

УДК 577.222:595

Н. Д. Хаустова, канд. биол. наук, доц., **С. В. Белоконь**, ст. инж.,
В. Н. Тоцкий, д-р биол. наук, проф., зав. каф., **И. В. Сургучова**, студ.

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗМНОЖЕНИЯ И КОМПОНЕНТЫ ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ МУТАНТОВ *VG* И *CN VG DROSOPHILA MELANOGASTER*

Изучали роль маркерных мутаций *cn* и *vg* в формировании приспособленности *Drosophila melanogaster*. Установили отрицательное влияние мутации *vg* на эффективность размножения мух, выражающееся в постепенной элиминации мутантных гомозигот в экспериментальных популяциях дрозофилы. Сочетание в генотипе мутантов *vg* маркерной мутации с мутацией *cn* привело к повышению приспособленности мух по большинству исследуемых показателей, за исключением устойчивости к голоданию.

Ключевые слова: приспособленность, дрозофила, популяция, мутации.

Проблема выяснения механизмов приспособленности является общеприкладной проблемой, актуальной как для теории эволюции, так и для практической генетики и селекции. Известно, что естественный отбор благоприятствует некоторым особям популяции и таким образом изменяет частоты генов, контролирующих те или иные признаки. Для правильной оценки приспособленности нужно выйти за пределы лабораторных исследований в реальный мир, а это сопряжено со специфическими трудностями, которые зависят от особенностей изучаемого объекта. Использование в качестве объекта популяционных исследований дрозофилы привело к значительным успехам в этой области.

В качестве компонент приспособленности обычно оценивают репродуктивную активность и жизнеспособность организма, которые, в свою очередь, обеспечиваются как особенностями генотипа, так и внешними условиями, действию которых он подвергается.

К сожалению, в каждом отдельном эксперименте обычно измеряются лишь немногие (или только один) из факторов приспособленности. Между тем с эволюционной точки зрения важен вопрос о взаимоотношениях между такими факторами [1].

В соответствии с вышеизложенным, целью данной работы явилось изучение роли маркерных мутаций *cn* и *vg* в формировании приспособленности *Drosophila melanogaster*.

Материалы и методы исследований

Материалом для исследований служила *Drosophila melanogaster*. В опытах использовали одинарных (*cn*, *cinnabar*; *vg*, *vestigial*) и двойных

(*cn vg, cinnabar vestigial*) мутантов дрозофилы. Оба мутантных гена локализованы в хромосоме 2. Мутации рецессивны, в гомозиготе проявляются фенотипически редукцией крыльев (*vg*) и ярко-красной окраской глаз (*cn*) [2].

Исходные популяции (семьи) создавали в пробирках (20 мл), сочетая самку *vg* с самцом *cn vg*, и обозначали как F_0 . Потомков (F_1) каждой семьи переносили в большие по размеру сосуды (200 мл) для получения F_2 .

Всех мух из F_2 каждой баночной популяции (повторность опыта десятикратная) анализировали по маркерному признаку и определяли фенотипический состав экспериментальных популяций.

Частоты генов и генотипов в популяциях рассчитывали, используя формулу Харди-Вайнберга: $p^2 + 2pq + q^2 = 1$.

Плодовитость мух определяли по числу потомков (имаго) одной пары, содержащейся в пробирке (20 мл) на протяжении 3-х дней [3].

Продолжительность жизни мух на стандартной среде определяли, помещая в пробирки по 10 особей каждого пола. Подсчет живых мух вели ежедневно, смену корма осуществляли на 5-й день, результаты выражали в днях, на которые пришлось гибель 50 % мух (L_{t50}) [4].

Выживаемость мух при голодании определяли, помещая их в пробирки без корма (по 10 особей каждого пола). Подсчет выживших мух в течение первых суток нахождения на голодной диете проводили через каждые 6 часов, а в дальнейшем через каждые 3 часа до полной гибели особей в каждой пробирке и выражали в часах, на которые пришлось гибель 50 % мух.

Для определения *теплоустойчивости* 3-дневных мух подвергали действию сублетальной температуры (L_{t50} для дикого типа). В пробирки помещали по 10 особей каждого пола и прогревали их в водном термостате 15 мин при 41 °С, по истечению суток вели учет выживших особей. Теплоустойчивость выражали в процентах отношением числа выживших мух к числу прогретых [5, 6].

Математическую обработку полученных результатов производили общепринятыми методами вариационной статистики по Стьюденту [7].

Достоверность совпадения экспериментально полученных и теоретически ожидаемых расщеплений в F_2 оценивали по методу χ^2 [7].

Результаты исследований и их анализ

Понимая приспособленность генотипа как его относительную способность вносить вклад в будущие поколения, определяли эффективность размножения исследуемых мутантов в экспериментально созданных популяциях и показатели приспособленности (выживаемость и плодовитость) у линейных мух.

В генетике используют понятие идеальной и реальной популяций. Идеальной называют популяцию, состоящую из неограниченного количества особей, свободно скрещивающихся между собой. Такая популяция должна быть полностью изолирована и на нее не должны действовать факторы, способные нарушать ее структуру. Реальные (естественные) популяции, в границах которых осуществляются случайные

свободные скрещивания, называются панмиктическими или менделевскими. В них действуют менделевские законы наследования и расщепления [8].

Используемые в эксперименте искусственно созданные менделевские популяции дрозофилы были составлены из мутантов *vg* и *cn vg*, различающихся только по одному признаку — окраске глаз. Поскольку этот признак контролируется моногенно, можно ожидать, что расщепление по окраске глаз в F_2 будет соответствовать менделевскому — 3 (доминантный признак) : 1 (рецессивный признак).

Так как все мухи в популяции несли признак редукции крыла (*vg*), ожидаемое распределение потомков F_2 по фенотипическим классам должно составить: 3 части мух с нормальной (темно-красной) окраской глаз и редуцированными крыльями и 1 часть мух с ярко-красными глазами и редуцированными крыльями.

Сопоставление теоретически ожидаемых и экспериментально полученных результатов (табл. 1), свидетельствует об отсутствии достоверного совпадения между ними. Как следует из данных, представленных в таблице, соотношение классов *vg* и *cn vg* составляет 2,4 : 1,6, что достоверно отклоняется от менделевского соотношения 3 : 1. Преобладание в популяции мутантов *cn vg* свидетельствует об их преимуществе в условиях эксперимента, то есть об их лучшей приспособленности.

Для анализа генетических процессов, происходящих в популяциях, используют закон Харди-Вайнберга. Хотя этот закон характеризует состояние в ряду поколений идеальной панмиктической популяции, он, в то же время, позволяет строить математические модели и определять динамику генетической структуры модельных популяций.

Таблица 1

Фенотипический состав исследуемых популяций дрозофилы в F_2
vg x *cn vg*

n = 10

Фенотипические классы	Генотипический состав	Количество потомков F_2		χ^2 для ожидаемого расщепления 3 : 1
		одной семьи (M ± m)	общее	
<i>vg</i>	+ + <i>vg vg</i> + <i>cn vg vg</i>	316,10 ± 34,05*	3161	752**
<i>cn vg</i>	<i>cn cn vg vg</i>	221,50 ± 31,38*	2215	

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с рецессивным классом (*cn vg*). ** — отклонение от теоретически ожидаемого расщепления достоверно.

Анализ генетической структуры исследуемых популяций представлен в таблице 2.

Приведенные в таблице данные свидетельствуют о разной частоте альтернативных аллелей гена *cn* в исследуемой экспериментальной популяции. Частота рецессивного аллеля (*cn*) в F_2 в 1,6 раза превы-

сила частоту доминантного аллеля (+), в то время как исходная популяция (F_0) была представлена равным числом аллельных генов.

О явном преимуществе мутантного аллеля свидетельствует и анализ частот генотипов. Экспериментальная популяция, составленная из равного количества доминантных и рецессивных по гену *cn* гомозигот, в F_2 была представлена преимущественно гетерозиготами и двойными мутантами (46% и 39% соответственно). Доля одинарных мутантов *vg vg* от общего числа потомков F_2 составила всего 15%.

Таблица 2

Генетическая структура исследуемых популяций дрозофилы

n = 10 семей

Популяция (F)	Частота генотипов			Частота аллелей	
	<i>++ vgvg</i>	<i>+cn vg vg</i>	<i>cn cn vgvg</i>	<i>+</i>	<i>cn</i>
F_0	0,50	—	0,50	0,50	0,50
F_1	—	1,00	—	0,50	0,50
F_2	$0,15 \pm 0,02$	$0,46 \pm 0,01^*$	$0,39 \pm 0,06^*$	$0,38 \pm 0,08$	$0,62 \pm 0,08^{**}$

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с частотой генотипа *++ vg vg*.
 ** — различия достоверны по сравнению с частотой доминантного аллеля (+).

Известно, что панмиктические популяции постоянно подвергаются давлению разных факторов, среди которых одним из важнейших является фактор отбора. Отбор благоприятствует некоторым особям популяции и таким образом изменяет частоты генов, контролирующих те или иные признаки. Различают три основных вида отбора: направленный, действие которого направлено против аллеля, снижающего приспособленность; стабилизирующий, действующий в пользу гетерозигот; и дизруптивный, действующий против гетерозигот.

Представленные данные свидетельствуют о существовании направленного отбора против генотипа *++ vg vg*, и о значительном преимуществе в исследуемой популяции рецессивного аллеля *cn*.

Поскольку приспособленность зависит от плодовитости и жизнеспособности, ясно, что различия генотипов по эффективности размножения обусловлены их различиями по отдельным составляющим этого признака. Естественный отбор оценивает лишь суммарную приспособленность, таким образом, для выяснения путей адаптации необходимо изучение отдельных ее показателей.

О приспособленности линейных мух судили по их плодовитости, продолжительности жизни и выживаемости в экстремальных условиях (табл. 3).

Таблица 3

Компоненты приспособленности исследуемых мутантов дрозофилы
n = 10 - 20

Показатели приспособленности	Линии дрозофилы		
	<i>cinnabar (cn)</i>	<i>vestigial (vg)</i>	<i>cinnabar vestigial (cn vg)</i>
Плодовитость, количество потомков одной пары	43,70 ± 1,36* **	27,40 ± ,52**	36,00 ± 0,39*
Продолжительность жизни, дни (L_{50})	8,26 ± 0,33* **	5,30 ± 0,26	5,73 ± 0,60
Выживаемость в условиях гипертермии, % выживших мух	51,58 ± 1,68*	37,42 ± ,04**	46,50 ± 3,45*
Выживаемость в условиях голодания, часы (L_{50})	46,50 ± 3,45*	58,20 ± ,22**	48,64 ± 2,01*

Примечание: * — различия достоверны по сравнению с линией *vg*. ** — различия достоверны по сравнению с линией *cn vg*.

Как следует из приведенных данных, максимальной плодовитостью среди исследованных линий обладают мутанты *cn*, а минимальной — мутанты *vg*. Двойные мутанты *cn vg* характеризуются промежуточным значением исследуемого признака.

Самыми короткоживущими среди изученных линий являются одинарные мутанты *vg*, продолжительность жизни которых в 1,6 раза меньше продолжительности жизни мутантов *cn*. Достоверно меньшей продолжительностью жизни (в 1,4 раза) отличаются от последних и двойные мутанты *cn vg*.

По признаку теплоустойчивости, так же как и по рассмотренным выше признакам плодовитости и продолжительности жизни, наименее приспособленными оказались мутанты *vg*, уступающие одинарным мутантам *cn* и двойным — *cn vg*.

В то же время мутанты *vg* проявили максимальную среди исследованных линий устойчивость к голоданию, превосходя по этому признаку мутантов *cn vg* и *cn*. Последние оказались наиболее чувствительными к отсутствию корма.

Тот факт, что мутанты *vg*, уступающие мухам других линий по приведенным ранее показателям приспособленности, превосходят их по устойчивости к голоданию, находит подтверждение в работах Кларка с соавторами [9], показавших, что при нормальном питании продолжительность жизни мутантов ниже, чем особей дикого типа, но при голодании эти различия не проявляются.

Факт высокой выживаемости мутантов *vg* в условиях голодания может быть одной из причин сохранения маркерного гена в природных популяциях дрозофилы, несмотря на его плейотропный эффект, сопровождающийся уменьшением приспособленности в стандартных условиях существования.

В литературе есть свидетельства плейотропного действия мутации *vg*, выражающегося в меньшей продолжительности жизни и более коротком репродуктивном периоде у мутантов по сравнению с мухами других линий [3, 9, 10, 11, 12, 13]. Пониженная жизнеспособность рецессивных гомозигот на разных стадиях их развития позволяет отнести ген *vg* к разряду сублетальных генов [8, 14, 15].

Учитывая вышесказанное, можно предположить, что сочетание в генотипе двойных мутантов мутации *cn* с сублетальной мутацией *vg* снижает вредное действие последней. Это предположение находит подтверждение в данных литературы, свидетельствующих о высокой приспособленности многих мутантов по окраске глаз [16].

Выводы

Двойные мутанты *cn vg* обладают большей эффективностью размножения по сравнению с одинарными мутантами *vg*.

В экспериментальных популяциях мутантов *vg* и *cn vg* естественный отбор направлен на увеличение частоты гена *cn* (ярко-красные глаза).

Мутанты *vg* обладают более низкой плодовитостью, устойчивостью к гипертермии и длительностью жизни по сравнению с мутантами *cn* и *cn vg*, но превосходят указанных линейных мух по устойчивости к голоданию.

Литература

1. Эрман Л., Парсонс П. Генетика поведения и эволюция. — М.: Мир, 1984. — 566 с.
2. Медведев Н. Н. Практическая генетика. — М.: 1968. — 293 с.
3. Хаустова Н. Д. Лocus Adh *Drosophila melanogaster* в условиях отбора на задержку старения // Генетика. — 1995. — Т. 31. — № 5. — С. 646–651.
4. Dorado D., Barbancho M. Differential responses in *Drosophila melanogaster* to environmental ethanol: modification of fitness components at Adh locus // Heredity. — 1984. — Vol. 53. — № 2. — P. 309–320.
5. Некрасова А. В., Шахбазов В. Г. Длительность онтогенеза и возрастные изменения плодовитости и теплоустойчивости *Drosophila melanogaster* в связи с эффектом гетерозиса // Цитология и генетика. — 1981. — Т. 15. — № 3. — С. 49–53.
6. Страшнюк В. Ю., Воробьева Л. И., Шахбазов В. Г. Вклад гетерозиготности по хромосоме 2 в эффект гетерозиса у *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 1985. — Т. 21. — № 11. — С. 1828–1833.
7. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии. — М.: Изд-во МГУ, 1980. — 150 с.
8. Тоцький В. М. Генетика. — Одесса: Астропринт, 2002. — 709 с.
9. Clark A. G., Gould A. S. Genetic control of adult life span in *D. melanogaster* // Exp. Gerontol. — 1970. — Vol. 5. — № 2. — P. 157–162.
10. Williams J. A., Bell J. B., Carrol S. B. Control of *Drosophila* wing and halter development the nuclear vestigial gene product // Gene and Develop. — 1991. — Vol. 5. — № 12 B. — P. 2481–2495.
11. Хаустова Н. Д., Алишбили Насер Мухамед, Тоцький В. Н., Блажнова Е. В. Частота рекомбинаций как показатель генного баланса и приспособленности дрозофилы // Вісник Одеського національного університету. — 2003. — Т. 8. — Вип. 1. — Біологія. — С. 86–91.
12. Хаустова Н. Д., Тоцький В. М. Пристосованість мутантів *vg* *Drosophila melanogaster* і генетична структура штучних популяцій, що містять маркерний ген // Вісник Одеського національного університету. — 2004. — Т. 9. — Вип. 5. — Біологія. — С. 153–158.
13. Тоцький В. Н., Хаустова Н. Д., Моргун С. В., Левчук Л. В. Ген-ензимная система алкогольдегидрогеназы при замещении хромосом и других изменениях генотипа у *Drosophila melanogaster* // Укр. биохим. журн. — Т. 70. — № 5. — С. 42–51.
14. Гершензон С. М. Основы современной генетики. — Киев: Наукова думка, 1983. — 558 с.
15. Курпиченко Т. В., Страшнюк В. Ю., Воробьева Л. И., Шахбазов В. Г. Влияние генотипа на экспрессивность признака vestigial и степень политении хромосом *Drosophila melanogaster* Meig // Генетика. — 2002. — Т. 38. — № 12. — С. 1621–1625.
16. Najera C., Menzua S. L. Effect of alcohol and competition levels on viability of eye colour mutants of *Drosophila melanogaster* // Gen., selec., evol. — 1985. — Vol. 17. — № 3. — P. 331–340.

Н. Д. Хаустова, С. В. Білоконь, В. М. Тоцький, І. В. Сургучова

Одесский национальный университет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ЭФФЕКТИВНІСТЬ РОЗМНОЖЕННЯ ТА КОМПОНЕНТИ ПРИСТОСОВАНІСТІ МУТАНТІВ *VG* І *CN VG DROSOPHILA MELANOGASTER*

Резюме

Вивчали вплив маркерних мутацій *cn* і *vg* на пристосованість *Drosophila melanogaster*. Встановили негативну дію мутації *vg* на ефективність розмноження мух, що проявляється в поступовій елімінації мутантних гомозигот у штучних

популяціях дрозофіли. Сполучення в генотипі мутантів *vg* маркерної мутації з мутацією *cn* призвело до підвищення пристосованості за основними показниками, крім стійкості до голодування.

Ключові слова: пристосованість, дрозофіла, популяція, мутації.

N. D. Khaustova, S. V. Belokon, V. N. Totsky, I. V. Surguchova

Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, 65026, Ukraine.

**EFFECTIVENESS OF REPRODUCTION AND FITNESS OF MUTANTS
VG AND CN VG DROSOPHILA MELANOGASTER COMPONENTS**

Summary

We were studying the role of marker mutation *cn* and *vg* on *Drosophila melanogaster* fitness. It has been established the negative influence of mutation *vg* on the reproduction of flies. The combination of marker mutation *vg* with the mutation of *cn* in genotype caused the increasing of flies fitness (except the resistance to fasting).

Keywords: fitness, *Drosophila*, population, mutation.