

СКРЕЩИВАНИЕ ДДТ-РЕЗИСТЕНТНЫХ ЛИНИЙ ДРОЗОФИЛЫ

Н. В. Ворошилов

Генетика устойчивости насекомых и клещей к инсектицидам — одна из актуальных областей. Сведения о развитии свойства устойчивости к ДДТ в естественных популяциях в процессе естественного отбора и в лабораторных популяциях также недостаточны. А между тем вопросы генетики устойчивости к ДДТ имеют селекционные аспекты устойчивости млекопитающих к паразитам и в обратных ее механизмов и тем самым приобретают значение для борьбы с контролем численности вредных насекомых.

В настоящее время в литературе приведены опыты по выработке резистентности к ДДТ у лабораторных форм дрозофилы, происходивших от одной популяции (Полтавской, Николаевской и Кировской популяций). С завершением работ по выработке резистентности к ДДТ было решено провести скрещивание полученных форм.

При скрещивании полученных форм ставилось задачей выяснить следующие вопросы: 1) возможность выработки резистентности в гибридном потомстве; 2) возможность выработки форм из резистентных и чувствительных родителей; 3) возможность наследования резистентности к ДДТ по доминантному или рецессивному; 4) возможность выработки форм из резистентной основы резистентности в исследуемых линиях; 5) возможность наследования резистентности; 6) возможность проявления гетерозиса при скрещивании форм при скрещивании резистентных линий.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В качестве объекта исследования использована плодовая мушка *Drosophila melanogaster* Meig.

В 1958 г. из естественных популяций на Украине самки из природных популяций г. Полтавы и местности Кировки Полтавской области УССР. От каждой самки были выделены линии, разводившиеся путем тесного инбридинга (спаривания брат — сестра). Начиная с F_1 , в каждой линии были выделены сублинии, в одной сублинии велся отбор на увеличение устойчивости к ДДТ путем экзозонизации самок и самцов на последовательно повышающихся в поколениях дозах ДДТ, в другой сублинии отбор на устойчивость к ДДТ отсутствовал (контроль), вследствие чего начальная устойчивость, характеризовавшая исходные популяции, снижалась.

В результате прямого отбора по выживаемости самок удалось создать к 17—18 поколениям линии П-81, П-107 (из Полтавской популя-

ции) и К-5 (из Карловской популяции), обладающие заметной резистентностью, в 200—250 раз большей по сравнению с уровнем резистентности у исходных популяций.

Методика токсикологического воздействия была заимствована у Ю. М. Оленова (1958) с некоторыми видоизменениями. В пробирку для экспозиции (диаметр 2,5 см, высота 7 см) на дно наливался быстро загустевший слой агар-сахарной среды толщиной 0,2—0,3 см и вставлялась полоска фильтровальной бумаги 2×5 см, предварительно обработанная раствором ДДТ в ацетоне. Использовались концентрации ДДТ от 0,075%, что соответствует дозе 1 γ/см², до 38,4% — доза 512 γ/см². Расчет дозы производился на всю внутреннюю поверхность пробирки и на площадь отравленной полоски фильтровальной бумаги.

В каждую пробирку для экспозиции помещалось по 10 самок и 10 самцов. Расчет велся по выживаемости самок. Экспозиция проводилась при непрерывном освещении в течение 24 ч в камере-термостате при температуре 25 ± 1° и относительной влажности 65%.

Для скрещивания использовались доведенные самки в возрасте не более 8 ч от момента выхода из куколки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПЫТОВ

Скрещивания ДДТ-резистентных линий с чувствительными показали, что гибридное потомство, как правило, обладает вышесредней степенью выраженности признака резистентности (табл. 1).

Таблица 1

Проявление признака резистентности при скрещивании резистентных (R) и чувствительных (S) сублиний дрозофилы

Родительские формы и гибриды	Выжило самок (в %) при экспозиции на дозе		
	4 γ/см ²	61 γ/см ²	512 γ/см ²
П-81 R	90 ± 0,7	90 ± 0,7	94 ± 1,7
П-81 S	6 ± 1,5	1 ± 0,7	1 ± 0,7
П-107 R	99 ± 0,9	93 ± 1,5	82 ± 3,1
П-107 S	0	0	0
♀П-81 R × ♂П-107 S	92 ± 1,9	62 ± 3,4	11 ± 2,1
♀П-107 S × ♂П-81 R	95 ± 1,4	78 ± 2,9	45 ± 3,3
♀П-107 R × ♂П-81 S	94 ± 1,6	83 ± 2,7	61 ± 3,1
♀П-81 S × ♂П-107 R	97 ± 1,2	71 ± 3,2	47 ± 3,5
♀П-107 R × ♂П-107 S	84 ± 3,3	—	59 ± 4,4
♀П-107 S × ♂П-107 R	87 ± 2,6	—	30 ± 3,5
К-5 R	82 ± 1,2	—	—
К-5 S	0	—	—
♀К-5 R × ♂К-5 S	63 ± 2,8	—	—
♀К-5 S × ♂К-5 R	49 ± 3,2	—	—

Прежде всего следует отметить, что родительские формы, участвовавшие в скрещиваниях, очень сильно различались по выживаемости самок на всех трех исследованных дозах. В резистентных сублиниях П-81, П-107 и К-5 выживаемость самок колебалась от 82 до 99%, а в со-

ответствующих контрольных чувствительных сублиниях — от 0 до 6%.

При скрещивании сублиний П-81 и П-107 мы столкнулись с редким явлением, когда у гибрида $\frac{1}{2}$ П-107 $S \times \frac{3}{2}$ П-81 R выживаемость при испытании на всех дозах оказалась выше, чем у другого гибрида, полученного от резистентных самок и чувствительных самцов. Различия эти достоверны на дозе $64 \text{ } \mu\text{см}^2$ ($t = 3,7$) и на дозе $512 \text{ } \mu\text{см}^2$ ($t = 8,9$).

При скрещивании резистентной сублинии П-107 с чувствительными особями П-81 резистентность гибридов на дозе $4 \text{ } \mu\text{см}^2$ чувствительными того же порядка, что и у резистентных родителей. Различия между реципрокными гибридами выступают лишь начиная с дозы $64 \text{ } \mu\text{см}^2$, но не достигают полной статистической достоверности ($t = 2,6$). В этом случае уровень резистентности гибридов испытывает большее влияние со стороны материнской, а не отцовской родительской формы, т. е. наблюдается матрицизм.

Еще более выражены различия между реципрокными гибридами от скрещивания сублинии П-107 R с чувствительным аналогом — мухам сублинии П-107 S при воздействии дозой $512 \text{ } \mu\text{см}^2$ различия вполне достоверны ($t = 3,9$) и также свидетельствуют о преобладающем влиянии материнской формы.

При скрещивании резистентных и чувствительных форм линии К-5 различия между реципрокными гибридами выявились на первой же поставленной дозе $4 \text{ } \mu\text{см}^2$ ($t = 3,2$). Характерно, что уже на этой низкой дозе как прямые, так и реципрокные гибриды проявили заметно более высокую резистентность, чем у родительской формы К-5 R .

В линии П-107 изучался характер наследования резистентности. Предыдущие опыты (табл. 1) показали, что уровень устойчивости гибридов F_1 при испытании на дозе $4 \text{ } \mu\text{см}^2$ был почти столь же высоким, как и у родительской резистентной сублинии, т. е. наблюдалось полное доминирование резистентности.

Мы поставили своей целью определить, моногенно или полигенно наследуется резистентность в линии П-107. Для этого можно было бы получить F_2 , а затем анализировать самок этого поколения по их потомству F_3 , можно было бы провести однократный бэкресс на рецессивную чувствительную форму, но мы предпочли провести двойной бэкресс на сублинию П-107 S , так как только таким путем можно было определить частоту нулевых (рецессивных чувствительных) классов со 100-процентной смертностью. При однократном бэкрессе такие чувствительные особи находятся в смеси с резистентными в каждом стаканчике, заключающем потомство самки F_1 . При двойном бэкрессе происходит выделение рецессивных форм по отдельным пробиркам-культурам, что значительно облегчает их обнаружение и анализ.

Из 60 культур по второму бэкрессе 16 (27%) оказались рецессивными. При моногенном наследовании факторов резистентности следовало бы ожидать 50% культур только с рецессивными чувствительными особями, при дигенном — 25%, при тригенном — 12,5%. Полученные в опыте результаты свидетельствуют о том, что основные наследственные факторы резистентности имеются по крайней мере в 2-х группах сцепления.

Кроме линии П-107, из той же Полтавской популяции нами одновременно была создана вторая лабораторная линия П-81, по уровню и характеру резистентности очень сходная с первой. Нас заинтересовал вопрос, насколько идентична генетическая конституция устойчивости в этих близких по происхождению и сходных по проявлению свойства резистентности линиях. Ответ на поставленный вопрос мы рассчитывали получить при анализе F_2 от скрещивания указанных резистентных суб-

линий. Обе сублинии были доведены при тесном инбридинге до 48-го поколения и потому могут условно считаться гомозиготными по наследственным факторам, обуславливающим их устойчивость к ДДТ. F_1 от скрещивания этих сублиний во всех случаях должно быть гомогенным, т.е. не проявлять расщепления. Если обе сублинии обладают тождественным набором факторов резистентности, то F_2 должно обладать тем же уровнем резистентности, что и F_1 , и также не проявлять расщепления. Если же резистентности факторов резистентности в обеих сублиниях F_2 будет проявлять расщепление и в целом обладать более низким уровнем резистентности, чем родительские формы и F_1 . Последнее предположение не подтвердилось при экспозиции на дозу $512 \text{ } \mu\text{g}/\text{cm}^2$ были по-прежнему устойчивы родители.

F ₁ (II-107 × К-5) и F ₂ (II-107 × К-5) при дозе 512 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	
Формы	Число мух
II-107	100
К-5	100
II-107 × К-5	100
II-107 × II-107	100
К-5 × К-5	100

В результате скрещивания устойчивых линий II-107 и К-5 при дозе 512 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ получены гибриды, устойчивые к ДДТ в 1,5 раза больше, чем родители. При дозе 1192 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 2,5 раза больше, чем родители. При дозе 512 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 1,5 раза больше, чем родители. При дозе 1192 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 2,5 раза больше, чем родители. При дозе 512 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 1,5 раза больше, чем родители. При дозе 1192 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 2,5 раза больше, чем родители.

В результате скрещивания устойчивых линий II-107 и К-5 при дозе 512 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ получены гибриды, устойчивые к ДДТ в 1,5 раза больше, чем родители. При дозе 1192 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 2,5 раза больше, чем родители. При дозе 512 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 1,5 раза больше, чем родители. При дозе 1192 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 2,5 раза больше, чем родители.

Результаты скрещивания устойчивых линий II-107 и К-5 при дозе 512 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ получены гибриды, устойчивые к ДДТ в 1,5 раза больше, чем родители. При дозе 1192 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 2,5 раза больше, чем родители. При дозе 512 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 1,5 раза больше, чем родители. При дозе 1192 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ гибриды оказались устойчивыми в 2,5 раза больше, чем родители.

Для выявления гетерозиса мы провели прежде всего скрещивания между устойчивыми сублиниями (табл. 2).

Гетерозис, выражающийся в повышенной выживаемости мух при воздействии ДДТ, обнаружен у гибридов от скрещивания линий II-107 и К-5 (№ 15) и частично при скрещивании линий II-107 и К-15 (№ 19), хотя в последнем случае различия в выживаемости у родительской формы (№ 17) и гибрида (№ 19) статистически недостоверны.

При анализе приведенных в табл. 2 материалов можно видеть, что потомство от скрещивания резистентных линий обладает, как правило, промежуточным уровнем резистентности и различия между реципрокными гибридами по этому признаку очень часто являются статистически достоверными (№№ 7 и 8, 15 и 16, 19 и 20).

Относительно редкая встречаемость гетерозиса в описанной серии опытов побудила нас еще раз проверить результативность скрещивания линий II-107 и К-5 при двух условиях воздействия: дозы 512 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ при 24-часовой экспозиции и дозы 1192 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ при 20-часовой экспозиции. Результаты этого опыта приведены в табл. 3. В этом опыте имело место

Результаты скрещивания ДДТ-резистентных линий дрозофилы

№	Родительские формы и гибриды	% выживших самок	№	Родительские формы и гибриды	% выживших самок
1	П-81 F_{25}	38 ± 3,0	13	П-107 F_{20}	6 ± 2,1
2	П-107 F_{26}	24 ± 2,9	14	К-5 F_{21}	4 ± 1,0
3	♀П-81 × ♂П-107	21 ± 2,8	15	♀П-107 × ♂К-5	20 ± 2,9
4	♀П-107 × ♂П-81	15 ± 1,9	16	♀К-5 × ♂П-107	9 ± 1,5
5	П-81 F_{19}	39 ± 2,4	17	П-107 F_{20}	8 ± 1,1
6	К-5 F_{19}	5 ± 0,9	18	К-15 F_{20}	5 ± 1,3
7	♀П-81 × ♂К-5	25 ± 1,8	19	♀П-107 × ♂К-15	12 ± 1,2
8	♀К-5 × ♂П-81	14 ± 1,4	20	♀К-15 × ♂П-107	5 ± 1,1
9	П-81 F_{10}	38 ± 2,0	21	К-5 F_{22}	2 ± 0,8
10	К-15 F_{10}	2 ± 0,6	22	К-15 F_{22}	5 ± 1,8
11	♀П-81 × ♂К-15	8 ± 1,1	23	♀К-5 × ♂К-15	1 ± 0,6
12	♀К-15 × ♂П-81	9 ± 0,6	24	♀К-15 × ♂К-5	6 ± 1,5

промежуточное наследование с заметным влиянием материнской формы но гетерозис не проявился.

Таблица 3

Результаты повторного скрещивания линии П-107 и К-5

Родительские формы и гибриды	Выжило самок (в %) на дозе:	
	512 $\gamma/\text{см}^2$	1192 $\gamma/\text{см}^2$
П-107 RF_{20}	81 ± 2,9	5 ± 1,5
К-5 RF_{20}	43 ± 3,2	2 ± 0,8
♀П-107 × ♂К-5	75 ± 2,5	4 ± 1,1
♀К-5 × ♂П-107	65 ± 2,7	3 ± 0,9

При скрещивании чувствительных аналогов этих линий выживаемость самок при дозе 2 $\gamma/\text{см}^2$ составила:

П-107 $S F_{35}$	0,8 ± 0,85%
К-5 $S F_{36}$	0 ($n = 218$ самок)
♀П-107 S × ♂К-5 S	8,2 ± 1,55%
♀К-5 S × ♂П-107 S	8,3 ± 3,05%

В этом опыте вновь возник гетерозис по выживаемости.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При скрещивании резистентных форм с чувствительными (табл. 1) устойчивого получаемого гибридного потомства к низкой дозе (1 $\gamma/\text{см}^2$) практически почти столь же высокая, как у резистентной родительской формы. По мере увеличения дозы устойчивость гибридов снижается до промежуточного уровня. В очень редких случаях у гибридов наблюдается значительное снижение резистентности, но никогда она не па-

дет до уровня чувствительной формы. Это обстоятельство можно рассматривать как доминирование признака устойчивости над чувствительностью. При испытании на низких дозах доминирование резистентности проявляется как полное на высоких — как неполное.

Именно с позиций доминирования рассматривают проявление свойства резистентности многие исследователи (Бельговский, 1958; Crow, 1951; Harrison, 1951, 1953; Metcalf, 1955 и др.). Однако мыслим и другой подход к объяснению этого явления: по мере отбора на устойчивость происходит не только концентрация доминантных и полудоминантных факторов, специфически обуславливающих высокую резистентность, но и происходит подбор модификаторов, изменяющих всю генотипическую среду адаптированных особей, что приводит к увеличению частоты проявления признака, т. е. неустойчивости. Накопление доминантных факторов резистентности и увеличение неустойчивости признака в процессе постепенной эволюционной перестройки геномина могут идти параллельно, и у нас пока нет оснований выделить один из них в качестве главной причины различающейся устойчивости.

При анализе материалов скрещивания мы столкнулись с тем, что различия между реципрокными гибридами по устойчивости проявились настолько частыми, что о них можно говорить как о правиле, а не как об исключении. Между тем, такие различия, согласно литературным данным (Crow, 1951) настолько редки, что некоторые исследователи ставят под сомнение и те единичные факты, когда такие различия выявлялись. Большинство различия между реципрокными гибридами обуславливались, по нашим данным, матрицисией и лишь в одном случае гибриды склонились в сторону отцовской формы. Различия между реципрокными гибридами могут быть обусловлены как специфическими факторами резистентности с полом, так и влиянием цитоплазматических факторов.

Резистентность, как сложное свойство, конечно, обусловлена влиянием всего геномина в целом, а не отдельного гена или генов. В настоящее время даже в отношении «простых» качественных признаков генетики отказались от упрощенного понимания их моно- или полигенной обусловленности. Тем не менее несмотря на то, что любой признак обусловлен действием всего геномина, можно говорить о моногенном или полигенном характере наследования каждого признака. Моногенное наследование вовсе не означает определения признака одним геном, так как охватывает случаи наследственной передачи, как единого целого, целых хромосомных сегментов или даже блоков из нескольких хромосом.

В этой связи мы и поставили опыты по определению характера наследования свойства резистентности в линии П-107. В результате двойного бэкрасса было показано, что резистентность наследуется в этой линии по дигенной схеме. Это означает, что в исследованной линии факторы резистентности локализованы всего в двух хромосомах. В литературе описаны случаи и моногенного наследования устойчивости у комнатной мухи (Harrison, 1951; Lichtwardt и др., 1955).

Имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют о том, что в ходе эволюции возникает большое разнообразие приспособлений, способствующих повышению устойчивости. С другой стороны, сходные типы резистентности у разных популяций одного вида и даже в разных линиях одной популяции могут вырабатываться в процессе отбора на разной генетической основе (King, 1955). Анализ F_2 от скрещивания резистентных линий П-107 и П-81, происходящих из одной популяции, показал, что наследственная основа резистентности в этих линиях различна.

Проявление гетерозиса при скрещивании линий П-107 и К-5 также может служить доказательством их генетической неоднородности. При повторном испытании этих же линий через 8 поколений гетерозис не проявился. По-видимому, возникновение и проявление гетерозиса не просто от редкого «удачного» сочетания генотипов, а не просто от повышения гетерозиготности при скрещивании. Линии, ведущиеся даже при самом тесном инбридинге, остаются все-таки в значительной степени гетерогенными и проявляют известную динамичность в ряде поколений. Поэтому нельзя ожидать постоянного проявления гетерозиса при скрещивании одних и тех же линий во всех поколениях.

Проявление гетерозиса при скрещивании чувствительных форм (П-107 S) × (К-5 S) обусловлено, по-видимому, общим повышением жизнеспособности, но не приобретением специфической устойчивости к ДДТ.

ВЫВОДЫ

1. В исследованных линиях дрозофилы резистентность к ДДТ доминирует над чувствительностью. При испытании на низких дозах доминирование резистентности проявляется как полное, на высоких - как неполное.

2. При скрещивании резистентных линий с чувствительными и резистентных линий друг с другом в 50% случаев имеют место существенные различия между реципрокными гибридами.

3. Путем двойного бэкрасса резистентной формы на рецессивную чувствительную выявлен полигенный характер наследования резистентности в одной из линий.

4. Линии, происходящие из одной популяции и обладающие сходным типом и уровнем резистентности, неоднородны по наследственным факторам, обуславливающим их высокий уровень резистентности.

5. При скрещивании двух линий, происходящих из разных популяций, обнаружен гетерозис — повышенная по сравнению с родителями выживаемость самок при воздействии ДДТ. Повышенная выживаемость обнаружена и при скрещивании чувствительных аналогов этих линий.

CROSSES OF THE DDT-RESISTANT STRAINS OF DROSOPHILA MELANOGASTER

N. V. Voroshilov

A series of crosses were made between the DDT-resistant and the susceptible strains of *Drosophila melanogaster*. In all the three resistant strains studied, viz. P-81, P-107 and K-5 the resistance had a high degree of dominance over susceptibility. The dominance appears to be complete with low dosages ($4\gamma/\text{cm}^2$) and intermediate with high dosages ($64, 512\gamma/\text{cm}^2$).

The cases of considerable difference between reciprocal hybrids are frequent. As a rule, in these cases the maternal effect tended to prevail in F_1 , with but one exception where the reverse relationship was observed.

The inheritance of resistance in the P-107 strain was shown to be polygenic by a double backcross to a susceptible strain. It was established by the analysis of F_1 and F_2 that the factors of resistance in the strains P-81 and P-107 (derived from the same Poltava population but selected for resistance independently from one another) were not identical.

Heterosis (i. e. a resistance higher than in either parental strain as measured by the per cent survival of females) may result from the crosses

between certain resistant strains selected from different natural populations. Similar increase of the survival of females was observed in the crosses between the corresponding non-resistant control strains.

ЛИТЕРАТУРА

- Дельцовский М. П. 1958. Зоол. ж., 37, 7: 1024-1038.
Оленов Ю. М. 1958. Энтомол. обзор., 37, 3: 520-537.
Crow I. F. 1951. J. econ. entomol., 47, 3: 393-398.
Harrison C. M. 1951. Nature, Lond., 167, 26: 855-856.
Harrison C. M. 1953. J. econ. entomol., 46, 3: 528-529.
King J. C. 1955. Amer. Naturalist, 89, 844: 39-46.
Dichtwardt E. T. W., N. Bruce, G. C. Decker. 1955. J. econ. entomol., 48, 3: 301-303.
Weir D. F. 1960. Genes., 45, 5: 573-583.
Muller H. P. I. 1955. Physiol. rev., 35, 197-232.