

УДК: 576.315: 577.3: 577.95: 577.71

Вплив штучних перебудов генотипу на адаптивно значущі ознаки поведінки *Drosophila melanogaster*

Н.Є.Волкова, Д.С.Григор'єв, В.В.Костенко, Л.І.Воробйова

Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна (Харків, Україна)
volkova_natalya@bk.ru

Вивчено вплив традиційно вживаних у класичній генетиці штучних перебудов генотипу на адаптивно значущі ознаки поведінки *Drosophila melanogaster*. Встановлено, що у контролі ознак поведінки дрозофіли генотип працює як цілісна система, отже маніпуляції з ним, що мають на меті надати генетичному матеріалові певного рівня однорідності, можуть неоднозначно впливати як на значення досліджуваних ознак, так і на низку їх супутніх характеристик (варіабельність у виборці, розподіл тощо). Показано, що сила та напрямок впливу певної процедури на кількісну ознаку може залежати від генетичного складу вихідного матеріалу, від особливостей реципієнтного генотипу (при комбінуванні чи заміщенні генетичного матеріалу) та від фізіологічної здатності організму реалізувати у повній мірі дану ознаку (наприклад, від статі особини або здатності особин доживати до віку, у якому дана ознака фіксується). Все це необхідно враховувати при проведенні генетичного аналізу комплексних ознак, зокрема поведінки.

Ключові слова: інбридинг, ізогенізація хромосом, заміщення генетичного фону, заміщення окремих хромосом, заміщення окремих локусів, компоненти статевої поведінки, локомоторна активність, *Drosophila melanogaster*.

Влияние искусственных перестроек генотипа на адаптивно значимые признаки поведения *Drosophila melanogaster*

Н.Е.Волкова, Д.С.Григорьев, В.В.Костенко, Л.И.Воробьева

Изучено влияние традиционно используемых в классической генетике искусственных перестроек генотипа на адаптивно значимые признаки *Drosophila melanogaster*. Установлено, что в контроле признаков поведения дрозофилы генотип работает как целостная система, следовательно, манипуляции с ним, имеющие целью придать генетическому материалу определённый уровень однородности, могут неоднозначно влиять как на значения исследуемых признаков, так и на ряд их сопутствующих характеристик (вариабельность в выборке, распределение и т.п.). Показано, что сила и направление влияния определённой процедуры на количественный признак может зависеть от генетического состава исходного материала, от особенностей реципиентного генотипа (при комбинировании или замещении генетического материала) и от физиологической способности организма реализовывать в полной мере данный признак (например, от пола особи или способности особей доживать до возраста, в котором он фиксируется). Всё это необходимо учитывать при проведении генетического анализа комплексных признаков, в частности поведения.

Ключевые слова: инбридинг, изогенизация хромосом, замещение генетического фона, замещение отдельных хромосом, замещение отдельных локусов, компоненты полового поведения, локомоторная активность, *Drosophila melanogaster*.

The effect of artificial genotype rearrangements on behavior adaptively significant traits of *Drosophila melanogaster*

N.Ye.Volkova, D.S.Grigoryev, V.V.Kostenko, L.I.Vorobyova

The effect of artificial reconstructions of genotype traditionally used in classical genetics on adaptively significant features of *Drosophila melanogaster* was studied. It has been established that in the control of behavior traits in *Drosophila* genotype acts as an integrated system, therefore manipulations with it, having to give a certain level of genetic homogeneity of material, can not uniformly affect both the value of the studied traits and the number of their attendant characteristics (variability in the sample, distribution, etc.). It has been shown that strength and direction of influence of a particular procedure at the quantitative criterion may depend on the genetic composition of the source material, on the characteristics of the recipient genotype (when combining or substituting the genetic material) and the physiological body's ability to implement fully this feature (for example, sex of individual or the ability of individuals to survive to the age when it is fixed). All this must be considered when carrying out genetic analysis of complex traits, including behavior.

Key words: inbreeding, chromosomes izogenization, genetic background substitution, chromosomes substitution, loci substitution, mating behavior components, locomotor activity, *Drosophila melanogaster*.

Вступ

У генетиці кількісних ознак (а саме ці ознаки є найбільш важливими і в селекції, і в медицині) сьогодні немає єдиної загально визнаної концепції, яка б пояснювала механізми успадкування і прояву таких ознак. Особливості структури і функціонування геному, які пов'язані з диференційним проявом кількісних ознак, вивчені недостатньо. У ряді попередніх робіт колективу кафедри генетики і цитології ХНУ розпочато дослідження будови і функціонування геному у зв'язку з проявом ознак пристосованості, поведінки, експресивністю деяких морфометричних ознак.

Вивчення впливу тих чи інших факторів середовища на організм передбачає використання генетично гомогенних вибірок. Зазвичай для досягнення цієї мети використовують інбредні лінії, що отримані у результаті близькоспоріднених схрещувань, або ізогенні лінії, у яких гомологічні хромосоми є гомозиготними завдяки серії схрещувань з особинами маркерних ліній. Ці та інші маніпуляції, що їх використовують генетики для надання досліджуваному матеріалу однорідності, насправді є штучним втручанням у певний генотип, та, у певному сенсі, є джерелом мінливості, як генетичної природи, так і модифікаційної. Особливості онтогенетичного розвитку та адаптивні можливості біонтів зі штучно синтезованими генотипами дотепер лишаються мало вивченими, хоча використання у генетиці, селекції та суміжних галузях науки генетично модифікованих організмів та форм із заміщеними хромосомами поширюється. Відомо, що у визначенні цілої низки ознак, що мають важливе для пристосованості значення – тривалість життя, плідність тощо (Tanaka, Yamazaki, 1990) – суттєву роль відіграє загальний генний баланс (Тоцький, Хаустова, 1996), а його порушення можуть бути наслідками будь-яких втручань у структуру генотипу (Левчук, Тоцький, 1998): введення у генотип чужорідних генів, заміщення окремих хромосом, зміни кількості хромосом чи їх ізогенізації. Тому нами було проведено дослідження впливу загальнозживаних у генетичній практиці штучних перебудов генотипу (інбридинг, ізогенізація хромосом, заміщення генетичного фону, заміщення окремих хромосом, заміщення окремих локусів) на деякі кількісні ознаки – адаптивно значущі ознаки статевої та локомоторної поведінки дрозофіли.

Матеріали та методи дослідження

У якості вихідного матеріалу використовували лінії *D. melanogaster* з колекції кафедри генетики і цитології ХНУ ім. В.Н. Каразіна: *Canton-S (C-S)*, *Oregon (Or)* – стандартні неселектовані (аутбредні) лінії дикого типу; *y* (1 – 0.0) – жовте тіло, *w* (1 – 1.5) – білі очі, *w^a* (1 – 1.5) – абрикосові очі, *w^{sat}* – коричнево-оранжевий колір очей, *b* (2 – 48.5) – чорне тіло – аутбредні мутантні лінії. Для проведення ізогенізації та заміщення окремих хромосом використовували лінії зі збалансованими летелями *Muller-5* і *Cy/Pm; D/Sb*.

Лінії та гібриди утримували у культуральних склянках (висота 10 см; діаметр 2,0 см; об'єм поживного середовища у кожній склянці – 5 мл) на стандартному дріжджовому середовищі у термостаті ($t=23\pm 1^\circ\text{C}$). У експеримент брали лише віргінних статевозрілих особин (вік – 3 доби). До досягнення необхідного віку самців та самок утримували окремо.

Статеву активність (СА) самців визначали за кількістю останніх, які здійснили парування упродовж 1 години (Полз, 1979; Субочева и др., 2003). Для цього особин поміщали до тестерної камери (хімічно чиста пробірка об'ємом 20 см³ без поживного середовища) у співвідношенні $2n_{\text{♀♀}}: n_{\text{♂♂}}$, де n – кількість особин (5 ± 2), та фіксували відсоток особин чоловічої статі, які здійснили парування упродовж 1 години. Аналіз статевої рецептивності (СР) самок проводили аналогічно, але особин брали у співвідношенні $n_{\text{♀♀}}: 2n_{\text{♂♂}}$ та фіксували долю самок, які здійснили парування упродовж 1 години. Варіанти, коли жодна з пар у копуляцію не вступила, приймали за «0». Загальний час спостереження – 60 хв. Тривалість копуляції (ТК) вимірювали від моменту початку акту копуляції до його завершення. Затримку копуляції (ЗК) визначали як час від моменту розміщення особин у тестерній камері до вступу пари у копуляцію (Moehring, Maskay, 2004; Basso da Silva, Valente, 2000). Враховували всі пари, які здійснили копуляцію. Використовували такі показники: затримка копуляції (для кожної пари окремо), затримка копуляції (1) (для першої пари у групі), затримка копуляції (сер.) (середнє по групі). У варіантах, коли жодна пара не вступила у копуляцію, тривалість копуляції приймали за «0», а затримку копуляції – за «60 хв». Часові характеристики парування аналізували з урахуванням умов конкуренції (залежно від того, чи у групі завдано надлишок самок або самців). Експерименти повторювали тричі.

Спонтанну рухову активність імаго оцінювали індивідуально за методикою «відкритого поля» (Burnet, Conolly, 1984). Особину поміщали до чашки Петрі, дно якої розкреслене на квадрати з довжиною сторони 5 мм. Спостереження проводили упродовж двох хвилин та визначали сумарну довжину пробігу кожної особини. Аналіз показників самців та самок проводили окремо.

Вплив інбридингу на прояв ознак поведінки визначали у лінії *C-S₁₄₆*, яка була отримана з вище вказаної аутбредної лінії дикого типу шляхом жорсткого інбридингу впродовж 146 поколінь.

Для проведення ізогенізації хромосом 2 та 3 *D. melanogaster* використовували стандартну систему схрещувань з використанням лінії зі збалансованими летальними мутаціями (табл. 1).

Ізогенізацію хромосом проводили в лініях C-S та Or окремо. У результаті були отримані дві лінії C- S_{iso} та Or- iso , гени хромосом 2 та 3 яких виведені у гомозиготу.

При вивченні впливу заміщення окремих пар хромосом на компоненти статевої поведінки використовували лінії зі збалансованими летелями для заміщення хромосом у генотипі однієї лінії на хромосоми іншої лінії згідно загальноновживаної методики (Ashburner, 2005; Пасюкова и др., 1984). У результаті отримали дві лінії: 1) ♀A1; B2; B3 і ♂A1/Y_B; B2; B3 – особини мають X-хромосому з лінії C-S, а всі інші хромосоми з лінії Or (далі у тексті позначається як A; B; B); 2) ♀B1; A2; A3 і ♂B1/Y_A; A2; A3 – особини мають X-хромосому з лінії Or, а всі інші – з лінії C-S (B; A; A).

Таблиця 1.

Система схрещувань для проведення ізогенізації хромосом 2 та 3

P: ♀ wt2/wt2; wt3/wt3 x ♂ Cy/Pm; D/Sb			
F ₁ : wt2/Cy; wt3/D	wt2/Cy; wt3/Sb	wt2/Pm; wt3/D	wt2/Pm; wt3/Sb
P ₂ : ♀ wt2/Cy; wt3/D x ♂ wt2/Cy; wt3/D			
F ₂ : ♀ wt2/wt2; wt3/wt3 (ізогенна) x ♂ wt2/wt2; wt3/wt3 (ізогенна)			
F ₃ : wt2/wt2; wt3/wt3 (ізогенна)			

Примітка: wt2 – хромосома 2 лінії дикого типу; wt3 – хромосома 3 лінії дикого типу.

Для вивчення впливу заміщення загального генетичного фону та окремих локусів на ознаки поведінки попередньо проводили насичуючі схрещування мутантних ліній з певною лінією дикого типу в умовах направленного добору на маркерну мутацію та отримували вирівняні за генотипом мутантні лінії (Никоро, Васильєва, 1978).

Використовували методи статистичного аналізу: критерій Краскелла-Уолліса (для непараметричних ознак); дисперсійний аналіз кількісних ознак (силу впливу (h_x^2) оцінювали за методами М.Снедекора та М.О.Плохінського); для оцінки зв'язків між ознаками використовували коефіцієнт кореляції Пірсона (r) та коефіцієнт кореляції рангів К.Спірмена (r_s) (Плохінский, 1978; Рокицкий, 1978; Лакин, 1990). При виконанні розрахунків використовували програмне забезпечення STATISTICA 6.0.

Результати та обговорення

Вплив інбридингу на ознаки статевої поведінки дрозофіли

Результати дослідження впливу інбридингу на показники, що характеризують статево поведінку самиць та самців дрозофіли, показали відсутність істотних змін середніх значень вивчених ознак у інбредній лінії порівняно з контрольною аутбредною (табл. 2).

Таблиця 2.

Показники статевої поведінки інбредної та аутбредної ліній залежно від умов конкуренції

Лінія	СА самців	Ознака			
		за умов надлишку самиць			
		ЗК1	ЗКсер.	ТК1	ТКсер.
C-S	72,44±7,15	5,67±0,99	24,22±3,75	24,67±0,95	23,19±2,37
C-S ₁₄₆	74,79±7,82	11,91±3,54	25,5±3,86	24,97±2,63	19,26±2,02
	CP самиць	за умов надлишку самців			
C-S	56,79±9,44	13,41±4,37	31,92±5,02	20,71±2,26	14,48±2,42
C-S ₁₄₆	69,17±6,08	6,88±0,89	26,53±3,20	24,13±0,69	18,63±1,83

Найбільш чутливою до дії досліджуваного фактору ознакою виявилась затримка копуляції першої пари (ЗК1). За цим показником інбредна лінія майже вдвічі відрізняється від контрольної. Слід також зазначити, що за умов надлишку самиць (тобто відсутності конкуренції за самицю між самцями) для аутбредної лінії характерна менш тривала затримка копуляції першої пари порівняно з інбредною; в умовах, коли така конкуренція з'являється, істотно подовжується затримка копуляції першої пари аутбредної лінії, у той час як даний показник для інбредної лінії знижується.

Аналіз статистичних показників, що характеризують варіабельність досліджуваних ознак (табл. 3), не виявив однозначної тенденції. Так, варіабельність показника статевої активності самців більша у інбредній лінії. А варіабельність статевої рецептивності самиць, навпаки, знижується після інбридингу. Отже, можна сказати, що навіть у інбредній лінії підтримується певне розмаїття генотипних комбінацій у

самців, що проявляється у різному рівні їх статевої активності. У той же час інбридинг, імовірно, призводить до несвідомого добору серед самиць на певний рівень (з огляду на середні значення показника – табл. 2, цей рівень – дещо вищий за середній) статевої рецептивності.

Істотні зміни після інбридингу відбуваються із варіабельністю затримки та тривалості копуляції першої пари, причому напрямом змін є прямо протилежним, залежно від умов конкуренції. А саме, за умов надлишку самиць варіабельність обох показників різко збільшується після інбридингу. А за умов надлишку самців, навпаки, істотно зростає. В умовах надлишку самців, взагалі, зменшується варіабельність усіх показників, що характеризують часові параметри паруння, а отже, можна говорити про певний несвідомий добір, причому на досить середні значення показників (табл. 2).

Таблиця 3.

Варіабельність показників статевої поведінки інбредної та аутбредної лінії залежно від умов конкуренції

Ознака	Дисперсія		Ст. відхилення	
	C-S	C-S ₁₄₆	C-S	C-S ₁₄₆
СА самців	765,8174	978,4464	27,67341	31,28013
CP самиць	1513,322	591,88	38,90	24,33
за умови надлишку самиць				
ЗК1	14,6667	200,4073	3,82971	14,15653
ЗКсер.	210,4950	238,4770	14,50845	15,44270
ТК1	13,6667	110,7490	3,69685	10,52373
ТКсер.	84,2253	65,0229	9,17744	8,06368
за умови надлишку самців				
ЗК1	325,382	12,52	18,04	3,54
ЗКсер.	427,540	163,8498	20,67704	12,80038
ТК1	86,721	7,5833	9,31239	2,75379
ТКсер.	99,908	53,7348	9,99542	7,33040

Багато хто з дослідників намагався довести припущення, що підвищений рівень гетерозиготності призводить до більшої онтогенетичної стабільності, який, у свою чергу, проявляється у зменшенні фенотипової варіації. Але це співвідношення виявилось залежним від досліджуваної ознаки як такої. Для більшості морфологічних ознак природний добір підтримує сильну каналізацію розвитку. Але для полегшення вироблення відповідей на зміни середовища організм має зберігати гнучкість фізіологічних та поведінкових ознак. Такі різні типи добору повинні приводити до існування різних генетичних архітектонік відповідних ознак. Так, у дослідженнях W.E.Crusio показано, що гібридні миші є більш варіабельними, ніж відповідні предкові інбредні лінії за ознаками поведінки у відкритому полі та морфометричними ознаками гіпокампу (Crusio, 2006).

Аналіз розподілу показників статевої поведінки виявив, у певних випадках, його зміну у зв'язку з інбридингом (табл. 4). Так, ознака статевої рецептивності самиць характеризується ненормальним розподілом у виборці аутбредної лінії, а після 146 поколінь інбридингу відбувається його нормалізація. Такі самі зміни відбуваються із показниками затримки копуляції в умовах надлишку самців. В умовах надлишку самиць відбуваються протилежні зміни, тобто розподіл стає з нормального ненормальним, за ознаками затримки копуляції першої пари та середньої по групі тривалості копуляції.

Для жодної з досліджуваних ознак не було доведено (критерій Краскелла-Уолліса) впливу інбридингу. Цей факт, з одного боку, є дивним, адже інбридинг є відомим досить потужним фактором, що впливає як на кількісні ознаки, що характеризують пристосованість в цілому (плодючість, життєздатність тощо) (Айала, Кайгер, 1988), так і на певні ознаки поведінки тварин (Зорина і др., 2002). З іншого боку, вплив інбридингу, імовірно, може лишатися відносно непомітним, у випадку, якщо несвідомий добір, що його супроводжує, направлений на середні значення досліджуваної ознаки (а не на максимальні чи мінімальні). Або ж якщо досліджувані ознаки проявляються/вивчаються в особин певного віку, до якого не доживають найменш пристосовані генотипові комбінації, що вищеплюються у ході інбридингу.

Не виявлено однозначної тенденції щодо впливу інбридингу на зв'язок між окремими ознаками, що характеризують статево поведінку дрософіли (табл. 5). Так, статева активність самців характеризується від'ємним зв'язком із обома показниками затримки копуляції. При цьому інбридинг не впливає ані на силу цієї кореляції, ані на її напрям. Тобто більш активні самці раніше вступають у паруння. Зв'язок статевої активності самців із показниками тривалості копуляції не такий стабільний. Достатньо сильна

додатна кореляція спостерігається між статевою активністю самців та середньою по групі тривалістю копуляції в інбредній лінії: тобто, більш активним самцям інбредної лінії притаманний більш тривалий акт копуляції. Аналогічним чином пов'язана із часовими характеристиками парування і статева рецептивність самиць.

Таблиця 4.

Характеристика розподілу показників статевої поведінки інбредної та аутбредної ліній залежно від умов конкуренції

Ознака	C-S			C-S ₁₄₆		
	розподіл	W	p	розподіл	W	p
СА самців	He N	0,86	0,03	He N	0,79	0,002
CP самиць	He N	0,86	0,01	N	0,89	0,06
за умови надлишку самиць						
ЗК1	N	0,91	0,15	He N	0,63	0,00003
ЗКсер.	N	0,95	0,5	N	0,90	0,08
ТК1	He N	0,88	0,04	He N	0,81	0,004
ТКсер.	N	0,94	0,36	He N	0,84	0,009
за умови надлишку самців						
ЗК1	He N	0,60	0,00001	N	0,96	0,61
ЗКсер.	He N	0,87	0,02	N	0,94	0,35
ТК1	He N	0,83	0,004	He N	0,88	0,04
ТКсер.	N	0,94	0,28	N	0,95	0,46

Таблиця 5.

Характеристика зв'язків між ознаками статевої поведінки інбредної та аутбредної ліній залежно від умов конкуренції

Ознака	C-S		C-S ₁₄₆		Зміна знаку	P (Δr)
	r	p	r	p		
СА самців – ЗК1	-0,726	0,001	-0,70	0,003	ні	0,89
СА самців – ЗКсер.	-0,89	0,001	-0,96	0,001	ні	0,19
СА самців – ТК1	-0,47	0,08	0,46	0,07	так	–
СА самців – ТКсер.	0,36	0,189	0,94	0,001	ні	–
CP самиць – ЗК1	-0,70	0,002	-0,71	0,002	ні	0,96
CP самиць – ЗКсер.	-0,99	0,001	-0,96	0,001	ні	0,08
CP самиць – ТК1	0,19	0,46	0,42	0,099	ні	–
CP самиць – ТКсер.	0,97	0,001	0,96	0,001	ні	0,71
за умови надлишку самиць						
ЗК1 – ЗКсер.	0,70	0,004	0,73	0,001	ні	0,88
ЗК1 – ТК1	0,21	0,46	-0,58	0,02	так	–
ЗК1 – ТКсер.	-0,23	0,41	-0,67	0,004	ні	–
ЗКсер. – ТК1	0,52	0,045	-0,45	0,08	так	–
ЗКсер. – ТКсер.	-0,44	0,098	-0,91	0,001	ні	–
ТК1 – ТКсер.	0,26	0,35	0,65	0,007	ні	–
за умови надлишку самців						
ЗК1 – ЗКсер.	0,67	0,003	0,81	0,001	ні	0,43
ЗК1 – ТК1	-0,74	0,001	-0,25	0,36	ні	–
ЗК1 – ТКсер.	-0,68	0,003	-0,67	0,004	ні	0,96
ЗКсер. – ТК1	-0,17	0,53	-0,40	0,13	ні	–
ЗКсер. – ТКсер.	-0,97	0,001	-0,93	0,001	ні	0,28
ТК1 – ТКсер.	0,26	0,31	0,51	0,045	ні	–

Часові характеристики парування також пов'язані між собою. Причому найбільш константною є кореляція між затримкою копуляції першої пари та середнім показником по групі. Незалежно від умов конкуренції та ступеню гомозиготності лінії, що раніше у парування вступить перша пара, то меншим

буде середній показник затримки по групі. Це зайвий раз доводить показаний нами раніше (Волкова, 2007) факт, що загострення конкуренції за статевого партнера дійсно стимулює інших особин групи до вступу у парування. Кореляція між іншими часовими характеристиками парування певною мірою залежить або від впливу інбридингу, або від умов конкуренції.

Аналіз показників затримки копуляції та її тривалості для кожної пари окремо показав, що за умови надлишку самиць між затримкою копуляції та її тривалістю існує від'ємна кореляція. Причому після інбридингу цей зв'язок посилюється: $r_{C-S} = -0,43$ ($p < 0,05$); $r_{C-S^{146}} = -0,85$ ($p < 0,05$). За умови надлишку самців між даними показниками також спостерігається від'ємна кореляція. Але різниці між аутбредною та інбредною лінією немає: $r_{C-S} = -0,93$ ($p < 0,001$); $r_{C-S^{146}} = -0,90$ ($p < 0,001$). Таким чином, отримані результати дозволяють стверджувати, що аутбредна та інбредна лінії по-різному реагують на зміни умов конкуренції.

Якщо говорити про зміни, що відбуваються у інбредних організмах на молекулярному чи біохімічному рівні, варто відзначити вплив даного фактору на патерни генної експресії. Так, доведено, що деякі метаболічні гени змінюють свою експресію в інбредних лініях (Kristensen et al., 2006).

У генетиці поведінки тварин досить широко вживаним є створення інбредних ліній. Вважають, що вони представляють собою цілі популяції генетично майже ідентичних особин, що отримані шляхом схрещування повних братів та сестер у низці поколінь (або, останнім часом, шляхом клонування). Проводиться пошук варіацій у поведінці між різними лініями, що вирощуються в ідентичних умовах, як доказ наявності генетичної компоненти тієї чи іншої ознаки поведінки. З іншого боку, ведеться пошук варіацій і у самій лінії. Оскільки всі особини інбредної лінії вважаються генетично однаковими, розбіжності у поведінці, що їх спостерігають, можуть бути зумовлені пре- чи постнатальними факторами середовища (Baker, 2007). Однак інформація, яку можна отримати шляхом простого порівняння ліній за особливостями поведінки у відношенні їх можливих фізіологічних механізмів, відносно невелика та доволі протирічна. Тому інбредні лінії більш доцільно використовувати не для простої констатації поведінкових розбіжностей, а для направленої аналізу генетично зумовлених кореляцій їх з нейрофізіологічними та біохімічними ознаками (Физиологическая генетика, 1976).

Дослідження генетичних закономірностей успадкування кількісних ознак у селекційних експериментах та при порівнянні інбредних ліній забезпечують базис для оцінки успадкування складних ознак поведінки. Самі по собі ці методи, на жаль, не можуть відповісти на запитання щодо кількості генів, що забезпечують генетичну мінливість за даною ознакою і, тим більше, щодо їх локалізації (Зорина и др., 2002). Але саме отримання інбредних ліній та їх аналіз ліг у основу таких сучасних методів генетики поведінки, як метод рекомбінантних інбредних ліній (PIЛ) та порівняння характеру розподілу значень різних ознак у групі PIЛ (strain distribution pattern), та метод QTL (quantitative trait loci) аналізу.

Вплив ізогенізації хромосом 2 та 3 на локомоторну активність дрозофіли

Традиційно метод ізогенізації вважають найбільш ефективним методом отримання генетично однорідного матеріалу у *Drosophila melanogaster*. Процедура ізогенізації полягає у тому, що одинична особина з «нормальними» хромосомами, яка взята з гетерогенної лінії, схрещується з особиною, яка несе балансерні хромосоми. Оскільки у результаті кросинговеру між «нормальною» та інвертованою хромосомами виникають хромосоми з двома центромірами або без центромір, такі гамети анеуплоїдні. З цієї причини теоретично вважають, що у таких ситуаціях кросинговер запертий. У результаті послідовних схрещувань та добору від однієї особини з гетерогенної лінії можна отримати декілька ізогенних ліній, що мають подвоєний гаплоїдний набір хромосом цієї вихідної особини у різних комбінаціях. Але основне запитання полягає у наступному: чи дійсно за допомогою балансерних хромосом відбувається стовідсоткове запирання перехресту хромосом? Теоретично існує можливість виникнення подвійного рекомбінаційного обміну, у результаті якого можуть виникати життєздатні гамети. У ході численних експериментів було виявлено, що дані гібридизації *in situ* та порівняльний аналіз фенотипових значень ознак у гетерогенних та ізогенних лініях свідчать на користь того, що балансерні лінії допускають певний відсоток рекомбінаційних обмінів між хромосомами і, як наслідок, не є облігатними запирачами кросинговеру (Васильєва, 2004). Інше питання, що постає у зв'язку з ізогенізацією, – як довго зберігається ізогенний стан та за рахунок чого він втрачається? Відповідь на це питання важлива також для генетиків-селекціонерів, адже господарсько-цінні ознаки зазвичай намагаються закріплювати у чистих лініях, які згодом доводиться оновлювати.

Даний експеримент мав на меті вивчити зміни, що відбуваються з такою адаптивно значущою ознакою поведінки, як локомоторна активність, у генетично різних лініях дрозофіли у зв'язку з ізогенізацією хромосом 2 та 3. У цьому експерименті використали чотири лінії: *C-S*, *Or*, у та *b*. З огляду на отримані результати (табл. 6), можна сказати, що різні генотипи по-різному реагують на ізогенізацію хромосом 2 та 3. Причому прояв локомоторної активності є стать-специфічним.

Таблиця 6.

Локомоторна активність та характеристики її варіабельності у аутбредних та ізогенних ліній дрозофіли залежно від генотипу та статі особин

Лінія	$m \pm m_s$		Дисперсія		Ст. відхилення	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
C-S	123,03±8,76	162,11±13,91	5942,63	7157,16	77,09	84,60
C-S _{iso}	106,19±5,69	100,32±7,51	3887,55	3889,37	62,35	62,37
Or	40,80±6,94	44,59±10,31	2935,59	3616,19	54,18	60,14
Or _{iso}	81,29±16,21	114,17±24,27	3679,76	3533,77	60,66	59,45
y	70,16±14,97	90,00±13,66	5600,31	4666,92	74,84	68,32
y _{iso}	116,56±10,68	143,14±12,28	3875,28	4220,50	62,25	64,97
b	143,43±15,93	124,81±17,10	7612,88	9064,63	91,18	95,21
b _{iso}	141,35±19,27	168,67±21,49	6310,89	8314,35	79,44	87,25

Зокрема, локомоторна активність особин порівняно високо рухливої лінії C-S знижується після ізогенізації хромосом 2 та 3. Реакція самців є більш гострою у порівнянні з самицями. Для обох статей спостерігається суттєве зменшення варіабельності даної ознаки. З іншого боку, ізогенізація хромосом 2 та 3 відносно повільної лінії Or призводить до стрімкого підвищення локомоторної активності як самиць, так і самців отриманої ізогенної лінії. Більш виражений ефект також є характерним для самців, хоча варіабельність досліджуваної ознаки серед самців практично не змінюється. Самиці ж ізогенної лінії Or є більш варіабельними за ознакою локомоторної активності у порівнянні з такими відповідної аутбредної лінії. Подібні зміни виявляються також у мутантній лінії у після ізогенізації хромосом 2 та 3. Локомоторна активність особин мутантної лінії b практично не змінюється після ізогенізації незалежно від статі, хоча і спостерігається тенденція до звуження її варіабельності для обох статей.

За допомогою дисперсійного аналізу кількісних ознак доведено (табл. 7), що ізогенізація хромосом 2 та 3 впливає на локомоторну активність особин дрозофіли, причому цей вплив залежить від генотипу та, зокрема, статі.

Таблиця 7.

Вплив генетичних факторів на локомоторну активність імаго дрозофіли

Фактор	SS	D. f.	MS	F	p
Генотип	215794	3	71931	14,53	0,001
Ізогенізація хромосом 2 та 3	44424	1	44424	8,97	0,003
Стать	23252	1	23252	4,70	0,03
Генотип + ізогенізація хромосом 2 та 3	218920	3	72973	14,74	0,001
Генотип + стать	4553	3	1518	0,31	0,82
Ізогенізація хромосом 2 та 3 + стать	2019	1	2019	0,41	0,52
Комбінація трьох факторів	44146	3	14715	2,97	0,03
Неконтрольовані фактори	3020650	610	4952		

Силу впливу окремих факторів на локомоторну активність імаго дрозофіли у даному випадку оцінювали за методом Плохінського. Виявилось, що доля міжгрупової варіації, зумовленої генотипом, у загальному варіюванні досліджуваної ознаки складає 6±0,5 %. Сила впливу фактору ізогенізації – 1,2±0,1 %. Стать особини зумовлює 0,5±0,1 % варіювання локомоторної активності. Ще 6±1,1 % міжгрупової варіації є результатом взаємодії факторів генотипу та ізогенізації. Сила комбінованого впливу всіх трьох факторів складає 1,1±0,2 %. 84% варіації зумовлює дія неконтрольованих у експерименті факторів.

З одного боку, очікували, що ізогенізація хромосом 2 та 3 буде досить сильним самостійним фактором, що призводить до зміни локомоторної активності імаго дрозофіли, адже ізогенізація, як відомо, призводить до підвищення рівня гомозиготності лінії. З іншого боку, відповідно до даних деяких авторів (Васильєва, 2004), ізогенізація є потужним стресовим фактором та, імовірно, індукує стрес-відповідь із цілим спектром відповідних проявів. Відсутність же яскраво вираженого впливу даного фактору на локомоторну активність особин може бути пов'язана з індукцією переміщень мобільних генетичних елементів, що перешкоджає повній гомозиготизації двох великих аутосом. Також відомі свідчення (Захаренко и др., 2009), що ізогенізація хромосом ліній дрозофіли не є абсолютною, оскільки

балансерні хромосоми не запирають кросинговер повністю, тобто поліморфність частини генів в ізогенних лініях існує від початку. Крім того, у мутантних лініях можуть мати місце моногенні ефекти самих мутацій.

Вплив ізогенізації та заміщення хромосом 2 або 3 на локомоторну активність дрозофіли

Процедуру створення ліній, які несуть у своєму хромосомному наборі хромосоми інших ліній, використовують у генетичному аналізі кількісних ознак для виявлення внеску окремих хромосом у контроль тієї чи іншої ознаки. Технічно, синтезовані лінії є також ізогенними. Даний етап експерименту передбачав вивчення змін локомоторної активності імаго дрозофіли, які відбуваються внаслідок заміщення однієї з двох великих аутосом на аналогічну хромосому з іншої лінії. У дослідженні використали дві мутантні лінії – у та b.

Результати дослідження показали (табл. 8), що хоча самі по собі ізогенні лінії у та b істотно не відрізняються за показником локомоторної активності імаго, заміщення хромосоми 3 у генотипі у на відповідну з генотипу b призводить до зниження досліджуваного показника.

Таблиця 8.

Локомоторна активність та характеристики її варіабельності ізогенних та синтезованих ліній дрозофіли залежно від статі особин

Лінія (генотип)	m ± m _s		Дисперсія		Ст. відхилення	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
у _{iso} (2-у; 3-у)	116,56±10,68	143,14±12,28	3875,28	4220,50	62,25	64,97
у _{синт} (2-у; 3-b)	95,46±10,71	62,95±13,01	4707,65	4059,25	68,61	63,71
b _{iso} (2-b; 3-b)	141,35±19,27	168,67±21,49	6310,89	8314,35	79,44	87,25
b _{синт} (2-b; 3-у)	149,37±11,89	196,66±13,07	5655,83	5643,60	75,20	75,12

Отже, можна припустити, що у хромосомі 3 лінії b існує ген (або комплекс генів), продукти якого сприяють зниженню локомоторної активності імаго. У той же час сама ізогенна лінія b та лінія b аутобредна (вихідна) характеризуються достатньо високим рівнем локомоторної активності (табл. 6), що може свідчити про наявність у їхніх генотипах певних компенсуючих чи блокуючих механізмів (не у хромосомі 3), які відсутні у генотипі лінії у. Зниження показника в ізогенній лінії у при заміщенні хромосоми 3 підтверджує дисперсійний аналіз (F=18,37, p<0,001). Причому ступінь змін, що їх викликає заміщення, залежить від статі особини (F=6,25, p<0,01).

Заміщення хромосоми 3 в ізогенному генотипі b на таку з генотипу у не призводить до суттєвих змін у локомоторній активності імаго.

Досліджуваний фактор також істотно не вплинув на варіабельність особин за ознакою локомоторної активності.

Таким чином, поки що можна зробити висновок, що той вплив, який буде здійснювати комбінування хромосом, на ту чи іншу кількісну ознаку буде, в першу чергу, залежати від генетичного складу хромосоми, яку вносять, від особливостей реципієнтного генотипу та від фізіологічної здатності організму реалізувати у повній мірі дану ознаку.

Вплив заміщення загального генетичного фону на локомоторну активність імаго дрозофіли

Приведення мутантних ліній до єдиного загального генетичного фону є обов'язковою та необхідною процедурою при вивченні впливу окремих локусів на кількісні ознаки. У даному експерименті була поставлена мета – дослідити зміни локомоторної активності імаго у мутантних лініях при заміщенні в них загального генетичного фону на генетичний фон лінії дикого типу. Використовували аутобредну лінію дикого типу C-S та аутобредні мутантні лінії з різними алелями гену w: w^a (1 – 1.5) – абрикосові очі та w^{sat} – коричнево-оранжевий колір очей.

Результати дослідження показали (табл. 9), що заміщення генетичного фону у лінії w^a на такий з лінії дикого типу C-S призводить до стрімкого підвищення локомоторної активності як самиць, так і самців. Крім того, істотно збільшується і варіабельність даного показника, особливо у самців. Вплив фактору заміщення генетичного фону підтверджує також дисперсійний аналіз (F=37,82, p<0,001).

З іншого боку, заміщення генетичного фону у лінії w^{sat} на такий з лінії C-S не призвело до істотних змін показника локомоторної активності. У даному випадку лише стать особини є визначальним фактором для досліджуваного показника (F=5,82, p<0,05).

Таблиця 9.

Локомоторна активність та характеристики її варіабельності у вихідних та синтезованих ліній дрозофіли залежно від статі особин

Лінія (генотип)	$m \pm m_s$		Дисперсія		Ст. відхилення	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂
C-S	79,12±8,58	113,98±9,72	4643,33	5679,77	68,14	75,36
w^a	39,17±5,66	52,25±8,25	2021,50	4085,03	44,96	63,91
w^a_{C-S}	71,05±14,24	159,82±20,21	6904,06	13891,73	83,09	117,86
w^{sat}	81,60±8,02	117,60±11,06	4059,14	7346,34	63,71	85,71
w^{sat}_{C-S}	99,72±10,38	115,21±11,82	3988,59	5174,84	63,15	71,93

Висновки

Вивчено вплив штучних перебудов генотипу (інбридинг, ізогенізація хромосом, заміщення генетичного фону, заміщення окремих хромосом, заміщення окремих локусів) на адаптивно значущі ознаки поведінки (компоненти статевої поведінки, локомоторну активність) *Drosophila melanogaster*. Проведені дослідження свідчать про те, що у контролі ознак поведінки дрозофіли генотип працює як цілісна система. Будь-які маніпуляції з ним, що мають на меті надати генетичному матеріалові певного рівня однорідності, можуть неоднозначно впливати як на самі значення досліджуваних ознак, так і на низку їх супутніх характеристик (варіабельність у виборці, розподіл тощо). Сила та напрямок впливу певної процедури на ту чи іншу кількісну ознаку буде, імовірно, залежати від генетичного складу вихідного матеріалу, від особливостей реципієнтного генотипу (при комбінуванні чи заміщенні генетичного матеріалу) та від фізіологічної здатності організму реалізувати у повній мірі дану ознаку (наприклад, від статі особини або здатності особин доживати до віку, у якому дана ознака фіксується). Все це необхідно враховувати при проведенні генетичного аналізу комплексних ознак, зокрема поведінки.

Список літератури

- Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика (в трёх томах). Т.3. – М.: «Мир», 1988. – 335с. /Ayala F., Kayger Dzh. Sovremennaya genetika (v trekh tomakh). T.3. – M.: «Mir», 1988. – 335s./
- Васильева Л.А. Влияние изогенизации на фенотипическое проявление количественных признаков у *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 2004. – Т.40, №8. – С. 1053–1057. /Vasil'yeva L.A. Vliyaniye izogenizatsii na fenotipicheskoye proyavleniye kolichestvennykh priznakov u *Drosophila melanogaster* // Genetika. – 2004. – T.40, №8. – S. 1053–1057./
- Волкова Н.Є. Генетичний аналіз компонентів статевої поведінки *Drosophila melanogaster* Meig. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Харків, 2007. – 22с. /Volkova N.Ye. Genetychnyy analiz komponentiv statevoi povedinki *Drosophila melanogaster* Meig. Avtoref. dys. ... kand. biol. nauk. – Kharkiv, 2007. – 22s./
- Захаренко Л.П., Перепелкина М.П., Васильева Л.А. Как долго сохраняется изогенное состояние в линиях *Drosophila melanogaster*? // Материалы Съезда генетиков и селекционеров, посвященного 200-летию со дня рождения Чарльза Дарвина и 5 Съезда ВОГиС, объединённого. – Москва, 2009. – Т.1. – С.80. /Zakharenko L.P., Perepelkina M.P., Vasil'yeva L.A. Kak dolgo sokhranyayetsya izogennoye sostoyaniye v liniyakh *Drosophila melanogaster*? // Materialy Syezda genetikov i selektsionerov, posvyashchennogo 200-letiyu so dnya rozhdeniya Charl'za Darvina i 5 Syezda VOGiS, obyedinennogo. – Moskva, 2009. – T.1. – S.80./
- Зорина З.А., Полетаева И.И., Резникова Ж.И. Основы этологии и генетики поведения. Учебник. 2-е изд. – М., МГУ: Изд-во «Высшая школа», 2002. – 383с. /Zorina Z.A., Poletayeva I.I., Reznikova Zh.I. Osnovy etologii i genetiki povedeniya. Uchebnyk. 2-e izd. – M., MGU: Izd-vo «Vysshaya shkola», 2002. – 383s./
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – Москва: «Высшая школа», 1990. – 351с. /Lakin G.F. Biometriya. – Moskva: «Vysshaya shkola», 1990. – 351s./
- Левчук Л.В., Тоцький В.М. Заміщення хромосом і пристосованість генотипів *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. – 1998. – Т.32, №2. – С. 42–48. /Levchuk L.V., Tots'kyy V.M. Zamishchennya khromosom i prystosovanist' genotypiv *Drosophila melanogaster* // Tsyetologiya i genetika. – 1998. – T.32, №2. – S. 42–48./
- Никоро З.С., Васильева Л.А. Проблема изменчивости и отбора по количественным признакам на примере популяции *Drosophila* // В кн.: Дрозофила в экспериментальной генетике. – Новосибирск, «Наука», 1978. – С. 196–243. /Nikoro Z.S., Vasil'yeva L.A. Problema izmenchivosti i otbora po kolichestvennym priznakam na primere populyatsii *Drosophila* // V kn.: Drozofila v eksperimental'noy genetike. – Novosibirsk, «Nauka», 1978. – S. 196–243./
- Пасюкова Е.Г., Беляева Е.С., Коган Г.Л. и др. Транспозиции мобильных диспергированных генов, коррелирующие с изменением приспособленности, у *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 1984. – Т.20, №11. – С. 1772–1781. /Pasyukova Ye.G., Belyayeva Ye.S., Kogan G.L. i dr. Transpozitsii mobil'nykh dispergirovannykh genov, korreliuyushchiye s izmeneniyem prisposoblennosti, u *Drosophila melanogaster* // Genetika. – 1984. – T.20, №11. – S. 1772–1781./

- Плохинский Н.А. Математические методы в биологии. – М.: Изд-во МГУ, 1978. – 265с. /Plokhinskiy N.A. Matematicheskiye metody v biologii. – M.: Izd-vo MGU, 1978. – 265s./
- Полэ И.Р. Анализ генетической детерминации половой активности самцов *Drosophila melanogaster*. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.15 / ЛГУ. – Л., 1979. – 20с. /Pole I.R. Analiz geneticheskoy determinatsii polovoy aktivnosti samtsov *Drosophila melanogaster*. Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk: 03.00.15 / LGU. – L., 1979. – 20s./
- Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. – Минск: «Высшая школа», 1978. – 447с. /Rokitskiy P.F. Vvedeniye v statisticheskuyu genetiku. – Minsk: «Vysheyshaya shkola», 1978. – 447s./
- Субочева Е.А., Романова Н.И., Карпова Н.Н. и др. Репродуктивное поведение самцов в линиях *Drosophila melanogaster*, отличающихся по аллелям гена *flamenco* // Генетика. – 2003. – Т.39, №5. – С. 675–681. /Subocheva Ye.A., Romanova N.I., Karpova N.N. i dr. Reprodukivnoye povedeniye samtsov v liniyakh *Drosophila melanogaster*, otlichayushchikhsya po allelyam gena flamenco // Genetika. – 2003. – T.39, №5. – S. 675–681./
- Тоцький В.М., Хаустова Н.Д. Ген-ензимна система алкогольдегідрогеназ і адаптивна здатність *Drosophila melanogaster* // Укр. біохім. журн. – 1996. – Т.68, №3. – С. 62–67. /Tots'kiy V.M., Khaustova N.D. Gen-enzymna systema alkohol'degidrogenaz i adaptivna zdatnist' *Drosophila melanogaster* // Ukr. biokhim. zhurn. – 1996. – T.68, №3. – S. 62–67./
- Физиологическая генетика / Под ред. М.Е.Лобашева, С.Г.Инге-Вечтомова. – Л.: «Медицина», 1976. – 427с. /Fiziologicheskaya genetika / Pod red. M.Ye.Lobasheva, S.G.Inge-Vechtomova. – L.: «Meditsina», 1976. – 427s./
- Ashburner M. *Drosophila: a laboratory handbook* / Ed. M.Ashburner, K.G.Golic, R.S.Hawley. 2d ed. – Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, USA, 2005. – 1409p.
- Baker C. Behavioral genetics: an introduction to how genes and environments interact through development to shape differences in mood, personality, and intelligence. 2007. (<http://www.aaas.org/spp/bgenes/publications.shtml>).
- Basso da Silva I., Valente V.L.S. A temporal analysis of sexual activity in a natural population of *Drosophila willistoni* // Hereditas. – 2000. – Vol.133. – P. 211–216.
- Burnet B., Conolly K. The development of locomotor activity in *Dr. melanogaster* // Heredity. – 1984. – Vol.52, №1. – P. 63–75.
- Crusio W.E. Inheritance of behavioral and neuroanatomical phenotypical variance: hybrid mice are not always more stable than inbreds // Behavior Genetics. – 2006. – Vol.36, №5. – P. 723–731.
- Kristensen T.N., Sorensen P., Pedersen K.S. et al. Inbreeding by environmental interactions affect gene expression in *Drosophila melanogaster* // Genetics. – 2006. – Vol.173. – P. 1329–1336.
- Moehring A.J., Mackay T.F.C. The quantitative genetic basis of male mating behavior in *Drosophila melanogaster* // Genetics. – 2004. – Vol.167. – P. 1249–1263.
- Tanaka T., Yamazaki T. Fitness and its components in *Drosophila melanogaster* // Jap. J. Genet. – 1990. – Vol.65, №6. – P. 417–426.

Представлено: П.Ю.Монтвід / Presented by: P.Yu.Montvid
Рецензент: А.В.Некрасова / Reviewer: A.V.Nekrasova
Подано до редакції / Received: 28.10.2011