

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ ЭКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

На правах рукописи
УДК 591.5:599.323.4

ГУЛЯЕВА Ирина Павловна

АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ СЕРЫХ И ЛЕСНЫХ ПОЛЕВОК
ПО ПОЛИМОРФНОЙ ТРАНСФЕРРИНОВОЙ СИСТЕМЕ

03.00.16 - экология

Автореферат диссертации на
соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Свердловск - 1984

Диссертационная работа выполнена в Институте экологии растений и животных Уральского научного центра АН СССР

Научный руководитель – доктор биологических наук, старший научный сотрудник Сюзюмова Л.М.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор Токтосунов А.Т.
кандидат биологических наук, доцент Марвил А.М.

Ведущая организация – Московский ордена Ленина и Трудового Красного Знамени государственный университет им. М.В.Ломоносова.

Захита состоится "24" апреля 1984 г. в 13 час. на заседании специализированного совета Д 002.05.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук при Институте экологии растений и животных Уральского научного центра АН СССР по адресу: 620008, г.Свердловск, ГСП 511, ул. 8-я Марты, 202.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР.

Автореферат разослан "19" марта 1984 г.

Ученый секретарь
специализированного совета,
кандидат биологических наук

М.Г.Нифонтова

М.Г.Нифонтова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Изучение закономерностей, управляющих жизнью популяций, является одной из основных задач экологических исследований. Проблемы внутривидовой и межвидовой дифференциации и микрозволюции, изучение механизмов регуляции популяционных процессов и поддержания гомеостаза популяций решаются на современном уровне с широким привлечением данных по наследственной изменчивости природных популяций в пространстве и во времени (Алтухов и др., 1983; Воронцов и др., 1978; Картавцев и др., 1983; Орлов, 1970; Nevo , 1978 и др.). В последнее время серьезное внимание уделяется исследование связи генетических изменений с динамикой экологической структуры популяций (Шварц, 1969; Krebs, Muettgert, 1974; Semeonoff, Robertson , 1968; Tamarin, Krebs , 1969 и др.). С.С. Шварц (1969) указывал на большую роль экологических закономерностей поддержания генетического разнообразия популяций, а также экологических механизмов преобразования генетической структуры популяций и эволюции. Он отмечал огромное практическое значение изучения зависимости между экологической и генетической структурой популяции для разработки методов управления генетическими преобразованиями популяций.

При изучении наследственной изменчивости популяций большое значение имеет полиморфизм ферментов и неферментативных белков, которые, будучи прямыми продуктами генов, адекватно характеризуют их изменчивость. В практике экологических исследований при анализе наследственной изменчивости популяций широко используется полиморфная трансферриновая система сыворотки крови (Воронцов и др., 1983; Журкевич и др., 1978; Половинкина, Фомичева, 1977; Половинкина и др., 1983; Manwell, Baker , 1970 и др.). Это обусловлено распространенностью полиморфизма трансферрина (Tf) среди позвоночных животных, относительной простотой его изучения с помощью со-

временных методов электрофореза, а также подверженностью системы полиморфизма Tf силам отбора (Frelinger, 1972; Gaines et al., 1978; Hergenreder, 1970 и др.). Широкое распространение среди позвоночных полиморфизма Tf многие исследователи связывают с важными функциями этого белка - переносом ионов железа для построения молекул гемоглобина, а также его высокой антибактериальной активностью.

Но как указывает ряд авторов (Кирпичников, 1979; Manwell, Baker, 1970 и др.), ввиду недостаточной изученности кажущаяся простота изменчивости Tf часто вводит исследователей в заблуждение и ведет к ошибочной интерпретации данных. Характерная для Tf многокомпонентность подчас маскирует отсутствие истинной генетической изменчивости этого белка или же приводит к неверным оценкам реально существующей наследственной изменчивости популяций и видов по Tf (Biggers, Dawson, 1971; Dobrowolska, Chabros, 1978; Manwell, Baker, 1970; Spooner, Baxter, 1969). Это обосновывает необходимость более подробного изучения изменчивости трансферриновой системы на многочисленных представителях мелких млекопитающих с учетом их видовых, популяционных, возрастных и физиологических особенностей.

Цель и задачи исследования. Основной целью работы явилось широкое исследование изменчивости белка сыворотки крови Tf в популяциях ряда видов серых и лесных полевок в соответствии с экологическими параметрами популяций (поло-возрастным составом, особенностями пространственного распределения, фазами цикла динамики численности), а также в плане анализа межпопуляционных и межвидовых различий. Особое значение придавалось исследованию впервые обнаруженной нами нетипичной изменчивости Tf , наиболее ярко выраженной у рыжей и красной полевок.

Задачи исследования были следующими: I. характеристика и сравнение ряда видов и популяций серых и лесных полевок по измен-

чивости Tf ; 2. изучение связи между изменчивостью Tf и физиологическим состоянием особей – исследование фенотипической изменчивости Tf у самок при беременности; 3. изучение сезонной динамики изменчивости популяций по Tf ; 4. исследование влияния пульсаций численности популяций на генетическую структуру популяций по Tf ; 5. изучение половых различий по изменчивости Tf в популяции; 6. исследование связи между возрастной структурой, генетическим составом популяций по изменчивости Tf .

Научная новизна. Осуществлено широкое комплексное сравнение пяти видов двух родов полевок по изменчивости Tf . Определено влияние ряда экологических факторов среды, а также экологические параметры изученных популяций: пространственная структура популяций, их полово-возрастной состав, фазы цикла динамики численности на динамику структуры по Tf . Показано, что отдельные поколения полевок отличаются друг от друга генетически по Tf и изменения генетической структуры популяции по Tf связаны с изменением возрастной структуры популяции. Это свидетельствует об экологической детерминации генетических изменений в популяции. Обнаружен ранее не известный у животных тип изменчивости Tf , связанный с беременностью.

Научное и практическое значение. Показана возможность использования системы полиморфизма Tf в качестве характеристики межвидовой, межпопуляционной и внутрипопуляционной изменчивости леоных и серых полевок. Обосновывается необходимость строгого учета экологических параметров среды и исследуемых популяций: сезона исследования, возрастного состава, фазы численности популяции, физиологического состояния особей, в том числе беременности. Минимальный необходимый для оценки наличия полиморфизма Tf в популяции размер выборки определен в несколько десятков особей, а не в несколько особей, как еще подчас практикуется. Работа вносит

вклад в проблему изучения зависимости между экологической и генетической структурой популяций, которая имеет большое практическое значение для разработки методов управления генетическими преобразованиями популяций. Предложено усовершенствование ряда биохимических методик в практике полевых экологических исследований и использование биохимического метода в оценке репродуктивной нагрузки популяции.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на пленуме Центрального Совета ВТО (Свердловск, 1980), на Всесоюзной конференции по экологической генетике (Кишинев, 1981), на III съезде ВТО (Москва, 1982), на трех зональных конференциях.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 16 работ.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 147 страницах, содержит 8 рисунков, 28 таблиц и состоит из введения, шести глав, выводов и списка цитированной литературы (222 ссылки).

ГЛАВА I. СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА О ПОЛИМОРФИЗМЕ БЕЛКОВ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

Дается обзор литературы о полиморфизме белков в природных популяциях животных.

ГЛАВА 2. ТРАНСФЕРРИН КАК ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ПРИ ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

По литературным данным обсуждается использование трансферринов в качестве генетических маркеров при эколого-генетических исследованиях.

ГЛАВА 3. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В период 1976-1980 гг. исследованы природные популяции пяти видов двух родов полевок: узкочерепной полевки, Средний Урал,

$n=559$; полевки-экономки, Средний Урал, $n=105$; рыжей полевки, Южный и Средний Урал, $n=360$; красной полевки, Южный и Северный Урал, $n=42$; красно-серой полевки, Южный и Северный Урал, $n=18$. Кроме того, изучено 119 особей узкочерепной полевки и 9 особей красной полевки из лабораторных колоний. Всего обследовано 1209 полевок. Животных отлавливали с помощью живоловушек и ловчих сосудов.

Определение возраста полевок для выделения возрастных групп и отдельных генераций проводилось с привлечением метода морфофункциональных индикаторов (Шварц и др., 1968) комплексным методом (Оленев, 1979). При этом анализировались следующие показатели: вес тела, возрастные изменения зубов для корнезубых, вес семеников, индексы сердца, печени, надпочечников, тимуса, вес и число эмбрионов, число питен и групп пятен в рогах матки, состояние линьки.

Отловы проводились три раза в год: весной (апрель-май, перезимовавшие животные), в первой половине лета (июнь-начало июля, перезимовавшие и сеголетки первых генераций) и осенью (октябрь-начало ноября, в большинстве сеголетки по последних генераций). Для биохимических исследований сыворотки крови у животных брались из шейных соудов или из сердца. Часть животных была обследована приживленно. При этом брали несколько капель крови из хвостовой вены подевок. В полевых условиях сыворотку сохраняли в замороженном состоянии в запаянных ампулах в сосудах Дьюара с сухим льдом. Разделение белков сыворотки осуществлялось в лабораторных условиях методом вертикального диск-электрофореза в трубках с полиакриламидным гелем по методике Л. Орнштейна (Ornstein, 1960) и Б. Дэвиса (Davis, 1960). Белки сравнивались и характеризовались на основании их относительной электрофоретической подвижности. Для идентификации зон I_f использовалась железосвязывающая окрашивающая система по методу Д. Мюллера и др. (Muller et al., 1962).

Специальными экспериментами была определена пригодность выбранных режимов и сроков хранения проб сыворотки для получения стабильных показателей электрофоретических исследований.

Статистическая обработка материала проводилась с использованием критерия Стьюдента (Урбах, 1964), критерия "хи-квадрат" (Рокицкий, 1973) и показателя сходства "г" (Животовский, 1979).

ГЛАВА 4. АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ УЗКОЧЕРЕПНОЙ ПОЛЕВКИ И ПОЛЕВКИ-ЭКОНОМКИ ПО ПОЛИМОРФНОЙ ТРАНСФЕРРИНОВОЙ СИСТЕМЕ В РАЗНЫХ ФАЗАХ ЦИКЛА ДИНАМИКИ ЧИСЛЕННОСТИ

4.1. Характеристика популяции узкочепрой полевки. Обследованы колонии, расположенные на полянах, в зарослях кустарников, общей площадью 3 га, по левому берегу реки Пышма. Мечение и повторный отлов зверьков показали, что это не отдельные колонии-изоляты, а система диффузных поселений, связанных постоянной миграцией зверьков в единую популяцию.

4.2. Компонентный состав и генетический полиморфизм трансферрина у узкочепрой полевки. В популяции выявлен полиморфизм трансферрина. Обнаружены три различные при электрофорезе формы трансферрина, обозначенные нами в порядке уменьшения подвижности А, В и С. Каждая особь имела одну или две из таких форм (рис. I).

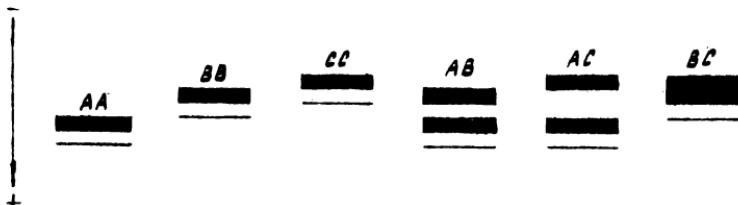


Рис. I Схема генотипов трансферрина узкочепрой полёвки.

Обнаружены 3 аллеля и все шесть возможных генотипов. Аллели А и С (частоты 0.572 и 0.385) и генотипы AA, AC и CC распространены в популяции. Аллель В (частота 0.043) и генотипы AB, BC и

ВВ – редкие. Анализ потомства (24 помёта, $n=100$) при контрольных скрещиваниях в лаборатории (20 пар) показал, что аллели Tf кодоминантны и наследуются в одном аутосомном локусе.

4.3. Изменения генетической структуры по трансферрину популяции узкочерепной полевки в разных фазах цикла динамики численности. Полный цикл динамики численности популяции включал фазу роста, при которой за сезон размножения 1976 г. число полевок увеличилось с 340 особей/га в апреле до 840 особей/га в октябре. К июню 1977 года популяция достигла максимума численности – 1300 особей/га, но уже во второй половине лета этого года отмечалось сокращение численности полевок. Далее за период с октября 1977 г. по май 1978 г. произошел резкий – почти в десять раз – спад численности. Депрессия, несмотря на начало размножения, сохранялась с весны до первой половины лета 1978 г.

Анализ генетической структуры популяции по полиморфной трансферриновой системе проводился в последовательном ряду поколений: перезимовавшие – сеголетки I-й генераций – сеголетки последних генераций, "уходящие на зимовку" – и снова перезимовавшие, но уже следующего года. Динамика генетической структуры показана на таблице I и рисунке 2. В фазе роста и первой половине фазы пика численности (июнь 1977 г.) генетический состав популяции существенно не менялся (табл. I). К концу фазы пика, в группе "уходящих на зимовку" животных последних генераций (октябрь 1977 г.) по сравнению с перезимовавшими этого же года произошло достоверное изменение генетической структуры ($\chi^2=9.74$, $P<0.025$); уменьшение доли особей с генотипом AA ($t=3.11$, $P<0.01$) и увеличение – с генотипом AC ($t=2.0$, $P<0.05$). Распределение частот генотипов в этой группе значимо отклонялось от ожидаемого на основании закона Харди-Вайнберга и выражалось в избытке гетерозигот ($\chi^2=6.76$, $P<0.01$). Это свидетельствовало об увеличении генетической

Таблица I

Динамика генетической структуры по трансферрину

в популяции узкочерепной полевки

Фаза цикла динамики численности	Генерация и год исследования	Частота генотипов				
			n	AA	CC	AC : AB : BC : BB
Подъём	Перезимовавшие, 1976	74	0.405	0.122	0.392	0.081
	Сеголетки первых генераций, 1976	41	0.341	0.146	0.439	0.073
Пик	Сеголетки последних генераций, 1976	58	0.310	0.155	0.483	0.052
	Перезимовавшие, 1977	95	0.347	0.126	0.442	0.084
	Сеголетки первых генераций, 1977	52	0.308	0.192	0.481	0.019
	Сеголетки последних генераций, 1977	81	0.148	0.185	0.593	0.074
Депрессия	Перезимовавшие, 1978	94	0.277	0.138	0.415	0.170
	Сеголетки первых генераций, 1978	64	0.391	0.141	0.406	0.063

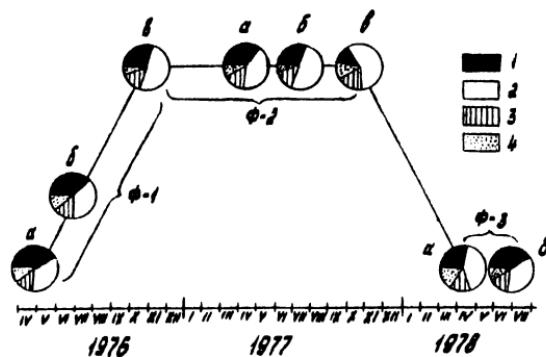


Рис. 2. Динамика генетической структуры по Tf популяции узкочерепной полевки в разных фазах цикла динамики численности.

Обозначения: Ф-1 - подъём, Ф-2 - пик, Ф-3 - депрессия численности; а - перезимовавшие, б - сеголетки первых генераций, в - сеголетки последних генераций; доля особей с генотипом Tf : I - AA, 2 - AC, 3 - CC, 4 - AB, BC и BB.

разнородности популяции.

Резкий спад численности с осени 1977 г. до весны 1978 г. сопровождался достоверными изменениями генетической структуры популяции. Они произошли в группе перезимовавших 1978 г. При сравнении их со структурой сеголеток последних генераций 1977 г. ($\chi^2 = 9.87$, $P < 0.025$): отмечено увеличение доли особей с генотипом AA ($t=2.1$, $P < 0.05$) и с генотипами, содержащими редкий аллель B ($t=1.97$, $P < 0.05$), уменьшением — о генотипом AC ($t=2.36$, $P < 0.05$). От осени к весне полевки не размножаются, следовательно, это те же животные и наблюдаемые изменения — результат отбора, эффективность которого обнаруживается в течение жизни одного поколения. Изменение генетического состава популяции свидетельствует о дифференцированной смертности особей разных генотипов. Примечательно, что оно произошло не у тех животных, которые подверглись действию повышенной плотности, а у их потомков — в следующем поколении.

У сеголеток I-х генераций 1978 г. при депресии численности прослежено полное восстановление первоначального генетического состава популяции по Tf, наблюдавшегося в группе перезимовавших 1976 г. Таким образом, цикл динамики численности популяции сопровождался циклическим изменением ее генетической структуры по Tf с возвратом последней к исходному уровню. Следовательно, несмотря на резкие колебания численности, популяция способна поддерживать постоянство своего генетического состава. Отбор в течение короткого времени исправляет возникшие нарушения. Эти результаты могут свидетельствовать о стабильности популяции и наличии давления стабилизирующего отбора по локусу Tf.

4.4. Сезонные изменения генетической структуры по Tf в популяции узкочерепной полевки. В ходе размножения популяции, в течение лета в ряду от перезимовавших к сеголеткам I-х генераций и

далее к сеголеткам последних генераций, "уходящим на зимовку" (табл. I, рис. 3), отбор благоприятствовал аллелю С и генотипам АС и СС, концентрации которых к осени увеличивались как в год нарастания численности, так и в год пика. Концентрации аллеля А и генотипа AA при этом, соответственно, уменьшались. В течение зимних периодов происходили обратные изменения.

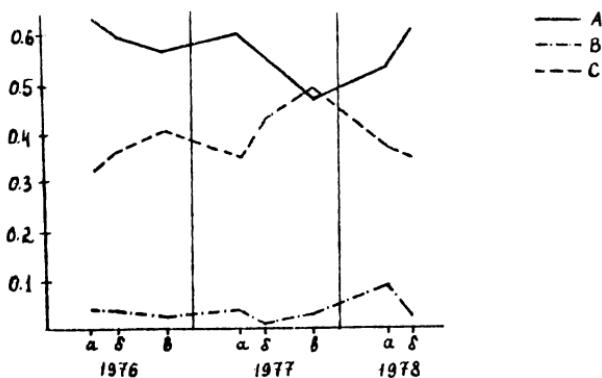


Рис. 3. Динамика частот аллелей Tf в популяции узкочерепной полевки: группы: а - перезимовавшие; б - сеголетки первых генераций; в - сеголетки последних генераций.

Изменения частот Tf в год депресии численности, в целом такие же, как в зимний период. Они противоположны тем, которые наблюдались в сезоны размножения в год роста и пика численности.

Отмеченные сезонные изменения генетического состава популяции, надо полагать, являются результатом закономерного изменения направления отбора при изменении условий среды. Эти, по существу, гомеостатические преобразования генетической структуры создают предпосылки для процветания популяции в колеблющихся условиях среды.

4.5. Особенности динамики генетического состава популяции по Tf отдельно у самцов и самок. Достоверные различия генетичес-

кой структуры по Tf между полами наблюдалась в группах перезимовавших 1977 г. ($r=0.955$, $I=8.47$, $P<0.05$) и 1978 г. ($r=0.949$, $I=9.29$, $P<0.05$). Осенью, у уходящих на зимовку животных эти различия не были достоверны. Можно предположить, что зимний отбор действует на оба пола дифференцированно.

У самцов изменения генетической структуры по Tf были более регулярны и носили сезонный характер: частота генотипа AA от весны (перезимовавшие) к осени (сеголетки последних генераций) уменьшалась, а генотипа AC – увеличивалась (табл. 2). За зимние периоды происходили обратные изменения.

У самок (табл. 3) генетические изменения в год нарастания численности не наблюдались. Они имели место только в год пика численности и были гораздо более глубокими, чем у самцов. От перезимовавших к сеголеткам последних генераций произошли достоверные изменения ($r=0.930$, $I=13.6$, $P<0.01$): высокозначимое уменьшение концентрации генотипа AA ($t=3.22$, $P<0.01$) и увеличение – генотипа AC.

Следовательно, у самцов генетическая структура по Tf в большей степени подвержена сезонным колебаниям, тогда как у самок изменения происходят скорее под влиянием повышенной плотности популяции, а не сезонных факторов. Это дает основание полагать, что условия повышенной плотности оказывают действие прежде всего на самок.

4.6. Селективная ценность разных генотипов трансферрина.
Анализ полевых материалов и специальных экспериментов в виварии показал, что плодовитость, соотношение размножающихся и неразмножающихся самок каждого генотипа, структура возрастных групп по Tf во многом зависят от фазы динамики численности.

4.7. Анализ экологической структуры популяции узкочерепной полевки. Осенью в популяции присутствуют сеголетки нескольких ге-

Таблица 2

Динамика генетической структуры по Tf самцов
узкочерепной полевки

Фаза цикла динамики численности	Группа животных и год исследования	h	Частота генотипов			
			AA	CC	AC	AB : BC : BB
Подъем	Перезимовавшие, 1976	42	0.405	0.143	0.357	0.095
	Сеголетки первых генераций, 1976	24	0.292	0.125	0.500	0.083
Пик	Сеголетки последних генераций, 1976	28	0.214	0.179	0.536	0.072
	Перезимовавшие, 1977	48	0.271	0.104	0.479	0.146
	Сеголетки первых генераций, 1977	17	0.294	0.235	0.471	-
	Сеголетки последних генераций, 1977	31	0.161	0.161	0.581	0.097
Депреосия	Перезимовавшие, 1978	56	0.286	0.143	0.356	0.214
	Сеголетки первых генераций, 1978	26	0.385	0.192	0.346	0.076

Таблица 3

Динамика генетической структуры по Tf самок узкочерепной полевки

Фаза цикла динамики численности	'Генерация и год исследования	h	Частота генотипов			
			AA	CC	AC	AB : BC : BB
Подъем	Перезимовавшие, 1976	32	0.406	0.094	0.438	0.063
	Сеголетки первых генераций, 1976	17	0.412	0.176	0.353	0.059
Пик	Сеголетки последних генераций, 1976	30	0.400	0.133	0.433	0.033
	Перезимовавшие, 1977	47	0.426	0.149	0.404	0.021
	Сеголетки первых генераций, 1977	35	0.314	0.171	0.486	0.029
	Сеголетки последних генераций, 1977	50	0.140	0.200	0.600	0.060
Депреосия	Перезимовавшие, 1978	38	0.263	0.132	0.500	0.105
	Сеголетки первых генераций, 1978	38	0.395	0.105	0.447	0.053

нераций в разных количественных соотношениях. Генетическая структура их по Tf изменяется по годам. Так, в год нарастания численности (1976) осенью у III генерации частота генотипа AA была 0.533, а у сеголеток IV генерации – в два раза меньше – 0.257. Частота гетерозигот AC, наоборот, у III генерации понижена (0.333) по сравнению с IV генерацией (0.514). В год максимальной численности осенью 1977 г. частота гомозигот AA в популяции была существенно понижена, а гетерозигот AC – повышенна. Причем, у сеголеток III генерации частота гомозигот AA была 0.161, а у сеголеток IV генерации – еще ниже, 0.133. Частота гетерозигот AC у III генерации составляла 0.518, а у IV генерации – 0.778. Следовательно, в осенние периоды наблюдалась дифференциация генераций по генетической структуре по Tf. Возможное объяснение этого – разная реакция животных разного возраста на аналогичные изменения условий существования, на что указывал С.С. Шварц (1969).

В фазе пика численности (1977 г.) размножение в популяции закончилось более чем на месяц раньше обычного, была резко снижена интенсивность размножения сеголеток. Состав популяции осенью 1977 г. по количественному соотношению генераций отличался от 1976 г. ($\chi^2=31.19$, $P<0.001$), когда в популяции преобладали младшие возрастные группы: IV генерация – 63%, III генерация – 27%, сеголетки I-х генераций – 10%. Осенью (1977) в популяции преобладала более старшая возрастная группа – III генерация – 68%, IV генерация – 17%, сеголетки I-х генераций – 15%. Ввиду пониженного участия в размножении сеголеток, а также меньшей скорости созревания самцов-сеголеток по сравнению с самками, III генерация в это время на 50% состояла из потомства перезимовавших, на 30% была смешанной по происхождению – от самок-сеголеток, но самцов-перезимовавших и лишь на 20% от сеголеток. Следовательно, в год максимальной численности зимовать пошло в большинстве первое поколение

от перезимовавших, а не второе, как обычно. Связанное с повышенной плотностью изменение интенсивности размножения привело к резкому изменению возрастной структуры популяции.

Наши данные подкрепляют положение С.С.Шварца о том, что все факторы, изменяющие возрастную структуру популяции, должны приводить к изменению ее генетической структуры. Выпадение из размножения значительной доли сеголеток в год пика численности и связанное с этим нарушение возрастной структуры популяции действительно сопровождалось изменением генетической структуры по Tf в группе сеголеток последних генераций. Таким образом, наши данные позволяют говорить об основанной на давлении отбора экологической обусловленности генетических изменений в популяции.

4.8. Динамика полиморфизма Tf в популяции полевки-экономки при изменении численности. Популяция полевки-экономки исследовалась на протяжении 2-х лет по той же схеме, как и узкочерепная полевка. В 1976 г. популяция находилась в фазе высокой численности, в 1977 г. наблюдался спад численности. У полевки-экономки определен 3-аллельный полиморфизм по Tf аллель В - широко распространен в популяции (частота 0.98), аллеи А и С - редкие (частоты по 0.01). Обнаружено всего три генотипа Tf - гомозиготный ВВ (частота 0.962) и два гетерозиготных - ВС и АВ (частоты по 0.019).

В год высокой численности популяции (1976) полиморфизм Tf находился на крайне низком уровне: частота аллеля В - 0.994, аллеля С - 0.006, аллель А в исследованной выборке ($n=80$) не был обнаружен. При переходе от высокой численности к низкой (1977 г.) наблюдалось возрастание концентрации редких аллелей А (0.04) и С (0.02) за счет увеличения частоты гетерозиготных генотипов АВ и ВС: произошло десятикратное увеличение доли гетерозигот от 0.012 до 0.12 ($t=2.13$, $P<0.05$), то есть изменчивость по гену Tf возросла. В популяции узкочерепной полевки при депрессии численно-

ми также наблюдалось увеличение концентрации редкого аллеля В и содержащих его генотипов ($t=1.97$, $P<0.05$). Увеличение концентрации редких аллелей при депреосии численности разных видов полевок можно рассматривать как механизм поддержания генетической разнородности популяции, препятствующий потере популяцией редких аллелей, как свидетельство значительного отбора, действующего по локусу Tf.

Оба года исследования у перезимовавших животных изменчивость по гену Tf была повышена по сравнению с сеголетками, что может быть связано с сезонными перестройками генетической структуры и селективным преимуществом редких аллелей Tf в условиях зимнего отбора.

ГЛАВА 5. ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ Tf У РЫЖЕЙ ПОЛЕВКИ И ДРУГИХ ВИДОВ, СВЯЗАННАЯ С ПОЛОМ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ СОСТОЯНИЕМ ЖИВОТНЫХ

5.1. Характеристика популяций рыжей полевки. Исследованы две популяции: на Южном Урале (Ильменский заповедник) и Восточное Зауралье (Талицкий р-н, Свердловской обл.). Даны их биологическая характеристика.

5.2. Многокомпонентность Tf у рыжей полевки. Характерной особенностью Tf, обнаруженной у всех исследовавшихся видов позвоночных, является его многокомпонентность (Кирпичников, 1979; Maxwell Baker, 1970). Она может быть обусловлена различиями в составе углеводной части этого белка, являющегося, как известно, гликопротеином (Spoener et al., 1977) или же разной степенью насыщения его молекул железом (Lane, 1976). У полевок Tf состоит не менее чем из двух компонентов: основного, мажорного, концентрация которого велика, и дополнительного, минорного, содержание которого в сыворотке крови незначительно. Минорный компонент при электрофо-

рее мигрирует быстрее, чем мажорный (Половинкина, Фомичева, 1977; Журкович и др., 1978). У рыжей полевки мы также обнаружили два компонента Tf, обозначенные нами в порядке уменьшения электрофоретической подвижности маленькими буквами латинского алфавита: "а" - дополнительный, минорный и "г" - основной, мажорный компоненты.

5.3. Изменчивость Tf у рыжей полевки. У части обследованных животных наблюдалось значительное увеличение концентрации дополнительного компонента Tf "а", которая становилась равной концентрации основного компонента "г" (рис. 4).



Рис. 4. Изменчивость трансферрина у рыжей полевки при беременности "ав" и до неё "г".

Tf при этом на электрофорограмме имел вид, характерный для гетерозиготных животных: 2 зоны высокой и равной интенсивности. Эту необычную электрофоретическую форму Tf с равной концентрацией основного и дополнительного компонентов, напоминающую гетерозиготный фенотип, мы обозначили "ав". Типичный для полевок гомозиготный фенотип с высокой концентрацией основного компонента и низкой - дополнительного, обозначен нами как электрофоретическая форма "г". Следовательно, у рыжей полевки наблюдается разное фенотипическое проявление одного и того же мономорфного генотипа по локусу Tf.

Доля особей с электрофоретической формой "ав" в обеих популяциях составляла около 18% ($n=360$). Выявились четкие различия раздельно по полам. Оказалось, что среди обследованных самок ($n=137$) особи с Tf "ав" составляли 40.1%, а среди самцов ($n=177$)

- I.I%. Очевидна связь фенотипа "а^б" с полом, почти исключительная принадлежность его самкам. При анализе данных раздельно по сезонам года выяснило, что самки с электрофоретической формой "а^б" представлены в весенне-летний период (58.8%, $n=90$). В осенне-зимнее время они практически отсутствуют. Было встречено всего две особи с Tf "а^б" из 47-ми обследованных (4.2%).

Анализ репродуктивного состояния животных показал, что форма "а^б", как правило, свойственна самкам, находящимся в состоянии генеративной активности. Среди беременных самок, а также самок, находящихся на иных стадиях генеративной активности, у которых увеличена матка или в ней имеются пятна, желтые тела в яичниках, наблюдается лактация, более 80% особей имели Tf "а^б" ($n=65$). В то же время, среди молодых, неразмножавшихся самок, для которых характерна тонкая, без пятен матка, фенотип "а^б" имело менее 9% особей ($n=79$).

Среди беременных самок ($n=45$) было 84.4% особей с электрофоретическим типом "а^б". Остальные 15.6% беременных самок имели тип "?"; они находились на ранних стадиях беременности, в первой ее трети. Беременные самки с фенотипом "а^б" находились на более поздних стадиях беременности, сроком от 9 до 16 дней. Встречались также беременные самки, электрофоретическая картина Tf которых представляла собой среднее между фенотипами "а^б" и "б" ($n=4$). Их электрофоретический тип Tf обозначен как "промежуточный". Интенсивность зоны "а" у них была гораздо больше, чем это свойственно для электрофоретического типа "б", но слабее, чем характерно для типа "а^б".

Исходя из полученных данных, мы предложили, что электрофоретический тип Tf может изменяться в течение жизни самок за счет изменения концентрации дополнительного минорного компонента "а". Чтобы проверить это предположение, мы проводили прижизненное взя-

тие микролитерий крови для анализа у одних и тех же меченых животных из природных популяций неоднократно на протяжении их жизни с интервалом от нескольких дней до нескольких месяцев и вплоть до года (обследовано 19 самцов и 27 самок). Оказалось, что электрофоретическая картина Tf у самок на протяжении жизни особей действительно могла претерпевать значительные изменения от типа "б" до типа "а б" и наоборот. У самцов в течение жизни постоянно сохранялся один фенотип — "б".

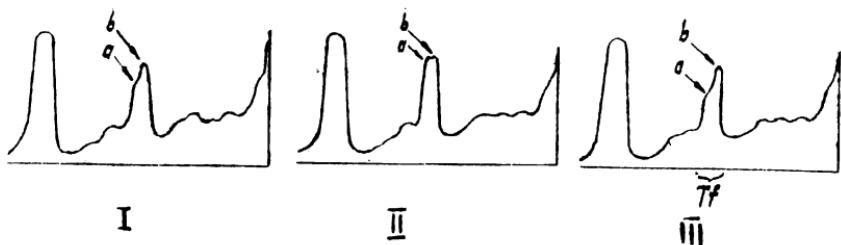


Рис. 5. Пример изменения концентрации дополнительной зоны "а" на денситограммах белкового спектра сыворотки крови у одной и той же самки: I — начало беременности; II — конец беременности; III — период после родов ("б" — основная зона Tf).

У самок электрофоретический тип Tf может полностью меняться в течение 7 дней от типа "б" самок, вероятно находящихся накануне беременности или на начальных стадиях беременности, до типа "а б", формирующегося в ходе развития беременности. Концентрация компонента "а" закономерно нарастала по мере протекания беременности и снижалась после родов (рис. 5). Стало понятно, почему нам встречались, кроме дискретных электрофоретических форм "б" и "а б", промежуточные формы. Это те особи, у которых концентрация компонента "а" находилась в состоянии увеличения или уменьшения, но не достигла еще максимальных или минимальных значений.

В медицинской литературе имеются данные о повышенной потребности в железе (Svanberg, 1975) и увеличении содержания его переносчика, Tf, в крови (Slavin, 1976) во время беременности. У че-

лювека переносчиком железа является именно дополнительный компонент Tf (Yoshioka et al., 1966). Если для полевок справедливы те же закономерности, то увеличение концентрации дополнительного компонента "α" Tf у беременных самок объяснимо. Вероятно, физиологическая потребность в дополнительном компоненте "α" Tf у самок различна в периоды покоя и беременности. Высокая его концентрация, возможно, обеспечивает повышенные потребности в железе беременной самки. Кроме того, Tf связан с бактерицидными свойствами крови (Manwell, Baker, 1970). Наблюдаемые изменения Tf, вероятно, ведут к повышению общей резистентности организма и способствуют успешному воспроизведству популяции.

5.4. Изменчивость Tf у других видов лесных полевок. Аналогичное явление электрофоретической изменчивости Tf при беременности обнаружено нами у другого вида - красной полевки. Генетический полиморфизм Tf у этого вида также не был обнаружен. Напротив, у другого представителя рода лесных полевок, красно-серой полевки, мы обнаружили 2-аллельный генетический полиморфизм Tf со всеми тремя возможными генотипами. Это может свидетельствовать о большей филогенетической близости рыжей и красной полевок и об обособленности от них красно-серой полевки.

Многокомпонентность Tf, затрудняет выявление истинного генетического полиморфизма по гену Tf, особенно при явлении изменения концентрации минорного компонента, отмеченного нами (Гуляева, Оле-нев, 1979). Об этих затруднениях свидетельствуют работы о необычных случаях полиморфизма Tf у грызунов (Biggers, Dawson, 1971; Dobrowolska, Chabros, 1978 и др.). Следует с осторожностью подходить к оценке генетического полиморфизма Tf. С полной достоверностью о наличии полиморфизма по Tf в популяции можно судить только на основе исследования выборки численностью несколько десятков особей, а не неоколько особей. И если картина полиморфизма при

этом типична, то есть присутствуют как гетерозиготы, так и гомозиготы обоих типов. Так как концентрация зон Tf может существенно меняться и заметно искажать картину полиморфизма, который обычно интерпретируется как генетический, при изучении генетической изменчивости популяций по Tf необходимо учитывать физиологическое состояние обследуемых животных, особенно строго во время репродуктивного периода.

ГЛАВА 6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

6.1. Многокомпонентность Tf у полевок и ее связь с репродуктивным состоянием популяции. Подробно рассмотрена в главе 5 – может использоваться для оценки репродуктивных потенций популяции с помощью обследования выборки самок по Tf. Чем выше среди них доля особей с формой "а.в", тем успешнее идет и будет идти размножение в популяции.

6.2. Характер проявления динамического биохимического полиморфизма Tf в популяциях полевок в зависимости от стадий цикла динамики численности и других экологических характеристик популяций. Результаты настоящей работы подтверждают положение С.С.Шверце (1969) о том, что генетический состав различных генераций животных одной популяции может быть различен, не что указывают различия по частотам аллелей и генотипов Tf между перезимовавшими и сеголетками в годы пиков численности у узкочерепной полевки и полевки-экономки, а также между сеголетками III и IV генераций в популяции узкочерепной полевки в осенние периоды. Вероятно, разнородность популяций может поддерживаться за счет генетической разнородности отдельных генераций.

С другой стороны, наши данные показывают, что генетический состав по Tf отдельных генераций не остается постоянным. Это проявляется при сравнении полевок одной и той же генерации накануне падения численности и после спада: осенью 1977 г. и весной 1978 г.

для узкочерепной полевки и осенью 1976 г. и весной 1977 г. для полевки-экономки, и указывает на интенсивность отбора в природных условиях.

Полученные нами результаты подтверждают выводы ряда других авторов (Журкович и др., 1978; Canham, 1969; Gaines, Krebs 1971; Gaines et al, 1978; Semeonoff, Robertson, 1968; Tamarin, Krebs, 1969) о том, что генетический состав флюктуирующих по численности популяций полевок постоянно изменяется. В отличие от этих работ, где уже были продемонстрированы генетические различия при изменении плотности популяции, нами впервые установлена связь изменений генетической структуры с изменением возрастной структуры популяции и обнаружены генетические различия между поколениями при изменении плотности популяции.

По нашим данным, представляется вполне вероятным, что причиной спада численности популяции узкочерепной полевки в зимний период 1977/1978 гг. было произошедшее в популяции в условиях высокой плотности изменение генетической структуры, которое, хотя, вероятно, и давало особям какие-то преимущества при повышенной численности, но не обеспечивало их жизнеспособность в неблагоприятных зимних условиях. Таким образом, дискутируемый в литературе вопрос о причинно-следственной связи изменений численности и генетической структуры популяции на основе наших данных решается в пользу первичности изменений генетической структуры в регуляции численности популяции, как предполагал Д.Читти (Chitty, 1957, 1960). Но установленная связь изменений генетической структуры с изменением экологической (возрастной) структуры популяции позволяет считать, что регуляция численности популяций основывается на взаимодействии экологических и генетических механизмов.

В В О Д Ъ

1. У пяти видов полевок (*Microtus gregalis*, *M. oeconomus*, *Clethrionomys glareolus*, *C. rutilus*, *C. rufocanus*) выявлены четкие межвидовые различия по признаку изменчивости трансферрина. Этот признак может быть использован в качестве одного из диагностических при исследовании близких видов и подвидовых форм.

2. По признаку изменчивости трансферрина установлена филогенетическая близость рыжей и красной полевок и обособленность от них красно-серой полевки. У рыжей и красной полевок обнаружены обратимые изменения концентрации минорного компонента трансферрина при беременности. У красно-серой полевки показан двухаллельный генетический полиморфизм трансферрина (частоты аллелей 0.28 и 0.72).

3. У обоих видов серых полевок обнаружен трехаллельный генетический полиморфизм трансферрина: на высоком уровне у узкочерепной полевки (два распространенных аллеля с частотами 0.57 и 0.39 и один редкий, с частотой 0.04); на низком уровне - у полевки-экономки (один распространенный аллель с частотой 0.98 и два редких, с частотами по 0.01 каждый).

4. Установлен сезонный характер колебаний генетической структуры по трансферрину в популяциях серых полевок: у узкочерепной полевки - повышение изменчивости в процессе размножения, от весны к осени, и снижение - в процессе перезимовки, от осени к весне; у полевки-экономки - повышение частоты редких аллелей трансферрина в процессе перезимовки и снижение в процессе размножения.

5. Выделены закономерные изменения генетической структуры популяций по трансферрину, связанные с фазами цикла динамики численности. У узкочерепной полевки при нарастании численности наблюдается увеличение изменчивости, достигающее максимума с избытком гетерозигот при пиковой численности. При спаде численности измен-

ивость уменьшается. В ходе спада численности в популяциях как полевки-экономки, так и узкочерепной полевки, происходит увеличение содержания редких аллелей трансферрина. Уровень изменчивости трансферрина на спаде численности популяции узкочерепной полевки в разные годы относительно стабилен.

6. Показаны половые различия по изменчивости полиморфной системы трансферрина: у самцов узкочерепной полевки более выражен сезонный характер изменений, у самок сильнее проявляется связь этих изменений с фазами численности популяции.

7. Установлено, что отдельные генерации полевок отличаются друг от друга генетической структурой по трансферрину (перезимовавшие – от сеголеток у узкочерепной полевки и полевки-экономки в годы пиков численности, а также сеголетки ІІ генерации от сеголеток ІУ генерации в популяции узкочерепной полевки осенью). В течение жизни одной генерации полевок ее генетическая структура по трансферрину может изменяться.

8. Установлена связь изменений генетической структуры по трансферрину с изменением экологической (возрастной) структуры популяции – при выпадении осенней генерации в год пика численности у узкочерепной полевки.

Материалы диссертации изложены в следующих основных работах:

І. Гуляева И.П. Получение и хранение сыворотки крови мышевидных грызунов при изучении полиморфизма трансферринов в природных популяциях. – В сб.: Биохимические аспекты некоторых проблем популяционной экологии. – Свердловск, 1978, с. 78–81.

2. Гуляева И.П., Оленев Г.В. Изменчивость трансферринов сыворотки крови ряжей полевки в связи с физиологическим состоянием.– В сб.: Млекопитающие Уральских гор. – Свердловск, 1979, с.17–19.

3. Гуляева И.П., Оленев Г.В. Об изменении электрофоретической картины трансферринов сыворотки крови ряжей полевки в зависимос-

ти от физиологического состояния животных. - Экология, 1979, № 6, с. 47-52.

4. Гуляева И.П. Полиморфизм трансферрина полевки-экономки на Урале. - В сб.: Проблемы экологии, рационального использования и охраны природных ресурсов на Урале. - Свердловск, 1980, с. 81.

5. Гуляева И.П. Наследование трансферрина у узкочерепной полевки. - В сб.: Информационные материалы ин-та экологии растений и животных. - Свердловск, 1980, с. 62-63.

6. Гуляева И.П., Оленев Г.В. О возможной роли перестроек генетической структуры в регуляции численности популяции узкочерепной полевки. - В сб.: Экологическая генетика растений и животных. Ч. I. Кипинев: Штаница, 1981, с. 19-20.

7. Гуляева И.П. Особенности эколого-генетической структуры популяции узкочерепной полевки на разных стадиях цикла динамики численности. - Тезисы докл. III съезда ВТО, т. I. - Москва, 1982, с. 179-180.

8. Гуляева И.П. Адаптивная изменчивость трансферрина у самок мышей полевки в репродуктивный период. - Тезисы докл. VI Всесоюзн. конф. по экологической физиологии, т. I. - Сыктывкар, 1982, с. 95.

9. Гуляева И.П. Изменения генетической структуры популяции узкочерепной полевки в разных фазах цикла динамики численности. - Генетика, 1983, т. 19, № 1, с. 75-81.

Гуляева

НС 120 Э ПОДПИСАНО К ЛЕЧАТИ 14/III 1984 г. ФОРМАТ 60x84 1/16
ОБЪЕМ 1,0 ПЕЧ. Д. ТИРАЖ 100 ЗАКАЗ 607
ИГХ № 4 ОБЪЕДИНЕНИЯ "ПОЛИГРАФИСТ",
СВЕРДЛОВСК, ТУРТЕНЕВА, 20