

1. Голуб Н. Я., Черник Я. И. Мутации, индуковані рентгенівським опроміненням та деякими хімічними реагентами, що змінюють тривалість життя *Drosophila melanogaster* // *Цитология и генетика*, 2008. – Т. 42, №1. – С. 37 – 44.
2. Андриевский А. М., Кучеров В. А., Тоцкий В. Н., Деркач Е. В. Онтогенетические особенности экспрессии карбоксиэстераз у *Drosophila melanogaster* // *Вісник ОНУ*, 2005. – Т. 10. – Вип. 5. – С. 26 – 33.
3. Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Андриевский А. М., Гандирук Н. Г., Белова Г. И., Есеркепова Е. В. Экспрессивность ген-энзимных систем и показатели жизнеспособности в онтогенезе инбредных линий и гибридов дрозофилы // *Генетика*, 1990. – Т. 26, № 10. – С. 1791 – 1799.
4. Андриевский А. М. Половой диморфизм по экспрессии эфиров карбоновых кислот в популяциях *Drosophila melanogaster* // *Вісник ОНУ*, 2006. – Т. 11, Вип. 9. – С. 7 – 17.
5. Андриевский А. М., Кучеров В. А., Кундиева Е. П. Полове различия карбоксиэстераз у *Drosophila melanogaster* дикого типа // *Вісник ОНУ*, 2006. – Т. 11, Вип. 6. – С. 26 – 31.
6. Медведев Н. Н. Практическая генетика. – Москва: Наука, 1966. – 238 с.
7. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. – М.: Мир, 1982. – Издание в 3-х томах. – Т. 1. – 389с.
8. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высшая школа, 1973. – 320 с.

### Резюме

Аналізували різноманітність та експресію молекулярних форм карбоксиэстераз у самців природних популяцій *Drosophila melanogaster*, взятих із Чорнобильської зони відчуження. Во всіх природних популяціях встановлено поліморфізм по локусу  $\beta$ -специфічної естерази. Показано міжпопуляційні відмінності в експресії основних форм ферментів. Обговорюється питання залежності експресії ферментів карбоксиэстеразної системи від рівня радіації в ареалах проживання досліджуваних груп дрозофіл.

Аналізували різноманітність та експресію молекулярних форм карбоксиэстераз у самців природних популяцій *Drosophila melanogaster*, взятих із Чорнобильської зони відчуження. В усіх природних популяціях встановлено поліморфізм по локусу  $\beta$ -специфічної естерази. Показано міжпопуляційні відмінності в експресії основних форм ферментів. Обговорюється питання залежності експресії ферментів карбоксиэстеразної системи від рівня радіації в ареалах проживання досліджуваних груп дрозофіл.

A variety and expression of molecular forms of carboxyesterases in males from natural populations of *Drosophila melanogaster* taken from the Chernobyl zone of alienation have been analyzed. A polymorphism in  $\beta$ -specific esterase's locus has been revealed in all of natural populations. Interpopulation distinctions are shown in expression of basic forms of the studied enzymes. The question about dependence level of enzymes expression of carboxyesterases system from the level of radiation in the natural habitats of dwelling in the investigated groups of *Drosophila*.

### ОСЬКИНА И.Н., ПРАСОЛОВА Л.А.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, пр. акад. Лаврентьева, 10,  
Новосибирск, 630090, E-mail: oskina@bionet.nsc.ru*

### АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ ВОЗНИКНОВЕННЯ БЕЛОЙ ПЯТНИСТОСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДОМЕСТИКАЦИИ

Одной из особенностей формообразовательного процесса у животных при повторении одной и той же эволюционной ситуации является сходный характер

изменений, возникающих у представителей разных систематических групп. Ярким примером может служить конвергентный характер морфофизиологических преобразований домашних животных. Так, депигментация участков мехового покрова или белая пятнистость часто наблюдается у домашних и лабораторных животных и является проявлением мутаций генов, которые ответственны за скорость миграции и дифференцировки меланобластов из нейрального креста [1]. Согласно одному из положений концепции отбора Д.К. Беляева, морфофизиологическое сходство при эволюционном преобразовании поведения при domestikации животных может быть обусловлено не только генетической общностью, но и однонаправленным изменением регуляторных систем организма при одном и том же векторе отбора [2]. В ходе многолетнего эксперимента по отбору разных животных (серебристо-черная лисица, норка, серая крыса) на социальную адаптацию к условиям неволи и близкому контакту с человеком были продемонстрированы однонаправленные изменения поведения и некоторых морфологических признаков. Одним из первых морфологических изменений у всех животных экспериментальной domestikации была депигментация определенных участков кожно-мехового покрова [3]. У серебристо-черных лисиц – это полудоминантная мутация “*Star*”, возникающая с высокой частотой в domestikируемой популяции [4]. В domestikируемой популяции серых крыс также возрастает частота возникновения и экспрессия депигментации, детерминируемой полурецессивной мутацией *hooded*, которая у гетерозигот приводит к возникновению белой пятнистости на вентральной стороне тела [5].

Согласно гипотезе Д. К. Беляева, перенос животных в новую среду обитания и близкий контакт с человеком были стрессующими воздействиями, и на первых этапах domestikации отбор на элиминацию агрессивного поведения к человеку являлся и отбором на стресс-реактивность, вовлекая в сферу своего влияния нервную и эндокринную системы. Самые первые и наиболее глубокие изменения при отборе на domestikацию произошли в функционировании гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе (ГГНС), как основной системе адаптации и стресса. Отбор привел к ослаблению активности всех звеньев этой системы у всех объектах экспериментальной domestikации [6]. Хорошо известно, что развитие организма в эмбриогенезе невозможно без участия глюкокортикоидных гормонов. Эти гормоны в эмбриогенезе оказывают влияние не только на структурное развитие органов, но также на созревание и “программирование” различных систем [7]. Наши исследования показали, что возникновение белых пегостей у серебристо-черных лисиц, детерминируемых геном “*Star*”, происходит из-за задержки на 1 -2 дня миграции меланобластов в кожу. Аллели локуса *hooded* у крыс также задерживают миграцию меланобластов, в результате этого меланоциты отсутствуют в волосяных фолликулах депигментированных участков [8]. Представляло интерес исследовать содержание глюкокортикоидов во время беременности у domestikируемых серебристо-черных лисиц и серых крыс, а также изучить роль ГГНС в механизмах возникновения депигментации у селекционируемых по поведению животных на примере экспериментальной domestikации дикой серой крысы.

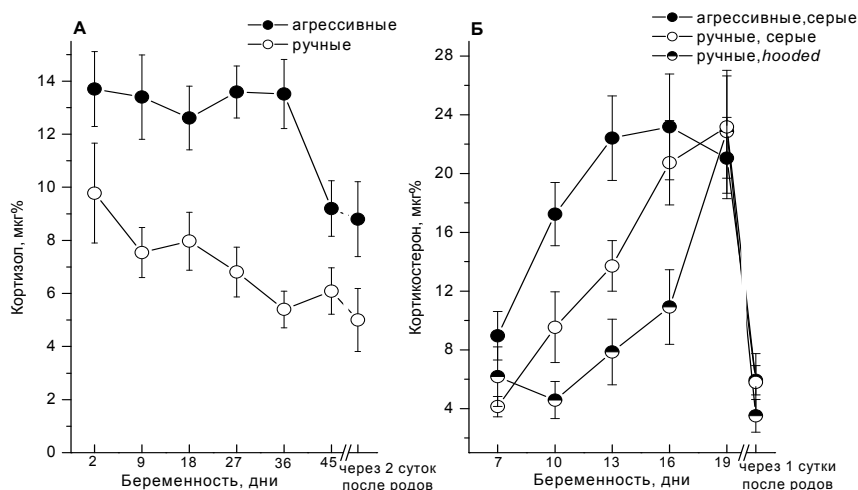
#### **Материалы и методы**

Кровь для последующего определения гормонов была взята в различные сроки беременности у недомestikируемых (агрессивные) и domestikируемых (ручные) лисиц и крыс в различные сроки беременности. На следующем этапе работы изменяли гормональный фон беременных полностью пигментированных серых самок крыс из недомestikируемой популяции. Для этих целей в 1-ом эксперименте на 12 -14 дни беременности самки были стрессированы. В качестве стрессорной стимуляции использовали ограничение подвижности в течение 45 минут 3 раза в день. Во 2-ом эксперименте самкам в эти же сроки беременности вводили подкожно дексаметазон (Sigma) в дозе 50 мкг на крысу или растворитель. У 18 – 20-дневных эмбрионов на

гистологических препаратах оценивалась картина развития меланобластов в коже. А у взрослых потомков этих самок был описан фенотип окраски меха с указанием мест расположения депигментированных участков и исследована реакция ГНС на стресс. Глюкокортикоиды в плазме крови определяли методом конкурентного белкового связывания. Меланобласты в коже выявляли серебрением по Masson.

### Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что содержание глюкокортикоидов в крови во время беременности значительно снижено и у лисиц, и у крыс (рис. 1). При этом у лисиц уровни гормонов в разные сроки беременности незначительно менялись (рис. 1А), а у крыс независимо от типа поведения уровни гормонов повышались к концу беременности. Следует отметить, что у агрессивных крыс уровень кортикостерона в крови начинал увеличиваться с 10 дня, достигая максимальных значений к 13 дню беременности, а у серых ручных крыс – только к 16 дню. У ручных же крыс гомозиготных по гену *hooded* содержание гормона в крови незначительно менялось с 7-го по 16-й дни беременности и резкое повышение происходило только к 19-му дню (рис. 1Б).

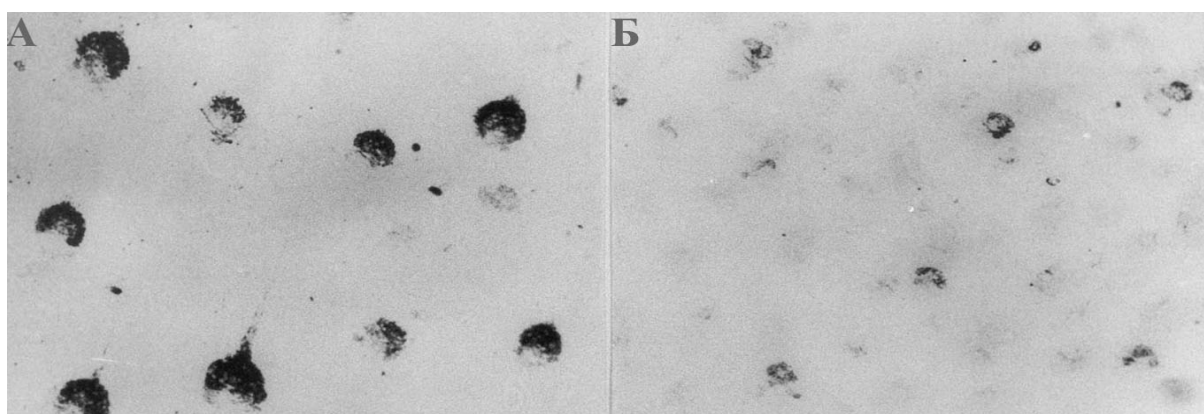


**Рис. 1.** Уровень глюкокортикоидов в крови у серебристо-черных лисиц (А) и крыс (Б) во время беременности

Проведенные нами исследования показали, что эмбриональный механизм специфической пегости на голове у лисиц, детерминируемой геном *S* (*Star*) [4] и на вентральной стороне у диких серых крыс *Agouti*, детерминируемой геном *h* сходен и состоит в задержке миграции меланобластов из нейрального креста в кожу. Таким образом, при отборе животных разных видов (с-ч лисица, дикая серая крыса) на доместикационное поведение отмечают однонаправленные изменения как в функции ГГНС, так и в проявлении депигментации, обусловленной, по-видимому, одними и теми же механизмами в период эмбрионального развития, а именно - задержкой миграции меланобластов из нейрального креста и связанных с этим задержкой пролиферации и дифференцировки меланобластов.

Рестрикционный стресс на 12 – 14 дни беременности приводил к задержке миграции и дифференцировки меланобластов в коже эмбрионов серых агрессивных крыс. Так, если у 20-дневных плодов контрольной группы крыс в коже головы и шеи хорошо видны не только отдельные меланобласты, но и формирующиеся волосяные фолликулы, в которые меланобласты поступают, то в коже у плодов стрессированных матерей присутствуют, в основном, лишь отдельные меланобласты и первичные волосяные фолликулы еще не сформированы. В результате это приводит к рождению с более высокой частотой, чем в контроле потомков, имеющих на вентральной стороне

депигментированные участки (контрольные потомки – 10%, потомки стрессированных самок – 35%). Кроме того, стрессорная стимуляция на 12 -14 дни беременности вызывает снижение функциональной активности ГГНС у взрослых потомков этих самок. Хорошо известно, что при действии стресса изменяется функционирование многих систем организма, некоторые из них также могут влиять на развитие меланобластов, поэтому в следующем эксперименте агрессивным серым самкам в эти же сроки беременности вводили дексаметазон или физиологический раствор. Введение дексаметазона привело к достоверному снижению уровня кортикостерона у эмбрионов на 18-19 дни беременности, а у взрослых потомков реакция на эмоциональный стресс была снижена почти в полтора раза и сопоставима с реакцией на данное воздействие у ручных животных. Исследования также показали, что степень развития (количество и дифференцировка) меланобластов в коже у эмбрионов экспериментальной группы на 20 день эмбриогенеза значительно ниже, чем у эмбрионов контрольной группы этого возраста и соответствует примерно 18.5 дням эмбрионального развития у контрольной группы (рис.2). Кроме того, среди родившихся потомков, матери которых получали дексаметазон, процент крыс с депигментацией на вентральной поверхности тела возрастал примерно в 4 раза по сравнению с контрольной популяцией.



**Рис. 2.** Влияние введения дексаметазона беременным полностью пигментированным самкам на развитие меланобластов у 20-дневных эмбрионов.

А – контрольная группа, Б – экспериментальная группа.

Таким образом, на основании полученных результатов, можно полагать, что вектор отбора на доместикационное поведение совпадает по направлению с вектором действия глюкокортикоидов на меланогенез в эмбриогенезе и изменение функционального состояния ГГНС может являться одной из причин возникновения депигментаций у животных при отборе на доместикацию. Вероятно, на первых этапах отбора, когда давление стресса было велико, наибольшей приспособленностью к жизни в условиях неволи обладали животные с депигментацией мехового покрова. Показано, что в природных популяциях при возрастании популяционного стресса резко увеличивается численность животных с белой пятнистостью [9]. В последнее время, в литературе высказывается точка зрения, что внешняя среда и сам отбор могут вызывать направленную изменчивость фенотипов [10, 11]. Однако механизмы, вызывающие эту изменчивость, пока недостаточно изучены. Одним из таких механизмов эпигенетических изменений является процесс метилирования ДНК. Не исключено, что глюкокортикоиды играют в этом определенную эволюционную роль, так как они не только участвуют в регуляции многих функций взрослого организма и в «программировании» различных систем в эмбриогенезе, но, как свидетельствуют литературные данные, контролируют метилирование генома [12].

Работа поддержана грантом РФФИ №08-04-01412 и Программой Президиума РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов».

### Литература

1. Klungland H., Vage D. Molecular genetics of pigmentation in domestic animals // Current Genomics.- 2000.- Vol. 1. P. 223-242.
2. Беляев Д.К. Проблемы и перспективы исследований по генетике и селекции животных// Генетика.- 1987.- Т. 23. С. 937-946.
3. Трут Л.Н. Некоторые аспекты генетики пегостей серебристо-черных лисиц (*Vulpes vulpes* L.) и взаимоотношения вектора отбора и направления изменчивости.// Проблемы генетики и теории эволюции.- Новосибирск: Наука. -1991. С.- 67-84.
4. Прасолова Л.А., Трут Л.Н. Эффект гена “Star” на скорость миграции меланобластов у эмбрионов серебристо-черных лисиц (*Vulpes vulpes*).//ДАН.-1993.- Т. 329. С. 787-789.
5. Трут Л.Н., Плюснина И.З., Прасолова Л.А., Ким А.А. Hooded аллель и отбор диких серых крыс (*Rattus norvegicus*) по поведению.// Генетика.- 1997.- Т. 33. С. 679-685.
6. Оськина И.Н., Плюснина И.З. Гипофизарно-надпочечниковая система при отборе животных на доместикационное поведение.// Современные концепции эволюционной генетики. Новосибирск: ИЦиГ.- 2000.- С. 327-334.
7. Seckl JR. Glucocorticoids, developmental 'programming' and the risk of affective dysfunction.// Prog. Brain Res.- 2008.- Vol. 167. P. 17-34.
8. Yamamura K. Ogita Z. Markert C. The use of chimeric rats in the analysis of the hooded pigmentation pattern.// In: Genetic approaches to developmental neurobiology. - Berlin: Springer-Verlag.- 1982.- P. 111-120.
9. Потапов М.А., Рогов В.Г., Евсиков В.И. Влияние популяционного стресса на встречаемость водяных полевок (*Arvicola Terrestris* L.) с белыми отметинами.// ДАН.- 1998.- Т. 358.- С. 713-715.
10. Guerrero-Bosagna C., Sabat P., Valladares L. Environmental signaling and evolutionary change: can exposure of pregnant mammals to environmental estrogens lead to epigenetically induced evolutionary changes in embryos?// Evol. Devel.- 2005- Vol. 7. P. 341–350.
11. Rando O., Verstrepen R. Timescales of Genetic and Epigenetic Inheritance.//Cell.- 2007.- Vol. 128. P. 655–668.
12. Ванюшин Б.Ф. Метилирование ДНК и эпигенетика.//Генетика. 2006.- Т. 42. С. 1186-1199.

### Резюме

Установлено, что глюкокортикоидные гормоны принимают участие в развитии меланобластов и возникновении депигментации у животных при отборе на доместикационное поведение.

It is shown that the glucocorticoid hormones may be involved in melanoblast development and in the appearance of white spotting in animals selected for domestic behavior.

**ПОТОПАЛЬСЬКИЙ А.І., ЮРКЕВИЧ Л.Н., КАЦАН В.А.**

*Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,  
Україна, 03143, Київ, проспект академіка Заболотного, 150,  
e-mail: potopalsky@imbg.org.ua*