

© А.Ю. ЛЕВЫХ, О.Н. ЖИГИЛЕВА

aljurlev@mail.ru

УДК 591.151

БИОХИМИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПОПУЛЯЦИЯХ МЕЛКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

АННОТАЦИЯ. В работе представлены результаты исследования белкового полиморфизма в популяциях четырех видов мелких млекопитающих из лесостепной зоны Тюменской области. Методом электрофореза в полиакриламидном геле у всех видов выявлена сезонная (межгодовая), возрастная, межполовая изменчивость частот генов и генотипов полиморфных белковых локусов.

SUMMARY. The article presents results of an investigation into protein polymorphism in populations of four species of small mammals living in the Tyumen Region forest steppe zone. With the help of electrophoresis in polyacrylamid gel, the author detected seasonal (interannual), age- and gender-related variability in gene frequency and polymorphic protein loci genotypes.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА. Популяция, полиморфизм, локус, генотип, электрофорез.
KEY WORDS. Population, polymorphism, locus, genotype, electrophoresis.

Популяции мелких млекопитающих достаточно изучены в отношении регулярных изменений параметров белкового полиморфизма, происходящих в экологически и эволюционно нестабильных биоценозах на фоне периодических колебаний их численности [1]. Однако стремительно прогрессирующая антропогенная трансформация экосистем, приводящая к разрушению и ускоренной перестройке популяционной структуры многих видов организмов, обуславливает необходимость долговременного слежения за состоянием популяционных генофондов, оценки и прогнозирования их динамики во времени и в пространстве, определения пределов допустимых изменений [2], [3]. Это и определило цель данной работы: изучение генетической структуры популяций у четырех самых массовых в северной лесостепи Тюменской области видов мелких млекопитающих: красной полевки (*Clethrionomys rutilus*), узкочерепной полевки (*Microtus gregalis*), полевой мыши (*Apodemus agrarius*) и обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*). Для этого методом вертикального электрофореза в 7,5% полиакриламидном геле провели анализ полиморфных белковых локусов. Материалом для работы послужили животные, отловленные в течение летних сезонов 1998-1999 гг. на территории Ишимского (окр. д. Сеницино, окр. г. Ишима) и Омутинского (окр. д. Журавли) районов. Первые два района исследования расположены на расстоянии 16 км друг от друга, а третий — удален от них на 170 км. В окр. д. Сеницино и окр. д. Журавли сбор материала производили в пойменных биотопах, в окр. г. Ишима — на суходольном лугу, старой залежи, опушке искусственного сосняка с мертвым растительным покровом вблизи автомагистрали. Электрофоретический анализ

проводили на кафедре экологии и генетики Тюменского государственного университета. Для этого использовали камеру конструкции К.А. Трувеллера и Г.Н. Нефедова (1974) [4]. Растворы и буферные смеси готовили по стандартным методикам [5], [6]. По каждому локусу подсчитывали частоты различных аллелей и оценивали гетерозиготность.

В ходе исследования мы выявили существенную *сезонную (хронографическую) изменчивость* частот аллелей, а по отдельным локусам и изменение гетерозиготности по годам. При этом наряду с видоспецифическими особенностями хронографической изменчивости параметров белкового полиморфизма проявились общие закономерности: 1) в 1999 г. на фазе подъема численности популяций повышается частота редких аллелей, и они «появляются» в анализируемой выборке, вызывая «качественные» изменения аллельного состава отдельных локусов; 2) изменяются частоты наиболее распространенных аллелей; 3) в 1999 г. снижается гетерозиготность особей по многим вовлеченным в исследования локусам, что, может быть результатом дрейфа генов на фазе низкой численности популяций в 1998 году.

Только в двух случаях: в журавлевской выборке красной полевки и ишимской выборке полевой мыши отмечено достоверное увеличение гетерозиготности по локусу эстеразы 1 (Est1) в 1999 году. Это согласуется с данными Смита с соавторами (Smith, Garten, Ramsey, 1975), которые указывают на положительную связь между уровнем гетерозиготности по локусу Est1 и плотностью популяций белоногого хомячка и пенсильванской полевки [7].

Полученные результаты согласуются также с данными о снижении частоты минорного аллеля на фазе низкой плотности популяции [8]. Однако появление ряда «редких» аллелей в 1999 г., вероятно, связано не только с увеличением их частоты в популяции на фазе подъема численности, а с увеличением объема анализируемой выборки. В нашем исследовании из-за низкой численности мелких млекопитающих в 1998 г. объем анализируемых выборок не превышает 21 особи. По Л.А. Животовскому (1991) минимальный объем выборки, в которой с вероятностью 0,95 присутствуют все аллели, с частотой 0,10 равен 52, а минимальный объем выборки, в которой с той же вероятностью присутствуют все аллели с частотой 0,04 равен 152.

Сказанное позволяет предположить, что появление в 1999 г. аллелей A, B, C локуса эстеразы мышц (Estm1) и аллелей B1, B2 локуса малатдегидрогеназы (Mdh) в выборках из разных популяционных групп красной полевки; аллелей D локуса Estm2 и B1 локуса Mdh в синицинской выборке узкочерепной полевки; аллеля F' локуса Estm1 в журавлевской выборке обыкновенной бурозубки связано с увеличением объема выборок. Вместе с тем, наличие аллеля F' локуса Estm3 при разном объеме выборки во все годы исследования в журавлевской популяционной группе красной полевки и отсутствие этого аллеля в синицинской и ишимской популяциях, вероятно, указывает на качественные межгрупповые различия.

В целом хронографические изменения частот аллелей анализируемых локусов и гетерозиготности особей по отдельным локусам очень существенны и достигают межпопуляционного уровня. Наиболее значимая межгодовая изменчивость параметров белкового полиморфизма выявлена у лесного вида — красной полевки (табл. 1).

Таблица 1

Хронографическая изменчивость частот аллелей полиморфных белковых локусов у красной полевки

| аллели | Синицыно | | Ишим | | | Журавли | | t |
|---------|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|--|---------|
| | 1998 | 1999 | 1998 | 1999 | 1998 | 1999 | | |
| Est-m 1 | | | | | | | | |
| F | n=7 0,2±0,13 | n=54 0,4±0,03 | n=17 0,24±0,07 | n=18 0,39±0,08 | n=15 0,3±0,08 | n=27 0,23±0,04 | | 0,74 |
| S | 0,8±0,13 | 0,49±0,03 | 0,76±0,07 | 0,61±0,08 | 0,7±0,08 | 0,35±0,05 | | 3,69*** |
| A | 0 | 0,03±0,01 | 0 | 0 | 0 | 0,11±0,03 | | 3,51** |
| B | 0 | 0,07±0,02 | 0 | 0 | 0 | 0,24±0,04 | | 5,74*** |
| C | 0 | 0,04±0,01 | 0 | 0 | 0 | 0,08±0,03 | | 2,94** |
| H | 0,4±0,22 | 0,48±0,07 | 0,47 | 0,44 | 0,33±0,12 | 1,0±0 | | 5,48*** |
| Est-m 2 | | | | | | | | |
| F | 0,5±0,16 | 0,56±0,06 | 0,46±0,1 | 0,86±0,07 | 0,88±0,08 | 0,78±0,06 | | 0,94 |
| S | 0,5±0,16 | 0,44±0,06 | 0,54±0,1 | 0,14±0,07 | 0,12±0,08 | 0,22±0,06 | | 0,94 |
| H | 1,0±0 | 0,1±0,05 | 0,62 | 0,27 | 0,25±0,15 | 0,28±0,09 | | 0,17 |
| Est-m 3 | | | | | | | | |
| F | 0,5±0,13 | 0,53±0,05 | 0,47±0,09 | 0,82±0,07 | 0,31±0,09 | 0,48±0,07 | | 1,48 |
| F' | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,23±0,08 | 0,1±0,04 | | 1,35 |
| S | 0,5±0,13 | 0,47±0,05 | 0,53±0,09 | 0,18±0,07 | 0,46±0,1 | 0,42±0,07 | | 0,37 |
| H | 0,71±0,17 | 0,48±0,07 | 0,71 | 0,36 | 0,46±0,14 | 0,46±0,1 | | 0,02 |
| My 2 | | | | | | | | |
| A | 0,58±0,14 | 0,59±0,05 | 0,32±0,09 | 0,69±0,08 | 0,5±0,1 | 0,57±0,07 | | 0,62 |
| B | 0,42±0,14 | 0,41±0,05 | 0,68±0,09 | 0,31±0,08 | 0,5±0,1 | 0,43±0,07 | | 0,62 |
| B | 0,17±0,15 | 0,19±0,06 | 0,21 | 0,49 | 0,54±0,14 | 0,19±0,07 | | 2,25 |
| H | | | | | | | | |
| AAT | 0,5±0,13 | 0,54±0,05 | 0,68±0,08 | 0,64±0,08 | 0,73±0,08 | 0,58±0,07 | | 1,48 |
| A | 0,5±0,13 | 0,46±0,05 | 0,32±0,08 | 0,36±0,08 | 0,27±0,08 | 0,42±0,07 | | 1,48 |
| B | 0,14±0,13 | 0,3±0,06 | 0,53 | 0,33 | 0,27±0,11 | 0,38±0,1 | | 1,48 |
| H | | | | | | | | 0,79 |
| Mdh | | | | | | | | |
| A | 0,71±0,12 | 0,34±0,05 | 0,5±0,09 | 0,71±0,08 | 0,47±0,09 | 0,53±0,09 | | 0,46 |
| B | 0,29±0,12 | 0,17±0,04 | 0,5±0,09 | 0,29±0,08 | 0,52±0,07 | 0,48±0,07 | | 0,46 |
| B | 0 | 0,32±0,05 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| B1 | 0 | 0,17±0,04 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| B2 | | | | | | | | 0 |
| H | 0,57±0,19 | 0,43±0,07 | 0,53 | 0,12 | 0,27±0,11 | 0,52±0,1 | | 1,69 |

Примечание: A, B, C, F, S — аллели; H — гетерозиготность; * — различия достоверны при P≤0,05; ** — при P≤0,01; *** — P≤0,001.

В литературе есть указания на *возрастные изменения параметров белкового полиморфизма*. Анализ динамики частот аллелей исследуемых белковых локусов в ряду поколений (сеголетки и зимовавшие в выборке одного года, или сеголетки разных лет) и внутри одного поколения, (выборки прибылых зверьков 1998 г. и зимовавших 1999 г.) показал наличие генетических различий между разными поколениями мелких млекопитающих. Однако эти различия обусловлены почти исключительно изменчивостью частот аллелей и, следовательно, не превышают популяционного уровня (табл. 2). Возрастные различия параметров белкового полиморфизма в пределах одного поколения значительно меньше таковых между поколениями. У самок возрастные изменения биохимических показателей выражены в меньшей степени, чем у самцов. Это согласуется с данными о большей стабильности частот генотипов у самок по сравнению с самцами [9-11].

В наших исследованиях практически не подтвердились выводы о повышении уровня гетерозиготности особей в старших возрастных классах [12]. Только в одном случае перезимовавшие зверьки отличались достоверно более высокой гетерозиготностью, чем молодые: в синицинской выборке красной полевки 1999 года.

В большинстве локальных популяционных групп изучаемых видов отмечены значимые *межполовые различия* по параметрам белкового полиморфизма. В выборке красной полевки из окр. д. Синицино самцы достоверно отличаются от самок более низкими частотами аллеля F локуса эстеразы 1 (Est1) (соответственно $0,33 \pm 0,04$; $0,47 \pm 0,05$; $t=2,13$, при $P \leq 0,05$) и аллеля В локуса миогена 2 (My2) (соответственно $0,26 \pm 0,06$; $0,57 \pm 0,07$; $t=3,1$ при $P \leq 0,01$), а также более высокой частотой аллеля А локуса My2 (соответственно $0,73 \pm 0,06$; $0,43 \pm 0,07$; $t=3,1$ при $P \leq 0,01$). В ишимской выборке красной полевки между самцами и самками различий по частотам исследуемых аллелей и гетерозиготности не обнаружено. В то же время в журавлевской выборке частота аллеля F локуса Est1 (соответственно $0,17 \pm 0,04$; $0,36 \pm 0,05$; $t=2,71$, при $P \leq 0,05$) у самцов более, чем в два раза ниже, а частота аллеля В того же локуса (соответственно $0,20 \pm 0,04$; $0,09 \pm 0,03$; $t=2,07$, при $P \leq 0,05$) выше, чем у самок.

У узкочерепной полевки межполовые сравнения по параметрам белкового полиморфизма проводились лишь в ишимской выборке, так как материал из других районов исследования был немногочисленным. В этой популяционной группе самцы значимо отличаются от самок частотами аллелей А2 (соответственно $0,19 \pm 0,04$; $0,39 \pm 0,04$; $t=3,69$, при $P \leq 0,001$), В1 ($0,39 \pm 0,05$; $0,23 \pm 0,04$; $t= 2,77$, при $P \leq 0,001$) локуса малатдегидрогеназы 1 (Mdh1) и аллелей В1 ($0,54 \pm 0,07$; $0,34 \pm 0,06$; $t=2,07$, при $P \leq 0,05$), В2 ($0,46 \pm 0,06$; $0,66 \pm 0,06$; $t=2,07$, при $P \leq 0,05$) локуса малатдегидрогеназы 2 (Mdh2).

У полевой мыши сравнивались самцы и самки синицинской и ишимской популяционных групп. В синицинской выборке значимые межполовые различия обнаружены по аллелям А (самки: $0,72 \pm 0,08$; самцы: $0,39 \pm 0,08$; $t=2,89$, при $P \leq 0,01$) и В (самки: $0,28 \pm 0,08$; $0,61 \pm 0,08$; $t=2,89$, при $P \leq 0,01$) локуса миогена My2, в ишимской — по аллелям F (самки: $0,50 \pm 0,07$; $0,71 \pm 0,06$; $t=2,31$, при $P \leq 0,05$) и S (самки: $0,50 \pm 0,07$; $0,29 \pm 0,06$; $t=2,31$, при $P \leq 0,05$) локуса эстеразы мышц 2 (Estm2). Ишимские самцы характеризуются также более высокой, чем самки гетерозиготностью по локусу Estm2 (соответственно $0,42 \pm 0,10$; $0,14 \pm 0,07$; $t=2,39$, при $P \leq 0,05$).

У обыкновенной бурозубки наиболее представительной для межполового сопоставления оказалась журавлевская выборка, в которой самцы и самки достоверно различаются частотами аллелей S (соответственно $0,61 \pm 0,08$; $0,33 \pm 0,08$; $t=2,53$, при $P \leq 0,05$) и F' (0 и $0,10 \pm 0,08$; $t=2,53$, при $P \leq 0,05$) локуса эстеразы мышц Estm1.

Таким образом, уровень межполовых различий по параметрам белкового полиморфизма у всех изученных видов значительно ниже уровня возрастных и хронографических различий.

В качестве наиболее вероятных механизмов возникновения внутривидовых межполовых различий в параметрах белкового полиморфизма А.С. Голубцов (1988) называет зависящую от пола дифференцированную выживаемость особей с различными генотипами по белковым локусам, а также не случайное по отношению к генотипам белковых локусов и к полу особей перераспределение животных в пространстве. У обыкновенной бурозубки в связи с многофакторным определением пола определенную роль в формировании частотных различий в параметрах белкового полиморфизма между полами может играть сцепление анализируемых белковых локусов с отдельными детерминирующими пол особи наследственными факторами [1; 13].

Итак, проведенные исследования показали, что в популяциях мелких млекопитающих из лесостепной зоны Тюменской области проявляется значительный биохимический полиморфизм. Частоты аллозимов маркируют различные возрастные, половые группы животных и характеризуют хронографическую изменчивость генетической структуры популяций. Генетическая структура исследованных популяций мелких млекопитающих динамично изменяется по годам. Уровень хронографических изменений параметров белкового полиморфизма сопоставим с межвидовыми генетическими различиями и существенно выше уровня возрастных и межполовых различий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голубцов А.С. Внутривидовая изменчивость животных и белковый полиморфизм. М.: Наука, 1988. 168 с.
2. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: Академкнига, 2003. 431 с.
3. Алтухов Ю.П. Динамика популяционных генофондов при антропогенном воздействии. М.: Наука, 2004. 619 с.
4. Трувеллер К.А., Нефедов Г.Н. Многоцелевой прибор для вертикального электрофореза в параллельных пластинах полиакриламидного геля // Науч. докл. высш. шк. Биол. науки. 1974. Т. 9. № 129. С. 137-140.
5. Маурер М. Диск-электрофорез. М.: Мир, 1971.
6. Корочкин Л.И., Серов О.Л., Пудовкин А.И. и др. Генетика изоферментов. М.: Наука, 1977. 275 с.
7. Smith, M.H., Garten, C.T., Ramsey, P.R. Genic heterozygosity and population dynamics in small mammals // Isozymes. Vol. 4. Genetics and evolution / Ed. C.L. Markert. N.Y. Ect.: Acad. Press, 1975. P. 85-102.
8. Nygren, J. Allozyme variation in natural populations of field vole (*Microtus agrestis* L.). III. Survey of a cyclically density-varying population // Ibid. 1980. V. 93. № 1. P. 125-136.

9. Алтухов Ю.П., Варнавская Н.В. Адаптивная генетическая структура и её связь с внутривидовой дифференциацией по полу, возрасту и скорости роста у тихоокеанского лосося — нерки *Oncorhynchus nerca* (Walb.) // Генетика. 1983. Т. 19. № 5. С. 796-807.

10. Коваль Л.И. Внутривидовая дифференцировка ставриды *Trachurus symmetricus trachurus* по фенотипам эстераз // Внутривидовая дифференциация морских промысловых рыб и беспозвоночных. Калининград: НИИ Атлант НИРО. 1984. С. 82-89.

11. Ильин И.И., Голубцов А.С. Электрофоретический анализ изоферментов суаероксиддисмутазы и октанолдегидрогеназы в скрещиваниях ротана *Perccottus glehni* Dub. Сообщение 1. Наследование электроморф и зависимость выживаемости от генотипов особей // Генетика. 1985. Т. 21. № 9. С. 1542-1547.

12. Keith, T.P., Tamarin, R.H. Genetic and demographic differences between dispersers and residents in cycling and noncycling vole populations // *Ibid.* 1981. V.62. №4. P. 713-725.