

БРЮХОНОГИЕ И ДВУСТВОРЧАТЫЕ МОЛЛЮСКИ

НОВЫЕ АЛЛОЗИМНЫЕ МАРКЕРЫ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПОПУЛЯЦИОННОЙ СТРУКТУРЫ ИСЛАНДСКОГО ГРЕБЕШКА (*CHLAMYS ISLANDICA*)

В.С. Артамонова*, П.Н. Золотарев**, А.А. Махров*, О.Н. Холод*

*Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской Академии Наук, Москва,

**Полярный научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии
им. Н.М. Книповича, г. Мурманск

(

NEW ALLOZYME MARKERS FOR THE ANALYSIS OF ICELAND SCALLOP (*CHLAMYS ISLANDICA*) POPULATION STRUCTURE

Исландский гребешок широко распространен в Северной Атлантике и Баренцевом море. Это важный объект промысла, и для рационального использования необходимо изучение его популяционной структуры. Поэтому задачей нашей работы был анализ генетического разнообразия исландского гребешка и оценка возможности использования этих данных для выявления популяционной структуры.

Генетические исследования исландского гребешка ранее у нас в стране не проводились. Некоторые особенности популяционной структуры этого вида изучали с применением генетических методов норвежские исследователи [Fevolden, 1989; Galand, Fevolden, 2000], однако их сведения по этому вопросу очень фрагментарны. Кроме того, для анализа они использовали данные всего по четырем аллозимным локусам, что явно недостаточно для характеристики объекта, популяционная структура которого мало изучена не только генетическими, но и традиционными методами.

В связи с этим, задачи нашей работы предполагали, в первую очередь, отработку метода анализа генетического разнообразия исландского гребешка и подбор новых генетических маркеров, пригодных для выявления различий между популяциями вида. Нам предстояло также максимально полно охарактеризовать с генетической точки зрения популяцию исландского гребешка Канинской банки, с тем, чтобы эта она могла служить «точкой отсчета» при сравнении различных популяций вида между собой.

Был проведен генетический анализ 100 особей из поселения исландского гребешка на Канинской банке (69°05'53"N 42°13'23"E). Выборка собрана в ходе рейса «Атлантик-Сурф-2» 22 ноября 2002 года, на глубине 82-83 метра. Пробы мышц-замыкателей транспортировались и хранились в замороженном виде.

Применен электрофорез белков в крахмальном (Clayton, Tretiak, 1972) и полиакриламидном [Peacock et al., 1965] гелях. На гелях выявляли активность белков (в скобках приведены кодирующие их локусы): аспаратаминотрансферазы (*AAT-1**, *AAT-2**), изоцитратдегидрогеназы (*IDHP-1**, *IDHP-2**, *IDHP-3**), лейцинаминопептидазы (*LAP-2**), малатдегидрогеназы (*MDH-1**), общего белка (*GP-1**), супероксиддисмутазы (*SOD-1**, *SOD-2**), фосфоглюкомутаза (*PGM-1**, *PGM-2**), глюкозофосфатизомеразы (*GPI**), эстеразы (*EST-1**) по стандартным методикам [Aebersold et al., 1987]. Таким образом, в ходе генетического анализа использовано 9 ферментов, кодируемых 14 генами.

Определяли частоты аллелей полиморфных локусов и сравнивали наблюдаемое соотношение генотипов с равновесным соотношением Харди-Вайнберга. Для расчетов использовали компьютерную программу BIOSYS [Swofford, Selander, 1981]. Гетерогенность частот аллелей между выборками оценивали по (Roff, Bentzen, 1989), с использованием компьютерной программы CHIRXC [Zaykin, Pudovkin, 1993].

В ходе работы показано, что для анализа разнообразия локусов *AAT-1**, *AAT-2**, *IDHP-1**, *IDHP-2**, *IDHP-3**, *MDH-1**, *PGM-1**, *PGM-2** и *GPI** целесообразно использовать крахмальный

гель, а локусов *LAP-2**, *SOD-1**, *SOD-2**, *EST-1**, а также растворимой фракции общего белка (*GP-1**) – полиакриламидный гель. Все 14 исследованных локусов оказались полиморфными, причем в случае *PGM-1**, *GPI** и *EST-1** из-за большого числа аллелей наблюдаемая картина полиморфизма оказалась настолько сложной, что ее пока не удалось расшифровать. Для локуса *LAP-2** пока не удалось разработать хорошо воспроизводимую методику гистохимического окрашивания, поэтому данные по этому локусу мы также не приводим.

Таблица 1.

Частоты аллелей генов, кодирующих белки, в выборках исландского гребешка

Локусы	Аллели	Наши данные	Данные из работы (Galand, Fevolden, 2000)
<i>AAT-1*</i>	*100	0.485	-
<i>AAT-1*</i>	*-100	0.515	-
<i>AAT-2*</i>	*100	0.885	-
<i>AAT-2*</i>	*135	0.115	-
<i>IDHP-1*</i>	*100	0.990	-
<i>IDHP-1*</i>	*80	0.010	-
<i>IDHP-2*</i>	*100	0.885	-
<i>IDHP-2*</i>	*76	0.010	-
<i>IDHP-2*</i>	*115	0.105	-
<i>IDHP-3*</i>	*100	0.965	-
<i>IDHP-3*</i>	*75	0.035	-
<i>MDH-1*</i>	*100	0.487	0.683
<i>MDH-1*</i>	*171	0.278	0.183
<i>MDH-1*</i>	*214	0.235	0.133
<i>GP-1*</i>	*100	0.690	-
<i>GP-1*</i>	*90	0.310	-
<i>SOD-1*</i>	*100	0.605	-
<i>SOD-1*</i>	*125	0.345	-
<i>SOD-1*</i>	*150	0.050	-
<i>SOD-2*</i>	*100	0.790	0.845
<i>SOD-2*</i>	*40	0.130	0.084
<i>SOD-2*</i>	*78 (71)	0.080	0.071
<i>PGM-2*</i>	*100	0.673	0.689
<i>PGM-2*</i>	*89	0.112	0.211
<i>PGM-2*</i>	*95	0.041	0.004
<i>PGM-2*</i>	*105	0.174	0.096

Что касается 10 генов, которые удалось проанализировать полностью, то следует отметить, что в трех из них отмечены три альтернативных варианта (аллеля), в одном – четыре аллеля, остальные представляли собой двухаллельную систему (таблица 1). Значимых отклонений от равновесия Харди-Вайнберга для всех 10 изученных локусов не выявлено, что свидетельствует о правильной интерпретации результатов электрофореза.

Данные о частотах аллелей четырех локусов – *GPI**, *MDH-1**, *PGM-2**, *SOD-2** в выборке, собранной близ побережья полуострова Канин, имеются в работе [Galand, Fevolden, 2000]. Сравнение этих данных с нашими результатами по трем локусам (*MDH-1**, *PGM-2**, *SOD-2**) показало, что в обеих изученных выборках, по всей видимости, присутствует один и тот же набор аллелей этих локусов. Различия в частотах аллелей между выборками были значимыми ($p < 0.001$) для локусов *MDH-1** и *PGM-2** и незначимыми – для локуса *SOD-2**.

Таким образом, нам удалось выявить 10 неизвестных ранее полиморфных локусов у исландского гребешка и надежно идентифицировать генотипы для семи из них. Показано, что для этого вида характерен высокий уровень разнообразия по генам, кодирующим белки, что позволяет проводить анализ популяционной структуры без применения громоздких и дорогостоящих методик, связанных с анализом ДНК.

Данное исследование частично финансировалось программой поддержки ведущих научных школ, программами “Динамика генофондов”, “Происхождение и эволюция биосферы”.

Литература

- Aebersold P.B., Winans G.A., Teel D.J., Milner G.B., Utter F.M.** 1987. Manual for Starch Gel Electrophoresis: A Method for the Detection of Genetic Variation. NOAA Technical Report NMFS 61, 19 p.
- Clayton J.W., Tretiak D.N.** 1972. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 29. P. 1169-1172.
- Fevolden S.E.** 1989. Genetic differentiation of the Iceland scallop *Chlamys islandica* (Pectinidae) in the northern Atlantic Ocean. Marine Ecology Progress Series, 51(1-2). P. 77-85.
- Galand P.E., Fevolden S.-E.** 2000. Population structure of *Chlamys islandica* in the Northeast Atlantic – northern stocks compared with a southern relict population. Sarsia, 85(3). P. 183-188.
- Peacock A.C., Bunting S.L., Quenn K.G.** 1965. Serum protein electrophoresis in acrilamide gel: patterns from normal human subjects. Science, 147. P. 1451-1452.
- Roff D.A., Bentzen P.** 1989. The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: x2 and the problem of small samples. Molecular Biology and Evolution, 6 (5). P. 539-545.
- Swofford D.L., Selander R.B.** 1981. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. The Journal of Heredity, 72. P. 281-283.
- Zaykin D.V., Pudovkin A.I.** 1993. Two programs to estimate Chi-square values using pseudo-probability test. The Journal of Heredity, 84. P. 152.