

ПОЛІМОРФІЗМ ЯДЕРЦЕОРГАНІЗУЮЧИХ РАЙОНІВ ХРОМОСОМ БУЙВОЛА РІЧКОВОГО (*BUBALUS BUBALIS* L.)

В. В. Дзіцюк¹, Х. Т. Тупило¹, Ю. В. Гузєєв²
valentynadzitsiuk@gmail.com

¹Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН,
вул. Погребняка, 1, с. Чубинське, Бориспільський р-н, Київська обл., 08321, Україна

²ТОВ «Голосієво»,
с. Гоголів, Броварський р-н, Київська обл., 07452, Україна

У статті викладені результати досліджень ознаки «число ядерцеорганізуючих районів (ЯОР) [nucleolus organizer regions (NOR)] у хромосомах» буйвола річкового (*Bubalus bubalis* L.). У ядерцеорганізуючих районах хромосом наявна рибосомальна РНК (рРНК), асоційована з аргентофільними білками ядерця, які забезпечують синтез білка в соматичних клітинах і впливають на процеси росту й розвитку організму тварин і людини. Інтенсивність фарбування районів ядерцевих організаторів відображає потенційні можливості функціонального стану клітин у сільськогосподарських тварин. Число, розміри і хромосомна локалізація зафарбованих сріблом районів організаторів ядерця є видоспецифічними ознаками.

ЯОР вивчали на препаратах хромосом, які готували за стандартною методикою з лімфоцитів периферійної крові 10 дорослих тварин, які утримуються в господарстві монастиря «Свято-Покровська Голосіївська Пустинь» — ТОВ «Голосієво» (с. Гоголів Броварського р-ну Київської обл.). Фарбування препаратів хромосом з метою виявлення районів ядерцевих організаторів проводили 50 %-ним розчином азотнокислого срібла згідно з рекомендаціями Committee for standardized karyotype of *Bubalus bubalis*, 1994. ЯОР виявляли на теломерах відповідних хромосом як темні цятки.

У результаті досліджень було виявлено активні райони ядерцевих організаторів у шести хромосомах каріотипу досліджених буйволів — 3, 4, 6, 21, 23, 24. Встановили індивідуальну мінливість тварин за числом ЯОР — у метафазних пластинках виявлено від 1 до 12 на клітину, із середнім числом 2,82 у 207 клітинах. Найбільшою є частка метафазних пластинок із двома ЯОР (93 із 208), більш як вдвічі меншою є частка метафаз із трьома ЯОР, по 12% — із одним та чотирма ЯОР. Показано, що Ag-метод фарбування може успішно застосовуватись в цитогенетичних дослідженнях тварин як метод оцінки функціонування генів рРНК для оцінки метаболічної активності організму, швидкої ідентифікації аберацій хромосом, зокрема транслокацій, в які залучені хромосоми з ядерцеорганізуючими районами. Перспективним є дослідження поліморфізму ЯОР сільськогосподарських тварин на молекулярному рівні і співставлення його із показниками їх продуктивності.

Ключові слова: БУЙВОЛ РІЧКОВИЙ, ХРОМОСОМИ, КАРИОТИП, Ag-МЕТОД, ЯДЕРЦЕОРГАНІЗУЮЧІ РАЙОНИ ХРОМОСОМ, МІНЛИВІСТЬ

POLYMORPHISM OF NUCLEUS ORGANIZER REGIONS IN CHROMOSOMES OF RIVER BUFFALO (*BUBALUS BUBALIS* L.)

V. V. Dzitsiuk¹, H. T. Tipilo¹, Yu. V. Huzeyev²
valentynadzitsiuk@gmail.com

¹Institute of Animal Breeding and Genetics named after M. V. Zubets NAAS,
1 Pogrebnyaka str., Chubynske village, Boryspil district, Kyiv region, 08321, Ukraine

²“Golosiyevo” Ltd.,
Gogoliv village, Brovarskyi district, Kyiv region, 07452, Ukraine

In the article the results of researches of “number of nucleolus organizer regions (NOR) in the chromosomes” in river buffalos (*Bubalus bubalis* L.) are expounded. In NOR of the chromosomes there is ribosomal RNA (rRNA) associated with argentophilic nucleus proteins, which provide protein synthesis in somatic cells and affect the processes of growth and development of the organism of animals and humans. The intensity of dyeing areas of nucleolar organizers reflects the potentialities of the functional state of cells in farm animals. The number, size and chromosomal localization of silver-colored areas of the organizers of the nucleolus are species-specific features.

NORs have been studied on preparations of chromosomes, which were prepared according to the standard method of peripheral blood lymphocytes of 10 adult animals kept on the farm of the "Syato-Pokrovska Holosiyivska Pustyn" monastery — Golosiyev Ltd. (Gogoliv village, Brovarsky district, Kyiv region). Coloring of chromosomal preparations in order to detect areas of nucleolar organizers was carried out in 50 % solution of silver nitrate according to the recommendations of the Committee for Standardized Karyotype of *Bubalus bubalis*, 1994. The NORs were detected on the telomere of the corresponding chromosomes as dark spots.

As a result of the research, active regions of the nucleolar organizers in six chromosomes of the karyotype of the investigated buffaloes — 3, 4, 6, 21, 23, 24 — were established. The individual variability of the animals was determined by the number of NORs: in the metaphase plates it was found from 1 to 12 per cell, with an average number 2.82 in 207 cells. The largest part is the proportion of metaphase plates with two NORs (93 out of 208), more than half the proportion of metaphases with three NORs, 12 % with one and four NORs. It has been shown that the Ag-method of dyeing can be successfully applied in animal cytogenetic studies as a method for evaluating the functioning of rRNA genes and metabolic activity of an organism, for the rapid identification of chromosomal aberrations, in particular translocations involving chromosomes with NO-regions. It is promising to study the NOR polymorphism in farm animals at the molecular level and to compare it with the indicators of their productivity.

Keywords: RIVER BUFFALO, CHROMOSOME, CARIOTYPE, Ag-METHOD, NUCLEAR ORGANIZER REGIONS OF CHROMOSOME, PRIVATEITY

ПОЛИМОРФИЗМ ЯДРЫШКООБРАЗУЮЩИХ РАЙОНОВ ХРОМОСОМ БУЙВОЛА РЕЧНОГО (*BUBALUS BUBALIS* L.)

В. В. Дзицюк¹, Х. Т. Тупило¹, Ю. В. Гузеев²
valentynadzitsiuk@gmail.com

¹Институт разведения и генетики животных имени М. В. Зубца НААН,
ул. Погребняка, 1, с. Чубинское, Бориспольский р-н, Киевская обл., 08321, Украина

²ООО «Голосеево»,
с. Гоголев, Броварской р-н, Киевская обл., 07452, Украина

В статье изложены результаты исследований признака «число ядрышкоорганизующих районов (ЯОР) [nucleolus organizer regions (NOR)] в хромосомах» буйвола речного (*Bubalus bubalis* L.). В ЯОР хромосом находится рибосомальная РНК (рРНК), ассоциированная с аргентофильными белками ядрышек, которые обеспечивают синтез белка в соматических клетках и влияют на процессы роста и развития организма животных и человека. Интенсивность окраски районов ядрышковых организаторов отражает потенциальные возможности функционального состояния клеток в сельскохозяйственных животных. Число, размеры и хромосомная локализация окрашенных серебром районов организаторов ядрышка являются видоспецифическими признаками. ЯОР изучали на препаратах хромосом, которые готовили по стандартной методике из лимфоцитов периферической крови 10 взрослых животных, содержащихся в хозяйстве монастыря «Свято-Покровская Голосеевская Пустынь» — ООО «Голосеево» (с. Гоголев Броварского р-на Киевской обл.). Окраску препаратов хромосом с целью выявления районов ядрышковых организаторов проводили 50 %-ным раствором азотнокислого серебра согласно рекомендациям Committee for standardized karyotype of *Bubalus bubalis*, 1994. ЯОР выявили на теломерах соответствующих хромосом как темные пятнышки.

В результате исследований было выявлено активные районы ядрышковых организаторов в шести хромосомах кариотипа исследованных буйволов — 3, 4, 6, 21, 23, 24. Установили индивидуальную изменчивость животных по числу ЯОР: в метафазных пластинках обнаружено от 1 до 12 на клетку, со средним числом 2,82 в 207 клетках. Наибольшей является доля метафазных пластинок с двумя ЯОР (93 из 208), более чем в два раза меньше — доля метафаз с тремя ЯОР, по 12 % — с одним и четырьмя ЯОР. Показано, что Ag-метод окрашивания может успешно применяться в цитогенетических исследованиях животных как метод оценки функционирования генов рРНК и метаболической активности организма, быстрой идентификации aberrаций хромосом, в частности транслокаций, в которые вовлечены хромосомы с ядрышкоорганизующими районами. Перспективным является исследование полиморфизма ЯОР сельскохозяйственных животных на молекулярном уровне и сопоставление его с показателями их производительности.

Ключевые слова: БУЙВОЛ РЕЧНОЙ, ХРОМОСОМЫ, КАРИОТИП, Ag-МЕТОД, ЯДЕРЦЕ-ОРГАНИЗУЮЩИЕ РАЙОНЫ, ИЗМЕНЧИВОСТЬ

Останніми роками в прикладній цитогенетиці разом із класичними підходами цитогенетичного аналізу, які використовуються у цитогенетичному моніторингу сільськогосподарських тварин [17, 22], дедалі більшого значення набуває вивчення функціонального стану окремих систем геному [12]. Сучасні технічні методи (*banding techniques*) підвищують точність аналізу хромосомного набору і забезпечують ідентифікацію специфічних районів хромосом.

Одним із маркерів у цитогенетичних дослідженнях є ядерцеорганізуючий район хромосоми (ЯОР) — ділянка хромосоми, яка є матрицею для синтезу РНК, оскільки в ній локалізовані кластери генів основних складових рибосом — рибосомальної РНК (рРНК).

ЯОР є унікальною моделлю для вивчення структурно-функціональної організації хромосом. Транскрипційна активність цих районів традиційно вивчається на цитологічному рівні за допомогою методу селективного фарбування їх сріблом. Метод фарбування хромосом сріблом (*Ag-banding*) дає змогу візуалізувати активні рибосомальні цистрони і відкриває можливість оцінити їхню роботу безпосередньо на цитологічних препаратах з використанням світлових мікроскопів.

Активність білоксинтезувального апарату клітин визначається транскрипційною активністю ядерцеорганізуючих районів (ЯОР) хромосом. Сумарний розмір AgЯОР хромосом особини, виражений в умовних одиницях, розглядається як критерій активності ЯОР в клітині і є основою для порівняння індивідуальних геномів за цією ознакою (Ag-поліморфізм).

Рибосомальна РНК (рРНК) ЯОР хромосом асоційована з аргентофільними білками, які беруть участь у формуванні ядерця. Таким чином, забезпечуючи синтез рРНК і формування рибосом, ядерця є відповідальними за синтез білка в соматичних клітинах організму тварин і людини. Вважається, що ЯОР через синтез рРНК, яка бере участь в роботі білоксинтезуючого апарату, забезпечує на процеси росту і розвитку організму [14].

Інтенсивність фарбування районів ядерцевих організаторів відображає потенційні можливості клітин синтезувати білки,

свідчить про підвищення їх функціональної активності і підготовці до мітозу і про функціональний стан клітин у сільськогосподарських тварин. Число, розміри і хромосомна локалізація зафарбованих сріблом районів ядерцевих організаторів є видоспецифічними ознаками [14]. Число і розміри ЯОР можуть змінюватись за структурних порушень хромосом.

У наукових публікаціях є лише незначна інформація про функціональний поліморфізм ЯОР в онтогенезі ссавців. Кількісне визначення ЯОР в інтерфазних і метафазних клітинах дозволяє оцінити їх проліферативну активність [4]. Підтверджена теза, що в ході онтогенетичного розвитку організму відбувається зниження індексу ЯОР в інтерфазних ядрах лімфоцитів внаслідок зменшення активності проліферативних і метаболічних процесів в клітинах [14]. Є також припущення, що ЯОР можуть бути маркерами для оцінки продуктивності тварин [1].

Окремі види ссавців суттєво різняться за числом ЯОР і місцем їх локалізації [4, 14, 15]. Число і розміри ЯОР можуть змінюватись за структурних порушень хромосом.

За використання Ag-методу досліджена локалізація ЯОР у хромосомах овець, кіз, великої рогатої худоби [2, 7, 18] і вивчені закономірності їх успадкування.

Метою нашої роботи було вивчення числа ЯОР у хромосомах буйвола річкового (*Bubalus bubalis* L.).

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження була периферійна кров 10 дорослих річкових буйволів, які утримуються в господарстві монастиря «Свято-Покровська Голосіївська Пустинь» — ТОВ «Голосіїво». Підготовка культури лімфоцитів і приготування препаратів хромосом проводилось на базі лабораторії генетики Інституту розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця. Для приготування хромосомних препаратів 0,5 мл цільної гепаринізованої периферичної крові культивували в 5 мл середовища RPMI 1640 (*Sigma*, США) з додаванням конканаваліну (*Sigma*, США) як мітогену, L-глутаміну, антибіотика гентаміцину і фетальної сироватки. Культуру інкубували за 37 °C протягом 48 год.

У кожен культуральну пробірку інокулювали 0,2 мл розчин колхіцину (10мкг/мл) та інкубували ще 2 год. Культуру витримували у гіпотонічному розчині KCl (0,075 M) і фіксували в суміші метанолу й оцтової кислоти (3:1). Клітинну суспензію наносили на чисті вологі предметні скельця, аналізували за допомогою мікроскопа за збільшення у 1000 разів і фотографували. Ідентифікацію хромосом проводили методом диференційного фарбування (*G-banding*) із застосуванням трипсину.

З метою виявлення районів ядерцеорганізуючих районів метафазних хромосом нами проведено їх фарбування нітратом срібла згідно з рекомендаціями Januzzi L. et al. [8]. Процедур фарбування проводили так: на предметне скло капали 0,2 %-ну мурашину кислоту (рН 2,6–2,7) і 50 %-ний розчин AgNO_3 у співвідношенні 1:1. Препарат розміщували в чашці Петрі на зволоженому фільтрувальному папері і витримували в термостаті протягом 5–8 хв. за температури 62 °C. ЯОР виявляли на теломерах відповідних хромосом як темні цятки.

Результати й обговорення

У результаті досліджень було виявлено активні райони ядерцевих організаторів у шести хромосомах каріотипу досліджених буйволів — 3, 4, 6, 21, 23, 24. Ці дані узгоджуються зі стандартною номенклатурою, де зазначено, що в буйвола річкового ЯОР містяться в теломерах шести пар хромосом — 3р, 4р, 6, 21, 23 і 24 [8].

Результати досліджень низки авторів також підтверджують ці дані [10]. Однак наразі

в літературі трапляються розбіжності щодо хромосом 6 у каріотипі буйвола, в якій міститься ЯОР. Окремі автори стверджують про наявність ЯОР в хромосомі 8, а не 6 [3]. Водночас в інших публікаціях L. Iannuzzi et al. наполягають, що ядерцеві організатори буйвола розміщені у великій акроцентричній шостій парі хромосом, а не у восьмій [10]. Результати аналізу каріотипу досліджених нами тварин підтверджують це: ЯОР ми виявили в шостій парі хромосом.

У процесі виконання методики *Ag-banding* виявили, що окремі ділянки хромосом з ЯОР зафарбовувались дуже погано або взагалі не зафарбовувались. Описані випадки зафарбовування лише однієї із сестринських хроматид в хромосомі [20].

Відомо, що число ЯОР генетично детерміноване і є видовою ознакою, водночас існує внутривидова мінливість цієї ознаки. Так, за даними Januzzi L. et al. (1996) число ЯОР ссавців, зокрема у *Bubalus bubalis* L. і *Bos taurus* непостійне і нерідко досягає максимального значення, що дорівнює дванадцяти [9].

Отримані нами результати досліджень виявили індивідуальну мінливість за числом ЯОР у хромосомах: у метафазних пластинках виявлено від 1 до 12 ЯОР на клітину. Найвище середнє число ЯОР у однієї з тварин із групи досліджених становить $7,02 \pm 2,02$, а найменше — $1,76 \pm 0,5$, середнє ж їх число у 208 метафазних клітин становило $2,82 \pm 1,47$ (табл.).

Подібні результати щодо індивідуального поліморфізму за середнім числом ЯОР опубліковані і в літературі. Так, зокрема, індивідуальний поліморфізм у метафазах сви-

Таблиця

Розподіл метафаз з різною кількістю ядерць в хромосомах буйвола річкового
Distribution of metaphases with different number of nuclei in the buffaloes of the river chromosomes

№ тварини Animal number	Число досліджених метафаз The number of studied metaphases	Число ЯОР на клітину The NOR number per cell	Середнє число ЯОР на клітину The average NOR number per cell
1	21	1–4	$3,44 \pm 0,9$
2	13	1–12	$1,24 \pm 0,35$
3	15	2–8	$1,76 \pm 0,5$
4	35	1–7	$4,71 \pm 1,36$
5	11	1–3	$1,97 \pm 0,57$
6	14	2–4	$1,24 \pm 0,35$
7	16	1–12	$1,65 \pm 0,47$
8	24	1–4	$3,88 \pm 1,12$
9	22	1–4	$3,43 \pm 0,99$
10	36	1–4	$7,02 \pm 2,02$

ней раніше відмічала В. Н. Стефанова [20]. Схожий поліморфізм за числом хромосом із активними ЯОР описаний у великої рогатої худоби [10, 11] і в людини [1, 13].

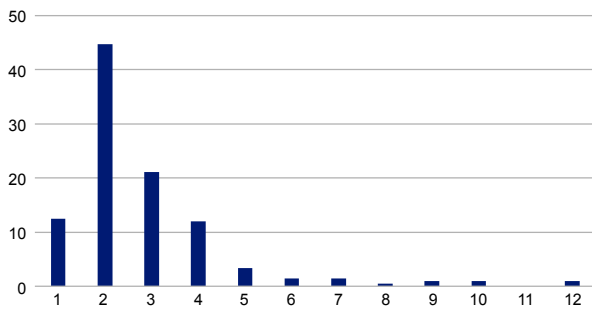


Рис. Розподіл метафаз з різною кількістю ЯОР в хромосомах буйвола річкового (вісь ординат — частка метафазних пластинок у відсотках, вісь абсцис — число метафаз в клітині)

Fig. Distribution of metaphases with different amounts of NOR in the chromosomes of the buffaloes of the river (ordinate axis — fraction of metaphase plates in percent, abscise axis — number of metaphases in a cell)

За даними деяких авторів, найбільше число ядерцеорганізуючих районів хромосом характерно для видів, пристосованих до екологічно складних умов існування [5, 6, 19, 23].

Як видно з рисунку, найбільшою є частка метафазних пластинок із двома ЯОР (93 із 208), більш як вдвічі меншою — частка метафаз із трьома ЯОР, по 12 % становлять частки метафаз із одним та чотирма ЯОР. Клітини з числом ЯОР від 6 і до 12 становлять близько 1 %. За повідомленням [12], існує сильний корелятивний зв'язок між числом кластерів рибосомальних генів і числом клітин із активними ядерцями ($r=0,94$; $p<0,01$). Відомо також, що активність ядерцевих організаторів вірогідно корелює з кількістю зрілої рРНК [16, 21]. Отримані нами результати досліджень демонструють гетерогенність клітин за числом активних ЯОР у різних особин і свідчать про можливість застосування Ag-методу для оцінки стану геному, що узгоджується з висновками інших авторів [9, 11].

Таким чином, метод фарбування ядерцеорганізуючих районів хромосом азотнокислим сріблом може успішно застосовуватись у генетичних дослідженнях тварин як тест для оцінки стану геному, швидкої ідентифікації окремих аберацій хромосом, зокрема транслокацій, в які залучені ядерцеорганізуючі хромосоми.

Висновки

У результаті наших досліджень встановлена індивідуальна мінливість числа ЯОР в клітинах буйвола річкового. Результати проведених нами досліджень і повідомлення інших авторів, які досліджували ЯОР у тварин різних видів, дають підстави припустити, що Ag-фарбування ЯОР у ссавців можна використовувати як метод оцінки функціонування генів рРНК.

Перспективи подальших досліджень.

Перспективним є дослідження поліморфізму ЯОР сільськогосподарських тварин на молекулярному рівні і співставлення його з показниками їх продуктивності.

1. Babu K. A., Verma R. S. Structural and Functional Aspects of Nucleolar Organizer Regions (NORs) of Human Chromosomes. *International Review of Cytology*, 1985, vol. 94, pp. 151–176. DOI: 10.1016/S0074-7696(08)60396-4.
2. Berardino D. D., Arrighi F. E., Kieffer N. M. Nucleolus organizer regions in two species of *Bovidae*. *Journal of Heredity*, 1979, vol. 70, issue 1, pp. 47–50. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jhered.a109187.
3. Berardino D., Lioi M. B., Iannuzzi L. Identification of Nucleolus Organizer Chromosomes in Cattle (*Bos Taurus* L.) by Sequential Silver Staining + Rba Banding. *Caryologia International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cyto genetics*, 1985, vol. 38, no. 1, pp. 95–102. DOI: 10.1080/00087114.1985.10797734.
4. Buchinskaya L. G., Polishchuk L. Z. The regions of the nucleolar organizer in endometrial cells with glandular hyperplasia and cancer. *Experimental Oncology*, 2001, vol. 23, no. 9, pp. 157–160. (in Russian)
5. Dubrova A. N. Nucleolus organizers of chromosomes as an adaptive element of the species *Zhurn. total biol.*, 1989, vol. 50, no. 2, pp. 213–217. (in Russian)
6. Grafodatsky A. S. Comparative cytogenetics of three canine species (*carnivora, canidae*). Messaging III: Distribution of nucleus-forming regions. *Genetics*, 1983, vol. 19, no. 5, pp. 778–783.
7. Henderson L. M., Bruère A. N. Conservation of nucleolus organizer regions during evolution in sheep, goat, cattle and aoudad. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 1979, vol. 21, no. 1, pp. 1–8. DOI: 10.1139/g79-001.
8. Iannuzzi L. (coordinator). Standard Karyotype of the river buffalo (*Bubalus bubalis* L., $2n=50$). Report of the committee for the standardization of banded karyotypes of the river buffalo. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 1994., vol. 67, issue 2, pp. 102–113. DOI: 10.1159/000133808.
9. Iannuzzi L., Di Meo G. P. Chromosomal evolution in bovids: a comparison of cattle, sheep and goat G- and R-banded chromosomes and cytogenetic diver-

gences among cattle, goat and river buffalo sex chromosomes. *Chromosome Research*, 1995, vol. 3, issue 5, pp. 291–299. DOI: 10.1007/BF00713067.

10. Iannuzzi L., Di Meo G. P., Perucatti A. Identification of nucleolus organizer chromosomes and frequency of active NORs in river buffalo (*Bubalus bubalis* L.). *Caryologia. International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, 1996, vol. 49, issue 1, pp. 27–34. DOI: 10.1080/00087114.1996.10797347.

11. Kiseleva T. Yu., Yakovlev A. F., Smirnov A. F. On the polymorphism of the activity of the regions of the nucleolar organizer of chromosomes in various cattle breeds. *Agricultural Biology*, 1985, no. 4, pp. 100–107. (in Russian)

12. Klenovitsky P. M., Iolchiev B. S., Zhilinsky M. A., Bagirov V. A., Onkorova N. T., Grishin V. N. Analysis of nucleoli in intact lymphocytes of peripheral blood of various mammalian species. *Achievements of science and technology of the APK*, 2015, no. 12, pp. 92–94. (in Russian)

13. Liapunova N. A., Kravets-Mandron I. A., Tsvetkova T. G., Cytogenetic of nucleolar organizer regions (NOR) of human chromosomes: identification of four morphofunctional variants of NOR, their inter-individual and inter-chromosomal distribution. *Genetica*, 1998, vol. 34, no. 9, pp. 1298–1306.

14. Loginov S. I., Semenova O. N., Ilyushina N. I. Quantitative analysis of nucleolar-forming regions of chromosomes in cattle in normal and pathological conditions. *Siberian messenger of agricultural sciences*, 2004, no. 3, pp. 103–106. (in Russian)

15. Mellink C. H. M., Bosma A. A., De Haan N. A., Macdonald A. A. Numerical variation of nucleolus organizer regions after silver staining in domestic and wild Suidae (Mammalia). *Animal Genetics*, 1994, vol. 23, issue 3, pp. 231–239. DOI: 10.1111/j.1365-2052.1992.tb00135.x.

16. Morton C. C., Brown J. A., Holmes W. A., Nance W. E., Wolf B. Stain intensity of human nucleolus organizer region reflects incorporation of uridine in to mature ribosomal RNA. *Experimental Cell Research*, 1983, vol. 145, issue 2, pp. 405–413. DOI: 10.1016/0014-4827(83)90019-8.

17. Orlov V. N., Bulatova N. Sh. *Comparative cytogenetics and cariosystematics of mammals*. Moscow, Nauka, 1983, 406 p. (in Russian)

18. Pathak S., Kieffer N. M. Sterility in hybrid cattle. *Cytogenetic and Genome Research*, 1979, vol. 24, no. 1, pp. 42–52. DOI: 10.1159/000131355.

19. Proskuryakova A. A., Kulemzina A. I., Perelman P. L., Serdukova N. A., Ryder O. A., Graphodatsky A. S. The Case of X and Y Localization of Nucleolus Organizer Regions (NORs) in *Tragulus javanicus* (*Cetartiodactyla*, *Mammalia*). *Genes (Basel)*, 2018, vol. 9, issue 6, p. E312. DOI: 10.3390/genes9060312.

20. Stefanova V. N. Quantitative characterization of the nucleolus-forming regions of pig chromosomes. *Bul. VNIIRGZH, L.-Pushkin*, 1983, vol. 67, pp. 6–10. (in Russian)

21. Stent G., Kalider R. *Molecular genetics*. Moscow, Mir, 1986, 415 p.

22. Yakovlev A. F. *Cytogenetic evaluation of breeding animals*. Moscow, Agropromizdat, 1985, 256 p. (in Russian)

23. Zhidenova A. N., Kochneva M. L., Kulikova S. G. Environmental aspects of the study of polymorphism of the nucleolus-forming regions of chromosomes in cattle. Strategy for the development of zootechnical science: mes. report International scientific-practical conf., dedicated. 60th anniversary of livestock. *Sciences of Belarus*, Minsk, 2009, pp. 55–56. (in Russian)