УДК 575.223:595.773.4

ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ И МИКРОФЛУКТУАЦИЙ СРЕДЫ НА СТРУКТУРУ ИЗМЕНЧИВОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ У ДРОЗОФИЛЫ

ЯКОБСОН И. В., ГЛОТОВ Н. В.

В контрастных экологических условиях изучена модельная система – 40 гибридных комбинаций между парами разных лабораторных линий Drosophila melanogaster, где разные гибриды F_1 являются аналогами самок из природной популяции. Особи F_1 каждой гибридной комбинации получены одновременно на обедненной и богатой средах. Для каждой гибридной комбинации F_1 с каждой среды от двух самок (индивидуально, в разных пробирках) получено F_2 на обедненной, нормальной и богатой средах. У трех самок F_2 в каждой пробирке учитывали длину крыла и число стерноплевральных щетинок. В структуре изменчивости обоих признаков статистически значимо влияние всех контролируемых в эксперименте факторов: среда F_1 (экологическое последействие), среда F_2, гибрид и пробирка (микрофлуктуация среды). Взаимодействие гибрид – среда F_2 (генотип – среда) статистически значимо для обоих признаков. Суммарно различия, обусловленные экологическим последействием и микрофлуктуацией среды, составляют в общей изменчивости ~8% для длины крыла и ~1% для числа щетинок. Соотношение дисперсии между гибридными комбинациями и дисперсии взаимодействия гибрид – среда F_2 близко наблюдаемому на этом же материале в двухфакторной схеме, где экологическое последействие и микрофлуктуацию среды не учитывали, что свидетельствует о ее эффективности. Структура изменчивости признаков в двухфакторной схеме близка к наблюдаемой при анализе особей из природной популяции, т. е. модель достаточно адекватно отражает поведение природной популяции при анализе структуры изменчивости в контрастных экологических условиях.

Достаточно общим методом выявления эколого-генетической структуры изменчивости количественных признаков является посемейный анализ признаков у родственников в контрастных экологических условиях [1]. Такой подход с использованием контрастных по питательности сред был использован для анализа изменчивости в природной популяции дрозофилы [2]. От оплодотворенных в природе самок индивидуально получали потомство на трех средах: обедненной, нормальной и богатой. В F_2 у восьми самок в каждой семье на каждой среде измеряли несколько признаков. Разработанная схема эксперимента соответствует двухфакторной схеме дисперсионного анализа с восемью повторностями в ячейке (смешанная модель, фиксированный фактор — среда, случайный — семья). Общую изменчивость по каждому признаку в этом случае можно разложить на компоненты: межсредовой (экологический), межсемейный (генотипический), взаимодействия среда — семья (генотип — среда) и компонент, включающий остаточную неконтролируемую изменчивость.

Однако при подробном рассмотрении предложенной экспериментальной схемы возникает два вопроса. Во-первых, на оценки компонент дис-

персии в такой схеме анализа может влиять экологическое прошлое самок, отловленных в природе, т. е. возможен эффект экологического последействия. Условия развития отдельных самок в природе обычно неизвестны. Предполагается, что контрастность питательных сред, на которых развивается потомство, в эксперименте позволяет снять эффект экологического последействия. Однако это предположение нуждается в точной количественной оценке.

Во-вторых, по условиям эксперимента потомки каждой самки в пределах каждой из сред развиваются в отдельной пробирке. Но даже при максимальной стандартизации условий эксперимента неизбежна некоторая микрофлуктуация условий в пробирках с одинаковой средой. В рассматриваемой же схеме анализа вся изменчивость между пробирками в пределах одной среды, в том числе и вызываемая неконтролируемой микрофлуктуацией условий, трактуется как генотипическая. Поэтому необходимо оценить долю изменчивости, обусловленную неконтролируемыми различиями между пробирками в пределах одной среды.

Целью настоящей работы является количественная оценка доли изменчивости, обусловленной эффектами экологического последействия и микрофлуктуацией условий развития в предложенной схеме анализа эколого-генетической структуры изменчивости природной популяции дрозофилы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Решить поставленную задачу при анализе самок из природной популяции практически невозможно. Поэтому была сконструирована модельная система, где в качестве аналогов самок из природной популяции взяты гибридные самки F_1 между парами лабораторных линий дрозофилы. Можно предположить, что такая генетически гетерогенная совокупность разных гибридов F_1 будет вести себя при тестировании на средах разной питательности аналогично выборке самок из природной популяции. Расщепление в F_2 от каждого гибрида в этом случае имитирует внутрисемейное расщепление в потомстве природных самок. В такой модельной системе мы можем контролировать условия развития родителей (гибридов F_1), а единообразие гибридов F_1 в пределах каждого скрещивания дает возможность при одновременном тестировании нескольких самок F_1 каждой гибридной комбинации (индивидуально, в разных пробирках) оценить влияние микрофлуктуаций условий в пределах одной среды.

В качестве контрастных экологических условий использовали различные по питательности среды: обедненную, нормальную и богатую [2].

В работе использовали 13 линий D. melanogaster из коллекции Лаборатории генетики животных Биологического НИИ Ленинградского государственного университета. Каждая линия гомозиготна по одной рецессивной мутации, изменяющей цвет глаз, тела или форму щетинок. До начала эксперимента линии содержали на обычной дрожжевой среде. Эксперимент проводили при 25±1° С.

На двух средах (обедненной и богатой) было получено 40 гибридных комбинаций F_1 от попарного скрещивания лабораторных линий. Для этого подобранную случайным образом комбинацию родителей помещали для откладки яиц сначала в пробирку с обедненной, затем с богатой средой на 3 и 2 сут соответственно (см. рисунок). Индексы i и j на рисунке обозначают номера линий, использованных для получения данного гибрида. На рисунке изображены пробирки с обедненной (О), нормальной (Н) и богатой (Б) средами, стрелками горизонтального направления показан порядок пересадки родителей при получении гибридов F_1 и F_2 на разных средах, стрелками вертикального направления – происхождение гибридов F_2.

Для последующего тестирования брали по две самки каждого варианта F_1 с обедненной и богатой среды. Самку с несколькими самцами последовательно помещали на обедненную, нормальную и богатую среды. Продолжительность кладки на каждой из сред соответственно равна 4, 2 и 2 сут. Потомков F_2, полученных от каждой самки на каждой среде (по три самки дикого типа из пробирки), фиксировали отдельно в смеси 75%-ного этилового спирта и глицерина (1:1). У этих особей измеряли два признака: 1) расстояние между концами жилок L_4 и L_5 на левом крыле в единицах шкалы окулярмикрометра (длина крыла); 2) суммарное число стерноплевральных щетинок на левой и правой стороне тела (число щетинок).

Такая схема эксперимента соответствует четырехфакторной смешанной модели дисперсионного анализа [3]. Два фактора – условия развития гибридов F_1 (среда F_1) и условия развития гибридов F_2 (среда F_2) – фиксированные, третий фактор – гибридная комбинация (гибрид) – случайный. Эти три фактора по отношению друг к другу – перекрестные, четвертый фактор – потомство 1-й или 2-й самки F_1 данной гибридной комбинации (пробирка) – является иерархическим по отношению к трем первым.

При такой схеме анализа дисперсия между средами F_2 отражает различия в условиях развития гибридов F_2 на разных средах, т. е. экологический компонент изменчивости. Дисперсия между гибридами F_1 – это та доля изменчивости, которая обусловлена генотипическими различиями при сравнении в пределах каждой среды F_2. Поэтому компонент взаимодействия гибрид – среда F_2 отражает долю взаимодействия генотип-среда в общей структуре изменчивости. Дисперсия между средами F_1 включает ту долю изменчивости признаков у особей F_2, которая является следствием различий в условиях развития их родителей (гибридов F_1), т. е. отражает роль эффекта экологического последействия в изменчивости признаков. Наконец, каждая гибридная комбинация по схеме эксперимента охарактеризована дважды, по потомству двух самок F_1, полученному в разных пробирках (см. рисунок). Так как F_1, получаемое при скрещивании длительно инбредируемых в ходе лабораторного разведения линий, генетически достаточно однородно, то компонент дисперсии между парами пробирок на каждой среде будет отражать долю изменчивости, обусловленную неконтролируемыми различиями по условиям развития в разных пробирках с одинаковой средой, т. е. долю влияния микрофлуктуаций среды в общей изменчивости признаков.

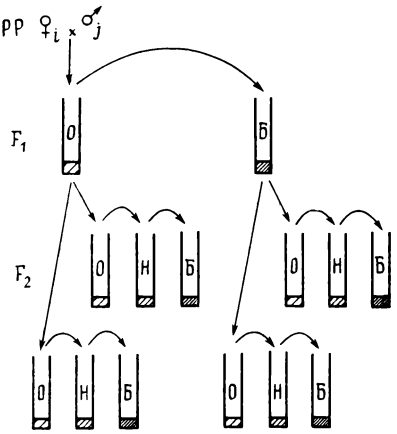

Схема эксперимента (объяснение см. в тексте)

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ И ОБСУЖДЕНИЕ

Прежде чем перейти к анализу результатов в четырехфакторной схеме дисперсионного анализа, рассмотрим поведение модельной системы в двухфакторной схеме анализа. Будем учитывать только два фактора изменчивости — среда F_2 и гибрид, которые аналогичны факторам среда и семья в эксперименте с природными популяциями [2]. Предположим, что об условиях развития самок F_1 ничего не известно, а данные по двум самкам каждой гибридной комбинации — это разные повторности опыта, которые впоследствии можно объединить.

Таким образом, по каждому признаку был проведен двухфакторный дисперсионный анализ отдельно для гибридов F_1 с обедненной и богатой средами, причем сначала по первым самкам каждой гибридной комбинации, потом по вторым, а затем по объединенным данным для двух самок, число наблюдений в семье при этом увеличивается вдвое (с трех до шести наблюдений). Оказалось, что в нашей модельной системе для обоих признаков во всех случаях статистически значимо влияние среды F_2 и гибрида ($P<0{,}01-0{,}001$). Взаимодействие гибрид — среда F_2 статистически значимо ($P<0{,}01-0{,}001$) для длины крыла во всех случаях, для числа щетинок — лишь в двух случаях из шести вариантов анализа. Анализ структуры изменчивости каждого признака показал, что во всех шести случаях она практически идентична, т. е. не зависит от того, на какой среде развивались родители (F_1), по первой или второй самке вели анализ, и от числа наблюдений в семье (три или шесть для объединенных данных). Поэтому в табл. 1 приведены усредненные результаты по гибридам F_1 с

Таблица 1

Доли влияния факторов в двухфакторной схеме дисперсионного анализа, %

Источник изменчивости	Признак	
	длина крыла	число щетинок
Среда F_2	62,0	22,2
Гибрид	6,5	30,3
Взаимодействие гибрид – среда F_2	3,0	3,1
Остаточная	28,5	44,4

Таблица 2

Доли влияния факторов в четырехфакторной схеме дисперсионного анализа, %

Источник изменчивости	Признак	
	длина крыла	число щетинок
Среда F_1 (А)	1,0	1,2
Среда F_2 (Б)	58,0	22,1
Гибрид (В)	5,1	29,5
Пробирка (Г)	3,8	0
Взаимодействия:		
АБ	0,5	0
АВ	2,7	0
БВ	4,1	1,8
Остаточная	24,8	45,5
А+Г+АБ+АВ	8,0	1,2

обеих сред для случая, когда в каждой семье по шесть наблюдений. Следует отметить, что структура изменчивости признаков близка к наблюдаемой при анализе особей из природной популяции [2], т. е. модель достаточно хорошо имитирует поведение природной популяции в предложенной схеме анализа.

Рассмотрим результаты четырехфакторного дисперсионного анализа. Для признака «длина крыла» статистически значимо влияние всех анализируемых факторов и их парных взаимодействий. Для числа щетинок статистически значимо влияние сред F_1 и F_2, гибрида и взаимодействия среда F_2 — гибрид. Для обоих признаков влияние тройного взаимодействия среда F_1 — среда F_2 — гибрид не значимо.

В табл. 2 приведена структура изменчивости признаков в четырехфакторной схеме дисперсионного анализа. Для обоих признаков соотношение дисперсии между гибридами (генотипической) и дисперсии взаимодействия гибрид — среда F_2 (генотип — среда) близко к наблюдаемому в двухфакторной схеме анализа. Таким образом, несмотря на то что влияние экологического последействия и микрофлуктуаций среды статистически значимо, двухфакторная схема анализа, в которой они не учитываются, оказывается достаточно эффективной при анализе взаимодействия генотип — среда. Четырехфакторная схема анализа позволяет дать количественную

оценку влияния экологического последействия и микрофлуктуаций среды в общей структуре изменчивости признаков. Суммарно различия, обусловленные этими факторами, составляют ~8% изменчивости для длины крыла и ~1% для числа щетинок.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что индивидуальное тестирование оплодотворенных самок на средах разной питательности является достаточно эффективным методом при анализе эколого-генетической структуры изменчивости в природных популяциях дрозофилы.

Авторы выражают сердечную признательность О. В. Кузнецовой за ряд полезных советов при обсуждении схемы эксперимента и М. И. Рахману за помощь в математической обработке экспериментальных данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Глотов Н. В.* Оценка генетической гетерогенности природных популяций: количественные признаки // Экология. 1983. № 1. С. 3—10.
2. *Глотов Н. В., Тараканов В. В.* Норма реакции генотипа и взаимодействие генотип — среда в природной популяции // Журн. общ. биологии. 1985. Т. 46. № 6. С. 760—770.
3. *Шеффе Г.* Дисперсионный анализ. М.: Наука, 1980. С. 316.

Институт экспериментальной биологии
АН ЭССР, Таллинн;
Ленинградский государственный университет,
кафедра генетики и селекции

Поступила в редакцию
11.IV.1988

THE INFLUENCE OF ECOLOGICAL PAST AND ENVIRONMENT MICROFLUCTUATIONS ON THE VARIABILITY STRUCTURE OF QUANTITATIVE CHARACTERS IN DROSOPHILA

YACOBSON I. V., GLOTOV N. V.

Institute of Experimental Biology, Academy of Sciences of the Estonian SSR, Tallinn; Leningrad State University, Department of Genetics and Selection

Summary

When genotype-environment interaction is studied in a natural population of Drosophila melanogaster by means of the analysis of natural inseminated female progenies in contrasting nutrient medium, some questions arise concerning possible influence of distinctions between development conditions of parents (ecological past) and distinctions between conditions in different vials containing the same medium (environment microfluctuation) on the components of variance.

The model system – 40 hybrid combinations between the pairs of different laboratory stocks was studied. Each hybrid is an analogue of a female from natural population. Each variant of the F_1 is simultaneously developed in insipid and rich nutrient culture medium. The F_2 (individually from 2 females of each F_1 variant from two mediums) were developed in insipid, normal and rich media. The analysis of the variability structure for left wing length and the number of sternopleural chaetas revealed that differences resulted from ecological past and environment microfluctuation amount in total to 8% of variability for the wing length and 1% for the chaetas number. The correlation of the genotype variance and the genotype – environment interaction variance remained similar for each character, when two-factor scheme of analysis (the ecological past and environment microfluctuations not taken into account) was used for the same material. Thus, this scheme of analysis appears to be effective. The variability structure of each character in this case is close to that observed when analysing individuals from natural population, i. e. the model rather adequately imitates the behaviour of natural population.