ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
Ն. Ի. ՎԱՎԻԼՈՎԻ ԱՆՎԱՆ ԳԵՆԵՏԻԿՆԵՐԻ ԵՎ ՍԵԼԵԿՑԻՈՆԵՐՆԵՐԻ
ՀԱՅԿԱԿԱՆ ԸՆԿԵՐՈՒԹՅՈՒՆ

ԸՆԹԵՐՑՈՒՄՆԵՐ ՆՎԻՐՎԱԾ Ն. Վ. ՏԻՄՈՖԵԵՎ—ՌԵՍՈՎՍԿՈՒ ՀԻՇԱՏԱԿԻՆ

ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԱ ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆ 1983

АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР
АРМЯНСКОЕ ОБЩЕСТВО ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ
ИМЕНИ Н. И. ВАВИЛОВА

ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ Н. В. ТИМОФЕЕВА—РЕСОВСКОГО

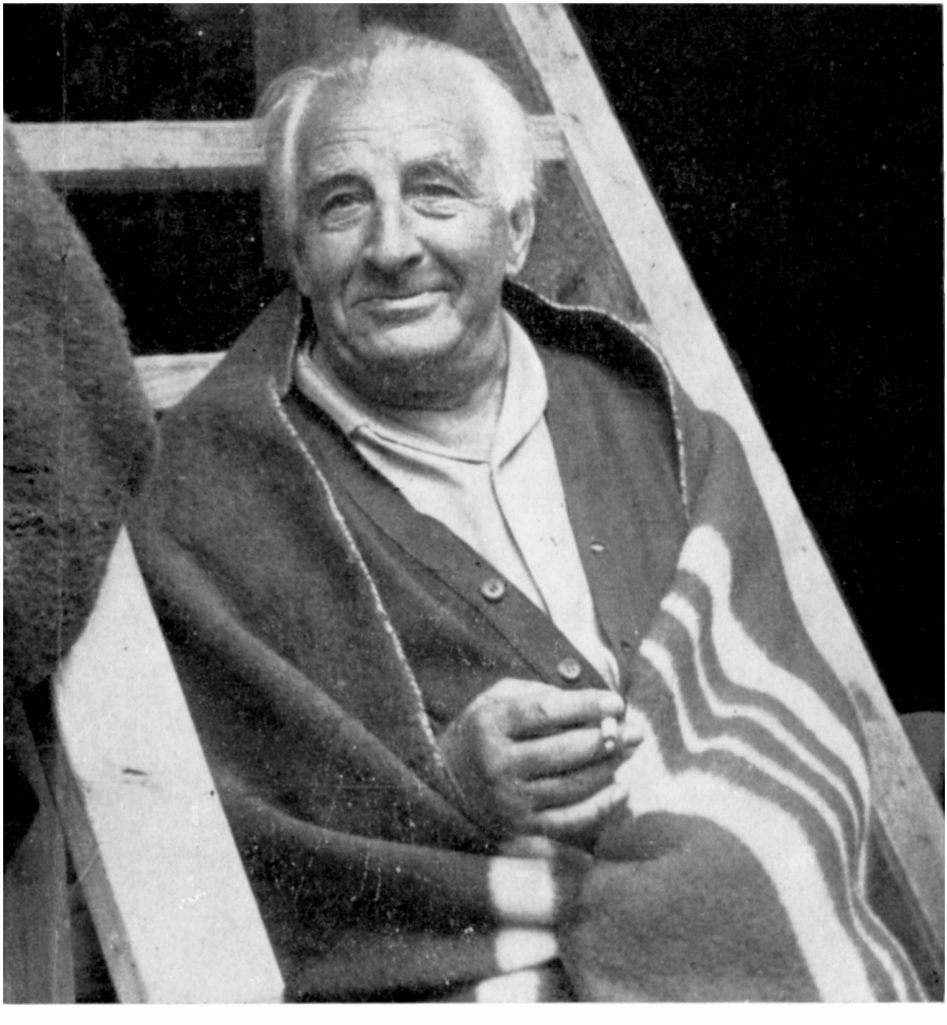
ИЗДАТЕЛЬСТВО АН АРМЯНСКОЙ ССР
ЕРЕВАН 1983

Труды Симпозиума
по современным проблемам биологии,
посвященного памяти
Н.В.Тимофеева-Ресовского

Ереван, 25-27 мая, 1983 г.

Ответственный редактор
Р.Р.Атаян

© Издательство АН Армянской ССР, 1983



Н.В.ГЛОТОВ

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОТИП-СРЕДА В ПРИРОДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ

В течение примерно 15 лет с небольшой группой студентов и аспирантов сперва Московского, а затем Ленинградского университета мы проводим изучение генетической гетерогенности природных популяций растений и животных по количественным признакам /1-7/. Участниками этой работы на разных этапах являются Л.А.Животовский (Институт общей генетики АН СССР, Москва), М.М.Магомедмирзаев (Отдел биологии Дагестанского филиала АН СССР, Махачкала) и Л.Ф.Семериков (Институт экологии растений и животных УНЦ АН СССР, Свердловск). Работа ведется в трех направлениях: 1)количественное исследование иерархической структуры изменчивости на части ареала вида путем разложения общей изменчивости на составляющие компоненты, например, метамерная (билатеральная) изменчивость в пределах особи - между особями в субвыборке - между субвыборками в популяции - между популяциями в территориально связанных группах популяций ...; 2)изучение связи количественных признаков с внутрипопуляционным генетическим полиморфизмом; 3)количественный анализ взаимодействия генотип-среда в природной популяции.

Изложению общих результатов, полученных при изучении третьей проблемы, и посвящено настоящее сообщение.

Почему в качестве инструмента исследования выбраны количественные признаки? Во-первых, различия между значениями количественных признаков у особей в природных популяциях обусловлены, по-видимому, множеством генов. Поэтому, изучая несколько количественных признаков, можно исследовать достаточно представительные части целостных геномов и таким образом характеризовать генетическую гетерогенность популяций в целом, а не по отдельным локусам. Во-вторых, проявление количественных признаков обычно сильно зависит от условий среды обитания и от генетического фона, поэтому оказывается возможным обнаруживать не только собственно генотипические и не только собственно экологические эффекты, но и взаимодействие генотип-среда. Наконец, в-третьих, изучение количественных признаков при разумном их выборе технически достаточно просто и возможно практически для любых видов растений и животных. Последнее обстоятельство крайне важно. Николай Владимирович Тимофеев-Ресовский неоднократно подчеркивал, что сколько-нибудь существенный прогресс в развитии популяционной биологии и теории микроэволюции может быть достигнут лишь при условии вовлечения в популяционно-генетические исследования большого числа видов растений и животных, различающихся по своему систематическому положению, особенностям биологии, месту в биогеоценотической структуре.

Выявление и количественная оценка взаимодействия генотип-среда

В проводившихся ранее исследованиях задача количественной оценки взаимодействия генотип-среда не ставилась /8-II/. Мы предложили для этого достаточно общий метод, пригодный практически для любого вида растений и животных, взятых из природы. Покажем эту экспериментальную схему на примере нашей с В.В.Таракановым работы с дрозофилой. В садах станицы Убинская Краснодарского края отлавливали оплодотворенных в природе самок **Drosophila melanogaster** и индивидуально помещали каждую последовательно на среды, различающиеся по питательности - богатую, нормальную и обедненную. У 8 дочерних осо-

бей от каждой родительской самки на каждой среде измерялись количественные морфологические признаки. Таким образом, получали схему двухфакторного дисперсионного анализа с 8 повторностями в каждой ячейке (ортогональный комплекс). Тогда общую изменчивость по каждому признаку можно разложить на компоненты: межсредовый (экологический), межсемейный (генотипический), взаимодействие семья-среда (генотип-среда) и, наконец, компонент, включающий остаточную, неконтролируемую изменчивость. Разумеется, в этой простой схеме мы оцениваем лишь нижнюю границу генотипической изменчивости, поскольку различия между особями внутри семьи включают, вследствие расщепления, и генотипический компонент. Какой смысл имеет здесь взаимодействие генотип-среда? Обратимся к рис.I. В верхней его части показан случай, когда взаимодействие равно нулю: популяционные средние на разных средах разные, т.е. имеет место влияние среды; различаются и средние для трех семей, показанных на рисунке; однако отрезки прямых О-Н и Н-Б для всех семей параллельны отрезкам, соединяющим общепопуляционные средние. В нижней части рисунка ситуация иная: здесь также видны различия между средами и между семьями, но отрезки для двух семей из трех не параллельны отрезкам, соединяющим общепопуляционные средние. Взаимодействие генотип-среда в нашей схеме означает непараллельность отрезков по крайней мере для некоторых семей отрезкам, соединяющим общепопуляционные средние. Мерой взаимодействия служит степень непараллельности.

Мы проанализировали потомство I69 самок из природной популяции. В табл.I представлены средние доли влияния разных факторов в общей изменчивости признаков. Можно видеть, что по всем изученным признакам обнаруживаются и генотипические, и эффекты взаимодействия генотип-среда. Заметим, что по величине эти доли влияния довольно близки, они систематически воспроизводятся в повторных опытах и не связаны с пространственной структурированностью популяции. Подобно тому, как на компоненты разлагается дисперсия (изменчивость) отдельных признаков, на компоненты можно разложить и ковариации (совместную изменчивость) всех возможных пар признаков. Структура всех ковариаций оказывается удивительно однообразной, хотя

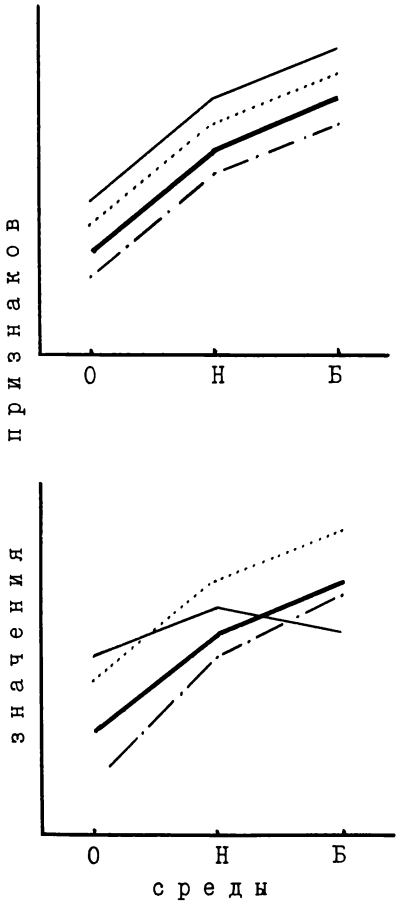


Рис.I. Отсутствие (вверху) и наличие (внизу) взаимодействия генотип-среда. Толстая линия соединяет популяционные средние, остальные линии - средние для отдельных семей.

структура разных дисперсий существенно различна, и в табл.I приведены усредненные по всем ковариациям данные.

Доля семей, обусловливающих взаимодействие генотип-среда

Ответ на вопрос: какова доля семей в популяции, определяющих взаимодействие генотип-среда? - очень важен. Представления о генотипической структуре популяции будут совершенно различными, если лишь единичные особи обусловливают эффект взаимодействия или если этот эффект возникает как явление массовое, основанное на генетической гетерогенности популяций. Для от-

Таблица I

Доли влияния факторов в изменчивости количественных признаков дрозофилы, %

Признаки	Источник изменчивости			
	Среда	Семья	Взаимодействие	Остаточная изменчивость
Длина крыла	80,4	4,0	6,4	9,2
Длина бедра	86,5	2,4	4,4	6,7
Число стерноплевральных щетинок	39,9	I2,3	3,3	44,5
Число абдоминальных щетинок	44,0	II,I	7,9	37,0
Число веточек аристы	27,3	9,0	3,7	60,0
Пары признаков (в среднем)	85,5	2,0	5,I	7,5

вета на этот вопрос мы использовали следующую процедуру. В сумме квадратов взаимодействия семья-среда мы выделили вклады отдельных семей и проранжировали их. Семья, давшая максимальный вклад, исключается из анализа, и для оставшихся семей вновь проводится дисперсионный анализ, вновь определяются вклады отдельных семей во взаимодействие, вновь исключается семья, дающая максимальный вклад. Процедура продолжается до тех пор, пока взаимодействие не перестает быть статистиче-

ски значимым на 5%-м уровне. Заметим, что этот метод позволяет установить лишь нижнюю границу доли семей, создающих взаимодействие генотип-среда: статистические выводы зависят от объема выборки, а наша процедура основана на ее последовательном уменьшении. В табл.2 можно видеть, что взаимодействие генотип-среда, действительно, создается генетической гетерогенностью популяции.

Таблица 2

Доля семей, вносящих вклад во взаимодействие генотип-среда

Признаки	Процент семей в популяции
Длина крыла	58,0
Длина бедра	56,8
Число стерноплевральных щетинок	8,3
Число абдоминальных щетинок	24,9
Число веточек аристы	7,7
Хотя бы по одному признаку	74,6

Типы норм реагирования генотипов в популяции

Изучение взаимодействия генотип-среда приводит в конечном итоге если не к представлению о распределении норм реагирования генотипов в популяции, то по крайней мере к выделению некоторых типов норм реагирования. Описываемый ниже подход предложен В.В.Таракановым. Среди семей, обусловливающих взаимодействие генотип-среда, можно ожидать наличие семей двух типов: I)"стабильных", показывающих как относительно слабое уменьшение значения признака на обедненной среде, так и относительно слабое увеличение значения признака на богатой среде, и 2)"нестабильных", показывающих как более резкое уменьшение значения признака на обедненной, так и более резкое увеличение значения признака на богатой среде. В качестве меры стабильности семьи можно взять стандартное отклонение значений средних для данной семьи на разных средах. Пример тако-

го анализа для одной из выборок по признаку длина крыла показан на рис.2. Распределение в верхней части рисунка характеризует типичные семьи (Т), не дающие вклада во взаимодействие. Распределение в нижней части рисунка явно двувершинно: стабильные (С) семьи четким хиатусом отделены от нестабильных (НС). Точно такие же графики получены и для других выборок. То, что три распределения ясно различаются, удивления не вызывает, это - прямое следствие использованного метода. Несколько неожиданна, пожалуй, лишь четкость разделения стабильных и нестабильных семей. В среднем по всему материалу частота типичных семей составляет 42,3%, стабильных - 23,8% и нестабильных - 33,9%.

Разнообразие типов реагирования особей в популяции может объясняться наличием определенных аллелей, влияющих на норму реакции, но скорее всего, определенными сочетаниями генов, возникающих при рекомбинации. Ответ на этот вопрос может быть получен в специальном эксперименте. Необходимо, предварительно оценив тип реагирования соответствующих родителей, заложить затем популяционные ящики отдельно от типичных, стабильных и нестабильных особей и их смеси и исследовать динамику численности, приспособленности, изменчивость количественных признаков в этих экспериментальных популяциях. Очень перспективным нам представляется анализ типов реагирования при полном контроле всего генома дрозофилы с помощью методики С.М. Гершензона /12/.

Наконец: норма реакции генотипа специфична по отношению к действующему фактору (питательность среды) или имеет общий характер вне зависимости от природы контрастных фонов (питательность среды, температурные воздействия, конкуренция с другими видами и т.п.)?

Как зависит проявление взаимодействия генотип-среда от амплитуды отклонения экологических условий от оптимальных?

Ответ на этот вопрос дает проведенный нами анализ экспериментальных данных И.Н.Дрегольской (Институт цитологии АН СССР, Ленинград) об изменении теплоустойчивости гидры длинностебельчатой (**Hydra oligactis Pall.**) в ответ на разное по амплитуде повышение и понижение температуры среды. Полипов от-

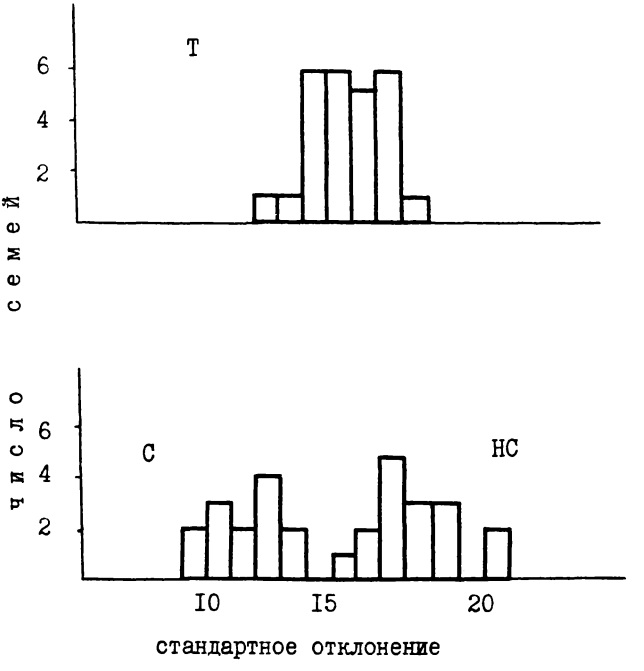


Рис.2. Распределение стандартного отклонения "между средами" для типичных (Т), стабильных (С) и нестабильных (НС) семей по признаку длина крыла.

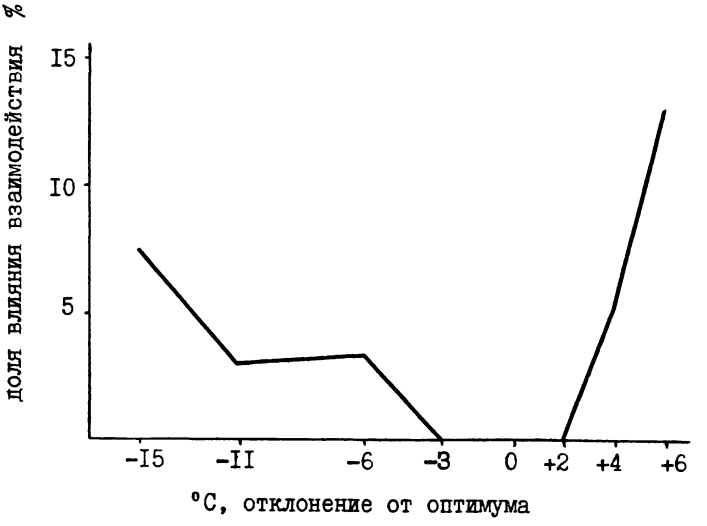


Рис.3. Доля влияния взаимодействия генотип-среда у гидры при разной величине отклонения от оптимальной температуры развития.

лавливали из пруда в окрестностях Ленинграда и клоны от отдельных особей культивировали при температуре 21°С. Затем на сутки гидр переносили для температурной акклимации в пониженную - 6, 10, 15, 18° (холодовая акклимация) или повышенную температуру - 23, 25, 27° (тепловая акклимация). Через сутки гидр подвергали действию тестирующей температуры 35°. Критерием терморезистентности служил логарифм времени переживания особи в тестирующей температуре /13,14/.

Мы проводили анализ данных в соответствии с поставленной задачей следующим образом. Покажем ход рассуждений на материалах по холодовой акклимации. Условия обитания гидры ухудшаются по мере понижения температуры среды. Трудно сказать насколько, но экологические условия, например, при 18° отклоняются от 21° меньше, чем при 15°. Таким образом, минимальные экологические различия имеют место для пары вариантов 21-18°, большие для пары 21-15°, еще большие для пары 21-10° и, наконец, самые большие в эксперименте для пары 21-6°. Тогда можно проанализировать изменчивость терморезистентности на клонах одних и тех же гидр при увеличении степени отклонения от экологического оптимума, сравнивая пары 21-18°, 21-15° и т.д. Аналогичным образом можно проанализировать изменчивость терморезистентности при тепловой акклимации при увеличении контрастности экологических условий в ряду 21-23°, 21-25°, 21-27°.

Возрастание доли влияния взаимодействия клон-условия (генотип-среда) при увеличении отклонения от экологического оптимума показано на рис.3. Однако наряду с признанием более полного выявления взаимодействия генотип-среда в "жестких" экологических условиях, нельзя исключить для определенного вида организмов и определенного признака существования некоторых относительно "мягких" экологических условий, в которых взаимодействие будет проявляться наиболее полно.

Возможность использования экспресс-теста

Оценка взаимодействия генотип-среда путем анализа признаков у родственников на экологически контрастных фонах не может быть полностью применена к долгоживущим видам. Необходимо исследовать возможность использования экспресс-теста. Эта работа бы-

ла выполнена нами с В.В.Гриценко на овсянице Воронова (**Festuca woronowii Hack.**) из популяций Дагестана.

План эксперимента был осуществлен полностью на материале, полученном в Гунибе. Семена от каждого из 37 материнских растений разделяли на три части. В одном варианте семена проращивали в 0,001%-м растворе гиббереллина, оказывающем стимулирующее действие. В другом варианте в качестве ингибитора был использован 0,5%-й раствор нитрата аммония. В третьем, контрольном варианте семена проращивали в водопроводной воде. Учитывали признак максимальная длина ростка, эксперимент продолжался 45 дней.

Была получена следующая структура общей изменчивости: доля влияния условий проращивания составила 84,1%, семей - 7,7% и взаимодействия семья-условия - 4,1%. Параллельно проводились эксперименты по клонированию особей овсяницы с последующим выращиванием клонов на северном и южном микросклонах Гунибского плато и посемейные посевы овсяницы в Гунибе и Москве. Оказалось, что несравненно менее трудоемкий экспресс-тест в то же время гораздо лучше дифференцирует эколого-генетическую структуру популяции.

"Почему сие важно в-пятых?"

Это - один из любимых вопросов Николая Владимировича, его естественная реакция на прослушанный доклад. И нередко следовало печально-ироническое заключение: "В-пятых, это вовсе не важно". Надеемся, в нашем случае это не так. Действительно, с одной стороны, выяснен ряд принципиальных вопросов, касающихся эколого-генетической структуры природных популяций, и, что не менее важно, возник ряд новых вопросов. С другой стороны, предложенный подход может быть эффективно использован в прикладных целях как для характеристики эколого-генетического потенциала разных популяций видов растений и животных, так и для характеристики эколого-генетического потенциала сортов культурных растений и пород домашних животных.

Отметим, наконец, одну тонкость, которая до сих пор специально не подчеркивалась. Обнаружение взаимодействия генотип-среда в природной популяции отнюдь не означает важности одновременно генотипических и экологических факторов. О важности генотипических факторов свидетельствуют эффекты собственно

семей, клонов и т.п. О важности экологических - эффекты разных вариантов условий среды. Взаимодействие генотип-среда - это "третья сила", не сводимая к формуле "генотип+среда". В феномене взаимодействия генотип-среда нельзя выделить и взвесить отдельно генотипический и отдельно экологический компоненты. Подобно тому, как нельзя в феномене Тимофеевых-Ресовских разделить влияния Николая Владимировича и Елены Александровны.

Кафедра генетики и селекции
Ленинградского университета

Литература

I. Н.В.Глотов. Оценка генетической гетерогенности природных популяций: количественные признаки. Экология, №I, 3, I983.

2. Н.В.Глотов, М.М.Магомедмирзаев. Естественноисторическая дифференциация территории и популяционная изменчивость растений. В кн.: Вопросы общей генетики (Труды XIУ Международного генетического конгресса). М., I98I, 45.

3. Н.В.Глотов, Л.Ф.Семериков, В.С.Казанцев, В.А.Шутилов. Популяционная структура **Quercus robur (Fagaceae)** на Кавказе. Бот. журн., т.66, №I0, I407, I98I.

4. М.Г.Пешева. Изучение аномалий жилкования крыла в линиях и популяциях **Drosophila melanogaster.** Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., I982, 20.

5. В.В.Гриценко. Изучение изменчивости природных популяций овсяницы Воронова. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., I982, I5.

6. В.В.Тараканов. Эколого-генетическая изменчивость количественных признаков **Drosophila melanogaster.** Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., I982, 20.

7. Г.И.Арнаутова. Связь генетического полиморфизма с количественными признаками в природных популяциях примулы. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., I982, I5.

8. **J.Clausen, D.D.Keck, W.M.Hiesey. Experimental studies on the nature of species.1.Washington, Carnegie Inst. Wash. Publ., 1940, 452.**

9. **P.A.Parsons. Genotype-temperature interaction for longevi-**

ty in natural populations of Drosophila simulans. Exp. Geront., v.12, N2, 241, 1977.

10. J.T.Giesel, P.A.Murphy, M.N.Manlove. The influence of temperature on genetic interrelationship of life history traits in a population of Drosophila melanogaster what tangled data sets we weawe. Amer. Nat., v.119, N4,464, 1982.

11. A.P.Gupta, R.C.Lewontin. A study of reaction norms in natural populations of Drosophila pseudoobscura. Evolution, v.36, N5, 934, 1982.

I2. С.М.Гершензон. НовI данI про генетику природних популяцIй Drosophila fasciata. В кн.: ЗбIрник праць з генетики АН УРСР, №4-5, 3, I94I.

I3. Б.П.Ушаков, И.С.Амосова, И.М.Пашкова, И.С.Чернокожева. Количественная оценка индивидуальной изменчивости теплоустойчивости клеток и сократительных белков. Цитология, т.I0, №I, 64, I968.

I4. И.Н.Дрегольская. Коэффициент наследуемости теплоустойчивости организма гидры (Hydra oligactis) при оптимальной температуре культивирования и при тепловой акклимации. Журн. общ. биол., т.38, №3, 440, I977.