

УДК 577.222:595

С. В. Белоконь, ст. инж., **Н. Д. Хаустова**, канд. биол. наук, доц.,
И. А. Бондаренко, студ.

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

ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ МУТАНТОВ *cn* И *vg* В ЛАБОРАТОРНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *Drosophila melanogaster*

Изучали приспособленность мутантов *cinnabar* (*cn*) и *vestigial* (*vg*) в линейных и гибридных лабораторных популяциях *Drosophila melanogaster*. Об относительной (дарвиновской) приспособленности судили по эффективности размножения мух в экспериментальных популяциях *cn* × *vg*. Для определения отдельных компонент приспособленности исследовали плодовитость и жизнеспособность (продолжительность жизни, устойчивость к голоданию) у линейных мутантов и их гибридов. Установили, что отбор действует против мутантов *vg*, которые уступают мутантам *cn* и гибридам по основным показателям приспособленности, кроме устойчивости к голоданию.

Ключевые слова: приспособленность, популяция, дрозофила, мутации.

Изучение роли морфологических мутаций в формировании приспособленности особей занимает значительное место в исследованиях по генетике дрозофилы. Широко известен плеiotропный эффект мутации *vg* [1, 2], в то же время установлено её неоднозначное влияние на выживаемость и плодовитость разных линий дрозофилы, мутантных по маркерному гену [4, 3]. Показано, что сочетание в генотипе особей маркерной мутации *vg* с некоторыми другими мутациями хромосомы 2 (*b*, *cn*) приводит к повышению приспособленности мутантов по большинству исследованных показателей [5, 6].

Для выяснения механизмов приспособленности необходимо комплексное изучение составляющих её компонент, а также эффективности размножения (относительной приспособленности), которая является количественной мерой естественного отбора.

В соответствии с вышеизложенным целью данной работы было установление связи между проявлениями приспособленности (жизнеспособностью, плодовитостью) мутантов *cn* и *vg* и эффективностью их размножения в экспериментальных популяциях дрозофилы.

Материалы и методы исследований

Материалом для исследований служила *Drosophila melanogaster*. В опытах использовали мутантов *cn* (*cinnabar*), *vg* (*vestigial*) и реципрокных гибридов *cn* × *vg*.

Исходные популяции (F_0) создавали в пробирках (20 мл) в соотношении генотипов 1:2:1 ($1\frac{cn+}{cn+}$; $1\frac{cn+}{cn+}$; $2\frac{cn+}{+vg}$; $2\frac{cn+}{+vg}$; $1\frac{+vg}{+vg}$; $1\frac{+vg}{+vg}$). Всех потомков (F_1) из каждой пробирки переносили в большие по размеру сосуда (200 мл) для получения F_2 .

Всех мух из F_1 и F_2 каждой баночной популяции (повторность опыта десятикратная) анализировали по маркерным признакам и определяли фенотипический состав экспериментальных популяций.

Относительную приспособленность мутантов (w) и коэффициент отбора ($s = 1 - w$) определяли общепринятым методом [7], для чего вычисляли среднее количество потомков F_2 , приходящихся на одну особь соответствующего класса из F_1 . За единицу приспособленности ($w = 1$) принимали эффективность размножения в каждой популяции генотипов, оставляющих максимальное количество потомков.

Реальную плодовитость мух определяли по числу потомков (имаго) одной пары, содержащейся в пробирке (20 мл) на протяжении 3-х дней [8].

Продолжительность жизни мух на стандартной среде определяли, помещая в пробирки с кормом 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}) [9].

Продолжительность жизни 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.

Математическую обработку полученных результатов производили общепринятыми методами вариационной статистики по Стьюденту [10].

Достоверность совпадения экспериментально полученных и теоретически ожидаемых расщеплений в F_2 оценивали по методу χ^2 [10].

Результаты исследований и их обсуждение

Анализируя фенотипический состав исследуемых популяций дрозофилы на протяжении двух поколений (табл. 1), установили, что в F_1 соотношение фенотипов не отклонялось от исходного (F_0), но уже в F_2 ожидаемое расщепление 1:2:1 нарушилось в пользу классов cn и $++$, что свидетельствует о меньшей приспособленности мух из класса vg .

Таблица 1

Соотношение фенотипических классов в F₁ и F₂ исследуемых популяций дрозофилы

n = 10

Фенотипические классы	Генотипический состав	Количество потомков	
		F ₁	F ₂
+ <i>vg</i>	$\frac{+vg}{+vg}; \frac{+vg}{cnvg}$	118	438
+ +	$\frac{cn+}{+vg}; \frac{++}{+vg}; \frac{++}{cn+}$	272	1348
<i>cn</i> +	$\frac{cn+}{cn+}; \frac{cn+}{cnvg}$	143	742
χ^2 для ожидаемого расщепления 1:2:1		2,57	84,28*

Примечание: * Отклонение от теоретически ожидаемого расщепления достоверно ($p < 0,05$).

Результаты расчета эффективности размножения (табл. 2) свидетельствуют о высокой приспособленности мутантов *cn* $\left(\frac{cn+}{cn+}; \frac{cn+}{cnvg}\right)$ и гибридов ++ $\left(\frac{cn+}{+vg}; \frac{++}{+vg}; \frac{++}{cn+}\right)$. Их относительная приспособленность (*w*) составляет 100 и 98% соответственно, практически вдвое превышая этот показатель у мутантов *vg* (51%).

Таблица 2

Относительная приспособленность (*w*) и коэффициент отбора (*s*) мутантов и мух дикого типа из экспериментальных популяций

n = 10

Показатели	Фенотипические классы		
	++	+ <i>vg</i>	<i>cn</i> +
<i>w</i>	0,81 ± 0,09*	0,42 ± 0,08	0,83 ± 0,12*
<i>s</i>	0,19	0,58	0,17

Примечание: * Различия по сравнению с классом + *vg* достоверны.

Поскольку эффективность размножения зависит от генотипического разнообразия, репродуктивной активности и жизнеспособности особей, входящих в состав популяции, представляется интересным анализ отдельных компонент приспособленности у разных генотипов — гомо- и гетерозигот по маркерным генам. С этой целью изучали плодовитость и продолжительность жизни мутантов *cn*, *vg* и их гибридов при разных условиях содержания (табл. 3).

Таблица 3
Компоненты приспособленности линейных мух и их гибридов
n = 10

Линии и гибриды	Плодовитость	Продолжительность жизни (Lt_{50})	
		на стандартной среде, дни	при голодании, часы
<i>cn</i>	$57,87 \pm 6,80^*$	$10,50 \pm 1,00^*$	$35,63 \pm 2,97$
<i>vg</i>	$19,22 \pm 2,20^{\#}$	$7,67 \pm 0,71^{\#}$	$40,00 \pm 1,49$
<i>cn</i> × <i>vg</i>	$57,09 \pm 4,19^*$	$11,75 \pm 0,59^*$	$45,00 \pm 1,01^* \text{ }^{\#}$
<i>vg</i> × <i>cn</i>	$62,80 \pm 4,09^*$	$12,05 \pm 0,55^*$	$42,14 \pm 1,04^{\#}$

Примечание: * Различия достоверны по сравнению с линией *vg*.

Различия достоверны по сравнению с линией *cn*.

Сравнительная оценка состояния компонент приспособленности у линейных мутантов подтвердила плейотропный эффект мутации *vg*. Мутанты *vg* обладали низкой плодовитостью и продолжительностью жизни, значения которых соответственно составили 33% и 73% от этих же показателей у мутантов *cn*. В то же время низкоприспособленные мутанты *vg* проявили достаточно высокую устойчивость к голоданию, что свидетельствует об экономном расходовании энергетических ресурсов в отсутствие питания.

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

Генетический полиморфизм популяций поддерживается с помощью разных механизмов, в частности за счет сохранения гетерозигот. Широко известный эффект гетерозиса, проявляющийся у некоторых гетерозигот, объясняет возможное преимущество гибридов по сравнению с родительскими формами [11, 12, 13]. Это преимущество может проявляться по одному или по нескольким признакам. Наиболее важным с позиций приспособленности является адаптивный гетерозис, проявляющийся высокой устойчивостью гибридов к стрессовым факторам.

Для выявления возможного преимущества гетерозигот исследовали показатели приспособленности у гибридов от реципрокных скрещиваний мутантов. Как следует из данных, представленных в табл. 3, гибриды проявили высокую приспособленность по всем исследованным показателям, однако по признакам плодовитости и продолжительности жизни не отличались от "лучшего" родителя (*sp*). В то же время по адаптивно важному признаку — выживаемости в условиях голодания — гибриды *sp* × *vg* превзошли обоих родителей, каждый из которых характеризуется достаточно высоким уровнем устойчивости в условиях стресса.

Факт высокой приспособленности исследованных гетерозигот находит подтверждение при анализе экспериментальных популяций, в которых класс гибридов (++), представленный разными генотипами, характеризуется значительно более высокой эффективностью размножения и низким коэффициентом отбора по сравнению с мутантами *vg* (табл. 2).

В то время как коэффициент отбора определяется эффективностью размножения ($s = 1 - w$), направление отбора формируется в зависимости от суммарной приспособленности, поскольку существование организмов на разных стадиях жизненного цикла может влиять на успешность репродукции, а, значит, на эффективность размножения особей. Результаты представленного эксперимента и ранее опубликованные данные [3, 5] свидетельствуют об отрицательном влиянии мутации *vg* на приспособленность дрозофилы и о постепенной элиминации мутантов *vg* в экспериментальных популяциях в стандартных условиях содержания мух. Установленный факт увеличения частоты гена *sp* в этих условиях согласуется с данными литературы [14] о высокой приспособленности многих мутантов по окраске глаз.

Таким образом, представленные в работе данные подтверждают существование прямой зависимости между значениями отдельных компонент приспособленности (плодовитостью, жизнеспособностью), с одной стороны, и эффективностью размножения (относительной приспособленностью) исследуемых мух в экспериментальных популяциях — с другой.

Выводы

Мутанты *vg* характеризуются низкой плодовитостью и меньшей продолжительностью жизни по сравнению с мутантами *sp*, но не уступают последним по признаку устойчивости к голоданию. Гибриды от реципрокных скрещиваний исследуемых мутантов обладают высокой приспособленностью, а по признаку выживаемости в условиях голодания проявляют гетерозис в одном из направлений скрещиваний (*sp* × *vg*). Эффективность размножения (относительная приспособленность) в экспериментальных популяциях *sp* × *vg* определяется уровнем основных компонент приспособленности анализируемых мух.

Литература

1. 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, N 12 B. — P. 2481–2495.
2. Влияние генотипа на экспрессивность признака vestigial и степень политении хромосом *Drosophila melanogaster* Meig. / Т. В. Кирпиченко, В. Ю. Страшнюк, Л. И. Воробьева, В. Г. Шахбазов // Генетика. — 2002. — Т. 38, № 12. — С. 1621–1625.
3. 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. — С. 153–158.
4. Ген-энзимная система алкогольдегидрогеназы при изменениях генотипа у *Drosophila melanogaster* / В. Н. Тоцкий, Н. Д. Хаустова, С. В. Моргун, Л. В. Левчук // Укр. биохим. журн. — 1998. — Т. 70, № 5. — С. 42–51.
5. Хаустова Н. Д., Тоцкий В. Н. Компоненты приспособленности мутантов *vestigial* *Drosophila melanogaster* при искусственных и естественных перестройках генотипа дрозофилы // Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития (Москва, 6–12 июня 2004 г). Тез. докл. — М., 2004. — Т. 1. — С. 63.
6. Алишбали Насер Мухамед, Хаустова Н. Д., Тоцкий В. Н. Приспособленность линий *Drosophila melanogaster*, мутантных по генам *b*, *cn* и *vg* // Вісник Одеського національного університету. — 2002. — Т. 7, вип. 1. — С. 63–68.
7. Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика. — М.: Мир, 1987. — Т. 3. — 335 с.
8. Хаустова Н. Д. Лocus *Adh* *Drosophila melanogaster* в условиях отбора на задержку старения // Генетика. — 1995. — Т. 31, № 5. — С. 646–651.
9. Dorado D., Barbancho M. Differential responses in *Drosophila melanogaster* to environmental ethanol: modification of fitness components at *Adh* locus // Heredity. — 1984. — Vol. 53, N 2. — P. 309–320.
10. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии. — М.: Изд-во МГУ, 1980. — 150 с.
11. Тоцький В. М. Генетика. — О.: Астропринт, 2002. — 709 с.
12. 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.
13. 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.
14. Najera C., Menzua S. L. Effect of alcohol and competition levels on viability of eye color mutants of *Drosophila melanogaster* // Gen., selec., evol. — 1985. — Vol. 17, N 3. — P. 331–340.

С. В. Білоконь, Н. Д. Хаустова, І. А. Бондаренко

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ПРИСТОСОВАНІСТЬ МУТАНТІВ *cn* ТА *vg* В ЛАБОРАТОРНИХ ПОПУЛЯЦІЯХ *Drosophila melanogaster*

Резюме

Досліджували пристосованість мутантів *cinnabar* (*cn*) і *vestigial* (*vg*) *Drosophila melanogaster*. Відносну (дарвінівську) пристосованість визначали за ефективністю розмноження мух у штучних популяціях *cn* × *vg*. У якості окремих компонент пристосованості вивчали плодючість та життєздатність лінійних мух і їх гібридів. Вста-

новлено, що добір діє проти мутантів *vg*, котрі поступаються мутантам *cn* і гібридам за основними показниками пристосованості, окрім стійкості до голодування.

Ключові слова: пристосованість, популяція, дрозофіла, мутації.

S. V. Belokon, N. D. Khaustova, I. A. Bondarenko

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

**FITNESS OF MUTANTS *cn* AND *vg* IN LABORATORY
POPULATIONS *Drosophila melanogaster***

Summary

Mutants *cinnabar* (*cn*) and *vestigial* (*vg*) *Drosophila melanogaster* fitness has been studied. Relative (Darvin) fitness after efficiency of reproduction of flies has been investigated in experimental populations of *cn* × *vg*. Fecundity and viability (life-span, stability to starvation) at linear flies and their hybrids were studied in quality of separate component of fitness. It was proved that selection operates against the mutants of *vg* yielded to the mutants *cn* and the hybrids on the basic indexes of fitness, except the stability to starvation.

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