

**С. Л. Міресь**, канд. біол. наук, доц.,  
**О. М. Андрієвський**, канд. біол. наук, доц.,  
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,  
кафедра генетики і молекулярної біології,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,  
e-mail: andriev\_scar@mail.ru

## ЕКСПРЕСИВНІСТЬ $\beta$ -СПЕЦИФІЧНОЇ КАРБОКСИЕСТЕРАЗИ ТА МАСА ТІЛА У САМЦІВ І САМОК ІМАГО *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Визначали типи розподілу показників експресії  $\beta$ -естерази та маси тіла імагінальних форм самців і самок дрозофіли ліній *Canton-S*, *Bar* та *vestigial*. Отримані кількісні характеристики піддавали кореляційному аналізу. Встановлено відсутність кореляції між рівнем експресивності  $\beta$ -естерази та масою тіла як у самців, так і у самок досліджуваних ліній *Drosophila melanogaster*.

**Ключові слова:** *Drosophila melanogaster*, лабораторні лінії, експресивність  $\beta$ -карбоксіестерази, маса тіла особин.

Естерази, до яких належить  $\beta$ -карбоксіестераза, виконують в організмі важливу роль підтримки фізіологічного балансу вільних і зв'язаних органічних кислот та спиртів, приймають участь у детоксикації ксенобіотиків і таким чином можуть демонструвати адаптаційні можливості організму [1]. Як відомо, у багатьох токсикологічних та фармакогенетичних дослідженнях розрахунки ведуться саме на одиницю маси тіла [2], але в літературі майже відсутня інформація про зв'язок ферментів, що приймають участь у детоксикації, з масою тіла. Відомо, що активність деяких з цих ферментів корелює з масою тіла, а деяких — ні [3]. Стосовно карбоксіестераз нами не було знайдено подібних даних. Тому метою даної роботи було визначення можливої наявності кореляційного зв'язку між експресивністю  $\beta$ -специфічної карбоксіестерази та масою тіла імагінальних форм самців і самок *Drosophila melanogaster* трьох колекційних ліній: *Canton-S*, *Bar*, *vestigial*.

В задачі дослідження входило: 1) встановити рівень експресивності  $\beta$ -естерази самців та самок досліджуваних ліній дрозофіли; 2) визначити масу тіла особин імаго, що належать до різних ліній; 3) встановити можливу наявність взаємозв'язку між експресивністю  $\beta$ -естерази та масою тіла дрозофіли на імагінальній стадії розвитку.

### Матеріали та методи дослідження

Експериментальним матеріалом слугували самці і самки імаго лабораторних ліній *Drosophila melanogaster* (Meigen) дикого типу (*Canton-S*, *C-S*), а також мутантних: *Bar* (*B*, I хромосома, смуговидні очі) і *vestigial* (*vg*, II хромосома, недорозвинуті крила). Мух утримували за стаціонарних умов на стандартному живильному середовищі при температурі 25 °C [4].

$\beta$ -Форму карбоксиестерази визначали за допомогою вертикально-пластинчастого електрофорезу у 10 % поліакриламідному гелі при  $pH$  8,3 та силі струму 40 мА. Гомогенат тканин готували з окремо взятих особин імаго одного віку (3 доба розвитку) в 10 мкл 0,1 М гліцин- $NaOH$  буфера  $pH$  9,0, що містив 1 % тритону X-100. Отримані гомогенати центрифугували протягом 15 хв при 10 000 g та 4 °С. До відібраних екстрактів додавали по 5 мкл 0,01 % розчину бромфенолового синього, що містив 60 % сахарози. Підготовлені зразки піддавали електрофоретичному розподілу, після чого гелеві блоки відмивали дистильованою водою до нейтрального значення  $pH$  та витримували 15 хв в 50 мл 0,1 М трис-гліцинового буфера  $pH$  7,4. Потім інкубували в 25 мл того ж буфера з додаванням 12 мг  $\beta$ -нафтилацетату та 25 мг синього міцного ВВ. Інкубація гелей в субстратному середовищі тривала 20 хв, після чого реакційну суміш декантували, а гелі заливали кип'ячою дистильованою водою, сканували й аналізували за допомогою комп'ютерної денситометрії, використовуючи спеціальну ліцензійну програму "АнаИС". Про рівень експресивності досліджуваного ферменту судили по інтенсивності забарвлення азобарвником індивідуальної зони гелю, що співпадає з місцем специфічного розташування  $\beta$ -карбоксиестерази на момент завершення електрофорезу. Експресію ферменту виражали через відносні одиниці оптичної щільності ( $\Delta Do$ ).

Масу особин імаго визначали після наркотизації мух, безпосередньо перед виготовленням із них екстрактів, шляхом зважування на аналітичних терезах з точністю до 0,1 мг.

Перевірку на характер статистичного розподілу отриманих дат, що відображали експресивність ферменту та масу тіла досліджуваних мух, проводили за допомогою критерію Шапіро — Уїлка ( $W$ ). При  $W_{\text{факт.}} > W_{\text{табл.}}$  розподіл вважали нормальним [5, 6].

Достовірність відмінностей показників у імаго різної статі визначали за непараметричним критерієм Уїлкоксона ( $U$ ) для малих вибірок [5, 6].

Кореляційні зв'язки визначали за допомогою непараметричного коефіцієнту кореляції Спірмена ( $r_s$ ). Розрахунки проводили за допомогою комп'ютерної програми "Microsoft Excel". Достовірність отриманих показників кореляції визначали за спеціальними таблицями при рівні значущості  $P \leq 0,05$  [5, 6].

Повторність спостережень складала: для самців та самок лінії *Canton-S* — по 14 пар дат, для особин ліній *vestigial* і *Bar* — по 15 пар дат.

У роботі використовували реактиви фірм "Reanal" (Угорщина) та "Chemapol" (Чехія), а також установку для електрофорезу "VE-4" російського виробництва (м. Москва, МДУ, "Helikon").

## Результати дослідження та обговорення

Нормальний розподіл є найбільш поширеним розподілом у математичній статистиці. Він оперує безперервними випадковими величинами, значення яких визначаються безліччю одночасно діючих незалежних факторів. Нормальний розподіл є характерним для багатьох кількісних ознак, до яких можна віднести також експресивність ферментів і масу тіла. Проте часто в біологічних дослідженнях замість очікуваного нормального розподілу виникає асиметричний. Причин цього явища декілька. Це можуть бути механічні причини, пов'язані з технікою проведення досліджень, недостатня вибірка, або особливі умови зовнішнього середовища, за яких відбувається розвиток організму. Генетична причина асиметрії обумовлюється взаємодіями алельних і неалельних генів. До речі, двовершність кривої розподілу може вказувати на дію дизруптивного добору або наявність поліморфних угруповань у популяціях. У будь-яких випадках перевірка дат на нормальність розподілу становить першу процедуру статистичного аналізу.

Так, аналіз отриманих нами кількісних даних про експресивність  $\beta$ -естерази та масу тіла на нормальність розподілу показав наступне (табл. 1).

З наведеної таблиці можна бачити, що нормальним є розподіл пари дат лише для варіанта "Самки C-S"; отже, тільки для цього варіанта можна застосовувати параметричні статистичні методи. У всіх інших варіантах нормально розподіляється тільки одна ознака з пари. Для особин ліній B та *vg* — це експресивність ферменту, а для самців лінії C-S — це маса тіла. В цих випадках для обробки результатів використовували непараметричні критерії.

Як відомо з попередніх досліджень [1, 7, 8], у дрозофіли існує статевий диморфізм з багатьох ознак, таких як активність ферментів, тривалість життя тощо. Враховуючи цю обставину, за наявності у досліджуваній вибірці двох морфогруп кореляційний аналіз проводили для кожної групи окремо з метою запобігання отриманню невірних результатів. Тому для досліджуваних ліній проводили порівняльний аналіз кількісних показників у самців та самок окремо (табл. 2).

Порівняльний аналіз за допомогою непараметричного критерію Уїлкоксона (*U*) вказує на наявність достовірної різниці між показниками ознак досліджуваних самців та самок, за виключенням експресивності ферменту у мух лінії *vg*. В інших варіантах самці переважають самок за експресивністю  $\beta$ -естерази, а самки переважають самців за масою тіла.

У зв'язку з цим кореляційний аналіз ми проводили окремо для самців і самок кожної лінії. У разі використання критерію Спірмена було отримано такі результати (табл. 3).

Незважаючи на різні значення коефіцієнтів кореляції, наведених у таблиці 3, достовірної кореляції у всіх варіантах досліджуваної дрозофіли не було. Таким чином, можна зробити висновок, що показники активності  $\beta$ -естерази та маси тіла дрозофіли на імагінальній стадії розвитку не залежать один від одного.

Таблиця 1

Визначення типу розподілу досліджуваних кількісних показників імаго *Drosophila melanogaster*

Критерій Шapiro — Уїлка	C-S				B				vg			
	Самці (n = 14)		Самки (n = 14)		Самці (n = 15)		Самки (n = 15)		Самці (n = 15)		Самки (n = 15)	
	Експресія ферменту	Маса тіла	Експресія ферменту	Маса тіла	Експресія ферменту	Маса тіла	Експресія ферменту	Маса тіла	Експресія ферменту	Маса тіла	Експресія ферменту	Маса тіла
W <sub>факт.</sub>	0,026	0,876	0,916	0,931	1,012	0,765	0,947	0,778	1,012	0,766	0,982	0,844
W <sub>табл.</sub>	0,874	0,874	0,874	0,874	0,881	0,881	0,881	0,881	0,881	0,881	0,881	0,881
	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Примітка: \* — дані у вибірці виявляють нормальний розподіл ( $P \leq 0,05$ ).

Таблиця 2

Показники експресивності  $\beta$ -естерази та маси тіла імаго різних ліній *Drosophila melanogaster*

Критерій	C-S				B				vg			
	Маса тіла, мг		Експресія ферменту, $\Delta Do$		Маса тіла, мг		Експресія ферменту, $\Delta Do$		Маса тіла, мг		Експресія ферменту, $\Delta Do$	
	Самці	Самки	Самці	Самки	Самці	Самки	Самці	Самки	Самці	Самки	Самці	Самки
1,006	0,413*	0,911	1,457*	2,127	1,234*	0,783	1,280*	0,598	0,648	0,713	1,003*	

Примітка: \* — відмінності достовірні у порівнянні з самцями ( $P \leq 0,05$ ).

Кореляція між експресивністю β-естерази та масою тіла *Drosophila melanogaster* за критерієм Спірмена

Коефіцієнт кореляції Спірмена	C-S		B		vg	
	Самці (n = 14)	Самки (n = 14)	Самці (n = 15)	Самки (n = 15)	Самці (n = 15)	Самки (n = 15)
$r_{s \text{ факт.}}$	- 0,011	+ 0,076	+ 0,181	+ 0,342	- 0,210	+ 0,207
$r_{s \text{ табл.}}$	± 0,540	± 0,540	± 0,520	± 0,520	± 0,520	± 0,520

Примітка: при  $r_{s \text{ факт.}} < r_{s \text{ табл.}}$  — кореляція відсутня.

### Висновки

1. За показником експресії β-естерази самці ліній *Canton-S* та *Bar* істотно переважають самок. У мух лінії *vestigial* достовірної різниці між самками та самцями за зазначеною ознакою не встановлено.
2. Маса тіла самок всіх досліджуваних ліній значно більша, ніж у самців.
3. Між рівнем експресивності β-естерази та масою тіла імагінальних форм самців і самок досліджуваних ліній немає прямої залежності.

### Література

1. Мирось Е. Л., Козерецька И. А., Андриевский А. М. Полиморфизм и экспрессия карбоксиэстераз у самцов в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Чернобыльской зоны отчуждения // Фактори експер. еволюції організмів (Зб. наук. праць). — Київ, 2008. — Т. 4. — С. 293-297.
2. Куценко С. А. Основы токсикологии. — Санкт-Петербург, 2002. — 119 с.
3. Валкин И. Ю. Экологофизиологическая характеристика густены (*Blicca bjoerkna*) Куйбышевского водохранилища: Автореф. дис. на соиск. науч. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.16. — Ульяновск, 2008. — 24 с.
4. Медведев Н. Н. Практическая генетика. — М.: Наука, 1968. — 294 с.
5. Атраментова Л. О., Утевська О. М. Статистичні методи в біології: Підручник. — Х.: ХНУ, 2007. — 288 с.
6. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. — Минск: Вышэйшая школа, 1973. — 328 с.
7. Андриевский А. М. Половой диморфизм по экспрессии гидролаз эфиров карбоновых кислот в популяциях *Drosophila melanogaster* // Вісник ОНУ, 2004. — Т. 9, Вип. 1. — С. 7-16.
8. Андриевский А. М., Кучеров В. А., Кундиева Е. П. Половые различия активности карбоксиэстераз у *Drosophila melanogaster* дикого типа // Вісник ОНУ, 2006. — Т. 11, Вип. 9. — С. 23-33.

**С. Л. Мирось, А. М. Андриевский**

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,  
кафедра генетики и молекулярной биологии,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, e-mail: andriev\_scar@mail.ru

**ЭКСПРЕССИВНОСТЬ  $\beta$ -СПЕЦИФИЧНОЙ КАРБОКСИЭСТЕРАЗЫ  
И МАССА ТЕЛА У САМЦОВ И САМОК ИМАГО *DROSOPHILA  
MELANOGASTER***

**Резюме**

Определяли типы распределения показателей экспрессии  $\beta$ -эстеразы и массы тела имагинальных форм самцов и самок дрозофилы линий *Canton-S*, *Bar* и *vestigial*. Полученные количественные данные подвергали корреляционному анализу. Установлено отсутствие корреляции между уровнем экспрессивности  $\beta$ -эстеразы и массой тела как у самцов, так и у самок исследуемых линий *Drosophila melanogaster*.

**Ключевые слова:** *Drosophila melanogaster*, лабораторные линии, экспрессивность  $\beta$ -карбоксиэстеразы, масса тела особей.

**S. L. Miros, A. M. Andrievsky**

Odesa National Mechnykov University  
Department of Genetics and Molecular Biology  
Dvoryanska str., 2, Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: andriev\_scar@mail.ru

**THE EXPRESSIVENESS OF  $\beta$ -SPECIFIC CARBOXYLESTERASE AND  
BODY MASS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* IMAGO MALE  
AND FEMALE**

**Summary**

The types of indices distribution of  $\beta$ -carboxylesterase expressiveness and body mass of male and female imago lines *Canton-S*, *Bar* and *vestigial* have determined. Derived qualitative characteristics were obtained by correlation analysis. The absent of correlation between  $\beta$ -carboxylesterase expressiveness and body mass of both male and female imago of *Drosophila melanogaster* have been find.

**Key words:** *Drosophila melanogaster*, laboratory lines, expressiveness of  $\beta$ -carboxylesterase, mass of imago body