

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ ДРОЗОФИЛЫ, ЗАЛОЖЕННЫЕ ОТ МУХ С РАЗНОЙ НОРМОЙ РЕАКЦИИ ГЕНОТИПА

Ирена ЯКОБСОН^а, Николай ГЛОТОВ^б

^а Eesti Teaduste Akadeemia Eksperimentaalbioloogia Instituut (Институт экспериментальной биологии Академии наук Эстонии). Instituudi tee 11, EE-3051 Narku, Harjumaa, Eesti (Эстония).

^б Биологический НИИ Санкт-Петербургского государственного университета, Ораниенбаумское шоссе, 2, Старый Петергоф, Санкт-Петербург, 198904, Россия.

Представил Р. Тейнберг

Поступила в редакцию 18/IV 1994; принята к печати 25/IV 1994

Аннотация. На основе индивидуального тестирования самок дрозофилы в контрастных экологических условиях из природной популяции выделены 3 группы семей F_1 с разной нормой реакции генотипа по признаку длина крыла: 1) типичные — семьи, в которых значение признака при изменении условий изменяется параллельно популяционным средним; 2) стабильные — семьи, в которых наблюдаются относительно слабые отклонения значений признака на разных средах; 3) нестабильные — семьи, в которых отмечаются сильные отклонения значений признака. Было основано 4 типа популяций, обозначенные по типу нормы реакции семей-основателей, как стабильная, типичная, нестабильная и контрольная. Основу контрольной популяции составили семьи 3-х типов в соотношении, близком к наблюдаемому в природной популяции. На основе наблюдений, проводимых в течение года после основания популяций, показано, что биомасса контрольной популяции наиболее стабильна во времени. Различий по средним значениям длины крыла и числа стерноплевральных щетинок в популяциях разного типа не выявлено, однако показано, что между типами популяций существуют значимые различия по уровню изменчивости этих признаков. Наиболее низкий уровень изменчивости характерен для стабильной популяции.

Ключевые слова: дрозофила, изменчивость количественных признаков, норма реакции, популяция.

ВВЕДЕНИЕ

Нормой реакции генотипа называют множество всех фенотипических значений, которое может быть обусловлено данным генотипом во всевозможных условиях среды. Тестирование особей, состоящих в определенной степени родства, на различных экологических фонах — широко распространенный метод выявления нормы реакции генотипа. В качестве экологических фонов при этом используют как комплексы природно-климатических условий (Clausen и др., 1940), так и действие различных факторов в лабораторных условиях, например, температуры (Parsons, 1977; Giesel и др., 1982), питательных сред (Глотов, Тараканов, 1985; Scharloo, 1989), плотность культуры (Тараканов и др., 1988; Noordwijk, 1989).

В экспериментах с дрозофилой в качестве контрастных условий используются питательные среды, резко различающиеся по составу, т. е. по условиям развития личинок мух. Схема эксперимента, в основе которого лежит посемейное тестирование самок в контрастных условиях, соответствует двухфакторной схеме дисперсионного анализа с повторностями (Джонсон, Лион, 1981). Это позволяет получать оценки структуры изменчивости признака и строить распределения семей в популяции по ширине нормы реакции этого признака. В популяции удается четко дифференцировать группы семей с разным типом нормы реакции: стабильные, типичные и нестабильные (Глотов, Тараканов, 1985). В типичных семьях изменение признака при изменении условий развития происходит параллельно изменению популяционных средних в соответствующих условиях. Стабильные семьи характеризуются относительно слабыми, а нестабильные — очень значительными изменениями признака при изменении условий развития. Несомненный интерес представляет поведение популяций, заложенных от семей с разным типом нормы реакции. Такие популяции были основаны в 1985 году в лаборатории генетики животных Института экспериментальной биологии АН Эстонии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В качестве исходного материала для основания популяций были использованы самки *Drosophila melanogaster*, отловленные в природной популяции Убинская (предгорье Северо-Западного Кавказа) в августе 1985 года на естественную приманку. В условиях лаборатории от каждой самки было получено потомство F_1 на 3-х питательных средах (рис. 1). Для этого самок рассаживали по отдельным пробиркам и синхронно перемещали для откладки яиц на обедненную (О), богатую (Б) и нормальную (Н) среды (Глотов, Тараканов, 1985). Обедненную и богатую среды использовали в качестве контрастных экологических условий для оценки типа нормы реакции каждой семьи. Все особи F_1 из этих пробирок в возрасте 8—9 дней были помещены в фиксирующую жидкость (смесь глицерина и 75%-ного этилового спирта, 1:1). У фиксированных мух измеряли расстояние между жилками L_4 и L_5 на левом крыле в единицах шкалы окуляр-микрометра при 56-кратном увеличении; далее в тексте — признак длина крыла. В каждой семье измеряли по 8 самок с каждой среды. В течение 6 дней измерения и статистическая обработка, проведенная по ранее разработанной методике (Глотов, Тараканов, 1985), были завершены. В результате из 118 протестированных семей были выделены 24 стабильные и 24 нестабильные семьи. Особей F_1 из пробирок с нормальной средой в течение всего этого времени периодически посемейно переносили на свежий корм. После того как тип нормы реакции каждой семьи был определен, они были объединены в группы, которые помещали в популяционные ящики.

Всего было заложено 8 ящичных популяций — четыре варианта по две повторности в каждом. Популяции были обозначены по типу нормы реакции семей-основателей: стабильная (С), типичная (Т), нестабильная (НС) и контрольная (К). В контрольной популяции соотношение семей разного типа было таким же, как и в исходной природной популяции. Численность стартовых групп для каждой популяции составляла около 200 особей, которые были потомками 16—20 самок, отловленных в природе. Каждая пара повторных популяций одного типа происходила от одной и той же группы семей данного типа нормы реакции, т. е. от одной и той же группы самок из природы.

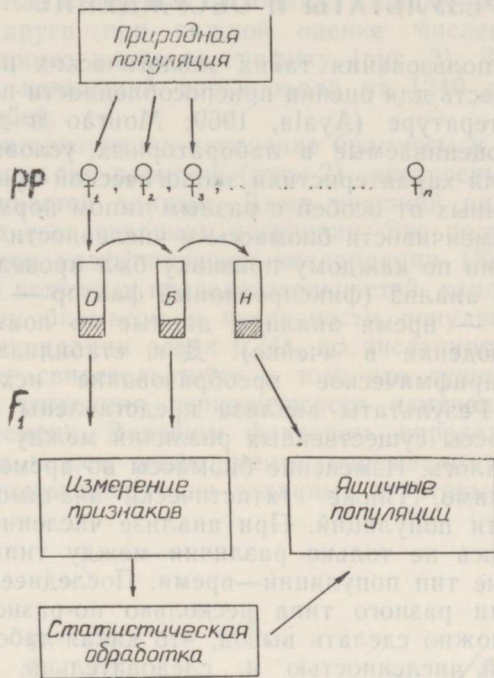


Рис 1. Общая схема эксперимента. Пояснения в тексте.

— Все 8 популяций были основаны одновременно в ноябре 1985 года. На протяжении всего эксперимента они содержались в одинаковых условиях при 25 °С. В каждом ящике находилось одновременно 18 банок (объемом 250 мл, по 25 мл дрожжевой питательной среды в каждой). Три раза в неделю 2 самые старые банки последовательно заменяли на 2 со свежим кормом. Каждая банка находилась в ящике 21 день. За это время корм полностью перерабатывался и вылуплялись все куколки.

Первое определение биомассы и численности было проведено через 6 недель после основания популяций. Всего в течение года популяции были взвешены 11 раз с интервалом сначала 3 недели (первые три временные точки), затем 6 недель.

Для взвешивания из популяционного ящика при помощи пылесоса и специальной насадки отсасывали всех живых мух в стеклянную колбу и взвешивали живых мух вместе с колбой. Затем мух выпускали и взвешивали пустую колбу. Разница между этими двумя показателями — биомасса популяций. Для оценки численности взвешивали небольшую выборку мух (80—150 особей), подсчитывали точное число особей в выборке и вычисляли средний вес особи в данной популяции. Численность популяции получали как отношение биомассы к среднему весу особи в данной популяции. Этот способ позволил исключить неоднократную длительную эфиризацию, неизбежную при прямом подсчете численности.

Эфиризированных особей после взвешивания помещали в фиксирующую жидкость для последующего измерения длины крыла и подсчета числа стерноплевральных щетинок. В каждой популяции при каждом наблюдении признаки были измерены у 20 самок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Возможность использования таких экологических показателей как биомасса и численность для оценки приспособленности популяций давно обсуждается в литературе (Ayala, 1969; Mourão и др., 1972). Эти достаточно легко оцениваемые в лабораторных условиях показатели мы использовали для характеристики экологической приспособленности популяций, заложенных от особей с разным типом нормы реакции.

Для анализа изменчивости биомассы и численности популяций разного типа во времени по каждому признаку был проведен двухфакторный дисперсионный анализ (фиксированный фактор — тип популяции, случайный фактор — время анализа, данные по повторным популяциям — два наблюдения в ячейке). Для стабилизации дисперсий использовали логарифмическое преобразование исходных данных (Снедекор, 1961). Результаты анализа представлены в табл. 1 и 2. При анализе биомассы существенных различий между типами популяций выявить не удалось. Изменение биомассы во времени — статистически высоко значимо. Также статистически значимо изменение во времени численности популяций. При анализе численности популяций значимыми оказались не только различия между типами популяций, но и взаимодействие тип популяции—время. Последнее говорит о том, что хотя популяции разного типа несколько по-разному ведут себя во времени, невозможно сделать вывод, что какая-либо из них характеризуется большей численностью и, следовательно, более высокой

Таблица 1

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа изменчивости биомассы популяций дрозофилы

Источник изменчивости	Число степеней свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F	P
Тип популяции	3	0,0163	0,0054	0,93	>0,1
Время	9	0,6999	0,0778	14,45	<0,001
Взаимодействие популяция—время	27	0,1581	0,0059	1,09	>0,1
Ошибка	40	0,2153	0,0054		

Таблица 2

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа численности популяций дрозофилы

Источник изменчивости	Число степеней свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F	P
Тип популяции	3	0,0679	0,0226	3,03	<0,05
Время	9	0,8194	0,0910	30,55	<0,001
Взаимодействие популяция—время	27	0,2016	0,0075	2,50	<0,01
Ошибка	40	0,1192			

приспособленностью к данным условиям. Положение популяций относительно друг друга при каждой оценке численности постоянно меняется. Это хорошо видно по графику (рис. 2). За время наблюдения численность популяций варьировала от 1240 до 4050 особей, в среднем 2450 особей.

Кривые, характеризующие изменение биомассы и численности популяций разного типа во времени (рис. 2), построены по усредненным для двух повторностей данным. Даже внешний вид кривых создает впечатление о их согласованном поведении. Это подтверждается очень высоким значением коэффициентов конкордации (Кендел, 1975), рассчитанных для 8 исходных последовательностей, характеризующих временную динамику биомассы и численности популяций. По биомассе коэффициент конкордации равен 0,741, по численности — 0,732. Полученный результат свидетельствует о том, что существует общая для всех популяций тенденция периодического изменения численности и биомассы во времени. Ведущим фактором, определяющим динамику этого процесса в нашем эксперименте, оказываются условия, в которых находятся популяции, а не заданные стартовые различия между ними.

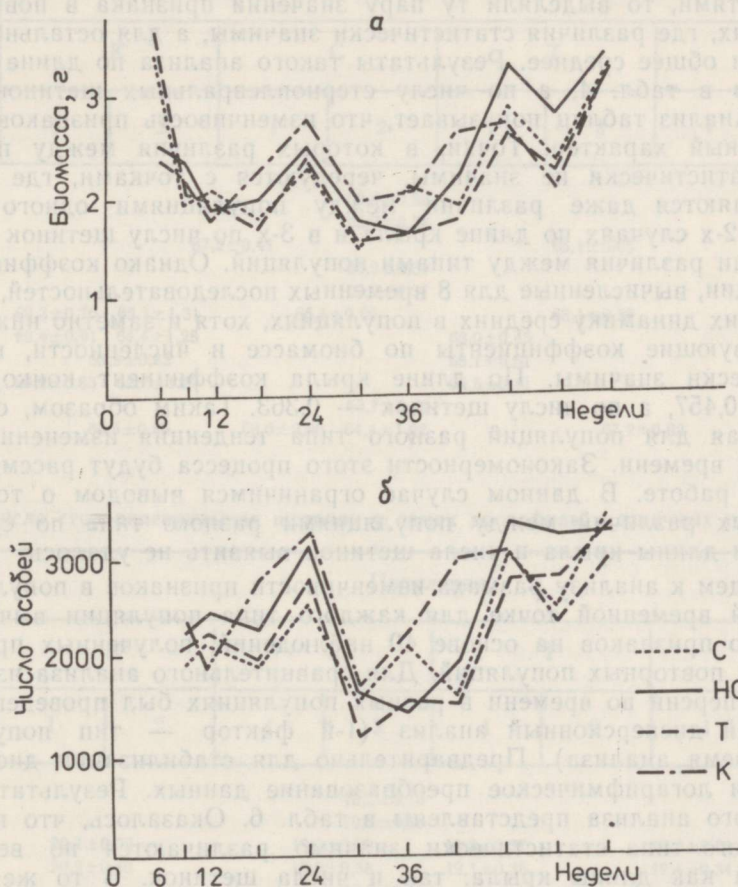


Рис. 2. Динамика биомассы (а) и численности (б) популяций дрозофилы, заложенных от мух с разной нормой реакции:

С — стабильная, Т — типичная, НС — нестабильная, К — контрольная.

Анализ размаха изменчивости во времени биомассы и численности популяций (табл. 3) выявил интересную закономерность. Когда для каждого типа популяций были вычислены общая за все время наблюдения дисперсия и коэффициент вариации по биомассе и численности, объединяя в каждом случае данные по двум повторностям, оказалось, что наименьшая изменчивость показателей свойственна контрольной популяции, основу которой составили семьи всех 3-х типов. При этом по биомассе разницы как между дисперсиями, так и между коэффициентами вариации, для популяции К, с одной стороны, и С и Т, с другой, статистически значимы на 5%-ом уровне.

Параллельно с анализом адаптивных характеристик в популяциях проводили анализ изменчивости количественных признаков. Для сравнения средних значений признаков в разных популяциях в каждой временной точке проводили двухфакторный иерархический дисперсионный анализ: изучали изменчивость между популяциями разного типа и между двумя повторностями популяций одного типа. Если влияние контролируемых факторов оказывалось не значимым, то для этой временной точки вычисляли общее для 8 популяций значение признака и заносили это значение в таблицу. В случае, когда значимыми оказывались различия между типами популяций, в таблице приводили среднее для каждого типа. Когда значимыми были различия между повторностями, то выделяли ту пару значений признака в повторных популяциях, где различия статистически значимы, а для остальных пар вычисляли общее среднее. Результаты такого анализа по длине крыла приведены в табл. 4, а по числу стерноплевральных щетинок — в табл. 5. Анализ таблиц показывает, что изменчивость признаков носит нерегулярный характер. Точки, в которых различия между популяциями статистически не значимы, чередуются с точками, где значимыми являются даже различия между популяциями одного типа. Только в 2-х случаях по длине крыла и в 3-х по числу щетинок значимыми были различия между типами популяций. Однако коэффициенты конкордации, вычисленные для 8 временных последовательностей, характеризующих динамику средних в популяциях, хотя и заметно ниже, чем соответствующие коэффициенты по биомассе и численности, все же статистически значимы. По длине крыла коэффициент конкордации составил 0,457, а по числу щетинок — 0,363. Таким образом, существует общая для популяций разного типа тенденция изменения признаков во времени. Закономерности этого процесса будут рассмотрены в другой работе. В данном случае ограничимся выводом о том, что стабильных различий между популяциями разного типа по средним значениям длины крыла и числа щетинок выявить не удалось.

Перейдем к анализу размаха изменчивости признаков в популяциях. В каждой временной точке для каждого типа популяции вычисляли дисперсию признаков на основе 40 наблюдений, полученных при анализе двух повторных популяций. Для сравнительного анализа изменчивости дисперсий во времени в разных популяциях был проведен двухфакторный дисперсионный анализ (1-й фактор — тип популяции, 2-й — время анализа). Предварительно для стабилизации дисперсий проводили логарифмическое преобразование данных. Результаты дисперсионного анализа представлены в табл. 6. Оказалось, что популяции разного типа статистически значимо различаются по величине дисперсий как длины крыла, так и числа щетинок. В то же время изменения дисперсий во времени статистически не значимы. Аналогичная процедура, выполненная для коэффициентов вариации признаков с целью снять возможное влияние средних, подтвердила выявленную закономерность только для одного из признаков — длины крыла ($P < 0,05$).

Таблица 3

Изменчивость биомассы и численности популяций разного типа

Показатель	Параметр	Популяция			
		К	С	Т	НС
Биомасса, г	Среднее	2,4±0,10	2,4±0,17	2,3±0,16	2,4±0,14
	Дисперсия	0,232	0,602	0,593	0,398
	Коэффициент вариации	20,1	32,9	33,8	26,0
Численность	Среднее	2640±130	2345±149	2318±159	2579±169
	Дисперсия	343917	443186	503738	556314
	Коэффициент вариации	22,2	28,4	30,6	28,9

Таблица 4

Длина крыла у самок дрозофилы в популяциях разного типа

Наблюдение	Популяция								
	К		С		Т		НС		
	1	2	1	2	1	2	1	2	
1				62,6±0,39					
2				65,7±0,34					
3			67,2±0,41				65,1±0,65		
4				66,9±0,31					
5				67,3±0,37					
6	69,3±0,70	65,1±1,31		65,1±0,69			68,1±0,36		
7	69,4±0,91	64,4±1,28				68,0±0,45			
8		63,9±0,82				68,1±0,51			
9	68,9±0,63	62,7±1,23				66,5±0,41			
10				63,7±0,44					
11		66,5±0,88	69,0±0,96	64,4±1,02			67,2±0,62		

Таблица 5

Среднее число стерноплевральных щетинок у самок дрозофилы в ящичных популяциях

Наблюдение	Популяция								
	К		С		Т		НС		
	1	2	1	2	1	2	1	2	
1				18,2±0,16					
2				19,3±0,19					
3			20,1±0,32	19,1±0,30		19,2±0,27		18,3±0,31	
4			20,2±0,40	19,0±0,35		19,1±0,36		19,4±0,34	
5				19,3±0,16					
6				19,7±0,12					
7	19,0±0,46	19,9±0,67	19,4±0,49	18,4±0,33	18,5±0,46	20,2±0,58	19,9±0,36	18,8±0,60	
8		18,6±0,32		19,6±0,35		19,7±0,40		20,4±0,29	
9				18,9±0,16					
10				18,5±0,17					
11				19,1±0,16					

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа изменчивости дисперсий длины крыла и числа стерноплевральных щетинок у самок дрозофилы в разных популяциях

Признак	Источник изменчивости	Число степеней свободы	Средний квадрат	F	P
Длина крыла	Время	10	0,0455	1,72	>0,1
	Популяция	3	0,0923	3,49	<0,05
	Остаточная	30	0,0265		
Число стерноплевральных щетинок	Время	10	0,0154	1,88	>0,1
	Популяция	3	0,0306	3,78	<0,025
	Остаточная	30	0,0082		

Таблица 7

Среднее за время эксперимента значение дисперсии и коэффициента вариации признаков у самок дрозофилы в популяциях разного типа

Признак	Параметр	Популяция			
		К	С	Т	НС
Длина крыла	Дисперсия	25,33	15,88	18,24	22,76
	Коэффициент вариации	7,64	6,02	6,45	7,19
Число стерноплевральных щетинок	Дисперсия	5,23	3,88	4,46	4,49
	Коэффициент вариации	11,81	10,46	11,07	10,98

В табл. 7 приведены усредненные по 11 временным точкам значения дисперсий и коэффициентов вариации длины крыла и числа стерноплевральных щетинок у дрозофилы в популяциях разного типа. Проведенный анализ показал, что во всех случаях существенными на 5%-ом уровне значимости оказываются различия в паре С—К. При анализе дисперсий популяция С также значимо отличается и от популяции НС. Полученная закономерность достаточно интересна. Несмотря на отсутствие различий по средним значениям признаков, между популяциями сохраняются различия по уровню их изменчивости. Популяция С, которые были основаны от семей, характеризующихся относительно слабыми изменениями длины крыла при резком изменении условий развития, на протяжении последующего года характеризуются более низким уровнем изменчивости этого признака.

Суммируя полученные результаты, необходимо отметить следующее. Биомасса контрольных популяций, заложенных от репрезентативной выборки семей из природной популяции, менее изменчива во времени, чем биомасса популяций, основанных отдельно от типичных, стабильных и нестабильных семей, выделенных из природной популяции путем тестирования на контрастных экологических фонах. Та же тенденция имеет место и для численности популяций: хотя различия по изменчивости между типами популяций статистически не значимы, при

анализе средних значимы эффекты типов популяций и взаимодействие тип популяции — время. По-видимому, для экологической приспособленности популяций важно сохранение исходного коадаптированного комплекса генов, по крайней мере частично разрушаемого селекцией семей-основателей по их поведению в контрастных экологических условиях.

Меньшей изменчивости длины крыла, которой характеризовались семьи, давшие начало популяциям С, соответствует и меньшая изменчивость длины крыла и числа стерноплевральных щетинок в популяциях С во времени. Таким образом, дифференциация семей на контрастных экологических фонах по норме реакции связана, по крайней мере частично, с отбором определенных аллелей и не сводится полностью к влиянию сочетаний аллелей.

Авторы выражают признательность М. И. Рахману и Ю. Вахеру за помощь при статистической обработке результатов, а также О. Мержиной, принимавшей участие в проведении экспериментов.

Настоящая работа выполнена при частичном финансировании Российской ГНТП «Приоритетные направления генетики».

ЛИТЕРАТУРА

- Глотов Н. В., Тараканов В. В. 1985. Норма реакции и взаимодействие генотип—среда в природной популяции. — Ж. общ. биологии, 46, 760—770.
- Джонсон Н., Лион Ф. 1981. Статистика и планирование эксперимента в технике и науке. Методы планирования эксперимента. Наука, Москва.
- Кендел Л. 1975. Ранговые корреляции. Статистика, Москва.
- Снедекор Д. У. 1961. Статистические методы в применении к исследованиям в сельском хозяйстве и биологии. Сельхозиздат, Москва.
- Тараканов В. В., Корзун В. Н., Ряжева Т. П., Гречаный Г. В. 1988. Эколого-генетическая структура изменчивости у *Drosophila melanogaster* при разной личиной плотности. — Ж. общ. биологии, 19, 493—500.
- Ayala, F. J. 1969. An evolutionary dilemma: fitness of genotypes versus fitness of populations. — Canad. J. Genet. Cytol., 11, 2, 439—456.
- Clausen, J., Keck, D. D., Hiesey, W. M. 1940. Experimental studies on the nature of species. I. — Carnegie Inst. Wash. Publ., Washington.
- Giesel, J. T., Murphy, P. A., Manlove, M. N. 1982. The influence of temperature on genetic interrelationship of life history traits in a population of *Drosophila melanogaster*: what tangled data sets we weave. — Amer. Natur., 119, 4, 464—479.
- Mourão, C. A., Ayala, F. J., Anderson, W. W. 1972. Darwinian fitness and adaptedness in experimental populations of *Drosophila willistoni*. — Genetica, 43, 4, 552—574.
- Noordwijk, A. J. 1989. Reaction norms in genetical ecology. — Bioscience, 39, 7, 453—458.
- Parsons, P. A. 1977. Genotype-temperature interaction for longevity in natural populations of *Drosophila simulans*. — Exp. Geront., 12, 2, 241—244.
- Scharloo, W. 1989. Developmental and physiological aspects of reaction norms. — Bioscience, 39, 7, 465—471.

ERINEVA REAKTSIOONINORMIGA *DROSOPHILA MELANOGASTER*'I KATSEPOPULATSIOONID

Irena JAKOBSON, Nikolai GLOTOV

Emaste drosofilate individuaalse testimise põhjal kontrastsetes ökoloogilistes tingimustes eraldati looduslikust populatsioonist F_1 põlvkonna kolm perekondade rühma. Tiiva pikkuse varieeruvuse alusel jagunesid perekonnad järgmiselt: tüüpilised — tiiva pikkus muutus keskkonnaningimuste teisenedes paralleelselt populatsiooni keskmisega; stabiilsed — tiiva pikkus muutus vähe; ebastabiilsed — tingimuste muutudes varieerus tiiva pikkus tugevasti. Loodi neli populatsioonitüüpi: stabiilse, tüüpilise, ebastabiilse ja kontrollreaktsiooninormiga. Kontrollpopulatsiooni võeti kolme tüüpi perekonnad looduslikule populatsioonile lähedases vahekorras. Populatsioone jälgiti aasta jooksul.

Biomassi ja arvukuse poolest drosofilate populatsioonid oluliselt ei erinenud. Nende näitajate ajalise lainelise muutumise määraavad keskkonnaningimused. Tiiva pikkus ja sternopleuraalsete soomuste arv populatsiooniti oluliselt ei erinenud. Tunnuste variatsiooni tase erineb populatsioonide vahel. Stabiilses populatsioonis oli mõlema tunnuse variatsioon väiksem.

EXPERIMENTAL POPULATIONS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* WITH DIFFERENT TYPES OF REACTION NORM

Irena JAKOBSON and Nikolai GLOTOV

Three family groups from F_1 generation were selected from natural population on the basis of the data on individual testing of inseminated females of *Drosophila melanogaster* under contrasting ecological conditions.

According to the parameters of wing length variation the families were grouped as follows:

- typical: under changing environmental conditions the wing length varied in parallel with the population's mean value;
- stable: wing length varied little;
- unstable: wing length varied considerably under changing environmental conditions.

Four population types were formed: stable, typical, unstable, and control. The control included three types of families in proportion similar to that of the natural population. The populations were observed during one year.

Drosophila populations showed no significant differences in biomass and number. Temporal changes of these parameters depend on environmental conditions but in control population biomass varied less. The mean values of sternopleural chaeta were similar in different populations. Populations showed different levels of variation of these characters. In the stable population these two parameters varied less.