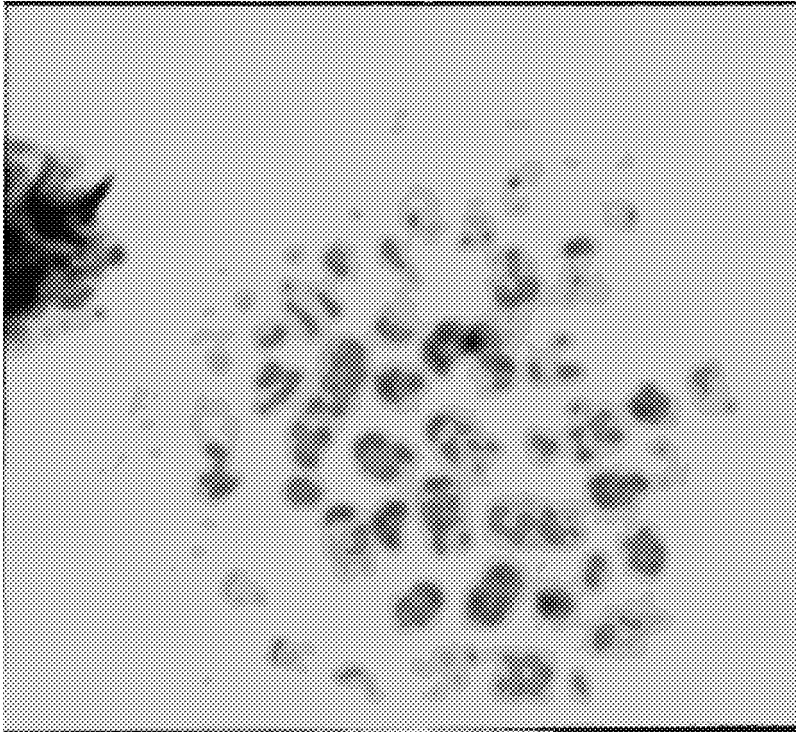
Rezultati i diskusija

Diploidan broj hromozoma vrste *Rhinolophus euryale* iznosi $2n=58$, a fundamentalni broj $NF=60$. Broj akrocentričnih parova hromozoma je 23, a metacentričnih 2, uz jedan par polnih hromozoma i tri para mikrohromozoma. Polni X hromozom je submetacentričan, a Y pripada grupi malih akrocentrika. Ostali hromozomi kariotipa vrste *R. euryale* su izraziti akrocentrici.



Slika 1.
Idiogram kariotipa vrste
Rhinolophus euryale.

Figure 1.
Idiogram of *Rhinolophus*
euryale.



Slika 2.
Rhinolophus euryale,
metafaza obradena
tehnikom C-traka

Figure 2.
Rhinolopus euryale,
methaphase prepared by
C-band technique.

Idiogram kariotipa *R. euryale* prikazan je na slici 1. Većina autozoma poseduje izražene centromerne i telomerne heterohromatinske trake. Za pojedine akrocentrike karakteristične su interkalarne C-trake. Polni Y hromozom je uglavnom heterohromatičan. Nukleolusni organizator je uočen telomerno, na jednom paru iz grupe autozoma srednje veličine, ali njegovu punu identifikaciju nije moguće odrediti zbog nespecifične distribucije C-traka u ovoj grupi hromozoma. Metafazni hromozomi obrađeni tehnikom C-traka prikazani su na slici 2.

Kariotip vrste *R. euryale* se može smatrati primitivnim, jer se sastoji većinom od akrocentrika, što potvrđuje mišljenje nekih taksonoma koji ih svrstavaju u grupu najprimitivnijih slepih miševa (Winge 1941). Ipak, oni su fiziološki visoko specijalizovane životinje pa ih druga grupa autora svrstava na vrh evolutivnog stabla slepih miševa (Dobson 1875).

Distribucija konstitutivnog heterohromatina u centromernom i telomernom regionu hromozoma kariotipa *R. euryale* tipična je za mnoge sisarske vrste.

Kariotip vrste *R. hipposideros* poseduje jedan par velikih metacentričnih autozoma koji je, najverovatnije, nastao fuzijom dva para akrocentrika u kariotipu evolutivnog pretka. Osim toga, u kariotipu vrsta *R.*

ferrumequinum i *R. hipposideros* prisutan je par akrocentrika sa naglašenim satelitima, dok su oni odsutni kod *R. euryale*. Prema tome, vrste *R. ferrumequinum* i *R. hipposideros* moramo svrstati u jednu citotaksonomsku grupu, a *R. euryale* u drugu (Cappana i Civitelli 1970). Takvo citotaksonomsko grupisanje pomaže boljem razumevanju različitih filogenetskih linija unutar roda *Rhinolophus* (Dulić 1968).

Dalja genetička, fiziološka i ekološka istraživanja slepih miševa upotpuniće saznanja o filogenetskim odnosima u okviru ove grupe visoko specijalizovanih organizama.

Zahvalnost: Ovaj projekat je ostvaren u saradnji sa Pecom Trbovićem. On i njemu slični zadužili su nas da nastavimo.

Literatura

- [1] Capanna, E., Civitelli, M. V. 1970. Contributo alla conoscenza della cariolologia dei Rinolofidi (Mammalia, Chiroptera). *Caryologia*, 17: 361-71
- [2] Capanna, E. 1968. Some considerations on the evolution of the karyotype of Microchiroptera. *Experientia*, 24: 624-6
- [3] Dobson, G. E. 1875. Conspectus of the suborders, families and genera of Chiroptera according their natural affinities. *Ann.Mag.Nat.Hist.* (s. 4), 16: 345-57
- [4] Howell, W. M., Black, D. A. 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: 1-step method. *Experientia*, 36: 1014-15
- [5] Hsu, T. C., Patton, J. L. 1969. Bone marrow preparation for chromosome studies. In *Comparative Mammalian Cytogenetics* (ed. K. Benirschke). Springer-Verlag
- [6] Dulić, B. 1968. Kromosomi somatičkih stanica kao indikatori interspecificke srodnosti nekih Rinolofida (Mammalia, Chiroptera). *Biološki glasnik*, 19: 65-9
- [7] Paunović, M., Marković, Z. 1995. Komparativna analiza dijagnostičkih karakteristika južnog *Rhinolophus euryale* Blasius, 1853 i sredozemnog potkovičara *Rhinolophus blasii* Peters, 1866 (Chiroptera, Mammalia) iz Lazareve pećine (Zlot, istočna Srbija). *Naša ekološka istina* 95: 361-5
- [8] Sumner, A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp.Cell Res.* 75: 304-6
- [9] Winge, H. 1941. Fossil and living bats from Laga Santa, Minas Geraes, Brazil, with a review of their interrelationships. E. Museo Lundii, 2 part I (1892). Reprint in *Herluf Winge: The interrelationships of the Mammalian genera* (edited by A. D. S. Jensen, R. Sparck and H. Volsoe). København: Reitzels Forlag

Andrija Savčić

The Analysis of the *Rhinolophus euryale* (Chiroptera, Mammalia) Karyotype

The *Rhinolophus euryale* karyotype was analyzed on the basis of morphology of its chromosomes, distribution of the heterochromatin and position of the nucleolus organizer. The evolutionary rearrangements of the *Rhinolophus* karyotype were also discussed.

