

Е. Р. ТЕРСКАЯ, В. А. СТРУННИКОВ

МЕТОДЫ АКТИВАЦИИ ЯИЦ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА К МЕЙОТИЧЕСКОМУ ПАРТЕНОГЕНЕЗУ

(Представлено академиком Д. К. Белевым 20 IX 1974)

Исключительно малое число яиц, отложенных неосемененными самками тутового шелкопряда, приступает к естественному партеногенетическому развитию. В зависимости от способов созревания этих яиц возможны два типа естественного партеногенеза: мейотический и амейотический (¹, ²). При мейотическом партеногенезе так же, как и в норме, происходят оба деления созревания. Выделившийся гаплоидный пронуклеус, не встретив мужского пронуклеуса, делится на два дочерних ядра, которые, слившись вместе, образуют диплоидное ядро с набором идентичных хромосом в каждой паре. Благодаря этому мейотическое потомство гомозиготно по всем локусам и представлено только самцами (ZZ). Яйца с генетической структурой WW погибают. При амейотическом развитии выпадает редукционное деление. Единственное эквационное деление приводит к образованию диплоидного пронуклеуса, полностью сохраняющего набор хромосом матери, в том числе и половых хромосом (ZW). Благодаря этому возникают гетерозиготные партеногенетические самки, идентичные с матерью и между собой.

В многочисленных опытах ряда авторов по активации неоплодотворенных яиц различными факторами не удалось поднять выход партеногенетических личинок выше, чем при естественном партеногенезе. Исключения составляют исследования Б. Л. Астаурова (²), в которых под действием высоких температур получен искусственный партеногенез, не уступающий по выходу гусениц половому размножению. Однако при этом методе активации развитие всех яиц идет по амейотическому пути, давая одних гетерозиготных самок. Как ни велико научное значение метода амейотического партеногенеза, однако получение с помощью искусственного мейотического партеногенеза достаточного количества строго гомозиготных диплоидных самцов является интересной проблемой, обещающей в случае ее решения открыть новые подходы к постановке целого ряда исследований в области теоретической и практической селекции.

В опыте одного из авторов охлаждение свежееотложенных яиц до -11° привело к успешному андрогенезу (³). Учитывая некоторую общность активации яиц к андрогенетическому и партеногенетическому развитию, мы испытали низкие температуры для побуждения партеногенеза. В качестве подопытного материала был использован партеноклон 29, отличающийся высокой склонностью к полному искусственному партеногенезу (⁴). Он был гетерозиготен по трем рецессивным генам: v (violete), ch (chocolate) и у^b или а, обуславливающим соответственно сиреневую окраску яиц (норма — темно-серая), рыжую окраску гусениц первого возраста (норма — темная) и бесцветную гемолимфу (норма — желтая при наличии двух комплементарнодействующих доминантных генов Y^b и А). При амейотическом партеногенезе все три рецессивных гена сохраняются у всех партеногенетических дочерей в гетерозиготном состоянии и, следовательно, фенотипически не проявляются. Напротив, при мейотическом партеногенезе в гаплоидный пронуклеус в 50% случаев попадает доминантный ген,

а в 50% других случаев — рецессивный ген. После восстановления диплоидности первая половина потомков будет гомозиготна по доминантному гену, а вторая половина — по рецессивному. Поэтому мейотические потомки с доминантными и рецессивными признаками должны появляться в соотношении 1 : 1.

Излученная из овариол неоплодотворенная гена помещалась на разные сроки в холодильник с температурой -5 , -8 , -11 , -14 и -17° . Результаты всех опытов оказались в принципе сходными, поэтому на рис. 1 представлены данные только опытов с охлаждением при -5 , -11 и -17° . Во всех трех опытах отмечалась пигментация яиц более чем в 90% случаев. Из яиц, охлажденных при -5° в пределах от 30 до 210 мин., вылупляются рыжие и темные гусеницы примерно с равной частотой (рис. 1а). При увеличении экспозиции частота вылупления темных гусениц резко возрастает, достигая 50,7% при 300 мин., в то время как процент вылупления рыжих гусениц постепенно падает до нуля.

Сходные результаты получены и в опыте с охлаждением при -11° , но близкие количества рыжих и темных гусениц получены уже при экспозициях от 20 до 120 мин. (рис. 1б). В более продолжительно охлажденных пробах яиц вылупляются одни темные гусеницы с максимальным выходом 5,61%. При -17° темные и рыжие гусеницы, с некоторым перевесом первых, вылупляются при экспозициях от 10 до 50 мин. (рис. 1в). При больших экспозициях также вылупляются одни темные гусеницы (максимум 2,30%).

Таким образом, во всех трех опытах обнаружены критические экспозиции. Экспозиции короче критических дают оба фенотипических класса гусениц — рыжих и черных, экспозиции продолжительнее критических — только черных. С понижением температуры охлаждения на 6° критические экспозиции наступают в два раза быстрее.

В различных опытах с охлаждением от -5 до -11° при экспозициях, не превышающих критические, было получено 2728 рыжих и 2777 темных партеногенетических гусениц (49,6% : 50,4%). Судя по этому соотношению гусениц двух фенотипов, можно полагать, что охлаждение при экспозициях короче критических активизирует мейотический, а продолжительнее критических — амейотический партеногенез. Первая же проверка показала, что в опытах с экспозициями продолжительнее критических, дающими только темных гусениц, все 454 просмотренных особи оказались самками, по фенотипу идентичными с матерями исходного клона 29 и между собой. Несомненно, эти самки являлись очередной амейотической генерацией партеноклона 29, но уже полученной в результате активации низкими температурами. Напротив, партеногенетическое потомство, полученное при экспозициях ниже критических, расщепилось по всем контролируемым генам-маркерам.

Природа расщепляющегося потомства детально изучена в специальном

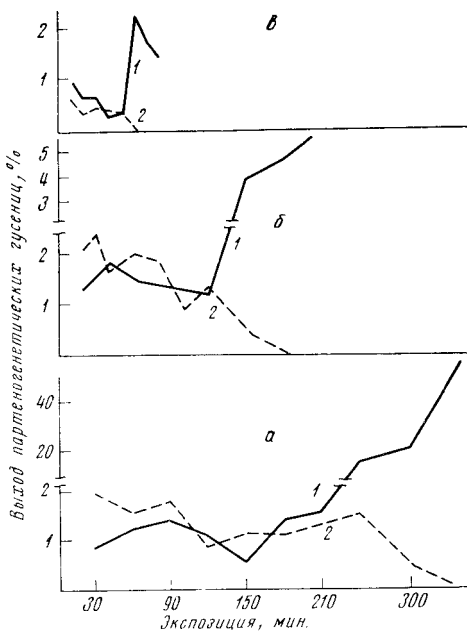


Рис. 1. Частота выхода партеногенетических гусениц темной (1) и рыжей (2) окраски в зависимости от продолжительности охлаждения неоплодотворенных яиц при -5° (а), -11° (б) и -17° (в). Кривые на позициях а и б даны в двух различных масштабах

Таблица 1

Фенотип партеногенетических гусениц, полученных из яиц партеноклона 29, охлажденных в течение 30 мин. при -11°

Фенотип гусениц первого возраста	Число гусениц, взятых на выкормку в I возрасте	Число гусениц, дошедших до пятого возраста							Соотношение полов		
		♂	♀	желто-кровных ♂	бело-кровных ♂	всего ♂	желто-кровных ♀	бело-кровных ♀	всего ♀	♂	♀
Темные	1120	694		226	297	523	169	2	171	75,3	24,7
Рыжие	1013	634		255	367	622	11	1	12	98,1	1,9
Всего	2333	1328		481	664	1145	180	3	183	86,2	13,8

опыте, поставленном примерно на 70 000 неоплодотворенных яиц клона 29, охлажденных в течение 20 мин. при температуре -11° . Около 98% активированных яиц пигментировалось. Эти яйца расщеплялись на две численно близкие группы — сиреневых и темно-серых яиц. Из обеих категорий яиц вылупилось 1013 рыжих и 1120 темных гусениц (табл. 1). Уже в первых личиночных возрастах из рыжих гусениц выделилось 11, из темных — 175 гусениц, которые нормально развивались, далеко опередив своих многочисленных сверстников. Они без потерь дошли до завивки и оказались самками. По крупным размерам, желтому цвету гемолимфы, рисунку кожного покрова и другим морфологическим признакам, а также по гетерозиготности гена *sh* они были тождественны с исходными самками клона 29. Безусловно, все они, включая и 11 рыжих гусениц, возникли в результате амейотического партеногенеза. Появление рыжих гусениц-самок объясняется пехваткой в локусе $+^{ch}$ или потерей всей хромосомы с этим локусом.

1145 рыжих и темных депрессированных гусениц, дошедших до пятого возраста, оказались самцами, что является особенно надежным критерием их мейотического происхождения. Генетический анализ показал, что темные гусеницы гомозиготны по $+^{ch}$. В свою очередь рыжие и темные гусеницы расщеплялись на 481 желтокровную и 664 белокровных гусеницы. Низкая жизнеспособность самцов на всех стадиях развития и крайне мелкие размеры выживших индивидуумов говорят также о гомозиготном состоянии у них большого количества леталей и полудеталей, бывших у матерей в гетерозиготном состоянии.

Представленные данные свидетельствуют о том, что нами получен до сих пор неизвестный полный искусственный партеногенез мейотического типа.

В пятом возрасте, когда почти половина самцов погибла, соотношение полов и, следовательно, соотношение мейотических и амейотических особей было 75,3% ♂♂ : 24,7% ♀♀. Расчеты показывают, что соотношение полов при вылуплении гусениц было 91,4% ♂♂ : 8,6% ♀♀. В других опытах, выполненных с генами-маркерами, проявляющимися в виде окраски яиц на сверхранних стадиях эмбрионального развития, удалось показать, что только 2–3% непродолжительно охлажденных яиц развивается амейотически, в то время как около 95% яиц начинает развиваться мейотически. Однако из-за депрессирующего действия леталей и полудеталей выход мейотических гусениц из яиц достигает 4–4,5% от всех яиц или 8–9% от 50% яиц жизнеспособной структуры ZZ. По этой же причине выживаемость на постэмбриональных стадиях не превышает 11%, а плодовитость бабочек 50%. В общей сложности из числа вылупившихся гомозиготных гусениц до плодовитых имаго доходит около 3%. Свободно активируя сотни тысяч и миллионы яиц, мы уже сейчас получаем десятки тысяч гомозиготных самцов первого возраста. Этого количества вполне достаточно для проведения целого ряда селекционных и генетических исследований.

Обычные бисексуальные породы и гибриды дают в четыре раза меньший выход мейотических гусениц, чем амеиотические партеноклоны. Таким образом, частоту выхода мейотических гусениц в каком-либо материале, ценном в селекционном отношении, но мало склонном к этому виду размножения, можно повысить путем предварительного выведения амеиотических партеноклонов.

От строго гомозиготных самцов мы получили андрогенетическое генетически идентичное потомство, частота выщипления которого достигает 1% против 4–8% в опытах с обычными самцами. Это открывает важную возможность сохранения гомозиготных генотипов в ряду последовательных поколений и передачи их бисексуальным линиям посредством возвратных скрещиваний.

Электрический шок от емкости в 100 мкф и питания от сети в 100–300 в, газ CO₂ (20–70 мин.), высокая температура (46°, 1–3 мин.), так же как и низкие температуры, стимулируют одновременно мейотический и амеиотический партеногенез в различных количественных соотношениях. Увеличение доз пребывания в газе CO₂ и прогрева при 46° приводит к активации почти одного амеиотического партеногенеза.

На основании закономерности действия испытанных факторов открываются широкие перспективы для отыскания новых, быть может более эффективных, факторов, стимулирующих мейотический партеногенез, и для изучения природы активации в ее широком понимании. Успешное выполнение некоторых исследований с помощью мейотического партеногенеза подтверждает его действенность.

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

Поступило
10 IX 1974

Среднеазиатский научно-исследовательский
институт шелководства
Ташкент

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ *E. Kawaguchi*, J. Sericult. Sci. Japan, v. 5, 1 (1934). ² *Б. Л. Астауров*, Искусственный партеногенез у тутового шелкопряда, Изд. АН СССР, 1940. ³ *Е. Р. Терская*, В кн.: Методы биологии развития, «Наука», 1974, стр. 24. ⁴ *Б. Л. Астауров*, Генетика, т. 9, № 9, 93 (1973).