

ВИЗНАЧЕННЯ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТІ ПРИРОДНИХ ТА ШТУЧНИХ ПОПУЛЯЦІЙ КОМАХ

Маркіна Т.Ю., Злотін А.З.

Харківський національний педагогічний університет імені Г.С.Сковороди

Запропоновано новий спосіб визначення гетерозиготності популяції комах в екосистемах. На прикладі шовковичного шовкопряда доведена можливість визначення ступеня гетерозиготності шляхом встановлення вірогідної різниці між показниками інтенсивності хемотаксису гусениць різних за гетерогенністю популяцій. Встановлено, що інтенсивність хемотаксису у особин гомозиготних популяцій вірогідно нижча, ніж у гетерозиготних.

Спосіб може бути використаний в селекційній роботі, а також для моніторингу стану природних популяцій комах в зонах з високим антропогенним тиском.

Ключові слова: гетерогенність, гетерозиготність, інтенсивність хемотаксису, життєздатність, моніторинг, шовковичний шовкопряд.

Estimation of heterozygosity of natural and artificial populations of insects. Markina T. Yu., Zlotin A.Z. – A new method for estimation of the heterozygosity for insect populations in ecosystems is suggested. The possibility of estimation the degree of heterozygosity by evaluation of significant difference between the chemotaxis intensity of caterpillars from populations with different heterogeneity is proved on example of silkworm. It was determined that chemotaxis intensity of individuals of homozygous populations is significantly lower than in heterozygous populations. The method can be used in breeding work with insects, as well as for monitoring of natural populations of insects in areas with high anthropogenic pressure.

Key words: heterogeneity, heterozygosity, chemotaxis intensity, viability, monitoring, silkworm.

ВСТУП

Гетерозиготність (від грецького heteros – інший, різний та zygotos – поєднаний разом) – генетичне явище, що спостерігається у організмів, гомологічні хромосоми яких несуть різні алелі (альтернативні форми) того чи іншого гену і виникає при схрещуванні різноякісних гамет у зиготі. Явище широко поширене в природі і є однією з причин гетерозису [1].

Наявність у популяціях гетерозиготності обумовлює їх високу гетерогенність. Гетерогенні популяції мають більшу адаптивну здатність у певних умовах середовища за рахунок більшої життєздатності [1].

Практичне визначення рівня гетерозиготності популяцій досить складне завдання. Єдиним відомим способом є проведення аналізуючого схрещування. Суть його полягає у тому, що гібридну (гетерозиготну) особину схрещують з особиною, гомозиготною за рецесивними алелями – "аналізатором". Нащадки аналізуючих схрещувань обов'язково несуть один рецесивний алель від "аналізатора", на фоні якого повинні проявитися алелі, отриманні від організму,

який аналізується. Для аналізуючих схрещувань характерно (крім випадків взаємодії генів) співпадання розщеплення за фенотипом та за генотипом серед нащадків. Таким чином, аналізуючі схрещування дають змогу визначити генотип і співвідношення гамет різного типу у особи [1].

Основними недоліками цього методу є:

1. Необхідність попередніх експериментів для добору "аналізатора".
2. Тривалість та працевитратність проведення робіт.
3. Необхідність володіння методикою розведення даного виду в умовах лабораторії, яка б забезпечила отримання необхідної фази розвитку комах у необхідній кількості.

Метою нашої роботи була розробка простого і мало витратного способу визначення гетерозиготності популяцій комах, на прикладі шовковичного шовкопряда – *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae).

Реалізація поставленої мети базувалась на використанні раніш встановлених прямих залежностей між рівнем гетерозиготності популяцій комах та їх життєздатністю [1] та встановленою нами [2] залежністю між інтенсивністю прояву хемотаксису та рівнем життєздатності (відповідно-гетерозиготності) популяцій комах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для проведення експерименту було використано три штучні популяції шовковичного шовкопряда із різним рівнем гетерозиготності на базі породи Білококонна -2 поліпшена (Б-2 пол.):

1. Б-2 пол. – партеногенетична лінія (особини якої несуть лише спадкові ознаки матері) – гомозиготна лінія;
2. Б-2 пол. – чиста порода – штучно створена людиною група особин, біологічні ознаки якої передаються нащадкам (нащадки мають ознаки батьків) – умовно гетерозиготна;
3. Міжпородний гібрид Б-2 пол. х Б-1 пол. (Білококонна -1 поліпшена) – гетерозиготні особини, які мають гібридну силу – висока гетерозиготність.

Зразки гени кожного варіанту – по 2 г у трьох повторностях інкубували в однакових за розміром паперових лотках при температурі +24⁰С за відомою методикою [6].

Вранці, після виходу гусениць з яєць (зазвичай на 10-11-й день), на них накладали на 30 хвилин напівпергаментні паперові листки, які заздалегідь (за годину) були натерті листям шовковиці для приваблення гусениць-«мурашів».

Листки паперу накладали зворотнім (не натертим) боком для послаблення приваблюючого сигналу, це дає змогу відібрати особин з найбільш інтенсивним хемотаксисом як найбільш життєздатних [5].

Паралельно відбирали гусениць на вигодівлю по 3 повторності, 50 мг (108 шт.) гусениць-мурашів у кожній.

У ході досліджень визначали: інтенсивність хемотаксису (за кількістю гусениць, що відреагували на запах листа шовковиці впродовж 30 хвилин, шт.; життєздатність гусениць, % (за кількістю здорових лялечок по відношенню до початкової кількості гусениць, яких було взято на вигодівлю); рівень гетерозиготності та її відповідність фактичній життєздатності. Отримані дані статистично обробляли за загальноприйнятими методиками [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень було встановлено, що найбільшу інтенсивність хемотаксису показали гусениці міжпородного гібриду і найменш інтенсивно реагували на запах листа шовковиці гусениці партеногенетичної лінії (табл. 1). Інтенсивність хемотаксису гусениць чистої породи була вірогідно більшою, ніж у партеногенетичної лінії та вірогідно меншою за аналогічний показник міжпородного гібрида. Аналізуючи отримані показники життєздатності ми бачимо прямі корелятивні зв'язки між цим показником та показником інтенсивності хемотаксису. Це ще раз підтверджує встановлені нами раніше закономірності [4].

Таблиця 1

Зв'язок між інтенсивністю хемотаксису, життєздатністю гусениць та рівнем гетерозиготності популяцій шовковичного шовкопряда

Характеристика популяції за рівнем гетерозиготності	Інтенсивність хемотаксису, шт/за 30 хв.	Життєздатність гусениць, %	Відповідність показників інтенсивності хемотаксису та життєздатності гусениць рівню гетерозиготності популяції
Б-2 пол. – партеногенетична лінія	24,3 ± 1,4	53,6 ± 1,8	Повна відповідність. Гомозиготна популяція
Б-2 пол. – чиста порода	58,0 ± 1,6	70,1 ± 1,6	Повна відповідність. Умовна гетерозиготність
Б-2 пол. х Б-1 пол. міжпородний гібрид	72,3 ± 1,4	89,8 ± 1,1	Повна відповідність. Висока гетерозиготність

Примітка: Різниця між всіма варіантами за інтенсивністю хемотаксису та життєздатністю гусениць (відповідно й за гетерозиготністю) вірогідна $p < 0,01$ (за t-критерієм Стьюдента).

Аналіз ступеня відповідності показників інтенсивності хемотаксису та життєздатності певному рівню гетерозиготності популяції (табл. 1) свідчить на

користь високої ефективності запропонованого нами способу для визначення ступеня гетерозиготності популяцій комах як в лабораторії, так і у доквіллі.

У подальшому для перевірки ефективності запропонованого нами способу визначення гетерозиготності популяцій комах був проведений «сліпий» дослід на породному матеріалі Мерефа-6 та гібриді Мерефа-6 х Мерефа-7. Три зразки гени за номерами 1, 2, 3 були зашифровані, шифр поміщено в закриті конверти. Грену поставлено на інкубацію та вигодовлю за описаною вище методикою. Результати дослідів наведені в табл.2.

Таблиця 2

Зв'язок між інтенсивністю хемотаксису, життєздатністю гусениць та рівнем гетерозиготності популяцій шовковичного шовкопряда

Шифр	Інтенсивність хемотаксису, шт./за 30 хв.	Життєздатність гусениць, %	Гетерозиготність за ознаками інтенсивності хемотаксису та життєздатністю гусениць	Дослідний матеріал
1	43,3 ± 2,0	64,8 ± 1,7	умовно гетерозиготна	Порода Мерефа -6
2	16,3 ± 1,7	44,1 ± 1,1	гомозиготна популяція	Партеногенетична Мерефа -6
3	62,0 ± 2,1	78,3 ± 1,1	висока гетерозиготність	Гібрид Мерефа-6 х Мерефа -7

Примітка: Різниця між всіма варіантами за інтенсивністю хемотаксису та життєздатністю гусениць (відповідно і за гетерозиготністю) вірогідна $p < 0,01$ (за t-критерієм Стьюдента).

Як свідчать отримані дані (табл. 2) у всіх випадках ступінь гетерозиготності всіх зашифрованих зразків була виявлена вірогідною. Найвищі показники життєздатності та інтенсивності хемотаксису, які свідчили про високу гетерогенність біоматеріалу мав міжпородний гібрид. Найнижчі показники мала партеногенетична лінія, яка, як відомо, і є гомозиготною.

Спосіб визначення гетерозиготності популяцій комах має наступні переваги перед прототипом:

1) Дає можливість оцінити гетерозиготність без проведення попередніх схрещувань;

2) Новий спосіб мало витратний, технологічно простий і може бути використаний в будь-який час року.

Таким чином, за результатами проведених досліджень можна стверджувати, що запропонований та експериментально апробований новий спосіб визначення гетерозиготності популяцій комах, який відрізняється високою точністю порівняльного визначення, технологічністю здійснення і малою витратністю проведення робіт.

ВИСНОВКИ

1. Запропоновано новий спосіб визначення гетерозиготності популяцій комах, який відрізняється тим, що рівень гетерозиготності визначають за вірогідною різницею інтенсивності прояву хемотаксису популяцією, на якій проводяться тести, по відношенню до гомозиготної популяції.

2. Для визначення інтенсивності хемотаксису зразки яєць популяції, на якій проводяться тести та гомозиготної лінії, інкубують в однакових умовах і після виходу личинок на кожну пробу накладають зворотнім боком листок напівпергаментного паперу, який натерто листям кормової рослини. Інтенсивність хемотаксису визначають за кількістю личинок, що переповзли на папір за 30 хв. і порівнюють між собою середні показники варіантів.

3. Встановлено, що інтенсивність хемотаксису в комах позитивно корелює зі ступенем гетерозиготності біоматеріалу.

Література

1. Биологический энциклопедический словарь / [гл. редактор М. С. Гиляров]. – 2-е изд. исправл. – М. : Сов. энциклопедия, 1986. – 864 с.

2. Злотін А. З. Правило залежності інтенсивності прояву таксисів від рівня життєздатності популяцій, на прикладі комах / Злотін А. З., Маркіна Т. Ю. // Доповіді НАН України. – 2009. – № 1. – С. 137–139.

3. Лакин Г. Ф. Биометрия: учебное пособие для биологических специальностей / Лакин Г. Ф. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.

4. Маркина Т. Ю. Интенсивность проявления таксисов и жизнеспособность насекомых: общебиологические закономерности / Маркина Т. Ю., Злотин А. З. // Изв. Харьк. энтомол. общ-ва. – 2010. – Т. XVIII, вып. 2. – С. 66–71.

5. Остапенко Л. Н. Новый способ отбора высоко жизнеспособных гусениц тутового шелкопряда по реакции хемотаксиса / Остапенко Л. Н., Злотин А. З. // Изв. Харьк. энтом. общ-ва. – 2000. – Т. VIII, вып. 1. – С. 173–175.

6. Шовківництво / [Головко В. О., Злотін О. З., Браславський М. Ю. та ін.]. – Харків: Орігінал, 1998. – 416 с.

Определение гетерозиготности природных и искусственных популяций насекомых. Маркина Т.Ю., Злотин А.З. – Предложен новый способ определения гетерозиготности популяций насекомых в экосистемах. На примере тутового шелкопряда доказана возможность определения степени гетерозиготности путем установления достоверной разницы между показателями интенсивности хемотаксиса гусениц разных по гетерогенности популяций. Установлено, что интенсивность хемотаксиса у особей гомозиготных популяций достоверно ниже, чем гетерозиготных.

Способ может быть использован в селекционной работе, а также для мониторинга состояния природных популяций насекомых в зонах с высокой антропогенной нагрузкой.

Ключевые слова: гетерогенность, гетерозиготность, интенсивность хемотаксиса, жизнеспособность, мониторинг, тутовый шелкопряд.