

УДК: 575.174.4:57.017.32

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФОТОТАКСИСА У ЛИНИИ *ci ey^R DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIG.**Т.В.Норман, Л.И.Воробьева***Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина
livorobyova@ukr.net*

Проведен генетический анализ наследования фототаксиса в линии *ci ey^R Drosophila melanogaster*. Установлен аутосомный характер наследования данного поведенческого признака, при этом положительный фототаксис доминирует над отрицательным. По результатам дисперсионного анализа основной вклад в положительный и отрицательный фототаксис вносит хромосома 3. Около 38% генетической обусловленности приходится на хромосому 2. Хромосома 1 и хромосома 4 вносят незначительный вклад в проявление данного поведенческого признака. Приведенные результаты проанализированы в сравнении с полученными ранее данными наследования фототаксиса в линии *ey*.

Ключевые слова: *дрозофила, фототаксис, eyeless, отбор, хромосома.*

Введение

Одной из важных и трудно разрешимых задач современной генетики являются вопросы наследования признаков поведения. Как известно, “каждый ген имеет свое специфическое проявление, свой признак, но в своем выражении признак зависит от воздействия всего генотипа” (Четвериков, 1983). Ранее было показано, что помимо изменений селектируемых признаков, искусственный отбор может сопровождаться и другими морфофизиологическими изменениями (Falconer, 1970; Partridge, 1999; Трут, 1997). Поэтому изучение действия отбора по фототаксису актуально не только с точки зрения изучения генетической обусловленности данного признака, но и для определения генетических последствий отбора у мутантных по гену *ey* особей. В литературе описаны изменения фенотипического проявления гена *ey* в результате температурных воздействий и различий в генетическом фоне (Parog и др., 1999). Однако изменения выраженности этого признака при отборе по фототаксису не изучены, хотя могут затрагиваться таким отбором, так как фототаксис контролируется, в первую очередь, нервной системой и может зависеть от состояния фоторецепторов.

Методика

В работе использовали линию *cubitus interaptus eyeless^{Russian} (ci ey^R)*. Содержание дрозофилы. Мух разводили в пробирках с плоским дном, высотой 10,0 см и диаметром 3,0 см. Пробирку заполняли средой на высоту 2,0 – 2,5 см, приготовленной по следующему рецепту: на 100 мл воды – 1,1 г агар-агара, 15 г дрожжей, 5 г сахара и 5 г манной крупы. Сверху среду покрывали суспензией дрожжей и, после прорастания последних, использовали для разведения мух.

Фототаксис (ФТ) оценивали с помощью Т-образного лабиринта по типу Хирша-Хадлера (Hirsh, 1967; Hadler, 1964), одно из колен которого было затемнено. В качестве источника света использовали электролюминесцентную лампу (освещенность 2000 лк), расположенную перпендикулярно и горизонтально к аппарату тестирования, согласно методике Имашевой-Лазебного (Имашева, Лазебный, 1993).

Тестирование проводили при комнатной температуре. Мух собирали в течение 6 часов после начала вылета имаго и помещали отдельно самок и самцов в пробирки размером 1,5 x 15 см по 50 особей в каждую. Показания снимали по истечении трех минут, давая возможность особям выйти из стрессового состояния. Необходимое для такого перехода время было установлено экспериментально. ФТ оценивали по доле особей, переместившихся в осветленный или затемненный участок от общего числа мух.

Для отбора на положительный и отрицательный ФТ в ходе тестирования брали виргинных самок и самцов из соответствующих участков лабиринта. Использовали индивидуальные скрещивания. Для каждого варианта отбирали по 25 пар.

Генетический анализ наследования фототаксиса проводили в два этапа.

1) Определение характера наследования ФТ.

Для определения характера наследования ФТ ставили реципрокные скрещивания:

P: ♀ “+” x ♂ “-” ;

P: ♀ “-” x ♂ “+” ;

где “+” – полученные в результате отбора особи с положительным фототаксисом; “-” - особи с отрицательным фототаксисом.

В F₁ проводили тестирование имаго и по результатам определяли характер наследования: роль материнского и отцовского организма в передаче признака потомству и доминантность/рецессивность ФТ.

2) Определение роли хромосомы 2 и хромосомы 3 в наследовании ФТ.

Для определения вклада данных хромосом в изучаемый признак необходимо было получить изогенизированные по этим хромосомам линии. С этой целью применяли стандартную методику изогенизации (Тихомирова, 1990) с использованием линии-балансера *Cy/Pm; D/Sb*. Самок линии *ci ey^R* после 16 поколений отбора по фототаксису в “+” и “-” направлениях скрещивали с самцами линии балансера.

P: ♀ “+” x ♂ *Cy/Pm; D/Sb*;

P: ♀ “-” x ♂ *Cy/Pm; D/Sb*.

В первом поколении получили мух четырех генотипических классов для каждого варианта.

1. F₁: (*Cy/+*; *D/+*), (*Cy/+*; “+”/Sb), (“+”/Pm; *D/+*), (“+”/Pm; “+”/Sb)

2. F₁: (*Cy/-*; *D/-*), (*Cy/-*; “-”/Sb), (“-”/Pm; *D/-*), (“-”/Pm; “-”/Sb)

Для дальнейших скрещиваний использовали мух

F₁: ♀ *Cy/+*; *D/+* x ♂ “-”/Pm; “-”/Sb

От проведенных скрещиваний в F₂ получили мух 16 генотипических классов:

| | <i>Cy; D</i> | <i>Cy; “+”</i> | “+”; <i>D</i> | “+”; “+” |
|----------------|---------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| Pm; Sb | <i>Cy; D</i> Pm; Sb | <i>Cy; “+”</i> Pm; Sb | “+”; <i>D</i> Pm; Sb | “+”; “+” 4* |
| Pm; “-” | <i>Cy; D</i> <i>Pm; “-”</i> | <i>Cy; “+”</i> <i>Pm; “-”</i> | “+”; <i>D</i> 3* <i>Pm; “-”</i> | “+”; “+” <i>Pm; “-”</i> |
| “-”; Sb | <i>Cy; D</i> “-”; Sb | <i>Cy; “+”</i> 2* “-”; Sb | “+”; <i>D</i> “-”; Sb | “+”; “+” “-”; Sb |
| “-”; “-” | <i>Cy; D</i> 1* “-”; “-” | <i>Cy; “+”</i> “-”; “-” | “+”; <i>D</i> “-”; “-” | “+”; “+” “-”; “-” |

Затем скрещивали между собой мух классов: 1*, 2*, 3*, 4*. В F₃ от каждого скрещивания отбирали особей с фенотипом *ey* и генотипами соответственно: (“-”/“-”; “-”/“-”), (“-”/“-”; “+”/“+”), (“+”/“+”; “-”/“-”), (“+”/“+”; “+”/“+”) для тестирования на ФТ. Вклад хромосом оценивали после тестирования особей, используя двухфакторный дисперсионный анализ (Лакин, 1990). При этом фактором А служила хромосома 2, а фактором В – хромосома 3.

Результаты

Для определения характера наследования фототаксиса проводили реципрокные скрещивания особей из отселектированных в “+” и “-” направлениях линий и в F₁ сравнивали полученные результаты. Результаты реципрокных скрещиваний между “+” и “-” линиями представлены в табл. 1.

Таблица 1.

Характер наследования фототаксиса в реципрокных скрещиваниях

| Схема скрещивания и характер наследования | ФТ, % | | |
|---|----------|----------|----------|
| | ♀♀ | ♂♂ | ♀♀♂♂ |
| “-” X “+” | | | |
| фото “+” | 45,7±2,9 | 56,7±2,8 | 51,2±2,1 |
| фото “-” | 3,7±1,1 | 4,3±1,1 | 4,0±0,8 |
| “+” X “-” | | | |
| фото “+” | 49,3±2,9 | 58,3±2,8 | 53,3±2,1 |
| фото “-” | 2,7±0,9 | 3,3±1,0 | 3,0±0,7 |

Количество “фотоположительных” особей преобладает в обоих вариантах скрещивания, следовательно, можно заключить, что положительный фототаксис доминирует над отрицательным у обеих линий. При этом не наблюдаются характерные для сцепленного с полом наследования различия в F₁, то есть, нет оснований полагать, что рассматриваемый признак сцеплен с полом или контролируется по материнской линии.

Вклад отцовского и материнского организмов в наследование признака практически равнозначен. Поэтому можно полагать, что хромосома 1 не вносит существенного вклада в наследование изучаемого признака.

Хромосома 4 – точкообразная субтелоцентрическая, длиной от 0,20 до 0,28 мкм (Корочкина, 1977). Общее число наследственных изменений, генов с биохимическим, физиологическим или видимым морфологическим проявлением не превышает 11 (Lindsley, Grell, 1968). Ввиду ее малых размеров и сильной гетерохроматинизации, существенным влиянием этой хромосомы на изучаемый признак можно пренебречь. Поэтому в дальнейшем проводили оценку вкладов больших аутосом по методу Мазера и Харрисона (Mather, Harrison, 1949).

Обнаружено, что в линии *ci ey^R* хромосома 3 контролирует положительный и отрицательный фототаксис в наибольшей степени. Локализованные в хромосоме 2 гены определяют на 38,45% положительный и на 37,55% отрицательный фототаксис (табл. 2).

Таблица 2.

Вклад больших аутосом в фототаксис линии *ci ey^R*

| фототаксис | Хромосома 2, % | | | Хромосома 3, % | | | Совместно, % | | |
|------------|----------------|------|-----------------|----------------|------|-------|--------------|------|-----------------|
| | ♀♀ | ♂♂ | X _{ср} | ♀♀ | ♂♂ | ♀♀♂♂ | ♀♀ | ♂♂ | X _{ср} |
| “+” | 37,4 | 39,5 | 38,45 | 55,3 | 59,5 | 57,4 | - | 0,57 | 0,285 |
| “-” | 36,8 | 38,3 | 37,6 | 56,3 | 60,6 | 58,45 | - | - | - |

Сумма вкладов в оба признака генов рассматриваемых хромосом составляет – 95,9% для положительного фототаксиса и 96,0% - для отрицательного. Остальные приблизительно 4,0% следует рассматривать как сумму вкладов генов, локализованных в хромосоме 4, хромосоме 1 и других неучтенных факторов.

Обсуждение

Для каждого организма существует некоторое нормальное положение тела по отношению к силе тяжести и поверхности, с которой он контактирует. Эта основная ориентация называется первичной (Проссер, Браун, 1967). В ответ на различные внешние стимулы дрозофилы могут двигаться и изменять ориентацию тела. Известно, что свет является важным фактором в изменении ориентации насекомых, которая, в свою очередь является основной причиной распределения видов по экологическим нишам и имеет приспособительное значение. В настоящей работе мы изучили движение под действием света мутантных по гену *ey* особей. Мы исходили из того, что фототаксис является типичным количественным признаком, отражающим поведение особей в присутствии источника света, который может обуславливаться многими генами, их генетическим окружением и зависеть от условий окружающей среды.

Ранее был показано, что ген *eyeless* (*ey*) относится к группе *Pax-6* генов, участвующих в каскадной регуляции развития глаз. Он экспрессируется в клетках центральной нервной системы и примордиальных глазных дисках (Quiring et al., 1994). У дрозофилы, мыши и человека аминокислотная последовательность продукта этого гена на 94% абсолютно идентична и для продукта данного гена показана функция регуляции процессов при дифференцировке нервной системы. Аллели *ey* и *ey^R* отличаются локализацией мобильного элемента *blastopia*, экспрессирующегося во время бластодермальной стадии (Quiring et al., 1994). С нашей точки зрения, если продукты данного гена участвуют в процессах дифференцировки ЦНС и в развитии глаз, то изменение их в результате наличия мутации по этому гену должны отражаться не только на работе ЦНС и зрительных анализаторах, но и на поведении особей в целом и на фототаксисе мутантных мух в частности. Проведенное исследование позволило обнаружить, что присутствие мутации *ey*, нарушающей нормальную структуру сложного глаза дрозофилы и строение отдельных участков ЦНС, проявляется на уровне поведения особей, по-видимому, в нейтральном фототаксисе изученных неселектируемых линий. Благодаря направленному отбору из исходных линий можно получить линии, проявляющие преимущественно положительный и отрицательный фототаксис. Возможность получения линий, различающихся по фототаксису, подтвердила наше предположение об участии генетических систем в контроле данного признака.

Анализ данных, приведенных в табл. 2, дает возможность выявить межлинейные различия по количественной оценке степени влияния хромосом на исследуемые признаки. Эти различия выражены в том, что в линии *ey*, как было обнаружено нами ранее (Кирпиченко, Воробьева, 2001), большее количество генов положительного фототаксиса расположено в хромосоме 2, а хромосома 3

содержит больше генов отрицательного фототаксиса. В линии *ci ey^R* положительный и отрицательный фототаксис определяется большей частью генами хромосомы 3. На основании полученных результатов можно полагать, что в линии *ey* сцеплено меньшее количество генов положительного и отрицательного фототаксиса, чем в линии *ci ey^R*.

Поэтому при отборе на положительный фототаксис в линии *ey* доля “фотоотрицательных” особей после 13-го поколения не обнаружена. В линии *ci ey^R* из-за того, что положительный и отрицательный фототаксис контролируется преимущественно генетической системой хромосомы 3, оба эти признака обнаруживаются в популяциях, селектируемых как на положительный, так и на отрицательный фототаксис, и в ряду поколений можно было наблюдать увеличение и положительного, и отрицательного фототаксиса независимо от направления отбора.

Полученные результаты согласуются с данными, полученными на других популяциях дрозофилы. В предыдущих исследованиях было показано, что гены, контролирующие различия по геотаксису, распределены во всех больших хромосомах селектируемых линий, однако в хромосоме 3 имеется больше генов с положительным эффектом, а в хромосоме 2 – с отрицательным (Dobzhansky et al., 1969). Результаты наших исследований не полностью согласуются с описанными ранее в работе (Hadler, 1964). Это касается вклада X-хромосомы в наследование фототаксиса. Объяснить это можно тем, что если в природных популяциях и возможна существенная роль X-хромосомы в наследовании фототаксиса, то наличие в генотипе мутации *ey*, может подавлять эти эффекты в силу взаимодействия генов, плейотропного эффекта и различий в генетическом фоне. С другой стороны, в работе Хадлера отмечается, что величина положительного фототаксиса была большей у потомков самок с большим значением этого признака. Однако генетический анализ подтверждает подобные положения, если исключены другие типы наследования, например, цитоплазматическое. Сведения о проведении такого анализа в работе Хадлера не приведены. Поэтому, на наш взгляд, как упоминалось в работе (Кирпиченко, Воробьева, 2001), нельзя однозначно определить по результатам цитируемой работы вклад X-хромосомы в наследование данного признака.

Выводы

1. Фототаксис линии *ci ey^R* наследуется по аутосомному типу. Положительный фототаксис доминирует над отрицательным.
2. Основной вклад в генетическую детерминированность фототаксиса вносят гены хромосомы 2 и хромосомы 3, причем как положительный, так и отрицательный фототаксис определяется большей частью генами хромосомы 3.
3. Сравнивая полученные результаты, можно полагать, что в линии *ey* сцеплено меньшее количество генов положительного и отрицательного фототаксиса, чем в линии *ci ey^R*.

Список литературы

- Имашева А.Г., Лазебный О.Е. Изменчивость природных популяций *Drosophila melanogaster* Евразии по признакам поведения // Генетика. – 1993. – Т.29, №10. – С. 1177–1186.
- Кирпиченко Т.В., Воробьева Л.И. Фототаксис и приспособленность линии *eyeless Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. – 2001. – №3. – С. 30–34.
- Корочкина Л.С. Морфология и некоторые другие функциональные характеристики хромосом рода *Drosophila* // Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле. - Новосибирск: Наука, 1977. – С. 112–151.
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа. – 1990. – 352с.
- Проссер Л., Браун Ф. Сравнительная физиология животных. – М: Мир, 1967. – 766с.
- Рарог М.А., Страшнюк В.Ю., Кондратьева А.О. и др. Влияние плотности культуры на экспрессивность признака *eyeless* и степень политении гигантских хромосом у *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 1999. – Т.35, №7. – С. 898–902.
- Тихомирова М.М. Генетический анализ. – Л.: Изд. Ленингр. ун-та, 1990. – 280с.
- Трут Л.Н. Эволюционная концепция Д.К. Беляева – десять лет спустя // Генетика. – 1997. – Т.33, №8. – С. 1060–1068.
- Четвериков С.С. Проблемы общей биологии и генетики (воспоминания, статьи, лекции). – Новосибирск: Наука, 1983. – 351с.
- Dobzhansky T., Spassky B., Sved J. Effect of selection and migration on geotactic and phototactic behavior of *Drosophila*. II. // Proc. Roy. Soc. Lond. – 1969. – Vol.173. – P. 191–207.
- Falconer D.S. Introduction to quantitative genetics. Edinburgh: L.: Oliver and Boyd, 1970. – 420p.
- Hadler N.M. Heritability and phototaxis in *Drosophila melanogaster* // Genetics. – 1964. – Vol.80. – P. 1269–1277.
- Hirsh J. Behavior-genetic analysis. – N.-Y.: Mc Crow Hill, 1967. – 520p.

Lindsley D.L., Grell E.H. Genetic variations of *Drosophila melanogaster* // Carnegie. Inst. Wash. Publ., 1968. – 627p.

Mather K., Harrison B.J. The manifold effect of selection // Heredity. – 1949. – №1. – P. 1–162.

Partridge L., Langelan R., Fowler K. Correlated response to selection on body size in *Drosophila melanogaster* // Genet. Res. – 1999. – Vol.74, №1. – P. 43–54.

Quiring R., Walldorf U., Kloter U., Gehring W. J. Homology of the *eyeless* gene of *Drosophila* to the small eye gene in mice and *aniridia* in Humans // Science. – 1994. – Vol.265. – P. 785–789.

ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ФОТОТАКСИСУ ЛІНІЇ *ci ey^R* *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Т.В.Норман, Л.І.Воробйова

Проведений генетичний аналіз успадкування фототаксису лінії *ci ey^R* *Drosophila melanogaster*. Встановлений аутосомний характер даної ознаки. Позитивний фототаксис домінує над негативним. За результатами дисперсійного аналізу найбільший внесок в позитивний і негативний фототаксис вносить хромосома 3. Приблизно 38% генетичної обумовленості припадає на хромосому 2. Хромосома 1 та хромосома 4 фактично мають незначний вплив в прояв даної поведінкової ознаки. Приведені результати проаналізовані, порівняно з отриманими раніше даними успадкування фототаксису в лінії *ey*.

Ключові слова: *дрозофіла*, *фототаксис*, *eyeless*, *штучний добір*, *хромосома*.

GENETICAL ANALYSIS OF PHOTOTACTIC BEHAVIOR IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* LINE *ci ey^R*

T.V.Norman, L.I.Vorobyova

The phototaxis inheritance in line *ci ey^R* of *Drosophila melanogaster* was studied. We found the autosome character of this trait. Positive phototaxis is dominant. Chromosome 3 has a most value in positive and negative photoresponse by dispersion analysis data. Chromosome 2 has near 38% genetical determination of phototaxis. Chromosome 1 and chromosome 4 have almost not influence on phototactic behavior. Data were analyzed comparatively with earlier data of phototaxis inheritance in line *ey*.

Key words: *drosophila*, *phototaxis*, *eyeless gene*, *artificial selection*, *chromosome*.

Представлено Н.В.Дедух

Рекомендовано до друку Л.О.Атраментовою