

УДК 574.32

МЕХАНИЗМЫ ПОДДЕРЖАНИЯ ГОМЕОСТАЗА В ЛАБОРАТОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ НАСЕКОМЫХ

© 2015 г. Т. Ю. Маркина*, Г. В. Беньковская**

*Харьковский национальный педагогический университет им. Г.С. Сковороды
6100 Украина, Харьков, ул. Артема, 29
e-mail: tmarkina2009@yandex.ru

**Институт биохимии и генетики УНЦ РАН
450054 Уфа, просп. Октября, 71
e-mail: bengal2@yandex.ru

Поступила в редакцию 15.07.2014 г.

Приведены сравнительные данные о стратегиях поддержания гомеостаза в лабораторных популяциях тутового шелкопряда *Bombyx mori* и комнатной мухи *Musca domestica*. Показано, что отбор по продолжительности жизни сопряжен с дифференциацией репродуктивных стратегий.

Ключевые слова: *Bombyx mori*, *Musca domestica*, лабораторные популяции, продолжительность жизни, отбор, гомеостаз.

DOI: 10.7868/S0367059715040125

В практике лабораторного и технологического разведения насекомых вопрос о стабильности воспроизводства культур и линий имеет первоочередное значение. Принимая во внимание особые условия содержания таких групп, мы должны согласиться с тем, что сравнение искусственных популяций с природными следует проводить очень осторожно. Тем не менее законы популяционной биологии действуют и в искусственных популяциях, и в лабораторных культурах, что позволяет использовать их в качестве объектов изучения механизмов, обеспечивающих гомеостаз – стабильное поддержание жизнеспособности и воспроизводства в отдельных группах особей (Злотин, Головкин, 1998; de Weerd, Verbrugge, 2011).

В лабораторных условиях влияние основных абиотических факторов, как правило, максимально стандартизировано и отсутствуют ограничения пищевых ресурсов. Ведущими факторами естественного отбора становятся, по-видимому, плотность популяции и зависящие от нее факторы, а также сложившаяся генетическая структура. Искусственный отбор, объектом которого является интегральный признак, например продолжительность жизни, позволяет оценить структуру популяций насекомых, выявить механизмы ее изменений и роль отдельных внутривидовых групп особей в поддержании гомеостаза.

В настоящей работе сравниваются результаты отбора по признаку продолжительности жизни в

лабораторных популяциях тутового шелкопряда – *Bombyx mori* Linneus, 1758 (Lepidoptera: Bombycidae) и комнатной мухи – *Musca domestica* Linneus, 1758 (Diptera: Muscidae) на начальных стадиях селекции.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В экспериментах с тутовым шелкопрядом была использована порода Белококонная-1 улучшенная. Индивидуальный отбор имаго-самок с максимальной и минимальной продолжительностью жизни осуществляли на протяжении пяти поколений. На инкубацию отбирали яйца от наиболее долго- и короткоживущих особей. Для определения биологических показателей биоматериала формировали варианты, которые насчитывали по 3 повторности по 50 мг (108–110 особей) гусениц-“мурашей” (гусеницы тутового шелкопряда первых суток после выхода из яйца) в каждой. Гидротермические условия выкармливания соответствовали общепринятым для шелководства нормам, рекомендованным для Украины (Головкин и др., 1992).

Оценка жизненных показателей тутового шелкопряда. Продолжительность жизни имаго-самок определяли с момента выхода бабочки из куколки до момента гибели, каждую самку помещали в индивидуальный пакет. Отбирали по 20 особей в каждом варианте.

Жизнеспособность гусениц тутового шелкопряда определяли как процентное соотношение количества завитых здоровых коконов к исходному количеству гусениц, взятых на выкормку.

Среднюю массу коконов определяли путем взвешивания 20 коконов в 3 повторностях (отдельно для самцов и самок) на 6-й день после завивки из каждого варианта.

Плодовитость самок определяли, подсчитывая число яиц в кладке в каждом пакете с долгоживущими и короткоживущими самками. Вели подсчет всех яиц, отложенных самкой до момента ее гибели.

Содержание линий комнатной мухи. Исходным материалом служила лабораторная популяция *Musca domestica* L. (*S*), производная от линии *Cooper*, любезно переданной нам д.б.н. С.А. Рославцевой (ВНИИ дезинфектологии, г. Москва). Личинок содержали в субстрате из увлажненных отрубей (по 200–400 в контейнерах объемом 0.25 л), имаго – в капроновых садках (30 × 30 × 30 см, по 150–300 особей), корм – сухая молочная смесь (Рославцева, 1978). Все эксперименты проводили в стандартных условиях (комнатная температура 20–25°С, 12-часовой световой день).

Отбор в популяции комнатной мухи на повышенную и пониженную продолжительность жизни. Отбор вели массовым способом и методом индивидуального отбора. При массовом отборе контейнеры с субстратом для откладки яиц (увлажненные отруби) помещали в садок с имаго 2 раза в неделю, начиная с момента вылета нового поколения (исходное поколение линии *S* – F 20). Для последующего ведения массовой линии короткоживущих особей (*Short span general*, *Sh gen*) отбирали кладки, отложенные в течение первых 14–18 суток имагинальной стадии. Кладки, отложенные от 25 суток до конца вымирания когорты, оставляли для ведения массовой линии долгоживущих особей (*Long span general*, *L gen*). Данный прием воспроизводили в каждом последующем поколении массовых линий. Гомогенные линии с повышенной и пониженной продолжительностью жизни создавали путем индивидуального отбора. Виргинные самки из поколения F3 линии *Sh gen* были рассажены попарно с самцами того же поколения. В течение всей жизни родительского поколения собирали отложенные кладки, но для ведения оставляли только потомство тех особей, которые прожили не более 30 суток. Было отобрано 18 пар, в дальнейшем линии с обозначением *Sh* 1–18 вели изолированно. Аналогично были рассажены виргинные самки и самцы из поколения F3 линии *L gen*. Для дальнейшего разведения было оставлено потомство особей, проживших не менее 35–40 суток. Изолированно содержавшиеся линии обозначали *L* 1–12. В каждом новом поколении потомства линий комплекса *Sh* продолжали от-

бор кладок, отложенных в течение первых 14–18 суток имагинальной стадии, а в линиях комплекса *L* – отбор кладок, отложенных после 30 суток жизни имаго.

Оценка жизненных показателей в линиях комнатной мухи. *Продолжительность жизни* (ПЖ) каждой особи регистрировали с момента вылета имаго, собирая ежедневно погибших и определяя их пол. Для каждого поколения рассчитывали среднюю продолжительность жизни самок и самцов, а также определяли средние величины минимальной и максимальной продолжительности жизни на протяжении 5 поколений селекции.

Плодовитость самок определяли, подсчитывая число кладок и яиц в кладках при смене контейнеров для откладки яиц на протяжении всего периода репродукции и рассчитывая отношение этих значений к числу живых самок в садке на момент учета.

Скорость развития рассчитывали как период от момента откладки яиц до появления первых пупариев (время развития личинок) и от момента появления пупариев до начала вылета имаго (время развития пупариев).

Выживаемость потомства оценивали на личиночной стадии, подсчитывая количество образовавшихся пупариев и выражая его процентное отношение к сумме яиц, отложенных за все время репродукции в данном поколении каждой линии, на стадии пупария – рассчитывая процентное отношение суммы вышедших имаго к сумме пупариев.

Массу пупариев рассчитывали в каждом поколении, проводя взвешивание 10–20 2-суточных пупариев в 3–4-кратной повторности. Все показатели регистрировали для всех линий на протяжении 5 поколений.

Статистический анализ проводили с использованием программ Excel 2003. Для анализа уровня изменчивости рассчитывали коэффициент вариации (Лакин, 1990). Достоверность различий ПЖ имаго оценивали с помощью критерия Уилкокса, средних значений продолжительности развития, выживаемости, плодовитости – с применением критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Первый показатель эффективности отбора по выбранному нами признаку – изменения продолжительности жизни (ПЖ) имаго в дочерних поколениях. Все показатели для более адекватного сравнения приведены для самок. Тенденции изменений средней ПЖ тутового шелкопряда и комнатной мухи можно проследить по данным табл. 1.

Общие для наших объектов процессы различаются в зависимости от направленности отбора. При отборе на повышение ПЖ к пятому поколе-

Таблица 1. Влияние отбора по продолжительности жизни самок тутового шелкопряда и комнатной мухи на среднюю продолжительность жизни в дочерних поколениях

Продолжительность жизни	Средняя продолжительность жизни самок, дни			
	F2	F3	F4	F5
Повышенная у <i>B. mori</i>	13.39 ± 0.53	13.44 ± 1.32	13.60 ± 0.66	14.56 ± 0.61
Пониженная у <i>B. mori</i>	11.95 ± 0.56	8.73 ± 1.19*	10.41 ± 1.24*	12.17 ± 0.81*
Повышенная у <i>M. domestica</i>	28.0 ± 0.57	39.0 ± 6.08*	38.67 ± 5.17*	46.0 ± 2.18*
Пониженная у <i>M. domestica</i>	21.8 ± 5.2	14.4 ± 2.94*	18.2 ± 4.96*	17.0 ± 1.32*

* Достоверное различие между вариантами отбора, $p < 0.05$.

Таблица 2. Влияние отбора по продолжительности жизни самок тутового шелкопряда и комнатной мухи на уровень изменчивости показателей продолжительности жизни в дочерних поколениях

Вариант отбора	Вид	Коэффициент вариации для средних значений (CV), %			
		F2	F3	F4	F5
На повышенную продолжительность жизни	<i>B. mori</i>	3.95	9.82*	4.85	4.19
	<i>M. domestica</i>	2.0	15.59*	13.37*	4.74
На пониженную продолжительность жизни	<i>B. mori</i>	4.69	13.63*	11.91*	6.66
	<i>M. domestica</i>	23.85*	16.94	27.25*	7.76

* $p < 0.05$ (отличие от среднего значения для исходной популяции).

нию этот показатель достоверно повышается по сравнению со значениями для F2 как у *B. mori*, так и у *M. domestica*. При отборе на снижение ПЖ для F5 и F2 достоверные различия отсутствуют, хотя для F3 мы наблюдали снижение этого показателя на высоком уровне значимости ($p < 0.001$).

Интересны изменения размаха изменчивости, оцениваемые с помощью коэффициента вариации CV, которые происходили в популяциях *B. mori* и *M. domestica* при всех вариантах отбора (табл. 2). Значения CV достоверно повышаются на протяжении первых трех поколений отбора и заметно снижаются только к пятому поколению. Сравнение уровня вариабельности показателей в

пятом поколении селекции для разных вариантов отбора (табл. 3) показало, что ПЖ имаго, выживание на стадии личинки и пупария (куколки у шелкопряда) сильнее варьируют при отборе на понижение ПЖ в лабораторных популяциях как *B. mori*, так и *M. domestica*, что демонстрирует неравнозначность направления отбора.

Такой показатель, как продолжительность развития на преимагинальных стадиях, может существенно изменяться, и не всегда снижение скорости развития либо ее повышение совпадают с направлением изменения общего адаптивного потенциала в лабораторной популяции насекомых (Беньковская, Соколянская, 2010). Данные о

Таблица 3. Вариабельность жизненных показателей при отборе на повышенную и пониженную продолжительность жизни в лабораторных популяциях тутового шелкопряда и комнатной мухи (в 5-м поколении)

Вариант отбора	Вид	Коэффициент вариации для средних значений (CV), %						
		1	2	3	4	5	6	7
На повышенную продолжительность жизни	<i>B. mori</i>	2.9	1.9	1.4	1.9	2.8	3.7	2.7
	<i>M. domestica</i>	0.9	5.1	12.6	5.3	0.7	17.8	17.1
На пониженную продолжительность жизни	<i>B. mori</i>	4.4*	1.5	1.3	3.4*	4.3*	3.1	2.7
	<i>M. domestica</i>	15.0*	16.4*	10.6	7.7*	4.4*	12.5	12.3

Примечание: 1 – продолжительность жизни самок; 2 – продолжительность развития личинок; 3 – продолжительность развития на стадии пупария; 4 – выживаемость на стадии личинки; 5 – выживаемость на стадии пупария; 6 – масса куколки (пупария); 7 – количество яиц в кладке; * – $p < 0.05$ (отличие от среднего значения для другого варианта отбора).

Таблица 4. Влияние отбора самок тутового шелкопряда и комнатной мухи по показателю продолжительности жизни на биологические показатели потомства

Показатели		Отбор	
		на повышенную продолжительность жизни	на пониженную продолжительность жизни
Жизнеспособность, личинок, %	<i>B. mori</i>	91.05 ± 1.79	80.42 ± 2.72**
	<i>M. domestica</i>	95.0 ± 5.0	86.67 ± 6.7*
Средняя масса, г	Коконов <i>B. mori</i>	1.89 ± 0.07	1.92 ± 0.06
	Пупариев <i>M. domestica</i>	11.91 ± 2.12	15.57 ± 1.95
Жизнеспособность, %	Коконов <i>B. mori</i>	85.98 ± 2.39	77.06 ± 3.33*
	Пупариев <i>M. domestica</i>	62.58 ± 0.44	65.4 ± 2.9

* Достоверное различие между вариантами отбора, $p < 0.05$;

** $p < 0.001$.

продолжительности развития тутового шелкопряда и комнатной мухи на личиночной и кукольной стадиях демонстрируют общие тенденции и различия между объектами. Как показывают наши результаты, отбор быстро приводит к достоверным различиям между отбираемыми на повышение и понижение ПЖ группами насекомых. У долгоживущих самок тутового шелкопряда ПЖ на 2.56 дня достоверно выше ($p < 0.001$), чем у короткоживущих особей (13.75 ± 0.4 и 11.19 ± 0.49 соответственно). На один день достоверно ($p < 0.05$) уменьшился срок инкубации грены тутового шелкопряда в варианте отбора на пониженную ПЖ. У комнатной мухи отбор привел к увеличению ПЖ долгоживущих самок на 15.95 дня ($p < 0.01$) по сравнению с короткоживущими (39.75 ± 0.35 и 23.8 ± 3.57 соответственно).

На скорость развития личинок до наступления стадии куколки отбор не повлиял. Сроки развития куколок у тутового шелкопряда между группами различаются достоверно на 0.87 дня ($p < 0.05$), тогда как для комнатной мухи таких достоверных различий после 4 поколений селекции не обнаружено. Вероятно, в этом случае большое значение имеет история популяции: в популяциях тутового шелкопряда именно стадия куколки всегда была объектом отбора в отличие от комнатной мухи.

Тенденции к изменениям показателей приспособленности на преимагинальной фазе онтогенеза в лабораторных популяциях тутового шелкопряда и комнатной мухи очень сходны, о чем можно судить по жизнеспособности личинок и некоторым параметрам куколок (табл. 4).

Достоверно более высокая жизнеспособность личинок отмечена в вариантах с отбором на повышение ПЖ для обоих объектов. Жизнеспособность коконов у тутового шелкопряда также была выше в этом варианте, в то время как у *M. domestica* достоверных отличий в жизнеспособности

пупариев не наблюдалось. Интересно, что при этом мы отметили общие тенденции изменения средней массы кокона у *B. mori* и пупария у *M. domestica*: средняя масса кокона и пупария в вариантах с отбором на повышенную ПЖ несколько ниже, хотя статистически значимого отличия нет.

Различия в количестве яиц, откладываемых самками из групп с разной ПЖ, недостоверны: у комнатной мухи долгоживущие самки откладывали 30.48 ± 5.2 яиц, а короткоживущие — 36.74 ± 4.5 яиц.

Для популяции тутового шелкопряда заметна тенденция к большей плодовитости самок с повышенной ПЖ (698.96 ± 18.8 яиц в кладке у долгоживущих самок и 659.52 ± 17.7 — у короткоживущих), но при этом значительны колебания количества отложенных яиц. Комнатная муха откладывает за один раз на порядок меньше яиц. Ранее мы отмечали, что продолжительность репродуктивного периода у самок с пониженной ПЖ значительно короче (Беньковская, 2009). Возможно, что компенсация этих эффектов сводится к большей суммарной плодовитости; это отчасти объясняет и пониженную выживаемость личинок в линиях с меньшей ПЖ.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Отбор по продолжительности жизни в лабораторных популяциях насекомых имеет ряд особенностей. Как правило, повышенная ПЖ ассоциируется с повышенной жизнеспособностью потомства, т.е. с лучшей выживаемостью на преимагинальных стадиях, а также с высокой плодовитостью и повышенной устойчивостью к воздействиям неблагоприятных факторов. Сокращение ПЖ имаго соответственно должно сопутствовать снижению плодовитости, низкому уровню устойчивости к стрессорам и снижению выживаемости потом-

ства. Мы попытались сравнить эффекты отбора на протяжении 5 последовательных поколений у двух видов насекомых.

Видимо, генетически определенные границы допустимого сокращения жизни поддерживаются скрытыми компенсаторными механизмами, не сразу вступающими в действие. Об этом свидетельствуют факты, зарегистрированные для обоих объектов: если в F3 при отборе на снижение ПЖ значения ниже, чем в F2, и кажется, что дальнейшее их снижение реально, то уже в последующих поколениях значения ПЖ опять становятся выше. Вероятно, скрытый компенсаторный механизм, запрещающий неограниченное снижение ПЖ, можно представить как повышение уровня изменчивости в ответ на действие отбора и нарушение определенного генетического баланса, сложившегося в исходной лабораторной популяции к началу эксперимента.

Если согласиться с тем, что отбор на пониженную ПЖ имаго приводит в действие конфликт интересов особи и популяции, то наблюдаемые достоверно более высокие значения размаха изменчивости в вариантах с отбором на понижение ПЖ могут считаться демонстрацией работы механизма обратной связи, необходимого для поддержания гомеостаза в популяциях.

Полученные результаты иллюстрируют действие разных форм отбора. В популяции *V. mori* постоянно действует стабилизирующий отбор, обусловленный контролем качества гены и шелконосности тутового шелкопряда. В исходной популяции *M. domestica* отсутствие стабилизирующего отбора проявляется в более выраженных колебаниях всех регистрируемых показателей, в том числе и сроков развития личинок, что позволило наблюдать и для этого показателя реакцию в виде повышения значений коэффициента вариации при отборе на понижение ПЖ.

Итак, если сравнивать все тенденции, то можно отметить, что на скорости развития отбор по ПЖ самок отражается далеко не сразу. Очевидно, изменения этого показателя могут свидетельствовать о серьезных перестройках фенетической и генетической структуры популяций и нарушении их гомеостаза.

Очевидно, что отбор на повышение или понижение ПЖ имаго сопряжен с проявлением различных эффектов на стадии личиночного развития. Снижение жизнеспособности личинок при отборе на понижение ПЖ имаго насекомых, вероятно, могло бы свидетельствовать о проявлении нарушений в онтогенетической программе, однако в этом случае нет объяснения для высокой жизнеспособности на стадии куколки, обычно наиболее легко уязвимой и легко реагирующей на любые изменения условий. Скорее всего, это следствие различий в стратегии реализации онто-

генетической программы между долго- и короткоживущими особями.

Отбор на повышенную ПЖ основан на том, что в воспроизводстве потомства будут участвовать особи, способные к репродукции достаточно долгое время. Период репродукции у таких особей должен быть сильно растянут либо сдвинут на более позднюю часть имагинального периода жизни. Как показали наши наблюдения, в данной лабораторной популяции комнатной мухи отмечено именно такое расхождение пиков плодовитости (Беньковская, 2009; Беньковская, Соколянская, 2010).

Отбор в лабораторных популяциях насекомых на повышенную и пониженную ПЖ направлен на выделение сосуществующих групп особей, различающихся стратегиями реализации жизненной программы. Полученные нами результаты позволяют считать действие отбора на первых поколениях селекции дестабилизирующим (Трут, 2000). Всплеск изменчивости, отмеченный нами в лабораторных популяциях тутового шелкопряда и комнатной мухи во 2–3-м поколениях при селекции по признаку ПЖ, можно считать подтверждением этой гипотезы. Сдвиг нормы реакции, зарегистрированный нами при селекции на пониженную ПЖ, оказался временным. Эти данные свидетельствуют о проявлении компенсаторной реакции популяции в ответ на стресс, обусловленный давлением отбора.

Выживаемость потомства, повышенная в условиях нашего эксперимента, может считаться показателем того, что увеличение генетического разнообразия в сочетании с продолжающимся давлением отбора, т.е. со стрессом экологического характера, открывает возможности для более эффективного использования ресурсов биоценоза – эксплуатации дифференцированных экологических ниш (Nevo et al., 1994; Парсонс, 2000). В случае с лабораторными популяциями насекомых отбор на различную ПЖ, сопряженный с расхождением пиков плодовитости и соответственно с дифференцированным по времени развитием потомства, создает возможность временной дифференциации ниш.

Таким образом, пространственные ограничения, постоянная изоляция и направленный отбор являются факторами, лимитирующими возможности лабораторных популяций насекомых для сохранения высокого уровня полиморфизма и адаптивного потенциала. Тем не менее гомеостаз в таких популяциях поддерживается за счет компенсаторных эффектов. Одним из механизмов, обеспечивающих эти эффекты, является наблюдаемая дифференциация экологических ниш во времени, базирующаяся на реализации различных репродуктивных стратегий при сохранении

достаточно высокого уровня воспроизводства численности популяции.

Работа частично поддержана РФФИ (гранты № 15-04-0481-а и 12-04-014050-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Беньковская Г.В.* Репродуктивные показатели и продолжительность жизни при отборе на раннее и позднее репродуктивное усилие в лабораторных линиях комнатной мухи // *Материалы V съезда ВОГиС.* М., 2009. Ч. 1. С. 66.
- Беньковская Г.В., Соколянская М.П.* Адаптивная значимость формирующейся устойчивости к стрессорам разного типа в лабораторных популяциях комнатной мухи // *Экология.* 2010. Т. 41. № 3. С. 264–268.
- Головко В.А., Злотин А.З., Кириченко И.А.* Система мероприятий по оптимизации технологических процессов разведения тутового шелкопряда, профилактике и борьбе с болезнями: методические рекомендации. Харьков, 1992. 60 с.
- Злотин А.З., Головко В.А.* Экология популяций и культур насекомых. Харьков: РИП “Оригинал”, 1998. 232 с.
- Лакин Г.Ф.* Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
- Парсонс П.А.* Поведение, стресс и возможности адаптации // *Стресс и эволюция: концепция Д.К. Беляева и ее развитие* / Под ред. Шумного В.К., Маркеля А.Л. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2000. С. 95–102.
- Рославцева С.А.* Методы определения инсектоакарицидной активности и методы разведения биотестов в лабораторных условиях. М.: НИИТЭХИМ, 1978. 32 с.
- Трут Л.Н.* Проблема дестабилизирующего отбора в развитии // *Стресс и эволюция: концепция Д.К. Беляева и ее развитие* / Под ред. Шумного В.К., Маркеля А.Л. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2000. С. 7–14.
- De Weerd H., Verbrugge R.* Evolution of altruistic punishment in heterogeneous populations // <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21903100> 2011 V. 290. P. 88–103.
- Nevo E., Filipucci M.G., Beiles G.* Genetic polymorphisms in subterranean mammals (*Spalax ehrenbergi* superspecies) in the Near East revisited: patterns and theory // *Heredity.* 1994. V. 72. P. 465–487.