

Анализ мутантов *Delta Drosophila virilis* с асимметричным распределением наплывов на жилках крыла

И. А. Козерецкая

Национальный Киевский университет имени Тараса Шевченко
252017, Киев, ул. Владимирская, 64

У Drosophila virilis среди аллелей, связанных с появлением мутаций нейrogenного локуса Delta (Dl), одни характеризуются присутствием наплывов на жилке L2 одновременно на обоих крыльях у всех гетерозиготных Dl-особей (I тип), другие — низкой пенетрантностью и асимметричным распределением наплывов на L2 (II тип). Установлено, что наблюдаемая асимметрия признака Dl на L2 и всех других продольных и поперечных жилках крыла в Dl-линиях I и II типа является не направленной, а флуктуирующей.

Введение. Нейrogenные гены, к которым относится локус *Delta (Dl)*, участвуют в процессах сегрегации нейрального и эпидермального зачатков из эктодермы в раннем эмбриогенезе дрозофилы [1—3]. Частичное нарушение или полное отсутствие нормальной функции каждого из нейrogenных генов приводит к тому, что большинство или практически все клетки нейrogenной эктодермы гомозиготных эмбрионов выбирают нейральную судьбу. Это вызывает гиперплазию нервной системы и гипоплазию эпидермальной — отсутствие головного и брюшного эпидермиса [2]. Так называемый нейrogenный эмбриональный фенотип является характерной особенностью особей, гомозиготных по различным аллелям локуса *Dl*, которые летальны и гибнут на разных стадиях эмбрионального развития.

Гетерозиготы по мутантным аллелям *Dl* жизнеспособны и обнаруживают ряд фенотипических особенностей. Характернейшей из них, благодаря которой локус *Dl* и получил свое название, считается наплыв (расширение жилки у края крыла или ее утолщение) на жилках крыла [3—5].

Мы проследили, насколько закономерным является появление наплывов на отдельных жилках, используя количественный анализ пенетрантности и асимметричного проявления признака *Dl* у разных мутантов *D. virilis* как характеристику экспрессии этого важного для развития гена.

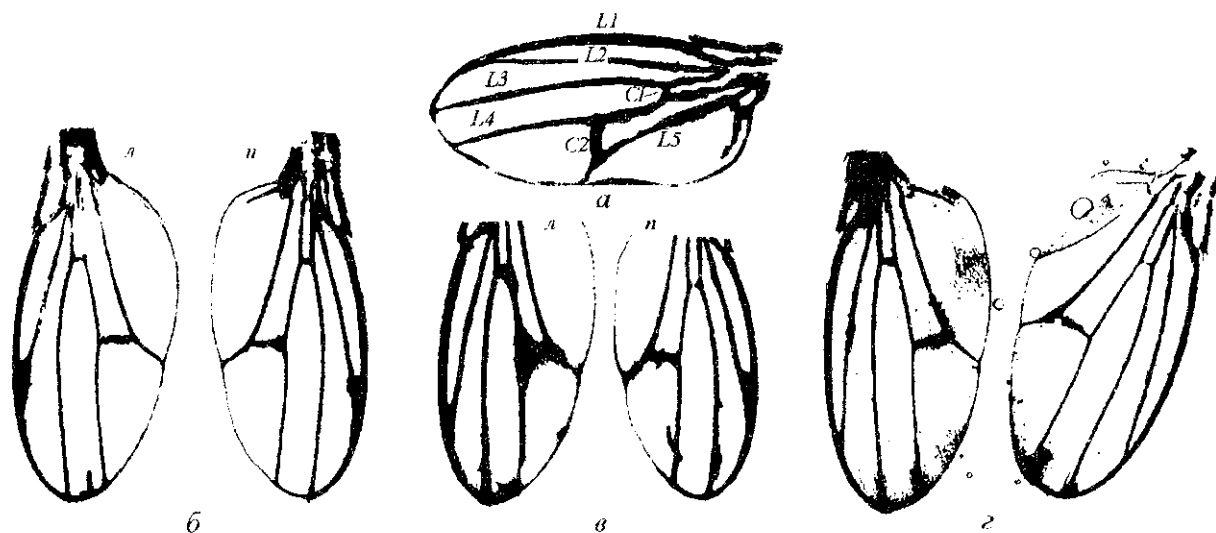
Материалы и методы. В работе использована коллекция мутантов *Delta* у *D. virilis*. Из них *Dl*¹⁶⁷ является аллелем, выделенным из природной популяции Батуми, а другие получены при облучении самцов линии 9 (дикий тип) или линии 160 (маркирована рецессивными мутациями *broken (b, 2-188,0)*; *gap (gp L2,3-118,5)*; *cardinal (cd, 4-32,2)*; *reacch (re, 5-203,0)* и *glossy (gl, 6-1,0)* по всем аутосомам).

Dl-линии поддерживали посредством массовых скрещиваний самок линии 140 (маркирована мутациями *ebony (ed, 2-83,5)* и *varnished (va, 2-231,5)* во второй хромосоме) с гетерозиготными *Dl*-самцами (+ *Dl* + / *ed* + *va*) при температуре 25 °С. Описание этих мутаций приведено в работе [6].

Анализировали особенности *Dl*-фенотипа крыла не менее чем у 100 особей в каждой линии, учитывая характерные для фенотипа *Dl*-аллелей наплывы у края крыла на продольных (L2—L5) и поперечных (C1, C2) жилах.

Результаты и обсуждение. Нейrogenный локус *Dl* у *D. virilis* картирован в 21-м районе (21F) второй хромосомы [8]. Известно, что особи, гомозиготные по *Dl*-аллелям, — рецессивные летали, погибающие на разных стадиях эмбрионального развития. *Dl*-гетерозиготы жизнеспособны и обнаруживают четкие изменения фенотипа крыла.

Фенотипическое проявление *Dl* в каждой линии имеет свои характерные особенности. Кроме



Фенотип крыла мух дикого типа (*a* — продольные (L1—L5) и поперечные (C1, C2) жилки), а также левого (*л*) и правого (*п*) крыльев у гетерозигот по разным аллелям локуса *Delta*: $+Dl^{167}/ed+va$ (*б*), $+Dl^{78c}/eb+va$ (*в*) и $+Dl^{EE}/eb+va$ (*г*)

того, пенетрантность и размеры наплывов на разных жилках у гетерозигот по разным *Dl*-аллелям заметно варьируют (рисунок).

Наплывы на L2. Результаты, отражающие пенетрантность проявления признака *Dl* на отдельных жилках крыла в линиях, родоначальниками которых были самцы, несущие мутантные аллели локуса, представлены в табл. 1.

По частоте проявления признака *Dl* на L2 все линии можно разделить на два типа. К первому относятся линии, у которых этот признак присутствует одновременно на обоих крыльях практически у всех мух. Гетерозиготные *Dl*-особи обнаруживают четкое значительное расширение L2 у края крыла (см. рисунок, *б*). Такой тип наплывов на L2 характерен для самцов и самок, гетерозиготных по мутантным аллелям Dl^{167} , Dl^{4SG} , Dl^{18} , Dl^S , Dl^{AS} , Dl^{78b} (в этой линии жизнеспособны только *Dl*-самцы, имеющие транслокацию T(Y; 2) Dl^{78b} Y; 22C), Dl^{17} и Dl^{22} (см. табл. 1).

В линиях второго типа у гетерозигот по *Dl*-аллелям (Dl^{78c} , Dl^{EE} , Dl^{SD}) наплывы на L2 часто отсутствуют на одном или обоих крыльях (рисунок, *в*, *г*; табл. 1). Можно отметить, что у гетерозигот по Dl^{78c} наплывы на L2 встречаются чаще, чем у гетерозигот по Dl^{SD} . Очень незначительное число особей с измерением L2 обнаруживается в линии Dl^{EE} , и наплывы там часто небольшие и нетипич-

ные (см. табл. 1). Во всех линиях второго типа обращает на себя внимание асимметричная картина появления *Dl* на L2.

Наплывы на L3—L5, C1, C2. Обнаружив четкую разницу между линиями в распределении *Dl* на L2, мы попытались выяснить, насколько специфично и закономерно появление наплывов на других продольных (L3—L5) и поперечных (C1, C2) жилках. Результаты, приведенные в табл. 1, четко показывают отсутствие таких закономерностей.

У гетерозигот по Dl^{167} , для которых характерна полная пенетрантность *Dl* на L2, наплывы на L3 не встречаются вовсе, а на L4, L5, C1 и C2 — с очень низкой частотой.

Мухи, гетерозиготные по Dl^{18} , Dl^{22} , Dl^{AS} , Dl^{4SG} , Dl^{17} и Dl^S , у которых *Dl* на L2 также всегда присутствует на обоих крыльях, обнаруживают высокую вариабельность в проявлении наплывов на отдельных жилках (см. табл. 1). Изменения жилок чаще характерны для C1 и C2 и реже — для L3—L5 (см. табл. 1).

Так, особи, гетерозиготные по Dl^{22} , имеют самую высокую частоту встречаемости наплывов на L3, L5, C1 и C2, которая сходна для разных жилок. У особей, гетерозиготных по Dl^{18} , Dl^{4SG} , Dl^S , наблюдается довольно высокая пенетрантность наплывов на продольных жилках C1 и особенно на C2 (см. табл. 1).

Таблица 1
Особенности распределения напылов на жилках крыла у особей, гетерозиготных по разным аллелям локуса Delta

Линия	Генотип особей (+D ⁺ /eб+va)	N	Число особей, обнаруживающих напылы на								
			L2			L3			L4		
			л*	п**	с***	л	п	с	л	п	с
I тип											
Dl ¹⁶⁷	+Dl ¹⁶⁷	103	—	—	103	—	—	—	2	1	—
Dl ¹⁸	+Dl ¹⁸	104	—	—	104	13	6	15	7	2	3
Dl ²²	+Dl ²²	100	—	—	100	9	9	44	15	14	38
Dl ^{AS}	+Dl ^{AS}	109	—	—	109	10	17	40	10	17	14
Dl ^{ASG}	+Dl ^{ASG}	105	—	—	105	27	14	22	19	15	6
Dl ⁷	+Dl ⁷	105	—	—	105	5	5	—	9	10	3
Dl ¹⁵	+Dl ¹⁵	108	—	—	108	21	15	13	17	9	10
Dl ^{78b}	+Dl ^{78b}	100	—	—	100	7	7	4	5	6	1
II тип											
Dl ^{78e}	+Dl ⁷⁸	106	31	26	17	8	6	2	11	11	6
Dl ^{EE}	+Dl ^{EE}	127	9	5	2	16	16	7	1	1	—
Dl ^{SD}	+Dl ^{SD}	115	35	25	10	21	19	5	7	5	2

Линия	Генотип особей (-D ⁺ /eб+va)	N	Число особей, обнаруживающих напылы на								
			L5			C1			C2		
			л	п	с	л	п	с	л	п	с
I тип											
Dl ¹⁶⁷	+Dl ¹⁶⁷	103	6	10	9	11	6	16	16	10	20
Dl ¹⁸	+Dl ¹⁸	104	9	9	22	10	5	76	5	9	72
Dl ²²	+Dl ²²	100	4	11	68	4	10	63	8	15	66
Dl ^{AS}	+Dl ^{AS}	109	10	19	53	12	14	20	14	19	33
Dl ^{ASG}	+Dl ^{78b}	105	13	10	21	6	2	73	7	14	71
Dl ⁷	+Dl ⁷	105	18	8	7	9	22	58	9	20	53
Dl ¹⁵	+Dl ¹⁵	108	22	10	46	18	9	50	12	12	79
Dl ^{78b}	+Dl ^{78b}	100	6	13	4	20	16	34	11	5	5
II тип											
Dl ^{78e}	+Dl ^{78e}	106	2	2	—	9	6	4	6	9	5
Dl ^{EE}	+Dl ^{EE}	127	5	1	—	4	—	2	11	15	9
Dl ^{SD}	+Dl ^{SD}	115	4	4	2	7	8	3	7	10	6

П р и м е ч а н и е. *Число особей, обнаруживающих напылы только слева (л); **число особей, обнаруживающих напылы только справа (п); ***число особей, обнаруживающих напылы одновременно на обоих крыльях (с).

Гетерозиготы по Dl^{78e} , Dl^{EE} и Dl^{SD} характеризуются невысокой частотой изменений фенотипа крыла. Следует отметить, что изменения L3—L5, C1 и C2 менее часты, чем L2. Реже всего изменения появляются у особей Dl^{EE} и, так же как на L2, степень выраженности этих наплывов невысокая.

Таким образом, результаты анализа изменений жилок L3—L5, C1 и C2 дают основания считать, что единственным четким критерием, который может быть положен в основу классификации Dl -аллелей, является присутствие или отсутствие наплывов на L2. Уровень изменений L3 сходен по частоте у обеих групп, а частоты изменений C2 у гетерозигот Dl^{67} , Dl^{EE} и Dl^{SD} обнаруживают лишь слабые различия. Варьирующий уровень пенетрантности признака на L3—L5, C1 и C2 у Dl -особей разных линий в ряде случаев может служить лишь дополнительной характеристикой фенотипа определенных Dl -аллелей.

Асимметричное распределение Delta у Dl-гетерозигот. При изучении распределения наплывов на жилках крыла у гетерозигот по разным аллелям было установлено, что признак обладает неопределенностью фенотипической реализации — два симметричных крыла ведут себя по-разному в отношении развития этого признака: проявление сочетается с не проявлением, одна степень выраженности — с другой.

Многочисленные примеры подобного рода изменений [9] четко показали возможность существования направленной асимметрии (т. е. наследственно обусловленной) и флуктуирующей (не имеющей такой обусловленности).

Считается, что для флуктуирующей асимметрии характерны специфические особенности: не-

значительность и ненаправленность различий, независимость билатерального проявления.

Что касается признака Dl (см. табл. 1), то различия в его проявлении на разных крыльях у Dl -гетерозигот четко выражены. Однако их можно назвать незначительными, поскольку в большинстве случаев характер жилкования и форма крыла существенно не нарушаются. Направленность асимметрии качественных признаков может быть оценена при сравнении частот признака на разных сторонах тела [7]. И так как в нашем случае эти частоты существенно не различаются, асимметрия может рассматриваться как ненаправленная (табл. 2, 3).

Для того чтобы выяснить, насколько независимо билатеральное проявление признака *Delta*, мы использовали метод анализа, предложенный Астауровым [7]. Исходя из того, что при отсутствии какой бы то ни было взаимосвязи в проявлении признака на разных сторонах тела частота его симметричного проявления (c) должна быть равна произведению частот (a) слева (a_n) и справа (a_p), т. е. $c = a_n \times a_p$. Сопоставляя теоретически ожидаемую (при отсутствии взаимосвязи) частоту симметричного проявления (c_t) с реально наблюдаемой в исследуемой выборке (c_s), мы определили тип взаимосвязи сторон, считая, что при $c_s = c_t$ такая взаимосвязь отсутствует.

Результаты табл. 2 и 3, отражающие характер изменений наплывов на жилках, приведены как иллюстрация схемы анализа асимметрии у Dl -гетерозигот всех линий на каждой из жилок и совершенно однозначно свидетельствуют о независимом билатеральном проявлении Dl у гетерозигот во всех проанализированных линиях.

Таблица 2

Характеристика асимметричного проявления наплывов на жилках у особей, гетерозиготных по аллелю Dl^{18}

Жилка	N	Число особей, обнаруживающих наплывы			Одностороннее проявление, %	Симметричное проявление, %	Ожидаемое число симметричных особей, %	pd-ps*	З(pd-ps)
		только слева	только справа	одновременно на обоих крыльях					
L2	104	—	—	104	100	100	100	—	—
L3	104	13	6	15	23,56	14,4	5,55	-0,143	±0,19
L4	104	7	2	3	7,21	2,88	0,52	-0,098	±0,134
L5	104	9	9	22	29,8	21,15	8,88	-0,162	±0,199
C1	104	10	5	76	80,29	73,08	64,46	-0,052	±0,156
C2	104	5	9	72	75,96	69,29	57,7	-0,072	±0,167

П р и м е ч а н и е. *pd — вероятность одностороннего проявления; ps — корень квадратный из эмпирической вероятности выхода симметричной особи.

Таблица 3

Характеристика асимметричного проявления наплывов на жилках у особей, гетерозиготных по аллелю Dl^{SD}

Жилка	N	Число особей, обнаруживающих наплывы			Одностороннее проявление, %	Симметричное проявление, %	Ожидаемое число симметричных особей, %	pd-ps*	3(pd-ps)
		только слева	только справа	одновременно на обоих крыльях					
L ₂	115	35	25	10	34,78	8,70	12,10	-0,053	±0,184
L ₃	115	21	19	5	21,74	4,34	4,73	+0,009	±0,162
L ₄	115	7	5	2	6,96	1,74	0,48	-0,064	±0,119
L ₅	115	4	4	2	5,22	1,74	0,27	-0,082	±0,113
C ₁	115	7	8	3	9,10	2,60	0,83	+0,070	±0,130
C ₂	115	7	109	6	12,61	5,23	1,59	+0,103	±0,150

Примечание. * pd — вероятность одностороннего проявления; ps — корень квадратный из эмпирической вероятности выхода симметричной особи.

Таким образом, обнаруженная асимметрия наплывов на жилках крыла является флуктуирующей и, следовательно, наследственно не обусловленной.

Только дальнейший цитогенетический и молекулярно-генетический анализ сможет объяснить, связаны ли наблюдаемые нами изменения фенотипа с дефектами самого Dl -локуса или модификацией его экспрессии у разных мутантов.

Автор выражает глубокую благодарность И. С. Губенко за помощь и консультации при выполнении этой работы. Автор также благодарит Р. П. Субботу и И. С. Губенко за предоставление коллекции мутантов по локусу Dl у *D. virilis*.

И. А. Козерецька

Аналіз мутантів *Delta Drosophila virilis* з асиметричним розподілом напливів на жилках крила

Резюме

У *D. virilis* серед алелів, пов'язаних з появою мутацій нейрогенного локусу *Delta (Dl)*, одні характеризуються присутністю напливів на жилці L₂ одночасно на обох крилах у всіх гетерозиготних Dl -особин (I тип), інші — низькою пенетрантністю та асиметричним розподілом напливів на L₂ (II тип). Встановлено, що асиметрія ознаки Dl , яка спостерігається на L₂ та усіх інших поздовжніх і поперечних жилках крила в Dl -лініях I та II типів, є не направленою, а флуктуючою.

И. А. Kozeretskaya

Characterization of *Drosophila virilis* *Delta* mutants with asymmetrical wing vein thickenings

Summary

In *D. virilis* two types of *Delta (Dl)* locus alleles are distinguishable.

All *Dl*-heterozygous flies of the first group display delta-like thickenings of L₂ vein in both wings simultaneously (I type). *Dl* alleles of the second group cause low penetrant *Dl* phenotype with irregular asymmetrical thickenings of L₂ vein (II type). The study of phenotypes associated with different *Dl* alleles of I and II types shows that *Dl*-asymmetry of L₂ and all longitudinal (L₃—L₅) and cross (C₁ and C₂) wing veins is rather fluctuational than directional.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Campos-Ortega J. A. Topological specificity of phenotype expression of neurogenic mutations in *Drosophila* // Wilhelm Roux's Arch. Dev. Biol.—1983.—192.—P. 317—326.
2. Campos-Ortega J. A. Genetics of early neurogenesis in *Drosophila melanogaster* // Trends Neurosci.—1985.—8.—P. 245—250.
3. Vassin H., Campos-Ortega J. A. Genetic analysis of *Delta*, a neurogenic gene of *Drosophila* // Genetics.—1987.—116, N 3.—P. 433—445.
4. Lemann R. R., Jimenez F., Dietrich U., Campos-Ortega J. A. On the phenotype and development of mutants of early neurogenesis in *Drosophila melanogaster* // Wilhelm Roux's Arch. Dev. Biol.—1983.—192.—P. 62—74.
5. Alton A. K., Fechtel K., Terry A. L. et al. Cytogenetic definition and morphogenetic analysis of *Delta*, a gene affecting neurogenesis in *Drosophila melanogaster* // Genetics.—1988.—118, N 3.—P. 235—245.
6. Gubenco I. S., Evgen'ev M. B. Cytological and linkage map of *Drosophila virilis* chromosomes // Genetika (Neth).—1984.—128, N 2.—P. 127—139.
7. Астауров Б. Л. Исследование наследственного изменения галтеов у *Drosophila melanogaster* // Журн. эксперим. биологии.—1927.—3, № 1/2.—С. 1—61.
8. Губенко И. С., Суббота Р. П., Хрипунов В. А., Вагин Ю. В. Уточнение генетической карты *Drosophila virilis*: цитологическая локализация локусов *Delta* и *ebony* // Доповіді НАН України.—1995.—№ 4.—С. 126—129.
9. Захаров В. М. Асимметрия животных.—М.: Наука, 1987.—216 с.

УДК 595.773.4