

УДК 575.23:582.951.4

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОРРЕЛЯЦИЙ ПО ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ ОСОБЕЙ ПО КОМПЛЕКСУ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ НА ИЗМЕНЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА КОРМА В ПРИРОДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ДАФНИИ

© 2013 Е.Л. Ермаков¹, С.И. Питулько²

¹ Научно-исследовательский институт биологии при
Иркутском государственном университете

² Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск

Поступила в редакцию 27.03.2013

Показано наличие генетических корреляций по фенотипической реакции дафний на изменение количества корма между количественными морфологическими признаками в соответствии с их функциональной специализацией. Среди физиологических признаков отрицательная генетическая связь отмечена только между плодовитостью и выживаемостью. Исследованная природная популяция дафнии характеризуется наличием трёх групп клонов, генетически различных по типу фенотипической реакции особей. Обнаружено, что клоны с генетически детерминированным снижением размеров тела при уменьшении количества корма характеризуются увеличением плодовитости, продолжительности созревания и уменьшением выживаемости. Клоны с генетически детерминированным увеличением размеров тела особей при аналогичных условиях, показали снижение плодовитости и продолжительность созревания, но увеличение выживаемости. Выделена также группа клонов с отсутствием выраженной пластичности на созданные в эксперименте условия по всему комплексу количественных признаков.

Ключевые слова: генетическая корреляция, фенотипическая реакция, количественные признаки, дафния, природная популяция

Дафнии различных видов представляют собой удобные объекты для проведения исследований реакции зоопланктонных организмов на изменение условий жизни. Вместе с тем исследование их популяционной биологии необходимо для разработки системы мониторинга водных объектов [5]. Для решения этой проблемы предложено большое количество подходов и методов, существенной составляющей которых является анализ генетических корреляций комплекса количественных признаков [3]. Эти исследования позволяют установить связь между такими важными в приспособительном отношении биологическими признаками, как размеры тела, скорость развития и плодовитость и определить степень влияния на неё селекционно-генетических факторов. Известно, что такие корреляции могут весьма существенно трансформироваться под влиянием экологических факторов, однако детали этого процесса пока неясны [1, 8, 9]. В нашей предшествующей работе [2], посвящённой исследованию этой проблемы на примере природной популяции *Daphnia pulex* Leidy 1860, было установлено наличие трёх генетически детерминированных типов реакции особей *D. pulex* на изменение количества корма по комплексу

количественных морфологических признаков. В настоящей работе мы продолжили изучение этого материала, акцентировав внимание на оценке генетических корреляций по фенотипической реакции количественных морфологических и физиологических признаков на изменение количества корма.

Материал и методы. Материалом исследования стали 15 партеногенетических клонов *D. pulex*, заложенных от самок, отловленных из природной популяции, обитающей в естественном постоянном водоёме поймы р. Иркут. Каждый клон содержали в лаборатории на протяжении двух последовательных поколений: первого (F_1) и второго (F_2) от начала их закладки. Изучали фенотипическую реакцию особей на изменение количества корма. В качестве корма использовали одноклеточную водоросль *Chlorella vulgaris*, которую вносили в двух концентрациях: 100 000 и 10 000 клеток на 1 мл воды (далее – 100 и 10 тыс. кл/мл) через каждые 2 дня. Такие концентрации хлореллы являются для дафний контрастными экологическими условиями, влияющими на количественные признаки, связанные с приспособленностью [7]. Рачков содержали при естественном освещении и комнатной температуре в стеклянных ёмкостях объёмом 500 мл, наполненных отстоявшейся в течение двух-трёх суток водопроводной водой, которую сменяли через каждые два дня. Морфологическому анализу подвергали организмы на одной и той же возрастной стадии – первородящих самок. Из потомства каждой самки, отловленной

Ермаков Евгений Леонидович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник. E-mail: ermakov_eugeny@mail.ru

Питулько Сергей Илларионович, ведущий инженер. E-mail: pitulko@inbox.ru

в природной популяции, брали 120 рачков (F_1) в возрасте 1-2 суток, 60 из которых выращивали при 100 тыс. кл/мл в двух камерах по 30 особей в каждой, и 60 – при 10 тыс. кл/мл, также в двух повторностях по 30 самок в каждой. Этим рачков содержали до тех пор, пока количество их потомков не достигало 51 и более особей на камеру, после чего у родительских самок F_1 рассчитывали значения физиологических признаков. Затем F_1 наркотизировали карбонизированной водой и фиксировали в спирто-формалиновом растворе (4% формалина, 10% этанола, 86% воды) для морфологических исследований. Из полученной молодежи по 30 экземпляров из каждой камеры оставляли для продолжения эксперимента (F_2), и пересаживали в новую популяционную камеру, где поддерживали такие же условия, что и в прежней. После этого F_2 фиксировали для морфологических исследований.

Морфологический анализ включал четыре группы признаков с различной функциональной специализацией: общие размеры тела, органы движения, репродуктивная зрелость и цикломорфоз [2]. К первой группе относятся признаки: длина тела, длина и ширина раковины, высота и ширина головы. К органам движения относятся два признака – длина плавательной антенны и длина постабдоминальной щетинки. Репродуктивная зрелость: дорсальная и вентральная ширина; и длина среднего выроста постабдомена. Размеры этих признаков служат для определения возрастных стадий, дифференциации половозрелых и неполовозрелых особей дафний. Цикломорфоз: длина антеннулы и длина хвостовой иглы. Под цикломорфозом понимают изменения морфологического облика дафний, происходящие из-за сезонной смены условий жизни [6]. В каждом поколении

морфологические признаки были оценены у 50 особей каждого клона как при 100, так и при 10 тыс. кл/мл. Общее же количество изученных особей составило 1400. Измерения проводили под биноклем МБС-9 при увеличении 8×7 с помощью окуляр-микрометра. Дафнию с каплей воды помещали на предметное стекло. Значения окуляр-микрометра переводили в мкм.

Плодовитость рассчитывали по количеству яиц, приходящихся на одну самку в каждой популяционной камере. Выживаемость определяли вычислением доли самок, выживших в каждой камере к моменту появления молодежи, от их количества при начале опыта. Для оценки продолжительности созревания мы использовали косвенный критерий индивидуальной плодовитости. Согласно литературным сведениям, средняя индивидуальная плодовитость равна 1,7 потомка на взрослую самку в сутки [10]. Поскольку в нашем эксперименте в каждую камеру помещали по 30 самок, то созревшими считались все самки, когда количество их потомков на камеру было 51 или более. Исходя из этого, продолжительность созревания измерялась в сутках между моментом помещения самок в камеру и до момента появления в ней 51 или более молодых особей.

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами [4]. Для оценки фенотипической реакции на изменение экологический фактор оценивали индекс реакции (ИР) делением среднего арифметического при 10 тыс. кл/мл на этот же показатель при 100 тыс. кл/мл. Для оценки взаимосвязи использовали коэффициенты корреляции (r) клональных значений ИР, существенную роль в определении которого играют генетические факторы.

Таблица 1. Матрица коэффициентов корреляции между ИР морфологических признаков при 100 и 10 тыс. кл/мл

№ признака	№ признака											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
2	0,81											
3	0,99	0,80										
4	0,89	0,71	0,84									
5	0,88	0,90	0,87	0,74								
6	0,89	0,91	0,88	0,82	0,86							
7	0,79	0,69	0,80	0,75	0,58	0,80						
8	0,68	0,94	0,69	0,61	0,83	0,83	0,56					
9	0,82	0,92	0,77	0,78	0,79	0,91	0,77	0,77				
10	0,64	0,75	0,68	0,52	0,69	0,73	0,47	0,82	0,59			
11	0,50	0,58	0,47	0,32	0,61	0,38	0,23	0,47	0,48	0,53		
12	0,51	0,46	0,48	0,31	0,54	0,58	0,32	0,35	0,44	0,36	0,27	

Примечание: здесь и в табл. 2 жирным шрифтом обозначены статистически достоверные значения; цифрами обозначены следующие признаки: 1 – длина тела; 2 – ширина раковины; 3 – длина раковины; 4 – высота головы; 5 – ширина головы; 6 – длина плавательной антенны; 7 – длина постабдоминальной щетинки; 8 – дорсальная ширина; 9 – вентральная ширина; 10 – длина среднего выроста постабдомена; 11 – длина антеннулы; 12 – длина хвостовой иглы

Результаты и обсуждение. При предварительном анализе комплекса количественных морфологических признаков было установлено, что r по ИР между двумя исследованными поколениями

(F_1 и F_2) по морфологическим признакам существенно не различались. Этот факт свидетельствует о высокой наследуемости фенотипической реакции комплекса количественных признаков,

что отмечалось нами ранее [2]. Кроме того, было показано, что связь между средними арифметическими признаков выражена слабее, чем по ИР. В целом это свидетельствует в пользу утверждения об универсальности показателя ИР для оценки фенотипической пластичности. Выявленная картина генетических корреляций показателей ИР в целом подтверждает физиологическую специализацию исследованных признаков с некоторыми особенностями (табл. 1). Так, между ИР по длине тела и аналогичным показателем признаков длины раковины, высоты и ширины головы, связь положительная, высокая и очень высокая ($r = 0,80-0,99$). Связь между ИР по длине тела и ИР признаков движения и созревания хотя и достоверная и положительная, но обнаруживает сравнительно меньший уровень ($r = 0,64-0,82$). Исключение оставляет r между ИР по длине тела и длине плавательной антенны ($r \approx 0,9$). Между ИР по цикломорфным признакам и ИР по длине тела значения r достаточно высоки, но связь недостоверна ($r = 0,50-0,51$).

ИР по ширине раковины обнаруживает значительно меньшую, по сравнению с длиной тела, связь с ИР большинства признаков, связанных с размерами тела ($r = 0,7-0,9$). С другой стороны, ИР по ширине раковины имеет высокую связь ($r = 0,9$ и выше) с ИР по признакам длине плавательной антенны (признак движения), вентральной и дорзальной ширине (признаки, связанные с созреванием). Следует обратить внимание на то, что ИР по ширине тела обнаруживает достоверную положительную связь с ИР по одному из цикломорфных признаков (длина антеннулы), которая, впрочем, значительно ниже коэффициентов корреляции с вышеописанными признаками ($r = 0,58$). Особенности коррелятивных взаимосвязей ИР по остальным признакам, связанным с размерами тела, аналогичны тенденциям, выявленным для длины тела (длина раковины и высота головы) и для ширины раковины (ширина головы). Следует лишь добавить, что корреляция ширины головы с обоими цикломорфными признаками достоверна и положительна.

Признак длина плавательной антенны обнаруживает высокую положительную корреляцию со всеми признаками, связанными с размерами тела. Из остальных признаков высокую корреляцию ($r=0,91$) этот признак показывает с вентральной шириной. С другим признаком – органом движения – длиной плавательной щетинки взаимосвязь более слабая ($r = 0,8$). В этих же пределах лежат значения r между длиной плавательной щетинки и двумя другими признаками, связанными с созреванием (дорзальная ширина и длина среднего постабдомена). Есть по ИР этого признака достоверная положительная корреляция ($r = 0,58$) с ИР одного из цикломорфных признаков – длины хвостовой иглы. С другим цикломорфным признаком – длиной антеннулы корреляция по ИР отсутствует, но имеется по средним ($r = 0,59$) при 100 тыс. кл/мл. Другой признак движения – длина

плавательной щетинки обнаруживает достоверные, но относительно невысокие показатели коэффициента корреляции по большинству признаков. При этом интересно заметить, что максимальные значения коэффициента корреляции ($r = 0,8$) по этому признаку встречаются с признаками длины тела.

ИР по длине плавательной антенны обладает высокой и очень высокой корреляцией с аналогичными показателями по всем признакам, кроме цикломорфных, причём с одним из последних имеется хотя и невысокая, но достоверная положительная связь. ИР по длине постабдоминальной щетинки имеет более низкий уровень корреляции с ИР по всем исследованным морфологическим признакам. Наиболее высокая связь для ИР по этому признаку наблюдается с ИР по длине тела, длине плавательной антенны и ИР по одному из признаков созревания (вентральной ширины), более низкие – с ИР по ширине тела и с ИР по другим признакам созревания (дорзальной ширины). Отсутствует корреляция между ИР по постабдоминальной щетинке и ИР по длине среднего выроста постабдомена и ИР по обоим цикломорфным признакам.

ИР по признакам, связанным с созреванием, обнаруживают достоверную положительную корреляцию друг с другом. ИР по длине среднего выроста постабдомена обнаруживает достоверную связь с ИР по одному из цикломорфных признаков.

Статистически значимая связь между ИР двух цикломорфных признаков: длиной антеннулы и длиной хвостовой иглы не выявлена. Этот факт может быть связан с очень высокой изменчивостью цикломорфных признаков и выраженной специфичностью их реакции на созданные в эксперименте градации экологического фактора – количества пищи.

Среди трёх физиологических признаков достоверная отрицательная связь ($r = -0,60$) обнаружена только между ИР по плодовитости и выживаемости. ИР по продолжительности созревания не выявил достоверной взаимосвязи ни с ИР по плодовитости, ни с аналогичным показателем по выживаемости, хотя прослеживается тенденция положительной корреляции ИР по этому признаку с ИР по плодовитости ($r = 0,41$).

Уровень корреляции между морфологическими и физиологическими признаками не высок, хотя некоторые закономерности очевидны (табл. 2). Так, ИР по плодовитости обнаруживает статистически значимую отрицательную взаимосвязь с длиной хвостовой иглы (№ 12) ($r = -0,59$). Кроме того, довольно высоким r оказался между ИР по плодовитости и ИР по признакам связанным с длиной тела, за исключением ширины раковины (№ 2). Особенно выражена отрицательная взаимосвязь по ИР между морфологическими признаками и продолжительностью созревания (табл. 2). Так, с признаками длина раковины (№ 3), ширина головы (№ 5), длина выроста среднего постабдомена (№ 10) корреляция достоверна и отрицательна, а по ширине раковины (№ 2), длине плавательной антенны (№ 6), длине постабдоминальной щетинки (№ 7), дорзальной ширине (№ 8), длине антеннулы

(№ 11) близко к критическому значению. ИР по выживаемости характеризуется отсутствием достоверных значений коэффициентов корреляции с морфологическими признаками. Эти результаты предполагают наличие генетически детерминированной взаимосвязи между фенотипической реакцией морфологических и физиологических признаков на изменение экологического фактора. Особый интерес представляет отрицательная взаимосвязь между длиной тела и плодовитостью.

Таблица 2. Коэффициенты корреляции (r) между ИР морфологических и физиологических признаков при 100 и 10 тыс. кл/мл

№ морфологического признака	Признаки, связанные с приспособленностью		
	плодовитость	продолжительность созревания	выживаемость
1	-0,36	-0,05	-0,17
2	-0,11	-0,43	0,01
3	-0,32	-0,55	-0,22
4	-0,29	-0,23	-0,04
5	-0,36	-0,55	0,06
6	-0,32	-0,42	0,09
7	-0,24	-0,41	-0,08
8	0,00	-0,41	0,07
9	-0,21	-0,32	0,01
10	-0,05	-0,56	-0,10
11	-0,02	-0,47	-0,22
12	-0,56	-0,37	0,35

Для верификации полученных сведений мы использовали результаты оценки генотипической структуры по фенотипической реакции дафний по морфологическим признакам, проведённой нами ранее [2]. Было показано, что по морфологическим признакам при уменьшении концентрации хлореллы у дафний наблюдается три генетически детерминированные реакции особей. Первая – это снижение значений признака (R_1 -тип), вторая – отсутствие выраженной реакции (St -тип) и увеличение средних арифметических при уменьшении количества корма (R_2 -тип). Если полученные выше результаты оценки связи между морфологическими и физиологическими признаками действительно находятся под контролем генетических факторов, то особи из клонов R_1 -типа по размерам тела должны характеризоваться увеличением плодовитости, St -тип и по размерам тела и по плодовитости, вероятно, покажет отсутствие выраженной реакции. В отношении особей R_2 -тип по размерам тела можно постулировать уменьшение плодовитости при снижении количества корма.

Для решения этой задачи нам необходимо было выбрать те из морфологических признаков, которые обладают наиболее различной фенотипической реакцией на созданные градации экологического фактора. Таквыми оказались длина тела и цикломорфный признак – длина хвостовой иглы. Установление генетически обусловленной

взаимосвязи между морфологическими и физиологическими признаками состояло в расчёте ИР выделенных классов по всем признакам у клонов, относящихся к этим классам при их группировке по длине тела. Этот признак был выбран из-за очевидной адаптивной ценности, а также потому, что проведенный анализ изменчивости позволяет считать его характерным представителем морфологических признаков в рамках изученного нами комплекса. Оказалось, что особи из клонов, снижающих длину тела (R_1 -генотипы) при уменьшении количества корма, характеризуются увеличением плодовитости. Соответственно, особи из клонов, последственно детерминирующих увеличение длины тела при уменьшении количества корма (R_2 -генотипы), характеризуются снижением плодовитости. В St -класс попадают примерно одни и те же клоны, обладающие стабильным фенотипом по морфологии (с учётом количественных различий в их соотношении), незначительно меняющие плодовитость в выбранных градациях экологического фактора.

Изменение остальных трёх физиологических признаков относительно длины тела представляет собой следующую картину. Особи из клонов, сокращающих длину тела при уменьшении количества пищи и увеличивающих при этом плодовитость, характеризуются очень сильным укорочением длины хвостовой иглы, резким возрастанием продолжительности созревания и снижением выживаемости. Особи из клонов, увеличивающих длину тела при уменьшении количества пищи и сокращающих плодовитость, характеризуются очень незначительным увеличением длины хвостовой иглы, короткой продолжительностью созревания, слабо изменяющейся в изученных градациях количества пищи, и значительным увеличением выживаемости. Предпринятый нами анализ предполагает возможность селекционной перегруппировки количественного соотношения выделенных групп клонов при изменении экологических факторов. Вероятным сценарием такой перегруппировки является увеличение количества реагирующих типов клонов (R_1 и R_2) вплоть до их доминирования в структурной композиции популяции. Именно такой тип структуры характерен для цикломорфных признаков, обладающих максимальной реактивностью среди исследованных нами морфологических характеристик. Наоборот, доминирование стабильного типа клонов (St -тип) наблюдалось по большинству исследованных признаков и свидетельствовало о «мягкости» воздействия экологического фактора в выбранных нами градациях. Следовательно, если большинство клонов относится к St -типу, можно заключить, что популяция существует в благоприятных экологических условиях.

Вывод: динамика соотношения основных генетически детерминированных типов особей может являться критерием комфортности водной среды для популяции дафний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Байчоров, В.М. Взаимосвязь плодовитости, размера яиц и репродуктивного усилия у *Daphnia magna* в различных режимах плотности и температуры // Журнал общей биологии. 1992. Т. 53, № 6. С. 830-838.
2. Ермаков, Е.Л. Генотипическая структура природной популяции дафнии по фенотипической реакции особей на изменение количества корма / Е.Л. Ермаков, С.И. Питулько, В.М. Корзун, Г.В. Гречаный // Генетика. 2010. Т. 46, № 2. С. 239-248.
3. Животовский, Л.А. Фенотипическая пластичность размера и формы крыла у *Drosophila melanogaster* и *Drosophila simulans* / Л.А. Животовский и др. / Генетика. 1996. Т. 32, № 4. С. 517-522.
4. Закс, Л. Статистическое оценивание. – М.: Статистика, 1976. 598 с.
5. Кожова, О.М. Экологический мониторинг озера Байкал / О.М. Кожова, А.М. Бейм. – Новосибирск: Наука, 1993. 350 с.
6. Питулько, С.И. Цикломорфоз у ветвистоусых ракообразных / С.И. Питулько, В.М. Корзун // Байкальский зоологический журнал. 2010. Т. 5, № 2. С. 10-19.
7. Ямпольский, Л.Ю. Нормы реакции количественных признаков и взаимодействия генотип-среда у дафний // Генетика. 1992. Т. 28, № 8. С. 85-92.
8. Bouletreau-Merle, J. How to overwinter and be a founder: egg-retention phenotypes and mating status in *Drosophila melanogaster* / J. Bouletreau-Merle, P. Fouillet // Evolutionary Ecology. 2003. V. 16. P. 309-332.
9. Chippindale, A.K. The devil in the details of life-history evolution: instability and reversal of genetic correlations during selection on *Drosophila* development / A.K. Chippindale, A.L. Ngo, M.R. Rose // Journal Genetics. 2003. V. 82. P. 133-145.
10. Epp, G.T. Clonal variation in the survival and reproductive of *Daphnia pulicaria* under low-food stress // Freshwater Biology. 1996. V. 35, № 1. P. 1-10.

THE ANALYSES OF GENETIC CORRELATIONS ON PHENOTYPIC RESPONSE ON A SET OF QUANTITATIVE TRAITS ON CHANGE THE AMOUNT OF FOOD IN A NATURAL DAPHNIA POPULATION

© 2013 E.L. Ermakov¹, S.I. Pitulko²

¹ Scientific Research Institute of Biology at Irkutsk State University

² Limnological Institute SB RAS, Irkutsk

The presence of genetic correlations on phenotypic response of daphnia to changing amount of food between the quantitative morphological traits in accordingly to their functional specialization was shown. Among physiological traits the negative genetic relation only between fecundity and survival were remarked. A study nature daphnia population had three groups of clones, which genetically distinguish on individual phenotypic response. It was obtain that the clones with genetic determine diminish of body size under low the amount of food were characterized by the influence of fecundity and maturity duration but by diminish of survival. The clones which had the influence of body size under such conditions, fecundity and maturity duration were decreased but survival was increased. The group of clones with absence of expression plasticity on creating in experiment condition on whole set quantitative traits was extract.

Key words: *genetic correlations, phenotypic response, quantitative traits, daphnia, natural population*