

УДК: 575.16:591.5:595.773.4

Локомоторная активность линий *Drosophila melanogaster*, полученных из популяций разного географического происхождения
Д.С.Григорьев, Л.И.Воробьева

Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)
denladen86@mail.ru

Изучали локомоторную активность линий дикого типа *Drosophila melanogaster*, полученных из популяций разного географического происхождения. Установлено влияние генотипа и пола на локомоторную активность имаго линий дикого типа *D. melanogaster*, а также комбинированное влияние обоих факторов на данный показатель. Гибридологический анализ локомоторной активности показал полигенный характер наследования данного признака. Обсуждается влияние мобильных генетических элементов на изученный поведенческий признак.

Ключевые слова: локомоторная активность, гибридологический анализ, *Drosophila melanogaster*, мобильные генетические элементы.

Локомоторна активність ліній *Drosophila melanogaster*, отриманих з популяцій різного географічного походження
Д.С.Григор'єв, Л.І.Воробйова

Вивчали локомоторну активність ліній дикого типу *Drosophila melanogaster*, отриманих з популяцій різного географічного походження. Встановлено вплив генотипу та статі на локомоторну активність имаго ліній дикого типу *D. melanogaster*, а також комбінований вплив обох факторів на даний показник. Гібридологічний аналіз локомоторної активності показав полігенний характер успадкування даної ознаки. Обговорюється вплив мобільних генетичних елементів на вивчену ознаку поведінки.

Ключові слова: локомоторна активність, гібридологічний аналіз, *Drosophila melanogaster*, мобільні генетичні елементи.

Locomotor activity in *Drosophila melanogaster* stocks obtained from populations of different geographical origin
D.S.Grigoriev, L.I.Vorobyova

Wild type stocks of *Drosophila melanogaster* obtained from populations of different geographical origin were used to study locomotor activity. Genotype, sex and both factors mentioned combined action were found to influence locomotor activity of imago of *D. melanogaster* wild-type stocks. Hybrid analysis has shown polygenic character of the trait inheritance. The influence of mobile genetic elements on this trait has been discussed.

Key words: locomotor activity, hybrid analysis, *Drosophila melanogaster*, mobile genetic elements.

Введение

Двигательная (локомоторная) активность является жизненно важным поведенческим признаком животных. Это сложный биологический ответ, имеющий эволюционное значение и охватывающий сенсорную обработку, интеграцию стимулов, исполнительные функции и пути формирования движения. Выявляя генетические детерминанты, лежащие в основе локомоторной активности, можно понять механизмы, включающиеся на всех уровнях этого поведенческого акта.

Анализ литературы показал, что в последнее время увеличилось количество работ, посвященных изучению генетических аспектов данной проблемы (Meunier et al., 2007; Shimizu et al., 2008; Liu et al., 2007; Poesck et al., 2008; Elwin Isaac et al., 2009; Subramanian et al., 2009). Исследование локомоторной активности у дрозофилы связано, в первую очередь, с ее особенностями как удобного модельного объекта. Актуальность изучения двигательной активности обусловлена корреляцией данного признака с другими компонентами приспособленности – плодовитостью (Тимченко, Воробьева, 2004), устойчивостью к инсектицидам (Лучникова, 1964) и пр.

Важное значение в изучении локомоторной активности имеет определение межлинейных различий у *D. melanogaster*, контрастное фенотипическое проявление которых является генетически

обусловленным. Это позволяет использовать отличающиеся генотипы в качестве исходного материала для генетического анализа.

В связи с этим была поставлена задача изучить локомоторную активность линий дикого типа *D. melanogaster*, полученных из популяций разного географического происхождения, и провести гибридологический анализ данного признака.

Материал и методы исследования

В качестве материала для исследования были использованы 16 линий дикого типа *D. melanogaster*: Яблочный сад (г. Чернобыль), Озеро 2008 (популяция водоёма-охладителя ЧАЭС), Кострома (с. Гусево Мантуровского района, Костромская область, Россия), Магарач (Ялта), Одесса, Миргород, Люботин, Молдова, Пирятин, Умань, Варва, Лубны, Киев, Австралия, Canton-S, Oregon-R, основанных из популяций разного географического происхождения и содержащихся в коллекции кафедры генетики и цитологии ХНУ им. В.Н.Каразина. Выборка для каждой линии составляла 108 особей – 54 самки и 54 самца соответственно.

Линии содержали в культуральных сосудах на стандартной дрожжевой среде в термостате при температуре 23°C. Разделение имаго по полу проводили в течение первых суток после выхода мух из пупария. В эксперимент брали только виргинных особей. Поведенческие тесты проводили без предварительной наркотизации насекомых.

Локомоторную активность (ЛА) имаго дрозофилы оценивали индивидуально по методике открытого поля (Сопнолю, 1967). Мух помещали в чашку Петри, дно которой расчерчено на квадраты со стороной 5 мм (1 ед.=5 мм). Спустя пять минут, необходимых для адаптации мух к новым условиям, в течение двух минут проводили наблюдения, определяя суммарную длину пробега каждой особи. ЛА самцов и самок учитывали отдельно.

Для проведения гибридологического анализа были выбраны две линии Canton-S (C-S) и Oregon-R (Or), контрастные по ЛА. Оценку ЛА проводили у гибридов первого и второго (F_1 и F_2) поколения, полученных в результате реципрокных скрещиваний: C-S × Or и Or × C-S. Потомство гибридов сравнивали с исходными линиями C-S и Or и между собой.

Полученные в ходе эксперимента данные были обработаны при помощи традиционных методов вариационной статистики. Для оценки влияния факторов на изучаемый признак использовали дисперсионный анализ. Силу влияния оценивали по методу М.Снедекора (Лакин, 1990). Достоверность различий оценивали с помощью критерия Стьюдента (Рокицкий, 1973). Для статистических расчетов и обработки данных использовали компьютерные программы STATISTICA 6.0. и Microsoft Office Excel 2007.

Результаты

В ходе данного исследования было установлено, что наибольшее значение ЛА было характерно для самцов ($237,02 \pm 11,25$) и самок ($191,3 \pm 11,65$) линии Яблочный сад, а наименьшее для самцов ($78,74 \pm 10,48$) линии Молдова и самок ($62,65 \pm 6,91$) линии Киев (рис. 1). Достоверные различия ($p < 0,01$) между самками и самцами по показателю двигательной активности были выявлены в линиях Яблочный сад, Австралия, Озеро, C-S, Магарач, Одесса и Киев, причем ЛА самцов выше, чем самок. У остальных 10 изученных линий достоверных половых различий по показателю ЛА не обнаружено.

Дисперсионный анализ показал достоверное влияние генотипа ($F=27,9$ ($p < 0,001$)) линий на значения ЛА имаго *D. melanogaster* (сила влияния составила 33% ($p < 0,001$)) и пола ($F=19,4$ ($p < 0,001$)), сила влияния которого составила 25% ($p < 0,001$). Установлено также комбинированное влияние обоих факторов ($F=3,4$ ($p < 0,001$)) на данный показатель (сила влияния составила 4% ($p < 0,001$)).

Для гибридологического анализа были взяты две контрастные по локомоторной активности линии – C-S и Or, причем локомоторная активность особей линии C-S более чем в 2 раза превышает таковую для особей линии Or ($t=10,2$ ($p < 0,001$)), и получены реципрокные гибриды – C-S × Or и Or × C-S. Установлено, что ЛА гибрида F_1 : C-S × Or достоверно превышает этот показатель у гибрида F_1 : Or × C-S и составляет, соответственно, $200,4 \pm 13,2$ и $131,7 \pm 14,4$ (рис. 2). Достоверных отличий между ЛА самок и самцов как у линий, так и у гибридов не обнаружено. Показано, что ЛА обоих гибридов F_1 достоверно не отличается от ЛА исходной материнской линии, в то время как по сравнению с отцовской линией эти различия достоверны. Далее, для определения характера наследования признака, у потомков гибридов F_1 во втором поколении проводился анализ распределения по локомоторной активности. У гибрида F_2 : C-S × Or ЛА существенно снижается ($111,5 \pm 13,4$) и достоверно не отличается от ЛА линии Or и гибрида F_2 : Or × C-S ($100 \pm 13,7$).

Однофакторный дисперсионный анализ показал достоверное влияние генотипа матери на показатель ЛА у обоих гибридов F_1 ($F=5,72$ ($p<0,001$)). Сила влияния фактора составила 10,6% ($p<0,001$). Влияния генотипа отца не было обнаружено.

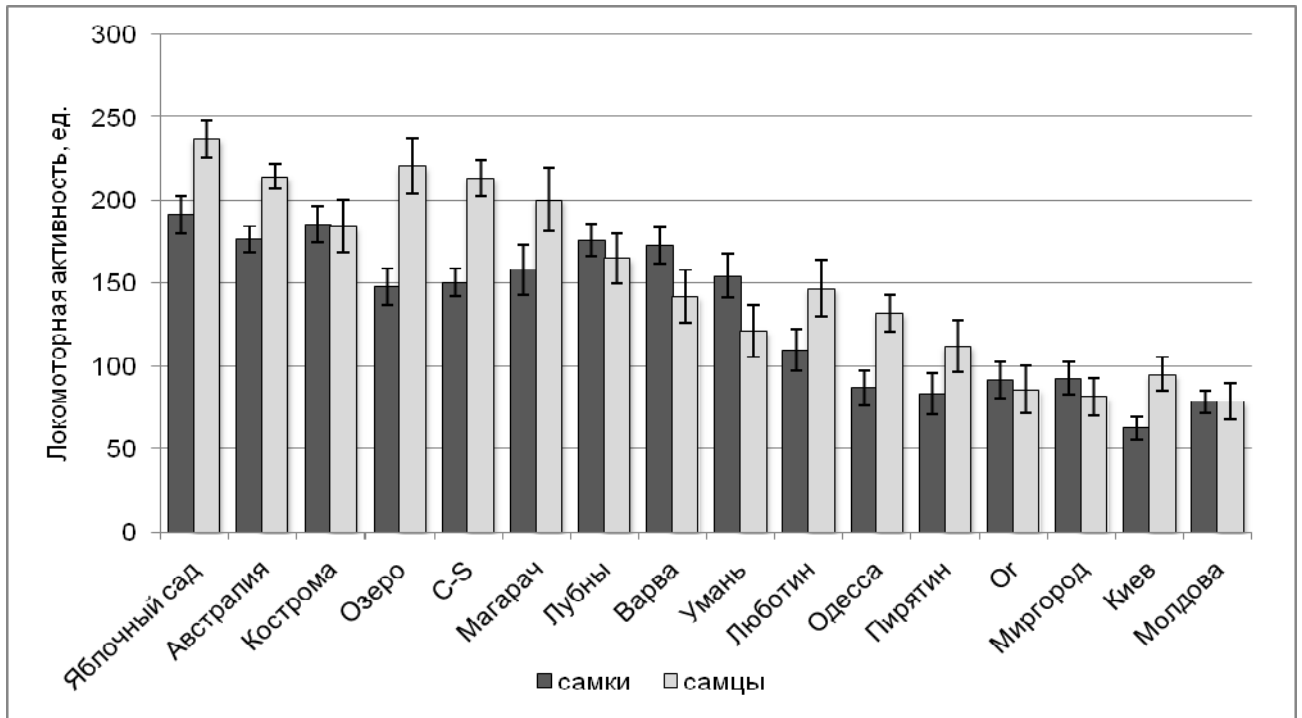


Рис. 1. Локомоторная активность линий дикого типа *D. melanogaster*

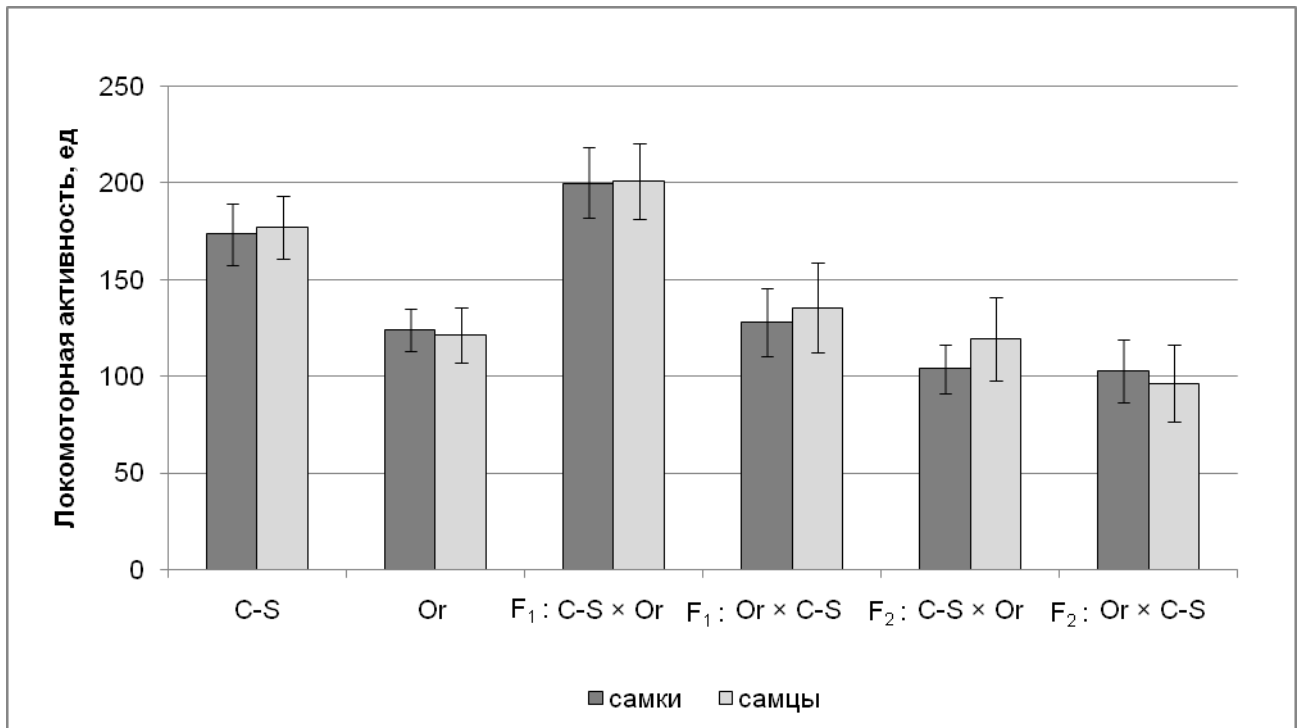


Рис. 2. Локомоторная активность линий C-S и Or и их гибридов

Анализ распределения по локомоторной активности особей гибрида F_2 отображает полный спектр частот возможных фенотипов (рис. 3 и 4). Размах вариации ЛА гибрида F_2 : Or \times C-S существенно выше в сравнении с F_2 : C-S \times Or. В распределении по локомоторной активности у гибрида F_2 : Or \times C-S выявлена позитивная асимметрия.

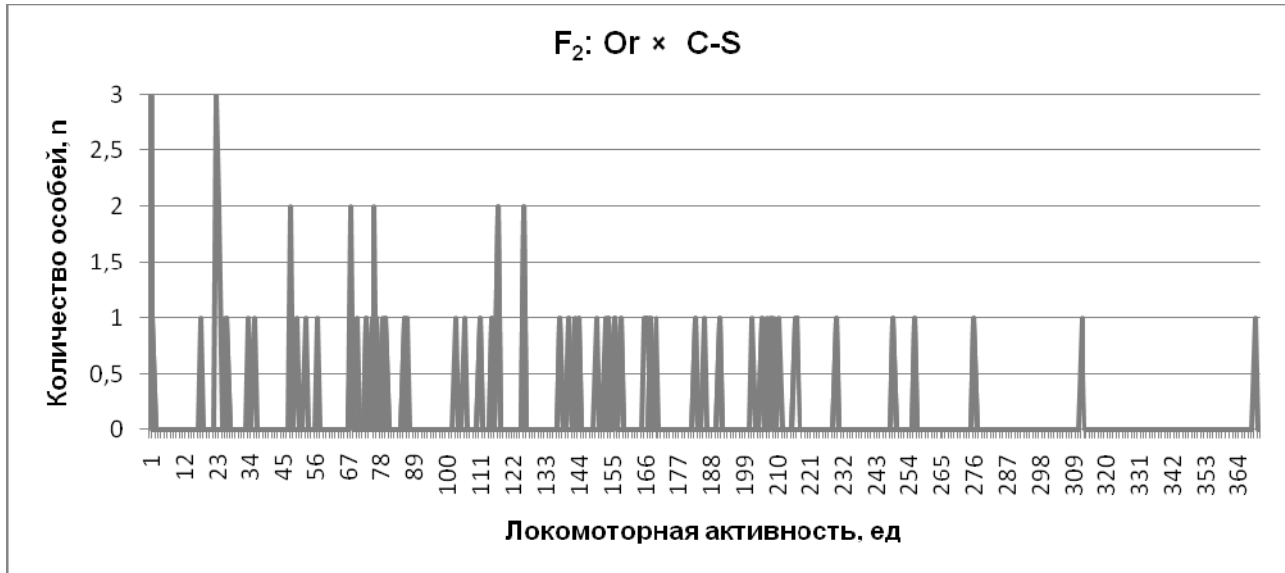


Рис. 3. Распределение по локомоторной активности у гибрида F_2 : Or \times C-S

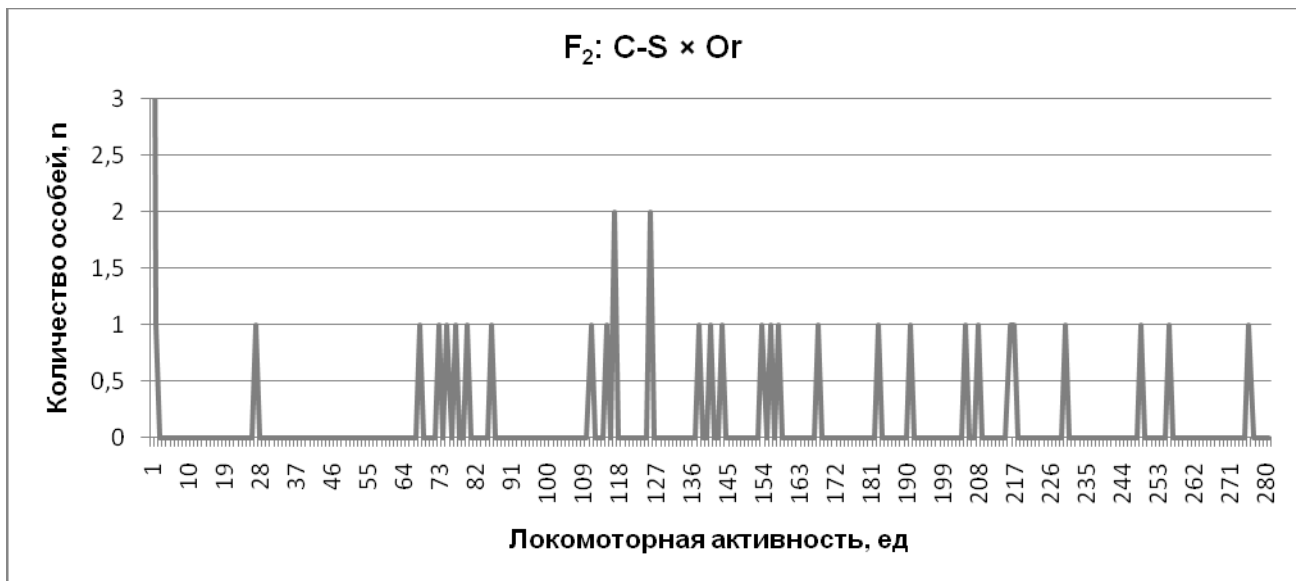


Рис. 4. Распределение по локомоторной активности у гибрида F_2 : C-S \times Or

Обсуждение

Среди изученных линий особым интересом представляют линии Яблочный сад и Озеро, полученные из природных популяций, обитающих на территориях с повышенным уровнем радиационного загрязнения. Анализ литературных данных показывает, что хроническое облучение в малых дозах может вызывать существенные изменения генотипа, приводящие к появлению новых адаптационных возможностей, микрорезволюционным преобразованиям в популяциях организмов (Юраниева, 2002). В то время как в диапазоне больших доз облучения вызываются множественные повреждения генетического материала и гибель клеток (Зайнулин и др., 2002). Однако это не исключает его роль в качестве жесткого фактора отбора (Козерецкая и др., 2008) по адаптивно

значимым признакам, в частности по уровню локомоторной активности. При этом радиация выступает одновременно и как фактор повышения мутабельности генома, и как фактор отбора, выбраковывающий негативные мутации. Поэтому высокий уровень ЛА линий Яблочный сад и Озеро, возможно, обусловлен влиянием радиационного фона.

Важную роль в реализации процесса увеличения генетических вариаций играет механизм активации мобильных генетических элементов. МГЭ различных семейств могут составлять значительную часть генома (до 10% у дрозофилы) (Ратнер, Васильева, 1993). В диапазоне малых доз радиации активация МГЭ может играть роль триггерного механизма, который запускает сразу несколько процессов и обеспечивает поливариантную реакцию живой клетки в ответ на действие неблагоприятного фактора (Зайнулин и др., 2002). Индукция транспозиций при помощи γ -облучения, вероятно, связана с возникновением индуцированных двухцепочечных разрывов в ДНК хромосом. Эти разрывы с повышенной вероятностью используются ретротранспозонами для инсерций (Гвоздев, 1998). Таким образом, встраивание МГЭ может изменять экспрессию генов и, соответственно, оказывать влияние на количественные признаки, в частности на изучаемый нами признак – ЛА.

Выбранные для гибридологического анализа контрастные по ЛА линии C-S и Og различаются также по цитотипу, а именно, по типам МГЭ систем гибридного дисгенеза: Oregon-R – имеет H-цитотип, содержит активные *hobo*-элементы, Canton-S – имеет I-цитотип, содержит I-элементы. Это дает основание предположить возможное противоположное влияние на локомоцию различных типов МГЭ. Интересно отметить, что по литературным данным у линии C-S, имеющей I-фактор (LINE-подобный элемент дрозофилы), наблюдается реакция радиоадаптации, тогда как у Og, отличающейся наличием в геноме копии полноразмерного *hobo*-элемента, этот эффект не наблюдается (Юраниева, 2002). Наличие фрагментов *hobo*-элемента также было установлено в популяциях Пирятин, Магарац, Яблочный сад и Киев, а в популяциях Лубны, Одесса, Варва и Умань его присутствия не наблюдалось (Білоусов, Козерецька, 2008); также предполагается наличие его фрагментированных участков в линиях Молдавского региона (Vereshagina et al., 1994). Однако эти линии имеют как высокую, так и низкую ЛА, что свидетельствует о неоднозначности роли *hobo*-элемента. Это, возможно, объясняется разным составом фрагментов *hobo*-элемента и разной локализацией его копий в геноме (Кайданов и др., 1994), также не исключена специфичность проявления его активности при взаимодействии с другими МГЭ. В любом случае определение механизмов воздействия МГЭ на компоненты приспособленности требует дальнейших исследований.

Аналогично вызывать активацию МГЭ могут другие стрессовые факторы: яды, детергенты, лекарства, этиловый спирт, некоторые другие химические вещества, гипоксия, впрыскивание дефектных белков, вирусное заражение (Ратнер, Васильева, 2000). Согласно последним исследованиям (Марков, 2010), известно, что контроль регуляции активности МГЭ может обеспечиваться, в частности, белком теплового шока Hsp90, и не исключено также участие и других БТШ. Соответственно, можно предположить, что низкая ЛА (линии Миргород, Киев, Молдова) отвечает нормированному действию факторов среды, в то время как высокая ЛА линии Австралия связана с повышенной температурой и низкой влажностью данного региона. Однако, для подтверждения данного предположения необходимо проведение дополнительных исследований.

Дисперсионный анализ показал, что локомоторная активность в значительной мере обусловлена полом особи и, как правило, выше у самцов. Данный факт вполне оправдан с эволюционной точки зрения. Самки более зависимы от конкретного места обитания, т.к. должны отложить яйца в пригодных для этого условиях. Поэтому в обмене генов между популяциями в значительной мере участвуют более подвижные самцы. Однако достаточно велика и сила влияния генотипа на ЛА изученных линий. Взаимодействие генотипа и пола свидетельствует о том, что факторы связаны и оказывают комбинированное влияние на признак.

Достоверные различия по уровню локомоторной активности между полами были выявлены у линий, в которых самцы проявляли большую активность, нежели самки. Отсутствие различий между полами у некоторых изученных линий по уровню ЛА может свидетельствовать о снижении эволюционной пластичности популяции (Геодакян, 1983).

Гибридологический анализ двух контрастных по ЛА линий C-S и Og показал чётко выраженный материнский эффект в наследовании данного признака. Уровень двигательной активности гибридов первого поколения определялся генотипом матери, что свидетельствует о значительном влиянии материнских генов на его формирование (Брагина и др., 2007). Однако существенную роль в проявлении данного эффекта играют также эпигенетические механизмы, митохондрии и МГЭ.

Распределение значений ЛА у гибридов F₂ демонстрирует сложный характер наследования признака. Непрерывный характер распределения свидетельствует о детерминации данного признака большим числом генов.

Таким образом, установлено влияние генотипа и пола на локомоторную активность имаго линий дикого типа *D. melanogaster*, а также комбинированное влияние обоих факторов на данный показатель. Предполагается влияние МГЭ на изученный поведенческий признак. Обнаружено, что генотип матери оказывает существенное влияние на локомоторную активность потомков.

Благодарности

Авторы выражают свою признательность к.б.н., доценту кафедры общей и молекулярной генетики Киевского национального университета имени Тараса Шевченко Козерецкой Ирине Анатольевне за предоставленные линии *Drosophila melanogaster*, полученные из природных популяций, обитающих на территориях с повышенным уровнем радиационного загрязнения.

Список литературы

- Білоусов О.О., Козерецька І.А. Поширення мобільного елементу *hobo* в природних популяціях *Drosophila melanogaster* України // Матеріали I Міжнародної конференції «Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології». – Харків, 2008. – С. 76–78.
- Брагина Ю.В., Молотова Н.Г., Камышева Е.А. и др. Выявление генов дрозофилы, проявляющих поздний материнский эффект // Вестник ВОГиС. – 2007. – Т.11, №2. – С. 436–444.
- Гвоздев В.А. Подвижные ДНК эукариот. Ч.2. Роль и регуляция активности генов и эволюция генома // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – №8. – С. 15–21.
- Геодакян В.А. Онтогенетическое правило эволюционного диморфизма // Докл. АН СССР. – Т.269, №2. – 1983. – С. 477–481.
- Зайнуллин В.Г., Москалев А.А., Шапошников М.В., Шептякова А.И. Дрозофила в экспериментах с облучением в малых дозах // Вестник Национального ядерного центра Республики Казахстан. – 2002. – Вып.3. – С. 119–126.
- Кайданов Л.З., Мильников 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.
- Козерецкая И.А., Проценко А.В., Афанасьева Е.С. и др. Мутационные процессы в природных популяциях *Drosophila* и *Hirundo rustica* с радиационно-загрязненных территорий Украины // Цитология и генетика. – 2008. – Т.42, №4. – С. 63–68.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – Москва: Высшая школа, 1990. – 351с.
- Лучникова Е.М. Двигательная активность насекомых как фактор поведенческой устойчивости к инсектицидам // Исследования по генетике. – Изд-во ЛГУ, 1964. – №2. – С. 37–45.
- Марков А.В. Белок Hsp90 контролирует активность мобильных генетических элементов // Элементы [Электронный ресурс], 19.01.10. (<http://elementy.ru/news/431237>)
- Ратнер В.А., Васильева Л.А. Индукция транспозиций мобильных генетических элементов стрессовыми воздействиями // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т.6, №6. – С. 14–20.
- Ратнер В.А., Васильева Л.А. Мобильные генетические элементы (МГЭ) и эволюция геномов // Современные проблемы теории эволюции. – М.: Наука, 1993. – С. 43–59.
- Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск: Вышейш. школа, 1973. – 320с.
- Тимченко Д.С., Воробьева Л.И. Роль локомоторной активности в приспособленности линий дикого типа *Drosophila melanogaster* // Матеріали VII Міжнародної науково-практичної конференції «Наука і освіта 2004». – Дніпропетровськ, 2004. – С.6.
- Юраниева И.А. Действие хронического гамма-излучения на частоту доминантных летальных мутаций в популяциях экспериментальных линий *Drosophila melanogaster* // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. – 2002. – Вып.60. – С. 24–28.
- Connolly K. Locomotor activity in *Drosophila* // Anim. Behav. – 1967. – Vol.14. – P. 444–449.
- Elwyn Isaac R., Li C., Amy E.Leedale, Shirras A.D. *Drosophila* male sex peptide inhibits siesta sleep and promotes locomotor activity in the post-mated female // Proceedings of the Royal Society B. – 2009. – P. 1–6.
- Liu L., Davis R.L., Roman G. Exploratory activity in *Drosophila* requires the kurtz nonvisual arrestin // Genetics. – 2007. – Vol.175, №3. – P. 1197–1212.
- Meunier N., Belgacem Y.H., Jean-René Martin Regulation of feeding behaviour and locomotor activity by takeout in *Drosophila* // The Journal of Experimental Biology. – 2007. – Vol.210, №8. – P. 1424–1434.

Poeck B., Triphan T., Neuser K., Strauss R. Locomotor control by the central complex in *Drosophila* – an analysis of the tay bridge mutant // *Dev. Neurobiol.* – 2008. – Vol.68. – P. 1046–1058.

Shimizu H., Shimoda M., Yamaguchi T. et al. *Drosophila* ATF-2 regulates sleep and locomotor activity in pacemaker neurons // *Molecular and Cellular Biology.* – 2008. – Vol.28, №20. – P. 6278–6289.

Subramanian P., Sivaperumal R., Suthakar G. Rhythmic expression patterns of locomotor activity in mutants of *Drosophila melanogaster* under different wavelengths of light // *Biological Rhythm Research.* – 2009. – Vol.40, №3. – P. 279–287.

Vereshagina N.M., Iliadi I.K., Nikitich O.A. Comparative studies of P- and hobo-element activity, fitness components and recombination parameters in two natural populations of *Drosophila melanogaster* in Moldova // *Hereditas.* – 1994. – Vol.120. – P. 91–98.

Представлено: В.І.Россохою / Presented by: V.I.Rossoha

Рекомендовано до друку: А.В.Некрасовою / Recommended for publishing by: A.V.Nekrasova

Подано до редакції / Received: 15.04.2010.

© Д.С.Григор'єв, Л.І.Воробйова, 2010

© D.S.Grigoriev, L.I.Vorobyova, 2010