



УДК 575.113.2

Генетическая изменчивость в популяциях ондатры (*Ondatra zibethica*), акклиматизированной на юге Западной Сибири, по данным изоферментного и ISSR-PCR анализа

О. Н. Жигилева, Д. А. Юрченко

Тюменский государственный университет, Тюмень
E-mail: zhigileva@mail.ru

Аннотация. Представлены данные о генетической структуре и уровне изменчивости трех популяций ондатры, обитающей на юге Омской и Тюменской областей.

Ключевые слова: генетическая изменчивость, ондатра, аллозимные маркеры, ПЦР, гетерозиготность, Западная Сибирь.

Введение

Грызуны *Ondatra zibethica*, происходящие от единой, генетически однородной партии зверьков из Канады и прошедшие процесс акклиматизации в нашей стране, представляют большой интерес в изучении степени генетического разнообразия популяций. Одним из мест, где была проведена акклиматизация ондатры, была Тюменская область, в Омской области была проведена акклиматизация ранее интродуцированных популяций ондатры из Тюменской области. Исследование изменчивости и генетического разнообразия внутривидовых группировок ондатры имеет важное значение как для понимания закономерностей эволюции, так и для решения вопросов, связанных с охраной и рациональным использованием ресурсов этого ценного промыслового вида.

Материалы и методы

Отлов грызунов проводился в октябре 2008 г. на юге Омской области на оз. Шоптыкуль и в Викуловском районе Тюменской области на р. Ишим при помощи капканов и металлических морд. Всего было отловлено 50 особей ондатры: 30 – в Омской и 20 – в Тюменской области. Отлов ондатры в Викуловском районе был осуществлен Д. В. Лаптевым. Для сравнения использовали данные по 40 экз., отловленным на оз. Зверином и оз. Яровском Р. В. Гольштейном в Армизонском районе Тюменской области в 1999 г. Озера Армизонского района бессточные, зарастающие, хлоридно-натриевого типа. Озеро Шоптыкуль является типичным для лесостепной зоны, постепенно

заболачивающимся водоемом, бессточное, соленое, с площадью водного зеркала около 23 км². Прибрежная полоса сильно заросла тростником.

Для исследования генетической изменчивости применяли стандартный метод электрофореза белков в полиакриламидном геле, с использованием трис-ЭДТА-боратной буферной системы (рН = 8,0) и гелевой трис-ЭДТА-боратной системы (рН = 8,6) [2] и метод полимеразной цепной реакции на последовательности, ограниченные простыми повторами (ISSR-PCR) [4; 5]. Для электрофореза использовали мышцы. Для экстрагирования белков применяли стандартную методику с применением трис-HCl буфера: мышцы оттаивали, гомогенизировали, центрифугировали при 3 тыс. об./мин. в течение 30 мин, из полученной надосадочной жидкости отбирали 25 мкл и смешивали с равным объемом 40%-ного раствора сахарозы, подкрашенного бромфеноловым синим. Электрофорез проводили в камерах для вертикального электрофореза фирмы «Хеликон» при напряжении 200 В в течение 2,5 ч, силе тока <80 мА. Гистохимическое выявление аспартаминотрансферазы (ААТ), лактатдегидрогеназы (LDH), супероксиддисмутазы (SOD), неспецифических эстераз (Est), белков мышц (My) проводили по методике Л. И. Корочкина с соавт. [1]. ДНК выделяли из проб мышечной ткани сердца, фиксированной в 96%-ном этаноле, методом щелочного лизиса [3]. Для ISSR-PCR анализа использовали пять праймеров состава (AG)₈C, (TC)₈C, (CA)₈G, (GT)₈C, (AG)₈T. Полимеразную цепную реакцию проводили в

25 мкл реакционной смеси, содержащей 1 мкл раствора тотальной ДНК, 1х ПЦР-буфер, 2 мМ MgCl₂, 0,25 мМ каждого dNTP, 1 мМ праймера, 2,5 ед. Taq-полимеразы на амплификаторе «Терцик» (ДНК-Технология) в режиме: денатурация – 7 мин при 94 °С, затем 40 циклов: денатурация – 30 с при 94 °С, отжиг – 45 с при 52 °С, элонгация – 2 мин при 72 °С. ISSR-PCR-продукты анализировали с помощью электрофореза в 2%-ном агарозном геле, содержащем 0,5 мкг/мл бромистого этидия в 1хTBE – буфере, и фотографировали в УФ-свете. В качестве маркера молекулярной массы использовался гидролизат ДНК фага λ. По электрофореграммам составляли бинарные матрицы, где присутствие полосы обозначалось «1», отсутствие – «0». При подсчете фрагментов учитывались все визуально детектируемые полосы.

Результаты и обсуждение

В популяции ондатры с использованием метода электрофореза изучен белковый полиморфизм по 12 локусам, из которых полиморфными оказались в викуловской и армизонской 5 локусов, в омской – 7 (табл. 1).

При сравнении частот генов ондатр Армизонского и Викуловского районов обнаружены достоверные различия по локусам Est-2 и My-1. По остальным локусам генные частоты совпадают. Между армизонской и омской популяциями выявлены различия по Est-3 и My-1. Между викуловской и омской различаются частоты генов трех локусов неспецифических эстераз. По генотипическим частотам зафиксированы достоверные различия по всем изученным локусам. Различия по аллозимным марке-

рам носят количественный, а не качественный характер. Распределение частот генотипов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга во всех изученных группах ондатры.

Средняя гетерозиготность в тюменских и омской популяциях ондатры достоверно не различается и варьирует от 0,106 до 0,158. Доля полиморфных локусов по 95%-ному критерию составила 0,455 в армизонской, 0,417 в викуловской и 0,583 в омской популяциях ондатры. Более высокий уровень полиморфности и ожидаемой гетерозиготности в омской популяции ондатры может быть обусловлен ростом численности этой популяции, отмечаемой в год исследования. Хотя омская популяция ондатры является потомком тюменских, в ней не наблюдается эффекта основателя и сужения генетической изменчивости. Это может быть обусловлено тем, что она была сформирована на основе нескольких группировок особей, взятых из разных районов.

Спектры продуктов амплификации показали уникальный тип распределения амплифицированных фрагментов для каждого праймера. Число полос в ISSR-паттернах варьировало от 1 до 6, общее количество составило 26. Среднее количество полос по разным праймерам варьировало от 1,58±0,19 до 3,75±0,17. Установлено статистически достоверные количественные различия по двум праймерам (AG)₈T и (GT)₈C между викуловской и омской популяциями (табл. 2). Также выявлены уникальные для отдельных популяций фрагменты в спектрах, полученных с использованием праймера (GT)₈C.

Таблица 1

Сравнительная характеристика белкового полиморфизма ондатры из популяций юга Тюменской и Омской областей (количество локусов)

| Кодируемые ферменты и белки | Локус | Армизонская популяция | Викуловская популяция | Омская популяция |
|-----------------------------|-------|-----------------------|-----------------------|------------------|
| Неспецифические эстеразы | Est | 1М, 2П(2) | 1П(3), 2П(2) | 3П(2) |
| Супероксиддисмутаза | Sod | – | 2М | 1М, 1П(2) |
| Аспаратаминотрансфераза | Aat | 1П(2) | 1М | 1П(2) |
| Миогены | My | 3М, 2П(2) | 3М, 2П(2) | 3М, 2П(2) |
| Лактатдегидрогеназа | Ldh | 1М | 1М | 1М |
| Общее число локусов | | 11 | 12 | 12 |
| Число полиморфных локусов | | 5 | 5 | 7 |

Примечание: М – мономорфный локус, П – полиморфный локус, в скобках указано количество аллелей

Таблица 2

Полиморфизм ДНК-маркёров в популяциях ондатры

| Праимер состава | Викуловская популяция | | Омская популяция | |
|---------------------|-----------------------|------------|------------------|-----------|
| | Количество полос | | Количество полос | |
| | min-max | среднее | min-max | среднее |
| (CA) ₈ G | 2-4 | 2,91±0,28 | 2-5 | 2,31±0,42 |
| (TC) ₈ C | 1-5 | 3,54±0,39 | 2-5 | 3,75±0,17 |
| (AG) ₈ T | 2-4 | 3,80±0,14• | 2-4 | 2,12±0,47 |
| (AG) ₈ C | 1-4 | 2,86±0,29 | 2-4 | 2,35±0,37 |
| (GT) ₈ C | 1-3 | 1,58±0,19• | 2-6 | 2,76±0,47 |

Примечание: • – различия между пунктами статистически достоверны (P<0,05)

Генетический полиморфизм оценивался как суммарная доля ISSR-признаков, по которым наблюдается изменчивость, от их общего числа. Доля полиморфных локусов составила 0,769 в викуловской и 0,923 в омской популяции.

Заключение

Обитающие на юге Западной Сибири популяции ондатры имеют достаточно высокий уровень генетического полиморфизма. Доля полиморфных локусов по аллоферментам составляет 42–58 %, по ISSR-PCR маркёрам – 77–92 %. Омская популяция ондатры имеет более высокий уровень полиморфизма по сравнению с популяциями юга Тюменской области. Ондатры Армизонского, Викуловского районов Тюменской и юга Омской областей достоверно отличаются по частотам генов и генотипов полиморфных белковых локусов и принадлежат к разным популяциям. Генетическая структура всех изученных популяций ондатры равновесна.

Литература

1. Генетика изоферментов / Л. И. Корочкин [и др.]. – М. : Наука, 1977. – 278 с.
2. Маурер Г. Диск-электрофорез. Теория и практика электрофореза в ПААГ / Г. Маурер. – М. : Мир, 1971. – 243 с.
3. Bender W. Chromosomal walking and jumping to isolate DNA from Ace and rosy loci of bithorax complex in *Drosophila melanogaster* / W. Bender, S. Pierre, D. S. Hognes // J. Mol. Biol. – 1983. – Vol. 168. – P. 17–33.
4. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers / J. G. K. Williams [et al.] // Nucl. Acids Res. – 1990. – Vol. 18. – P. 6531–6535.
5. Zietjiewicz E. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification / E. Zietjiewicz, A. Rafalski, D. Labuda // Genomics. – 1994. – Vol. 20. – P. 176–183.

Genetic variability in populations of *Ondatra zibetica*, acclimatized in the South of West Siberia, based on izozyme and ISSR-PCR analysis data

O. N. Zhigileva, D. A. Yurtshenko

Tyumen State University, Tyumen

Abstract. The article presents data on genetic structure and the level of variability in three populations of *Ondatra zibethica*, habited in the South of Omsk and Tyumen regions.

Key words: genetic variability, *Ondatra zibethica*, izozyme markers, PCR, heterozigosity, West Siberia.

Жигилева Оксана Николаевна
Тюменский государственный университет
625043, г. Тюмень, Пирогова, 3
доцент
тел. (3452) 35–19–44
E-mail: zhigileva@mail.ru

Zhigileva Oxana Nikolaevna
Tyumen State University
3 Pirogov St., Tyumen, 625043
ass. prof.
phone: (3452) 35–19–44
E-mail: zhigileva@mail.ru

Юрченко Дмитрий Анатольевич
Тюменский государственный университет
625043, г. Тюмень, Пирогова, 3
студент
E-mail: dim7728@yandex.ru

Yurtshenko Dmitry Anatoljevitch
Tyumen State University
3 Pirogov St., Tyumen, 625043
student
E-mail: dim7728@yandex.ru