

УДК 575.22: 576.316.352.5: 575.167

Л.А. Шакина, В.Ю. Страшнюк, В.Г. Шахбазов

ВЛИЯНИЕ ПЛОТНОСТИ КУЛЬТУРЫ НА АКТИВНОСТЬ ПУФИНГА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ У ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ ОГОБОРНН-А МЕЪАЛЮСАВТЕ/? МЕЮ**Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина
(г. Харьков)**

Вступление. Высокая плотность популяции является одним из распространенных стрессовых факторов, действующих в природных условиях, влиянию которого посвящено много работ. Известно, что в популяции насекомых высокая личиночная плотность определяет изменение генетической структуры и численности популяции [3], снижение многих жизненно важных показателей [4, 5, 7], а также вызывает формирование неспецифической адаптивной гормональной реакции насекомых, приводящей к задержке метаморфоза [9]. Согласно современным представлениям, устойчивость к стрессу в значительной степени определяется генотипом [9, 10] и, в частности, показан значительный вклад эффекта гетерозиса в повышение неспецифической устойчивости организмов [13]. В то же время мало что известно о влиянии плотности популяции на проявления эффекта гетерозиса, особенно на хромосомном уровне, связанном с хранением, передачей и начальными этапами экспрессии генетической информации.

Целью работы было изучение влияния перенаселенности культуры на пуфовую активность политенных хромосом у инбредных линий и гибридов *ОгозорЪИа те 1апода81ег*.

Объект и методы исследования. Объектом исследования служили инбредные линии дикого типа *Огедоп^ (Ог)*, *СаМол-Б (С-Б)* (степень инбридинга 111-116 поколений), а также реципрокные гибриды $\text{C-Э} \times \text{Ог}$ и $\text{Ог} \times \text{С-5}$. Мух выращивали на стандартной сахарно-дрожжевой среде при температуре $24 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Плотность культуры задавали

количеством пар родительских особей на один стаканчик: 1 пара (контроль) и 7 пар (опыт). Объем питательной среды в каждом стаканчике составлял 5,0 мл. Пуфинг политенных хромосом исследовали на давленных ацетоорсеиновых препаратах слюнных желез [8] при увеличении микроскопа $\times 600$. Локализацию пуфов проводили по уточненным картам Бриджеса [15]. Изучали активность шести экдизоновых пуфов: 63P, 71CE, 72CP, 82EP, 83E и 930. Поперечные размеры пуфов измеряли на хромосомах с одинаковой степенью политении (1024C) с помощью окуляра-микрометра и сравнивали их с шириной близлежащего диска, не вовлеченного в процесс пуфирования. Отношение размера пуфа к размеру диска служило мерой пуфовой активности: 63P/64A, 71CE/73A, 72CO/73A, 82EP/83C, 83E/83C, 930/93P. В соответствии с данными автордиографических исследований, размеры пуфов коррелируют с уровнем транскрипционной активности локусов [16]. В опыт брали самок на стадии 0-часовой предкуколки. Исследовали по 25-30 ядер в каждом варианте эксперимента в выборке из 6-11 личинок, не более пяти ядер на каждом препарате. Достоверность различий средних определяли по критерию Стьюдента. Статистические связи оценивали с помощью коэффициента корреляции [6].

Результаты исследований. Результаты исследования влияния плотности культуры на пуфовую активность политенных хромосом представлены в **таблице 1**. В условиях перенаселения отмечено снижение размеров пуфов по отношению к контролю в линии С-Э

(локусы 63F, 71 CE, 72CD, 82EF), *Or* (локусы 63F 82EF, 83E) и у гибрида F_1 C-S x *Or* (локусы 71CE, 82EF) в среднем на 9,82 - 20,10 % ($P > 0,95 - 0,999$). Достоверного влияния личиночного перенаселения на пуфовую

активность у гибрида F_1 Or x C-S не установлено. Полученные данные свидетельствуют о повышенной устойчивости гибридов к действию изучаемого стрессового фактора по исследуемому показателю.

Таблица 1
Размеры пуфов политенных хромосом при разной плотности культуры ($M \pm t$)

	Пуф/диск	Размеры пуфов у линий и гибридов дрозофилы			
		<i>CS</i>	<i>Or</i>	<i>CS</i> x <i>Or</i>	<i>Or</i> x <i>CS</i>
Контроль	63F/64B	2,11±0,07	2,09*0,11	2,16*0,07	2,09*0,07
	71 CE/73 A	2,40±0,11	2,67±0,12	2,29*0,12	2,29*0,14
	72CD/73A	1,51±0,05	1,53±0,06	1,54*0,06	1,38*0,06
	82EF/84A	2,55±0,10	2,43±0,08	2,63*0,09	2,14*0,08
	83E/84A	1,62±0,06	1,63*0,05	1,61*0,07	1,59*0,05
	93D/93F	1,33*0,04	1,49*0,04	1,41*0,05	1,43*0,04
Опыт	63F/64B	1,72*0,06***	1,67±0,07 **	2,11*0,09	1,89±0,07
	71 CE/73 A	2,03±0,06**	2,60±0,15	2,23±0,10	2,18*0,08
	72CD/73A	1,35*0,03*	1,57*0,09	1,36±0,05 *	1,36±0,05
	82EF/84A	2,26±0,08*	1,99*0,07 ***	2,21*0,08 ***	2,07*0,07
	83E/84A	1,49*0,05	1,47±0,04 *	1,59*0,06	1,50±0,05
	93D/93F	1,37*0,04	1,42*0,05	1,34*0,03	1,52*0,05

* - уровень отличий от контроля $P > 0,95$, ** - $P > 0,99$, *** - $P > 0,999$

Эффект влияния высокой плотности культуры на транскрипционную активность политенных хромосом дрозофилы показан нами впервые. Ранее, в работе [1], при изучении размеров пуфов 63E₁₅, 71 CE в линии *Огедон-И* в условиях перенаселения подобного эффекта обнаружено не было. Полученные данные о влиянии плотности культуры на пуфовую активность политенных хромосом в определенной мере затрудняют оценку генетических различий по данному показателю, учитывая разную плодовитость линий и гибридов дрозофилы (табл. 2). В связи с этим анализ генетических различий по показателю

пуфовой активности политенных хромосом проводили при условии одинаковой плотности культуры в поколении P_1 . По показателю выхода имаго достоверных отличий в условиях опыта (7 пар родительских особей) между линией C-5 и гибридом P_1 C-5 x *Ог*, а также реципрокными гибридами P_1 не установлено. При этом размер пуфа 63P у гибрида P_1 C-Эх *Ог* на 22,67 % больше, чем у линии C-5. Разница по размерам пуфов между гибридами достоверно проявлялась на участке 930 и составляла 11,84 % ($P > 0,99$). По другим пуфам достоверных генетических различий не обнаружено.

Таблиця 2

Выход имаго в поколении P₁ у линий и гибридов дрозофилы в условиях различной плотности культуры

	С-Б	Ог	С-5 х Ог	Ог х С-5
Контроль	82,68±7,10	41,10±2,76	134,04±2,52	99,60±3,83
Опыт	171,22±9,67	113,68±5,82	194,88±8,27	207,34±7,62

Данные литературы о влиянии на пуфинг инбридинга и гибридизации противоречивы. По одним данным, влияния нет [1, 12], по другим - оно может быть довольно значительным [2]. Однако следует отметить, что в данных работах влияние фактора плотности культуры не учитывалось. Наряду с изучением пуфовой активности гигантских хромосом у *O. teiapoda81er* в условиях различной плотности культуры для оценки приспособленности линий и гибридов ранее мы исследовали ряд адаптивно важных признаков, таких как выход имаго (ВИ), масса тела имаго (МИ), тепло-

устойчивость имаго (ТУ), яйцепродукция самок (ЯП), частота возникновения доминантных летальных мутаций (ДЛМ), степень политении хромосом (СПХ) [4, 5]. Установлено наличие тесной и средней положительной корреляции показателя пуфовой активности Е локусах 63p 82Eр 83E со степенью политении/хромосом, выходом имаго, массой телг имаго, теплоустойчивостью особей, а также показателем электроотрицательности клеточных ядер слюнных желез (ЭОЯ - процен" ядер с отрицательным поверхностным зарядом) (табл. 3).

Таблица:

Значения коэффициентов корреляции между пуфовой активностью политенных хромосом и адаптивно важными признаками у дрозофилы

Пуф/диск	ЭОЯ	СПХ	ВИ	МИ	ТУ	ЯП	ДЛМ
63P/64B	0,98**	0,96**	0,73*	0,75*	0,75*	0,49	-0,54
71CE/73A	0,27	0,04	-0,07	0,33	0,15	-0,26	0,70
72CB/73A	0,22	0,05	0,28	0,20	0,16	-0,37	0,59
82EP/84A	0,68	0,75*	0,71*	0,47	0,33	-0,18	-0,11
83E/84A	0,97**	0,96**	1 0,67	0,78*	0,63	0,24	-0,25
93B/93P	-0,19	-0,31	-0,16	0,05	0,11	0,39	0,03

* достоверность коэффициента корреляции $P > 0,95$, ** - $P > 0,99$

Наличие положительной корреляции в изменениях размеров пуфов и количественных признаков в связи с генотипом и неблагоприятными условиями существования хорошо согласуется с данными работ [11, 14], и может, по нашему мнению, иметь значение для объяснения генетических механизмов, обуславливающих адаптивную ценность разных

генотипов.

Выводы. В работе показано негативное влияние плотности культуры на пуфовую активность политенных хромосом *O. teiapoda81er*. Отмечена повышенная устойчивость гибридов к действию данного стрессового фактора. Показана зависимость активности некоторых пуфов от генотипа. Установлен

положительная корреляция показателя пусковой активности политенных хромосом с такими адаптивно важными признаками как выход имаго, масса тела имаго, теплоустойчивость имаго, степень политении хромосом, электроотрицательность клеточных ядер.

Перспективы дальнейших исследований связаны с изучением особенностей структуры и функциональной активности политенных хромосом при действии разнообразных стрессовых факторов и в зависимости от генотипа.

Список литературы

1. Беляева Е.С., Жимулев И.Ф. О вариабельности размеров пухов у *Drosophila melanogaster* // Генетика. - 1974. - Т. 10., - № 5. - С. 74-80. - 2. Горенская О.В., Страшнюк В.Ю., Шахбазов В.Г., Какпаков ВТ. Влияние генотипа на пухинг политенных хромосом и биоэлектрические свойства клеточных ядер *Drosophila melanogaster* в связи с действием экдизона в опытах *in vivo* и *in vitro* // Генетика. - 2003. - Т. 39., - № 1. - С. 41-46. - 3. Гречаный Г.В. Плотность населения как фактор регуляции генетической структуры и численности популяции животных // Генетика. - 1984. - Т. 20., - № 7. - С. 1132-1138. - 4. Журавлева Л.А., Страшнюк В.Ю., Шахбазов В.Г. Влияние плотности культуры на степень политении гигантских хромосом инбредных линий и гибридов *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. - 2004. - Т. 38., - № 3. - С. 46-51. - 5. Журавлева Л., Страшнюк В., Шахбазов В. Вплив щільності культури на прояв ефекту гетерозису у *Drosophila melanogaster* // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. - 2004. - Вип. 35. - С. 102-109. - 6. Лакин Г.Ф. Биометрия. Учеб. пособие. М.: Высш. школа, 1990. - 352с. - 7. Лучникова Е.М. Регуляция численности и структуры популяции у дрозофилы // Дрозофила в экспериментальной генетике. Новосибирск: Наука. Сиб. Отделение, 1978. - С. 171-196. - 8. Полуэктова Е.В., Евгеньев М.Б. Техника изготовления препаратов политенных хромосом // Методы биологии развития. - М.: Наука, 1974. - С. 517 - 519. - 9. Раушенбах И.Ю. Стресс-реакция насекомых: механизм, генетический контроль, роль в адаптации // Генетика. - 1997. - Т. 33., - № 8. - С. 1110-1118. - 10. Раушенбах И.Ю., Серова Л.И., Тимохина И.С., Ченцова Н.А., Шумная Л.В. Изменение содержания биогенных аминов у двух линий *Drosophila virilis* и их гибридов в онтогенезе и при тепловом стрессе // Генетика. - 1991. - Т. 27., - № 4. - С. 651 - 666. - 11. Страшнюк В.Ю., Таглина О.В., Шахбазов В.Г. Экдизонзависимые изменения активности пухов онтогенеза в слюнных железах дрозофилы, культивируемых *in vitro*, в связи с эффектом гетерозиса и отбором по адаптивно важным признакам // Генетика. 1991. - Т. 27, № 9. - С. 1512-1518. - 12. Шаламов Ю.А. Температурные условия проявления эффекта гетерозиса у *Drosophila melanogaster* Melg. Автореф. дисс. биол. 03.00.15. Харьков. - 1996. - 17 с. - 13. Шахбазов В.Г. Экологическая и биофизическая генетика. - Харьков: Штрих, 2001. - 436 с. - 14. Шахбазов В.Г., Таглина О.В. Особенности динамики пухов теплового шока у высокоинбредных линий и гетерозисных гибридов *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1990. - Т. 26., № 1. - С. 43-47. - 15. Lindsley D.L., Grell E.H. Genetic variations of *Drosophila melanogaster* // Carnegie Inst. Wash. Publ. - 1968. - № 627. - 472 p. - 16. Pelling G. Chromosomal synthesis of ribonucleic acid as shown by incorporation of uridine labelled with tritium // Nature. - 1959. - Vol. 184. - P. 655-656.

УДК 575.22:576.316.352.5:575.167

ВПЛИВ ЩІЛЬНОСТІ КУЛЬТУРИ НА АКТИВНІСТЬ ПУФІНГУ ПОЛІТЕННИХ ХРОМОСОМ У ІНБРЕДНИХ ЛІНІЙ І ГІБРИДІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIG.

Шакіна Л.О., Страшнюк В.Ю., Шахбазов В.Г.

Резюме. Досліджували вплив щільності культури та генотипу на активність пухінгу політенних хромосом у *Drosophila melanogaster*. Виявлено достовірне пригнічення транскрипційної активності гігантських хромосом при збільшенні щільності культури. При цьому показана залежність пухової активності деяких локусів від генотипу. Встановлена позитивна кореляція між розмірами пухів і рядом адаптивно важливих ознак. Отримані дані є важливими для розуміння генетичних механізмів, що обумовлюють адаптивну цінність різних генотипів.

Ключові слова: дрозофіла, щільність культури, політенні хромосоми, пухова активність.

UDC 575.22:576.316.352.5:575.167

THE INFLUENCE OF CULTURE DENSITY ON THE PUFFING ACTIVITY OF POLYTENE CHROMOSOMES IN THE INBRED LINES AND HYBRIDS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIG.

Shakina L.A., Strashnyuk V.Yu., Shakhbazov V.G.

Summary. The influence of culture density and genotype on the puffing activity of polytene chromosomes in *Drosophila melanogaster* was investigated. The reliable depression of the giant chromosomes transcription activity under increased culture density was revealed. Also the dependence of the puffing activity of some loci from the genotype was shown. The positive correlation between the puff sizes and the number of adaptive features was established. The data received are important for understanding of genetic mechanisms which cause adaptive value of different genotypes.

Key words: drosophila, culture density, polytene chromosomes, puffing activity.

Стаття надійшла 18.03.2005 р.