**Департамент образования города Москвы**

**Государственное бюджетное общеобразовательное учреждение города**

**Москвы «Школа №1505 «Преображенская»**

**Обнаружение явления гетерозиса у дрозофил**

дипломная работа

ВЫПОЛНИЛ

ученик/ца 10 В класса

Ларионова Анна Дмитриевна

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ

Ноздраечва Анна Николаевна

РЕЦЕНЗЕНТ

Кудряшова Елена Евгеньевна

Москва, 2019/2020 г.

**СОДЕРЖАНИЕ**

|  |  |
| --- | --- |
| ВВЕДЕНИЕ | **2** |
| ГЛАВА 1. Дрозофилы | **3** |
| 1.1. Дрозофилы - модель для генетических исследований | **3** |
| 1.2. Морфология дрозофилы | **3** |
| 1.3. Генетика дрозофилы  1.4. Жизненный цикл дрозофилы  1.5. Поддержание линий дрозофил и разведение их  ГЛАВА 2. Гетерозис  2.1. Гетерозис  2.2. Гетерозис в животноводстве  2.3. Гетерозис в растениеводстве | **4**  **6**  **8**  **9**  **9**  **9**  **10** |
| ГЛАВА 3. Обнаружение явления гетерозиса у дрозофил | **11** |
| 3.1. Материалы и методы | **11** |
| 3.2. Результаты и обсуждение | **12** |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | **16** |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | **16** |
|  |  |

**ВВЕДЕНИЕ**

Гетерозис - свойство гибридов превосходить по определенным признакам лучшую из родительских форм. Гетерозис используют в селекции для выведения более сильных пород животных, сортов растений. В основе гетерозиса лежит повышение гетерозиготности у гибридов первого поколения и превосходство гетерозигот по определённым генам над соответствующими гомозиготами. При скрещивании между собой следующих поколений гетерозис ослабевает и затухает.

Гетерозис, селекция входят в школьную программу, но так как в учебных учреждениях запрещены генетические исследования на животных и многие биологические процессы проблематично моделировать в условиях школы, было решено исследовать возможность использования дрозофил в качестве модели гетерозиса, так как они являются удобным и общепринятым объектом. Несмотря на то, что изучением гетерозиса занимаются на протяжении 230 лет, но впервые начали использовать на практике с XX в., при разведении шелковичных червей, но пока не было исследований гетерозиса на дрозофилах.

На основании изложенного была сформулирована цель работы - исследование возможности использования дрозофил для создания модели гетерозиса. Для достижения цели были поставлены задачи:

1. изучить законы генетики
2. изучить и описать генетику дрозофил, их поведение, условия содержания (корм и пробирки, способ усыпления)
3. выявить у каждой линии время развития, количество потомков, активность
4. провести скрещивание

Гипотеза: “При скрещивании разных чистых линий дрозофил получается гибрид, который превосходит по определенным признакам лучшую из родительских форм”

# Глава 1. Дрозофилы

***Дрозофилы - модель для генетических исследований:***

На протяжении долгого времени дрозофилы являются основной объектом для генетических исследований. На основных открытиях на дрозофиле создавалась история генетики, ее основных этапов.

Исследования на дрозофилах сформировали основные представления генетики о сущности гена, сегрегация хромосом при митозе и мейозе, механизмов мутации и рекомбинаций и т.д.

Генетические исследования на дрозофилах берут свое начало с эксперимента Т.Х. Морганом в 1910 г. Для своего эксперимента он использовал двух дрозофил: самку с серой окраской и нормальными крыльями, а самца с более темной окраской и короткими крыльями. После скрещивания, первое поколение родилось с доминантными признаками для данного вида: серая окраска и нормальные крылья, сцепленные гены в хромосоме. Большинство потомков будут иметь доминантные признаки гомозиготной дрозофилы. Однако некоторые дрозофилы будут отличаться, благодаря кроссинговеру.

На основе своих экспериментов Морган доказал положение о сцепленном наследовании.

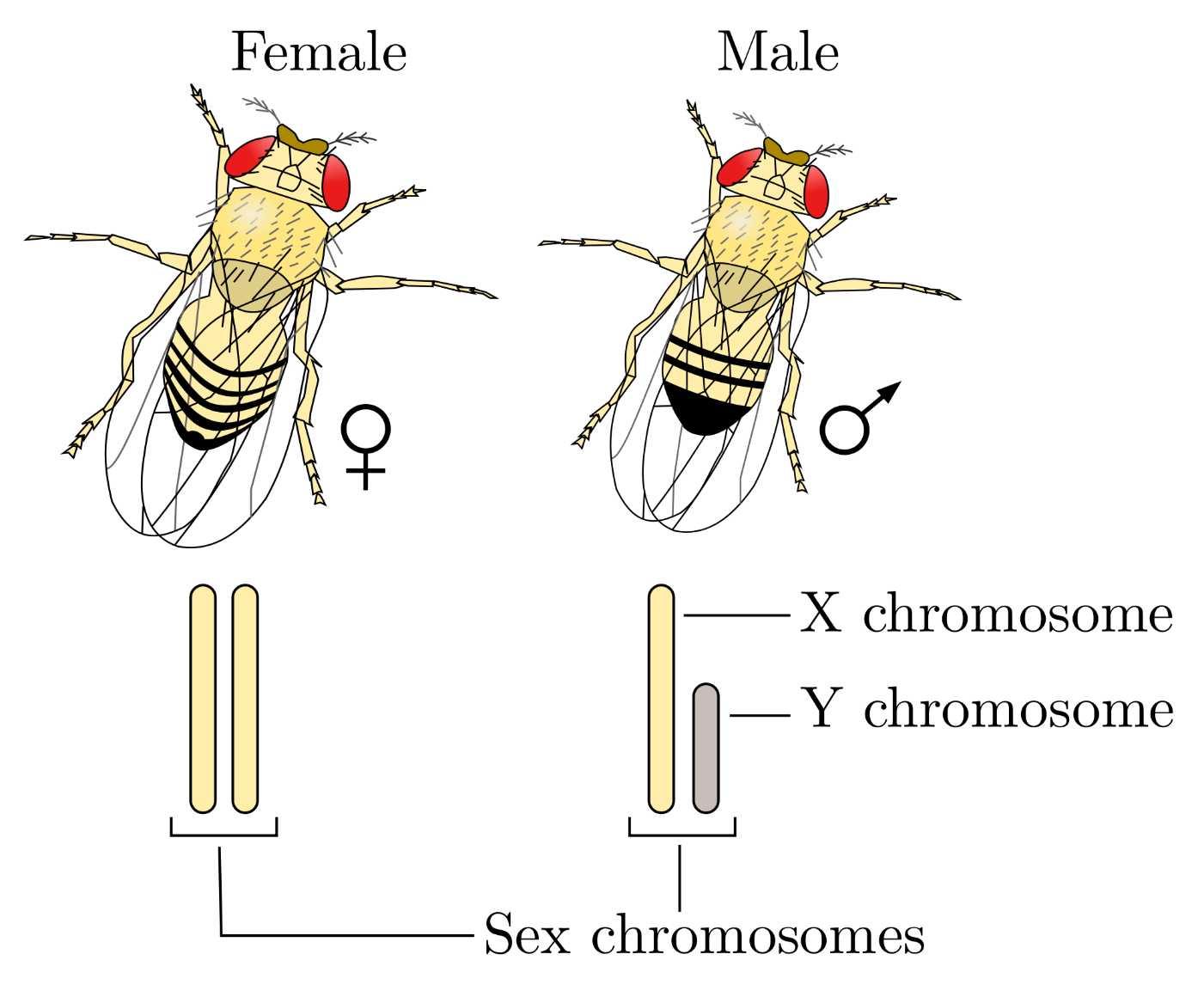
Особенности дрозофилы, которые делают ее удобным модельным объектом в генетических исследованиях:

1. Небольшое число хромосом (8)
2. Высокая плодовитость за небольшой период времени. В течение одного месяца можно получить 3 поколения мух.
3. Многообразие популяций и мутантов

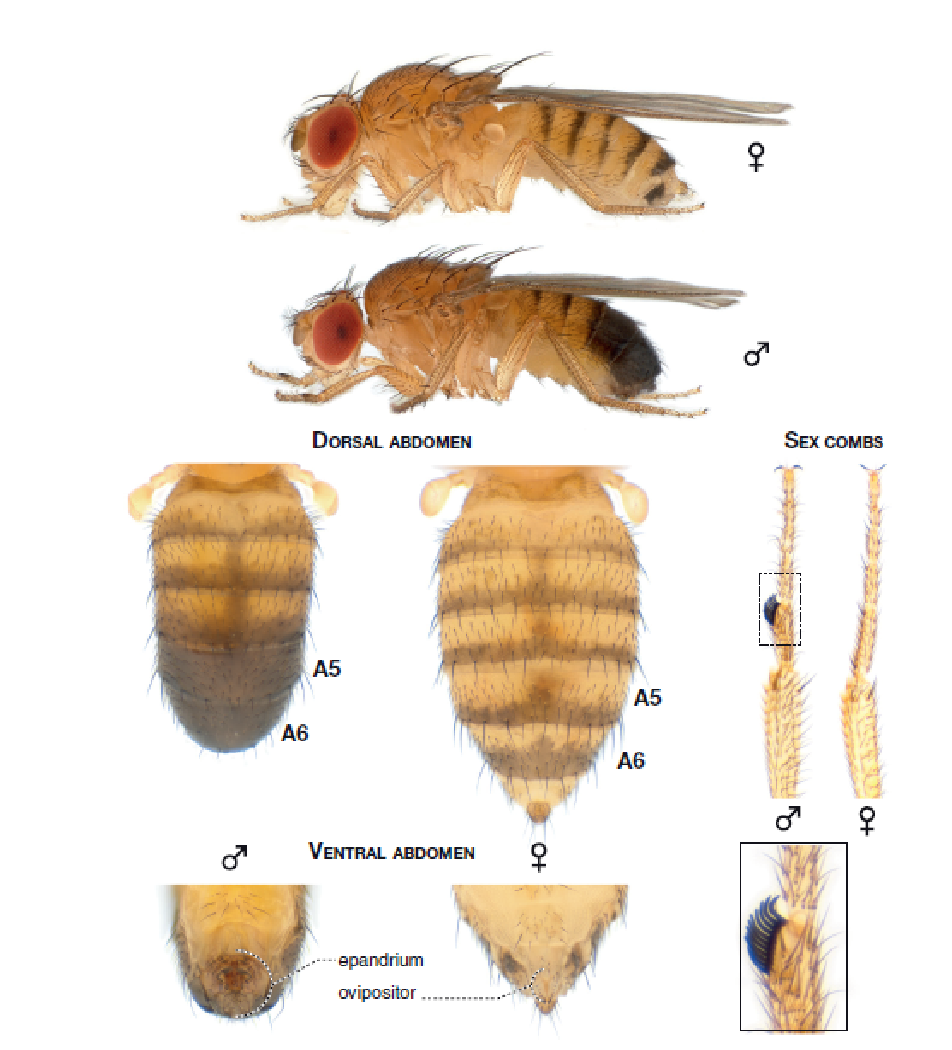
К признакам часто подверженным мутационными изменениям, относятся признаки глаз, крыльев.

***Морфология дрозофилы:***

Дрозофилы - это мелкие мушки размером от 1 до 3 мм. Серая окраска тела и красные глаза. Самки значительно крупнее самцов. Конец брюшка у самок более заостренный, а у самцов более округлый. Последние сегменты брюшка у самца окрашены в черный.



Самцы имеют на первых члениках ходильных ног половые гребешки, расположенные в виде хитиновых щетинок.



***Генетика дрозофил:***

Геном дрозофилы содержит 4 пары хромосом: ХУ и три аутосомы.



*Политенные хромосомы дрозофилы*. В клетках слюнных желез находятся гигантские хромосомы -политенные, с помощью которых были сделаны многие основные открытия.

Исследования Дж. Паттерсона (1932) и Мак-Кензен (1934,1935) показали, что небольшие делеции (перестройки в хромосоме с потерей какого-то участка можно использовать для точного картирования генов. С помощью этого метода в 30-х г. ХХ в. гены были катированы с точностью. На политенных хромосомах определяются гетерозиготные инверсии.

**Мутации дрозофил:**

*Большое разнообразие мутаций:*

* *Мутации окраски глаз:*

White (w) - белые глаза (I хромосома)

Дикие виды - красные глаза (I хромосома)

Brown (bw) - бурые глаза (II хромосома)

* *Мутации окраски тела:*

Дикие виды - серая окраска

Yellow (y) - желтое тело (I хромосома)

Black (b) – темное тело (II хромосома)

* *Мутации крыльев:*

Дикие виды - длинные прямые крылья

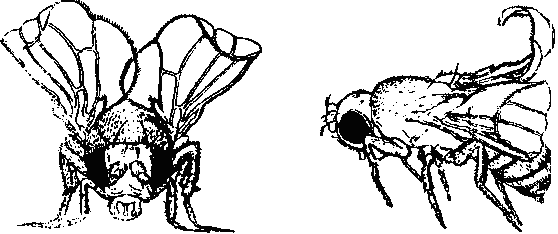
Curly (CY) – крылья загнуты вверх (II хромосома)

**Линии дрозофил:**

* YW - мутация в первой хромосоме. Глаза белого цвета и желтое брюшко. В норме глаза красного цвета и серое брюшко.



* CY - мутация во второй хромосоме. Крылья загнуты кверху, плохо летают. В норме крылья прямые.



**Скрещивание дрозофил:**

Для скрещивания используют девственных самок - виргинных. Перед скрещиванием необходимо заранее отобрать виргинных самок. В течение 2-3 часов после вылета из куколки самки дрозофилы имеют не расправленные крылья и удлиненное светлое тело. Виргинных самок соответствующей линии (3-5) помещают в пробирку с самцами такого же количества этой же линии или другой линии, зависит от эксперимента.

***Жизненный цикл дрозофил:***

Дрозофилы - насекомые с полным превращением.

Образование зиготы и эмбриогенез протекает внутри яйцевой оболочки. Из яйца развивается личинка, которая питается, растет и становится куколкой. Из куколки развивается взрослая особь - имаго. Продолжительность жизни имаго с момента вылета из куколки в лабораторных условиях составляет 3-4 недели, хотя в условиях, созданных человеком для опыта может жить до 135 дней. Жизнеспособность мутационных дрозофил, как правило, понижена.

1. **Оплодотворение у дрозофил**

Яйцо дрозофил снабжено двумя отростками, которые удерживают его на поверхности среды. Мейоз яйцеклетки завершается после проникновения сперматозоидов. Неоплодотворенное яйцо разрушается (дегенерирует). Далее оплодотворенное яйцо либо откладывается, либо остается в матке до конца эмбриогенеза. Примерно через сутки после откладывания яиц появляются личинки.

1. **Личиночный период**

Личиночный период продолжается в течение 6 суток и проходит в три этапа. Первый и второй этапы заканчиваются линьками, третий этап - становление куколкой. Первая линька происходит во вторые сутки, вторая линька через двое суток после первой линьки. Становление куколкой начинается на 7 сутки. Половые железы (гонады) хорошо видны сквозь прозрачные ткани, семенники крупнее яичников. Этим признаком исследователи пользуются, чтобы на личиночной стадии распознать самок и самцов.

1. **Куколка**

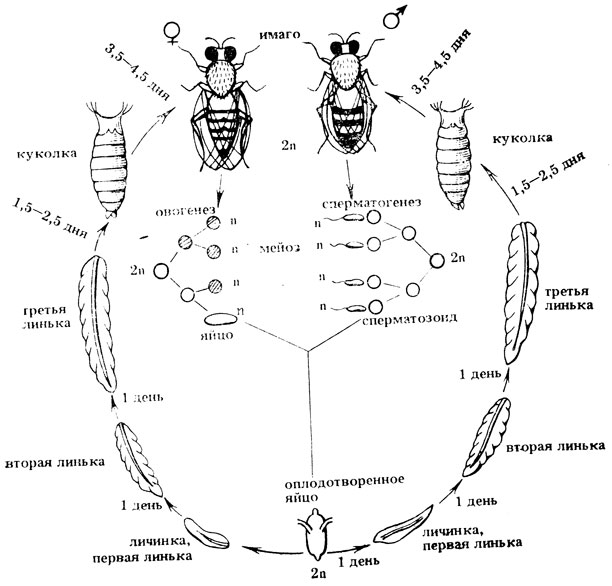
Данный этап продолжается 3-4 дня. На 4-5 сутки появляется взрослая особь - имаго.

На стадии куколки происходит разрушение личиночных органов и образование новых, не разрушаются только гонады и НС.

1. **Имаго**

Через 14 часов после появления взрослая особь готова к спариванию

Особи, только вышедшие из куколки, имеют не расправленные крылья, удлиненное тело со слабо окрашенными покровами.



***Поддержание линий дрозофил и разведение их:***

Существует риск потерять линию дрозофил из-за образования плесени на питательной среде. Чтобы избежать образование плесени, при приготовлении питательной среды нужно соблюдать чистоту в помещении, где находятся пробирки с дрозофилами.

*Питательная среда:*

**ингредиенты:**

100 г воды

4 г манки

4 г сахара

4 г растолченного изюма

2 г дрожжей

2 г агар агара

процесс подготовки среды:

Все ингредиенты, кроме агар агара, смешиваются вместе и варятся на протяжении 40 минут. В последний момент добавляем агар агар.

После окончания варки среду охлаждают и разливают по пробиркам.

Пробирки с остывшей средой закрываются стерильными ватными пробками.

## Глава 2. Гетерозис

Гетерозис - свойство гибридов превосходить по определенным признакам лучшую из родительских форм. Гетерозис используют в селекции для выведения более сильных пород животных, сортов растений. Явление гетерозиса напрямую зависит от степени родства родительских особей, чем отдалённее родительские особи от родства, тем в большей степени проявляется это явление у гибридов первого поколения.

Явление гетерозиса наблюдали еще до открытия законов Менделя. В 1908 г. был описан гетерозис у кукурузы Шуллом.

**Выделяют несколько форм проявления гетерозиса:**

1. Гибриды первого поколения преобладают над своими родителями по массе и живучести.
2. Гибриды первого поколения по массе занимают переходное положение, но заметно преобладают над родителями по плодовитости и живучести.
3. Гибриды первого поколения преобладают над родителями по долголетию, физической работоспособности, при полной или частичной утере плодовитости.
4. Каждый отдельно взятый признак проявляется по промежуточному типу наследования, а в отношении конечного результата наблюдается гетерозис.

***Гетерозис в животноводстве***

Ге­те­ро­зис в жи­вот­но­вод­ст­ве на­блю­да­ет­ся: при меж­ви­до­вой гиб­ри­ди­за­ции (мул, по­лу­чае­мый скре­щи­ва­ни­ем ос­ла с ко­бы­лой, пре­вос­хо­дит ро­ди­те­лей по вы­нос­ли­во­сти и ра­бо­то­спо­соб­но­сти); при кросс­бри­дин­ге (гибриды, по­лу­чен­ные от скре­щи­ва­ния сви­ней круп­ной бе­лой и эс­тон­ской по­род, име­ют сред­не­су­точ­ный при­рост жи­вой мас­сы на 6–10% вы­ше, чем их ро­ди­те­ли); при меж­ли­ней­ных скре­щи­ва­ни­ях (гиб­рид­ные ку­ры да­ют на 30–50 яиц в год боль­ше, чем ку­ры ис­ход­ных ли­ний). Сте­пень про­яв­ле­ния гетерозиса за­ви­сит от со­че­тае­мо­сти (ком­би­на­ци­он­ной спо­соб­но­сти) ро­ди­те­лей (ли­ний, по­род). Гиб­ри­ды мо­гут пре­вос­хо­дить по од­но­му или не­сколь­ким при­зна­кам луч­шую из ро­ди­тель­ских форм. Ино­гда гиб­ри­ды пер­во­го по­ко­ле­ния пре­вос­хо­дят ро­ди­тель­ские фор­мы по при­зна­ку, про­из­вод­но­му от двух дру­гих, ка­ж­дый из ко­то­рых име­ет про­ме­жу­точ­ный тип на­сле­до­ва­ния.

***Гетерозис в растениеводстве***

Гетерозис в растениеводстве проявляется в преобладании гибридов первого поколения над одним из родителей по одному или нескольким признакам, например, увеличение массы органов, улучшение химических и физиологических признаков. Повышение способности к приспособлению к условиям, увеличение продуктивности на 15-50 %. Чем больше различаются скрещиваемые родители по морфологическим, физиологическим, адаптивным и другим признакам, тем сильнее проявляется явление гетерозис. Селекция гибридов первого поколения включает в себя несколько этапов. Вначале проводится поиск форм растений с механизмами, которые мешают самоопылению растений (двудомность и другие). На следующем этапе путем самоопыления перекрестноопыляющихся растений, создаются гомозиготные по основным хозяйственно важным признакам линии. Далее путем скрещиваний с другими гомозиготными линиями их оценивают на сочетаемость линий, выделяют лучшие гибриды. Заключительный этап состоит в производственном получении семян гетерозисных гибридов с использованием различных скрещиваний. Сеют продуктивные гибриды первого поколения зерновых, овощных, декоративных и других культур. Явление гетерозиса сохраняется у растений следующего поколения в случае вегетативного размножения.

**Глава 3. Обнаружение явления гетерозиса у дрозофил линий CY и YW**

**Гипотеза исследования:**

При скрещивании разных чистых линий дрозофил получается гибрид, который превосходит по определенным признакам лучшую из родительских форм.

**Материалы и методы:**

Две линии дрозофил: CY, YW; пробирки с питательной средой, в которых размножаются и развиваются дрозофилы

Для выявления гетерозиса было рассмотрено: время развития чистых линий и гибридов, плодовитость, активность (засекалось время, за которое дрозофилы поднимаются по пробирке)

Из каждой линии (YW, CY) отсаживались по 3 самки и 5 самцов в отдельные пробирки с питательной средой. После первого вылета отлавливались по 3 виргинных самки с каждой линии и 5 самцов и также отсаживались в разные пробирки. Также брались три виргинных самки одной линии и пять самцов другой линии и отсаживались в одну пробирку (3 самки YW и 5 самцов CY). После окукливание личинок в пробирке, где дрозофилы скрещивались с разных линий, отсаживаем родителей. Отлавливались виргинные самки и самцы, отсаживаем гибридов (также по 3 самки и три самца). Были проведены две серии скрещиваний. В каждой серии было три скрещивания, по 2 повтора.

**Первая серия:**

♀YW \*♂CY

♀CY \*♂CY

♀YW \*♂YW

**Вторая серия****:**

для оценки плодовитости гибридов скрещивались гибриды F1 между собой

♀CY \*♂CY

♀YW \*♂YW

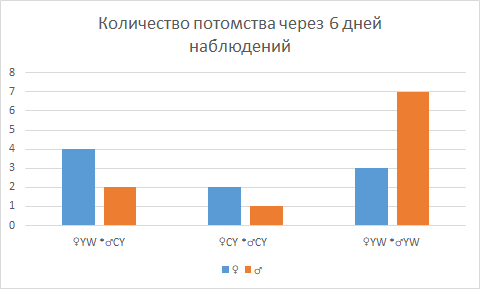
♀CY/YW \* ♂CY/YW

Для статистической обработки данных использовали программу Excel

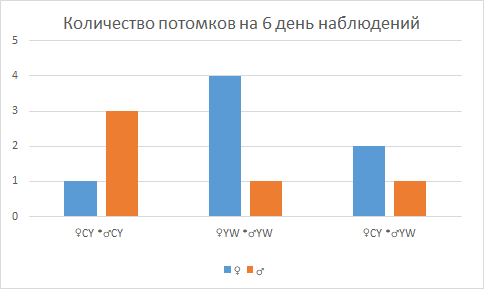
**Результаты:**

*Первая серия:*

1 повтор:



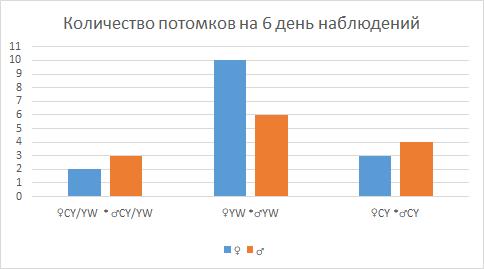
2 повтор:



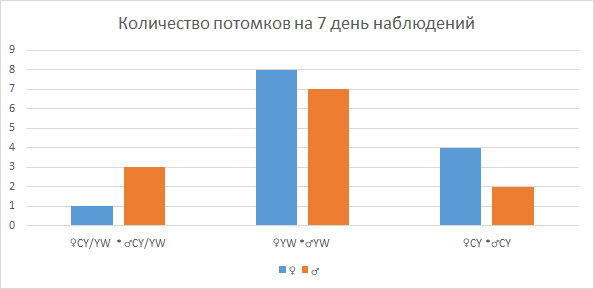
На гистограммах показано, что плодовитость ♀YW \*♂YW на 6 день наблюдений выше, чем ♀CY \*♂CY, ♀YW \*♂CY в обоих случаях. В первом случае при скрещивании разных линий брались самки линии YW, а во втором случае самки линии CY. Основываясь на гистограммы, можно делать вывод, что самки линии YW плодоноснее.

*Вторая серия:*

1 повтор:

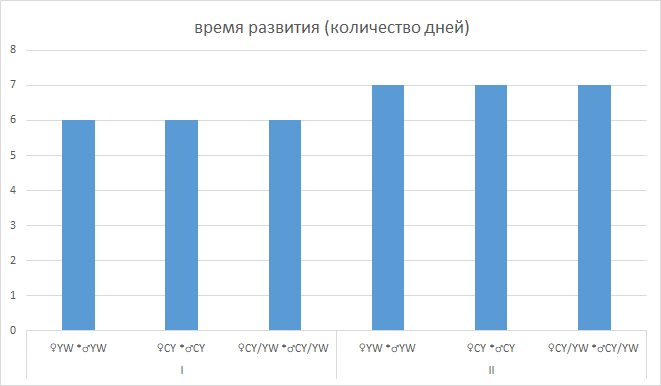


2 повтор:



1. **Время развития**

Наблюдение за развитием чистых линий, гибридов. Первое появление личинок, первое окукливание, вылет. На гистограмме представлено спустя сколько дней был первый вылет. В первом случае у чистых линий, гибридов первый вылет был спустя 6 дней, во втором случае был спустя 7 дней. На эту небольшую разницу могли повлиять: температура, питательная среда.



1. **Плодовитость**

Самая высокая плодовитость в обоих случаях у чистой линии ♀YW \*♂YW. В первом случае плодовитость чистой линии ♀CY \*♂CY ниже, чем плодовитость гибридов ♀CY/YW \* ♂CY/YW. Во втором случае наоборот, плодовитость гибридов ниже плодовитости чистой линии ♀CY \*♂CY

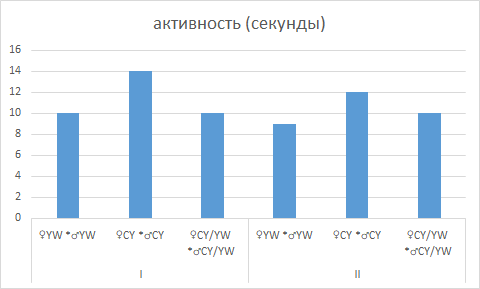
****

1. **Активность**

Засекалось время, за которое дрозофилы поднимались по пробирке.

Погрешность измерений 0,16 с

В первом случае активность чистых линий ♀YW \*♂YW, ♀CY \*♂CY равна, а активность гибридов ♀CY/YW \*♂CY/YW выше. Во втором случае активность линии ♀YW \*♂YW самая низкая, а активность линии ♀CY \*♂CY самая высокая.

****

**Заключение:**

В ходе работы были выполнены все поставленные задачи: изучить и описать генетику дрозофил, их поведение, условия содержания (корм и пробирки, способ усыпления); выявить у каждой линии время развития, количество потомства, активность; провести скрещивание, чтобы достичь поставленную цель - исследование возможности использования дрозофил для создания модели гетерозиса. По результатам, полученным в конце исследований можно утверждать, что у дрозофил не было увеличения плодовитости; время развития гибридов не отличалось от времени развития чистых линий; подвижность (активность) у гибридов понизилась, если сравнивать с лучшей из родительских форм.

Таким образом, наша рабочая гипотеза о том, что при скрещивании разных чистых линий дрозофил получается гибрид, который превосходит по определенным признакам лучшую из родительских форм, не подтвердилась

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

Козак М.Ф. Дрозофила – модельный объект генетики. Учебно-методическое пособие; Издательский дом «Астраханский университет» 2007

Sylwester Chyb and Nicolas Gompel (Auth.)-Atlas of Drosophila Morphology. Wild-type and Classical Mutants-Academic Press

Drosophila, Christian Dahmann Editor, Methods and Protocols

[**https://cellbiol.ru/book/mutacii\_drozofily**](https://cellbiol.ru/book/mutacii_drozofily)

**<http://www.bionet.nsc.ru/vogis/?wpfb_dl=355>**

[**https://drive.google.com/drive/folders/1xhoP1GeDkPiHfadnBI\_R1-7z0xMOyfxR**](https://drive.google.com/drive/folders/1xhoP1GeDkPiHfadnBI_R1-7z0xMOyfxR)

**<https://drive.google.com/drive/folders/1xhoP1GeDkPiHfadnBI_R1-7z0xMOyfxR>**