ВАРИАЦИЯ ПО ВРЕМЕНИ ГОДА ГЕТЕРОЗИСА *PGM* У МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ (*APIS MELLIFERA* L.)

Н. ХАДИМОГУЛЛАРИ, М. КЕНЦЕ, А. КЕНЦЕ, ТУРЦИЯ

N. HADIMOGULLARI, M. KENCE, A. KENCE
Department of Biology, Middle East Technical University, 06531 Ankara, TÜRKEI
Tel.: +90 312 2105176, Fax: +90 312,2101289, E-mail: aykut@metu.edu.tr

Введение

Изучение аллозимов доказало высокую генетическую вариабильность и указало положительное ассоциирование между гетерозисом и физическим благосостоянием. Многие исследования выявили ассоциирование гетерозиса энзимов с компонентами физического благосостояния, как например, жизне-стойкостью, стабильностью развития, нормой роста и плодородием у различных видов растений и животных. Данные параметры ассоциированы также с метаболизмом и условиями среды (МИТТОН, 1997).

В течение одного исследования, предназначенного для установления генетической вариабильности у популяций пчел, обитающих в юго-восточной Анатолии, нами отмечен очень высокий гетерозис у локуса Pgm. При первой нашей попытке воспроизводить результаты для того, чтобы установить причину этого высокого уровня гетерозиса мы успеха не получили. Следовательно, мы взяли несколько образцов, в разных моментах и отметили наличие модифицирования уровня гетерозиса у локуса Pgm в зависимости от времени года. Далее мы вас проинформируем о модифицировании, в зависимости от времени года, которое происходит в уровне гетерозиса энзима Pgm.

Материал и методика

В качестве образцов, в период 1998-2000 г. использованы 1010 пчел из 201 семьи, происхождением из 85 местностей 7 провинций юго-восточной Анатолии. Некоторые провинции посещали как летом, так и осенью, а другие только летом.

Было собрано около 3000 рабочих пчел. Их ввели в пластиковые флаконы с этикетками и кормили канди (вода+сахароза+крахмал). В лаборатории тело живых пчел вскрыли, грудная клетка размолота, а гомогенаты хранили в холодильной установке до их использования для электрофореза.

Четыре системы энзимов (эстераза 3.1.1.1; гексогиназа 2.7.1.1; малат дегидрогеназа 1.1.1.40; фосфоглюкогеназа 2.7.5.1), известные и как полиморфные у медоносных пчел, были использованы как биохимические маркеры. Электрофорез в крахмал-геле, препарирование в геле образцов и экспериментальные условия были предварительно доложены (КАНДЕМИР с сотр., 2000 г.). Частота генов, гетерозисы энзимов и гетерозисы популяций подсчитаны по НЕЮ (1995), используя БИОСИС (СВОФФОРД и СЕЛАНДЕР, 1981). Степень адекватности частот генотипов к ожиданиям ХАРДЫ-ВЕЙНБЕРГА проверена с помощью теста X^2 (СОКАЛ и РОЛЬФ, 1995).

Результаты и дискуссии

Два локуса изозимов (Pgm и Hk) из четырех были полиморфными, а Mdh, Est-3, Pgi и Me – мономорфными. Pgm был самым полиморфным локусом, с двумя аллелями, проявляя полиморфизм во всех провинциях. Частота самых общих аллелей для локусов Pgm и Hk, а также значения X^2 для отклонения генотипических частот представлены в таблице I.

Таблица I

Частоты самых общих аллел изоэнзимов Pgm и Hk и значения X^2 для отклонения генотипических частот от равновесия Hardy-Winberg

Провин-ции	Частота Pgm-75	Pgm		Частота Hk-100	Hk	
		Значение X^2	P		Значение X^2	P
Hatay	(172) 0,81	8,826	0,003	(81) 0,99	0,000	1,000
Gaziantep	(239) 0,71	35,199	0,001	(169) 1,00	0,000	1,000
Adiyaman	(98) 0,93	0,454	0,500	(50) 0,92	0,328	0,567
Malatya	(91) 0,96	0,124	0,725	(102) 0,99	0,015	1,000
Mardin	(57) 0,90	0,718	0,397	(71) 1,00	0,000	1,000
Diyarbakir	(272) 0,99	0,011	0,916	(57) 1,00	0,000	1,000
Sanliurfa	(81) 0,91	0,669	0,413	(133) 0,99	0,004	0,951

Лишь образцы из Hatay и Gaziantep отклоняются от равновесия H-W, а в остальных провинциях, генотипические частоты для двух изозимов соответствуют этому равновесию. Во всех провинциях пробы нами взяты только летом, за исключением Hatay и Gaziantep, где пробы взяты как летом, так и зимой. Pgm отличался от других систем энзимов фактом, что уровень гетерозиса модифицировался в зависимости от времени года. Проявлен высокий уровень гетерозиса у проб, взятых зимой. С другой стороны, генотипичные частоты летних проб соответствовали равновесию Hardy-Winberg. Собранные зимой образцы пчел сравнены с летними в том, что касается отклонения генотипических частот от равновесия Hardy-Winberg, а результаты теста X^2 представлены в таблице II. Разница между образцами, взятыми зимой и образцами, взятыми летом явно видна в случае Pgm. Что касается локуса Hk не регистрированы достоверных разниц между частотами зимних и летних проб.

Таблица II

Тест X^2 для отклонения генотипических частот от равновесия H-W в разных временах года

Популяции	Pgm			Hk		
	Значение X^2	Diff.	P	Значение X^2	Diff.	P
Зимние	390,740	1	0,001	0,062	3	0,996
Летние	0,003	1	0,959	0,000	1	1,000

Частоты для общей аллелы локусов Pgm и Hk в зимних и летних образцах, а также средние гетерозисы представлены в таблице III. Аллеловые частоты для Pgm снова различаются между зимними и летними образцами, в то время как для локуса Hk не отмечается разниц между зимними и летними образцами. Этот факт прежде доложен в литературе по специальности.

Таблица III

Частота общей аллелы для локусов Pgm и Hk в зимних и летних образцах

Популяции	Pgm-75	Hk-100	Средняя	Равновесие H-W
Зимние	0,552	0,980	0,496±0,456	0,269±0,230
Летние	0,995	0,996	0,009±0,002	0,009±0,002

Изменения, в зависимости от времени года, уровня гетерозиса не были ограниченными в областях Hatay и Gaziantep. Нами взяты пробы медоносной пчелы со всей территории Турции в период 1994-1997 гг. (КАНДЕМИР с сотр., 2000). В данном исследовании мы идентифицировали достоверные отклонения в некоторых зонах в пользу гетерозиготов. Из зон, в которых выявлены самые достоверные отклонения, пробы были взяты в начале апреля. У популяций медоносных пчел из Elaziga и Artvina, где образцы взяты зимой, мы обнаружили 100% гетерозиса.

Имеется много работ о влиянии гетерозиса на физическое благосостояние особи и популяции вообще. Даже один только локус может оказать можорное влияние на физиологию животного. ГУЛСОН (1993) отметил, что генотип локуса Pgm оказал влияние на продолжительность периода, в котором бабочки *Maniola jurtina* могут летать без перерыва. Автор установил, что при температуре 29° Ц, индивидуальные бабочки, гомозиготы для Pgm-100, могут летать непрерывно более длительные интервалы, чем особи с другими генотипами. Он пришел к выводу, что в условиях холодной погоды, гетерозиготы могут летать более долго, чем индивидуальные гомозиготы для Pgm-100.

При исследовании термостабильности аллозимов Mdh пчел КОРНЮЭ с сотр. (1995) обнаружили, что аллозим, кодированный для генотипа ММ был неустойчивым к теплу и оказался инактивным после термической обработке при 65 °Ц в течение трех мин. Данное свойство аллелы ММ отмечено у гетерозиготов (FM и SM), где генерировало сокращение активности гетеродимерных энзимов. Данные гетеродимеры были менее активны, чем FS, FF и SS, на которые повышение температуры не оказало влияния. МЕССЬЕ и МИТТОН (1996) исследовали полиморфизм Mdh у медоносной пчелы и установили, что гетерозиготы представляли более низкие уровни колеблющейся асимметрии, чем гомозиготы. ХАРРИСОН с сотр. (1996) подали мысль, что эндотермические насекомые, в том числе и пчела *Apis mellifera*, располагают способностью регулировать грудную температуру в зависимости от температуры окружающей среды. При повышении температуры воздуха от 20 °Ц до 40 °Ц, производство метаболического тепла и частота махов крыльев во время полета, как и при беспокойном или загруженном полете понизились на 40% (ХАРРИСОН с сотр., 1996). Этот факт можно активно контролировать гомеостатическим механизмом, который может включить потребление кислорода или энергии. Медоносные пчелы могут сохранять свою силу полета и оставляться активными вне улья, в широкой гамме температур воздуха, благодаря чертам, которые позволяют им термически регулировать грудную клетку (РОБЕРТС и ХАРРИСОН, 1999). Вариация, регистрируемая локусом Pgm пчел может быть частью гомеостатического механизма, который контролирует терморегулирование их груди.

Исследование вариации десяти полиморфных локусов энзимов у колоний красных мурашек на севере штата Джорджия, США, выявило, что все они, за исключением локуса Pgm, находились в равновесии Hardy-Winberg (РОСС, 1992). В полигенных популяциях Pgm-3AA, рабочие особи убивают маток около момента начала овогенеза; матки Pgm-3Aa и Pgm-3aa не имеют эту судьбу, так как матки Pgm-3AA более эффективны, чем другие генотипы в том, что касается репродуктивной эволюции (РОБИНСОН с сотр., 1997). Более плодовитые матки идентифицированы с помощью феромонов и умерщвляются рабочими мурашками (ФЛЕЧЕР и БЛУМ, 1981).

Другое исследование об отношении между полиморфизмом Mdh и стабильностью развития медоносной пчелы выявило, что гетерозиготы Mdh проявляли более низкие уровни колеблющейся асимметрии, чем гомозиготы (МЕССЬЕ и МИТТОН, 1996). Исследование ВАТТА с сотр. на тему полиморфизма Pgi у бабочек *Colias* показало, что гетерозиготы располагали более высоким уровнем выживаемости, а их самцы имели бóльший успех при спаривании, чем гомозиготы (ВАТТ, 1977; ВАТТ с сотр., 1985).

Имеются также исследования на тему индивидуального гетерозиса в том, что касается определенного числа локусов. Например, американские устрицы (*Crassostrea virginica*), которые были гомозиготными для определенного числа локусов, в том числе Pgm, потребляли бóльше кислорода, чем гетерозиготные, как в нормальных условиях, так и в условиях стресса (КОЕН и СУМВАЙ, 1982). В случае *Crassostrea virginica* показано также ассоциирование между энзиматическим гетерозисом и нормой роста в смысле, что норма роста повышалась с гетерозисом у ряда локусов (СИНГ и ЗУРОС, 1978; ЗУРОС с сотр., 1980). Другая работа, о рыбе *Fundulos heteroclitus* с локусами Pgm и Est показала, что особи с двойным гетерозисом располагали высшим уровнем физического благосостояния; особи, которые были гетерозиготами для Pgm показали более высокую жизнеспособность, чем гомозиготы (МИТТОН и КОЕН, 1975).

Недавно проведенное ВЕРРЕЛЛИ и ИННЕС (2001) исследование информировало о наличии широкой географической вариации белковых полиморфизмов локуса Pgm у *Drosophila melanogaster,* а аллозимные аллели показывают физиологические широтные характеры, лучшее объяснение модели клиновой вариации локуса Pgm включая селекцию.

Pgm является важным энзимом на гликолитическом пути, отвечающим за регулирование метаболизма глюкозы. Может существовать отношение между повышением уровня гетерозиса и выживаемостью. Гетерозиготные для Pgm особи могут использовать глюкозу эффективнее, чем гомозиготы. Таким образом, они могут потреблять меньше меда чем гомозиготы, что очень важно для выживания во время зимы. Этот факт может стать критерием селекции в начале зимнего сезона. Ряд гипотез, которые объясняют вариацию в зависимости от времени года уровня гетерозиса будут в будущем проверены для лучшего понимания этого интересного явления у медоносных пчел.

Л И Т Е Р А Т У Р А

Cornuet J.-M., Oldroyd B.P., Crozier R.H., Unequal thermostability of allelllic forms of Malate dehydrogenase in honeybees. *Journal of Apicultural Research* 34 (1) (1995), 45-47

Fletcher D.J.C., Blum M.S., Pheromonal control of dealation and oogenesis in virgin queen fire ants. *Science* 212 (1981), 73-75

Goulson D., Allozyme variation in the butterfly, *Maniola jurtina* (Lepidoptera: Satyrine L.). Evidence for selection. *Heredity* 71 (1993), 386-393

Mitton J.F., Selection in natural populations. Oxford University Press Inc., 1997

Harrison J.F., Fewel H.F., Roberts P.R., Hall H.G., Achievement of thermal stability by varying metabolic heat production in flying honeybees. *Science* 274 (1996), 88-90

Kandemir I., Kence M., Kence A., Genetic and morphometric variation in honeybee (*Apis mellifera* L.) populations of Turkey. *Apidologie*, 31 (2000), 343-356

Koehn R.K., Shumway S.E., A genetic/physiological explanation for differential growth rate among individuals of the American oyster, *Crassoditrea virginica* (Gmelin). *Mar. Biol. Ltrs* 3 (1982), 35-42
Mitton J.B., Koehn R.K., Genetic organization and adaptive response of allozymes to ecological variables in *Fundulus heteroclitus*. *Genetics* 79 (1975), 97-111
Messier S., Mitton J.B., Heterozygosity at the malate dehydrogenase locus and developmental homeostasis in *Apis mellifera*. *Heredity* 76 (1996), 616-622
Nei M., Molecular Population Genetics and Evolution. North-Holland, Amsterdam, 1975
Roberts S.P., Harrison J.F., Mechanisms of thermal stability during flight in the honeybee *Apis mellifera*. *The Journal of Experimental Biology* 202 (1999), 1523-1533
Robinson G.E., Fahrbach S.E., Winsto M.L., Insect societies and the molecular biology of social behavior. Review article. *BioEssays* 19 (1997), 1099-1108
Ross K.G., Strong selection on a gene that influences reproductive competition in a social insect. *Nature* 355 (1992), 347-349
Singh S.M., Zouros E., Genetic variation associated with growth rate in the American oyster (*Crassostrea virginica*). *Evolution* 32 (1978), 342-353
Sokal R.R., Rohlf F.C., Biometry. Third Ed. W.H. Freeman and Company, NY, 1995
Swofford D.L., Selander R.B., BIOSYS-1: A computer program for the analysis of allelic variation in genetics. Release 1., 1981
Verrelli B.C., Eanes W.F., Clinal variation for amino acid polymorphisms at the Pgm locus in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 157 (2001), 1649-1663
Watt W.B., Adaptation at specific loci. I. Natural selection on phosphoglucose isomerase of *Colias* butterflies: Biochemical and population aspects. *Genetics* 87 (1977), 177-184
Watt W.B., Carter P.A., Blower S.M., Adaptation at specific loci. IV. Differential mating success among glycolytic allozyme genotypes of *Colias* butterflies. *Genetics* 109 (1985), 157-175
Zouros E., Singh S.M., Miles H.E., Growth rate in oysters: An overdominant phenotype and possible explanations. *Evolution* 34 (1980), 856-867