

ГРАЧЕВА М.А., ВОРОБЬЕВА Л.И.

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина,
Украина, 61077, Харьков, пл. Свободы, 4, e-mail: rarog70@mail.ru

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА НА ЭКСПРЕССИВНОСТЬ МУТАЦИИ *eu* И НЕКОТОРЫЕ АДАПТИВНО ВАЖНЫЕ ПРИЗНАКИ *Drosophila melanogaster* Meig

Согласно выдвинутой Д.К.Беляевым концепции дестабилизирующего отбора, ведущую роль в эволюционных преобразованиях играют изменения регуляторных систем организменного уровня [1]. Показано, что направленный отбор по адаптивно важным признакам становится ключевым механизмом, определяющим скорость эволюционных преобразований, создает дополнительные источники изменчивости, реорганизует регуляционную систему и процессы морфогенеза [1-3]. Возникающие при этом комплексные генетические и морфофизиологические изменения могут иметь сложный системный плейотропный эффект на процессы индивидуального развития организма. Различные аспекты таких преобразований изучены недостаточно и представляют существенный интерес, как для развития эволюционной теории, так и для изучения процессов фенотипической реализации генотипа. В связи с этим целью данной работы было изучение влияния генетического фона линий, полученных в результате дестабилизирующего отбора, на проявление мутаций с варьирующей экспрессивностью, показатели активности ядерного генома и адаптивно важные признаки. Ранее нами была изучена взаимосвязь между функцией эндоредупликации гигантских хромосом и экспрессивностью признака *eu* при переведении мутации *eu* на генетический фон линий НА (низкоактивная), ВА (высокоактивная) и *Oregon-R* (дикий тип) [4]. В задачи данной работы входило проанализировать взаимосвязь между изменениями экспрессивности признака *eu* и адаптивно важными признаками – плодовитостью и продолжительностью жизни при переведении мутации *eu* на генетический фон указанных линий.

Линии НА и ВА были получены Л.З. Кайдановым (Санкт-Петербургский университет) в результате длительной селекции по половой активности самцов в сочетании с тесным инбридингом [5]. Отбор привел к приобретению линией НА комплекса генетически контролируемых изменений, важнейшие из которых затронули нейроэндокринную систему мух. Множественность отклонений от нормы в линии НА позволила авторам высказать предположение о том, что в этой линии возникли нарушения ключевых звеньев общего метаболизма либо регуляторных систем общеорганизменного значения и наблюдаемые изменения признаков являются следствием такого «глубинного нарушения» [3].

Материалы и методы

Материалом исследования служили неселектируемая аутбредная линия *eyeless*, а также линии *eu_{НА}*, *eu_{ВА}*, *eu_{Or}*, которые были получены путем шести насыщающих скрещиваний мух линии *eyeless* с мухами высокоинбредных линий НА, ВА и *Oregon-R* *Drosophila melanogaster*. К началу эксперимента неселектируемая линия дикого типа *Oregon-R* прошла 82 поколения инбридинга, селективируемые линии НА и ВА – 750 поколений. После проведения насыщающих скрещиваний линии *eu_{НА}*, *eu_{ВА}*, *eu_{Or}* поддерживали путем тесного инбридинга на протяжении всего эксперимента.

Мух выращивали на стандартной сахарно-дрожжевой среде при температуре 24±0,5°C. Экспрессивность мутации *eu* оценивали по проценту особей с полной редукцией одного или обоих глаз от числа всех мух в исследуемой группе. Плодовитость имаго оценивали по количеству взрослых потомков от одной пары родительских особей. Продолжительность жизни оценивали общепринятым методом. Полученные результаты обработаны методами вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Фенотипическими проявлениями «глубинных нарушений», произошедших в ходе отбора по половой активности самцов в линии НА, являются низкая двигательная активность, низкая плодовитость, высокая эмбриональная смертность, низкая продолжительность жизни имаго, низкое содержание цАМФ, и ряд других показателей [3,7]. В то же время линия ВА, полученная путем возвратного отбора в плюс-направлении из линии НА, существенно превосходит линию НА по плодовитости, теплоустойчивости, жизнеспособности, скорости развития, конкурентоспособности, степени политении хромосом и другим показателям [3,6-8].

При переведении мутации *eu* на генетический фон линий НА, ВА и *Oregon-R* установлено увеличение плодовитости и продолжительности жизни (Таблица 1) в насыщенных линиях по сравнению с исходной линией *eyeless*. Значения этих показателей коррелируют со значениями средней степени политении хромосом [4]. При этом в линиях *eu_{НА}*, *eu_{ВА}* сохраняется характер различий между линиями НА и ВА: линия *eu_{ВА}* существенно превосходит линию *eu_{НА}* по плодовитости и продолжительности жизни (степень достоверности различий, соответственно, $p < 0,001$ и $p < 0,05$), а также по степени политении хромосом [4]. В то же время в ходе проведенных насыщающих скрещиваний генетические системы, детерминирующие уровень политении хромосом и другие изучаемые нами признаки в исходных линиях, претерпели, по-видимому, ряд существенных преобразований. Вследствие этого в синтезированных линиях (*eu_{НА}*, *eu_{ВА}*) возрос уровень гетерозиготности и влияние последствий длительного инбридинга и селекции значительно ослабло. Этим можно объяснить увеличение средней степени политении в линиях *eu_{НА}* и *eu_{ВА}* по сравнению с исходными линиями НА и ВА [4,6,7]. При этом важно отметить статистически достоверное преимущество линии *eu_{ВА}* по плодовитости и продолжительности жизни также и над линией *eu_{Or}* – производной от линии дикого типа.

Таблица 1.

Экспрессивность мутации *eu*, плодовитость и продолжительность жизни в линиях *Drosophila melanogaster*, несущих мутантный ген *eu* на различном генетическом фоне.

Показатели		Линии дрозофилы			
		<i>eu</i>	<i>eu_{НА}</i>	<i>eu_{ВА}</i>	<i>eu_{Or}</i>
Экспресси- в- ность признака <i>eu</i> , %	Самки	3,83 ± 0,28	1,82 ± 0,3***	1,77 ± 0,12***	1,62 ± 0,24***
	Самцы	3,01 ± 0,26	0,82 ± 0,19***	0,81 ± 0,14***	0,48 ± 0,12***
	Среднее	3,43 ± 0,19	1,29 ± 0,18***	1,29 ± 0,12***	1,02 ± 0,13***
Продолжи- тельность жизни, сутки	Самки	18,94 ± 0,54	24,2 ± 2,03	30,5 ± 1,24***	23,54 ± 1,67
	Самцы	22,89 ± 0,49	30,85 ± 1,8***	32,7 ± 0,93***	23,48 ± 1,32
	Среднее	20,85 ± 0,37	28,01 ± 1,38***	31,7 ± 0,76***	23,5 ± 1,03
Плодовитость		63,1 ± 2,93	97,7 ± 8,5***	205 ± 8,49***	134 ± 9,68***

Примечание: * – степень достоверности различий по сравнению с аутбредной линией *eyeless* $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$

Переведение мутации *eu* на генетический фон линий НА, ВА и *Oregon-R* приводит к резкому снижению экспрессивности мутантного фенотипа (Таблица 1). Одна из возможных причин этого – более низкий уровень гетерозиготности в линиях *eu_{НА}*, *eu_{ВА}* и *eu_{Or}*, чем в аутбредной линии *eyeless*. Аналогичный эффект был получен также в работе Л.И. Воробьевой [9] при переведении данной мутации на генетический

фон инбредной линии дикого типа *Canton-S*. Увеличение числа глазных фасеток в насыщенных линиях, вероятно, обусловлено увеличением числа аллелей генов, позитивно влияющих на нормальную экспрессию гена *ey*. При этом существенная роль принадлежит генам-модификаторам, локализованным в X-хромосоме и/или взаимодействию генов аутосом и половых хромосом: в линиях *ey_{HA}*, *ey_{VA}* и *ey_{Or}* резко – в два-три раза – возрастают половые различия по экспрессивности мутации *ey* по сравнению с исходной линией *eyeless* (Таблица 1). Практически одинаковая экспрессивность мутации *ey* в линиях *ey_{HA}* и *ey_{VA}*, а также отсутствие значимых различий по данному показателю между этими линиями и линией *ey_{Or}* (Таблица 1) свидетельствует о том, что реорганизация генома дрозофилы, произошедшая в результате длительного направленного отбора по половой активности самцов в линиях HA, VA [3], по-видимому, не затронула систем регуляции экспрессии гена *ey*.

Сходство характера распределения значений СПХ, плодовитости и продолжительности жизни в линиях *eyeless*, *ey_{HA}*, *ey_{VA}*, *ey_{Or}* позволяет предположить механизм, обуславливающий характер этих зависимостей. Как известно, созревание яиц у дрозофилы происходит при участии специализированных клеток – трофоцитов. Из питающих клеток в ооцит поступают РНК различных типов, белки, некоторые цитоплазматические органеллы (рибосомы, митохондрии). Накопленные в ооплазме компоненты после оплодотворения определяют ранние события эмбриогенеза [10]. Высокая интенсивность синтетических процессов в трофоцитах обусловлена умножением дозы генов при последовательных эндоредупликациях хромосом. Возможно, влияние генотипа линий *eyeless*, *ey_{HA}*, *ey_{VA}* и *ey_{Or}*, на функцию эндоредупликации гигантских хромосом наблюдаемое при исследовании клеток слюнных желез, проявляется также и в ядрах трофоцитов. Таким образом, генетически обусловленные различия по степени полипloidности хромосом могут оказывать непосредственное действие, как на плодовитость имаго, так и на жизнеспособность особей следующего поколения.

Выводы

1. При переведении мутации *ey* на генетический фон линий HA, VA и *Oregon-R* установлено резкое снижение экспрессивности мутантного фенотипа по сравнению с исходной линией *eyeless*.
2. Показано статистически достоверное увеличение степени полипloidности хромосом, плодовитости, продолжительности жизни в линиях *ey_{HA}*, *ey_{VA}*, *ey_{Or}* по сравнению с исходной линией *eyeless*.

Литература

1. *Беляев Д.К.* Дестабилизирующий отбор // Развитие эволюционной теории в СССР (1917-1970-е годы) / Ред. Микулинский С.Р., Полянский Ю.И. – Л.: Наука. – 1983. – С. 266-277.
2. *Трут Л.Н.* Система эволюционных взглядов академика Д.К. Беляева, ее предпосылки и основные положения // Проблемы генетики и теории эволюции/ Ред. Шумный В.К., Рувинский А.О. – Новосибирск: Наука. – 1991. – С. 52-67.
3. *Кайданов Л.З., Мыльников С.В., Галкин А.П.* и др. Генетические эффекты дестабилизирующего отбора при селекции по адаптивно важным признакам в линиях *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 1997. – Т. 33, №8. – С. 1102-1109.
4. *Рарог (Грачева) М.А., Воробьева Л.И., Страшнюк В.Ю.* Влияние генотипа на функцию эндоредупликации гигантских хромосом и экспрессивность признака *eyeless* у *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 2003. – Т.39, №8. – С. 1053-1058.
5. *Кайданов Л.З.* Анализ генетических последствий отбора и инбридинга у *Drosophila melanogaster* // Журн. общ. биологии. – 1979. – Т. 40, №6. – С. 834-849.
6. *Страшнюк В.Ю., Ненейвода С.Н., Шахбазов В.Г.* Цитоморфометрическое исследование полипloidных хромосом *Drosophila melanogaster* Meig в связи с

- эффектом гетерозиса, отбором по адаптивно важным признакам и полом // Генетика. – 1995. – Т. 31, №1. – С. 24-29.
7. Кайданов Л.З., Мыльников С.В., Иовлева О.В., Галкин А.П. Направленный характер генетических изменений при длительном отборе линий *Drosophila melanogaster* по адаптивно важным признакам // Генетика. – 1994. – Т. 30, №8. – С. 1085-1096.
 8. Страшнюк В.Ю. Генетична варіабельність та адаптивні модифікації ступеня політенії гігантських хромосом у *Drosophila melanogaster* // Труды по фундаментальной и прикладной генетике. – Харьков: Штрих, 2001. – С. 285-295.
 9. Воробьева Л.И. Зависимость эффекта гетерозиса от уровня гетерозиготности исходных линий: Дис. ... канд. биол. наук. Харьков: Харьковский гос. ун-т, 1988. 170 с.
 10. Cummings M.K., Robin M.S., Ganetzky B. Biochemical aspects of oogenesis in *Drosophila melanogaster* // J. Ins. Physiol. – 1971. – vol. 17. – P. 2105-2118.

Резюме

При переведении мутации *ey* на генетический фон высокоинбредных линий НА (низкоактивная), ВА (высокоактивная) и *Oregon-R* (дикий тип) *Drosophila melanogaster* установлено резкое снижение экспрессивности мутантного фенотипа, а также достоверное увеличение плодовитости, продолжительности жизни, по сравнению с исходной аутбредной линией *eyeless*.

При переведенні мутації *ey* на генетичне оточення ліній високоінбредних НА (низькоактивна), ВА (високоактивна) та *Oregon-R* (дикий тип) *Drosophila melanogaster* встановлено різке зниження експресивності мутантного фенотипу, а також вірогідне збільшення плодючості, тривалості життя порівняно з аутбредною лінією *eyeless*.

On genetic background of lines LA (low activity), HA (high activity), and *Oregon-R* (wild type) *Drosophila melanogaster* expressivity of the *ey* mutation was shown to be far lower than in original *eyeless* line. But in lines *ey*_{LA}, *ey*_{HA}, *ey*_{Or}, fecundity, life span were significantly higher compared with original *eyeless* lines.

ДМИТРИЄВ О. П., КРАВЧУК Ж.М., НАУМЕНКО В.Д., ПОЛЯКОВСЬКИЙ С.О., ДЯЧЕНКО А.І.

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
Київ, 03143 вул. акад. Заболотного, 148, e-mail: dmyt@iatp.org.ua*

ІНДУКУВАННЯ СИСТЕМНОЇ СТІЙКОСТІ У РОСЛИН ЗА ДОПОМОГОЮ БІОГЕННИХ ЕЛІСИТОРІВ

Захист рослин, як відомо, ґрунтується на двох головних принципах: одержанні стійких сортів і використанні пестицидів. Однак процес селекції стійких сортів є досить тривалим і виникнення нових вірулентних рас патогенів найчастіше випереджає можливості селекціонерів. Крім того, орієнтація селекційної роботи в останні десятиліття на підвищення врожайності сільськогосподарських культур привела до значного ослаблення їхньої стійкості. Що стосується пестицидів, то майже всі вони відносяться до класів сполук, серед яких зустрічаються мутагени і канцерогени. Наявність залишкових кількостей пестицидів у складі готової сільськогосподарської продукції може створювати загрозу здоров'ю населення [1]. І, нарешті, деякі навіть найбільш ефективні пестициди справляють моносайтову дію, внаслідок чого в популяціях фітопатогенів можуть накопичуватися резистентні до них форми.