

УДК 575.17

НЕПОВНА РЕДУКЦІЯ ГОНАД ПРИ ГІБРИДНОМУ ДИСГЕНЕЗИ ЯК ПОКАЗНИК СТАБІЛЬНОСТІ ГЕНОТИПУ

І. Городнянський*, Л. Воробйова

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
майдан Свободи, 4, Харків 61022, Україна
e-mail: dragon-keeper@yandex.ua*

Вивчена асиметрія редукції гонад при прояві гібридного дисгенезу у лінії *Oregon-R*, *Harwich* і *Canton-S*. Встановлена залежність частки особин з асиметрично редукованими гонадами серед дисгенних особин від температури. Встановлена залежність частки особин з асиметрично редукованими гонадами серед дисгенних особин у зв'язку з МГЕ. Розглянута залежність асиметрії редукції гонад від стабільності МГЕ та пристосованості до його транспозицій генотипу носія. Обговорено значення неповної редукції гонад для мобільних елементів і генотипу носія.

Ключові слова: *Drosophila melanogaster*; мобільні елементи геному, синдром гібридного дисгенезу.

Транспозиції мобільних генетичних елементів на сьогоднішній день вважаються одним з найбільш значущих внутрішньопопуляційних джерел генетичної мінливості [14]. Зв'язок виникнення спонтанних мутацій у *Drosophila melanogaster* з спалахами транспозицій мобільних генетичних елементів доведена на прикладі значної кількості генів [19]. Результати досліджень демонструють вплив мобільних елементів на прояв як якісних, так і кількісних ознак у фенотипі [6, 7]. У зв'язку з цим інтенсивно вивчали індукцію транспозицій МГЕ різними стресовими чинниками. Доведено, що мобільні елементи є важливою частиною систем відповіді геному на вплив теплового і холодового шоку [10], радіаційне опромінення [5] та дію інших подібних стресових факторів [14].

Таким чином, вчені досить давно відмовилися від сприйняття МГЕ як паразитичної ДНК, що негативно впливає на геном, натомість сформулювавши гіпотезу про їхню роль як джерела генетичного різноманіття [3]. Проте залишається нез'ясованим значення синдрому гібридного дисгенезу. Є він наслідком «паразитичного минулого» мобільних елементів геному чи проявом їх регуляторної функції? Питання про те, випадковим чином транспозиції МГЕ призводять до безпліддя особини, чи так відбувається елімінація з популяції певних генотипів, залишається відкритим. Можливо, таким чином відбувається видалення нестабільних генотипів. Або ж навпаки – генотипів із неповнорозмірними мобільними елементами, що впливає з особливостей систем дисгенних схрещувань.

Метою даної роботи було оцінити значення асиметрії редукції гонад і можливості її використання як показника стабільності генотипу лінії та її пристосованості до наявності мобільних генетичних елементів.

Матеріали та методи

У дослідженні були використані лінії *D. melanogaster Harwich*, *Oregon-R (Cambridge)* і *Canton-S*. Лінія *Canton-S* несе в геномі повнорозмірний I-елемент і вважається лінією I-цитотипу. Патерн мобільних елементів лінії *Harwich* включає в себе високоактивні повнорозмірні копії Р-елементу, які стабільно передаються в ряду поколінь [15]. Ця лінія часто використовується в експериментах як стандартна лінія Р-цитотипу.

У геномі лінії *Oregon-R* на підставі експериментів і літературних даних [4, 17] ми припускаємо наявність повнорозмірних і функціонально активних копій МГЕ *hobo*.

Лінії утримували на стандартному дріжджовому середовищі при температурі 23°C. Для наркотизації застосовували діетиловий ефір.

В експериментальних схрещуваннях використовували виключно віргінні особини у кількості одна пара на одну пробірку. Експериментальні схрещування проводили при температурі 28°C [10], а контрольні – при температурі 23°C. Всього було досліджено 6498 особин *D. melanogaster*.

Нащадки від експериментальних схрещувань поділяли за статтю протягом доби після виходу з пупаріїв. Добові вибірки самців і самок утримували окремо на свіжому середовищі до повного розвитку гонад (триденний період), щоб мінімізувати можливу похибку експерименту. Після закінчення трьох днів з моменту відсадки проводили вилучення гонад і оцінку їх стану.

Стан гонад оцінювали за чотирибальною шкалою, значення якої: 1 бал – обидві гонади нормально розвинені; 2 – одна або обидві гонади трохи менші нормального розміру; 3 – недорозвинена або повністю редукована одна з гонад; 4 – обидві гонади редуковані.

Достовірність відмінностей вибірок в експерименті оцінювали за допомогою методу порівняння вибірових часток. Для обробки даних використовували комп'ютерну програму Microsoft Office Excel 2007.

Результати і їхнє обговорення

У ході експерименту було встановлено значне підвищення частки особин з однобічною редукацією гонад серед загальної кількості дисгенних особин як у самок, так і у самців усіх трьох досліджуваних ліній при підвищенні температури.

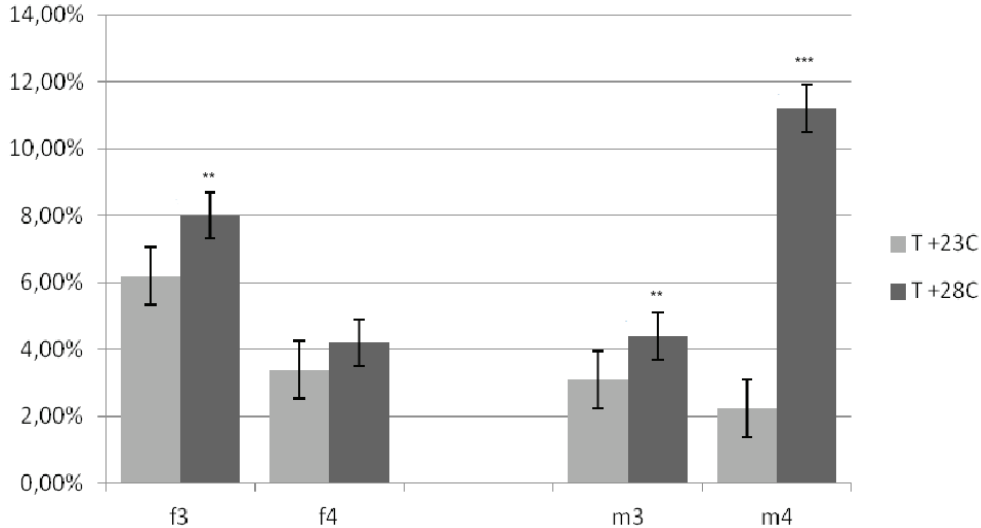


Рис. 1. Відсоткова кількість особин з однобічною і повною редукацією гонад у потомстві лінії *Oregon-R*: f – самиці, m – самці; 3 і 4 – ступінь редукації гонад за шкалою оцінки. ** – $P < 0,05$; *** – $P < 0,01$.

На рис. 1 показано відсоткову кількість особин з однобічною і повною редукацією гонад у потомстві лінії *Oregon-R*. У самиць цієї лінії співвідношення відсотка особин з однобічною і повною редукацією гонад при підвищенні температури змінюється значно менше, ніж у самців. Серед самиць відсоток особин з однобічною редукацією гонад значно вищий,

ніж з повною як при 23°C, так і при 28°C. В обох випадках відмінності значимі на рівні $P < 0,05$, згідно з методом порівняння вибірових часток. При підвищенні температури відсоток самиць із повністю редукованими гонадами зростає незначимо (і незначно ~0,6%), з однібічною редукацією гонад – навпаки (~1,8%, $P < 0,05$). Серед самців спостерігається зворотна тенденція: при температурі 23°C відсоток особин із односторонньою редукацією гонад незначно вищий, ніж з повною, однак при 28°C кількість особин з повною редукацією гонад набагато вищий, ніж з однібічною (значимо на рівні $P < 0,01$). Відмінності відсотка особин при 23°C і при 28°C значимі на рівні $P < 0,05$ і $P < 0,01$ відповідно. Відмінності відсотка особин із неповною і повною редукацією гонад значимі на рівні $P < 0,05$ і $P < 0,01$ відповідно.

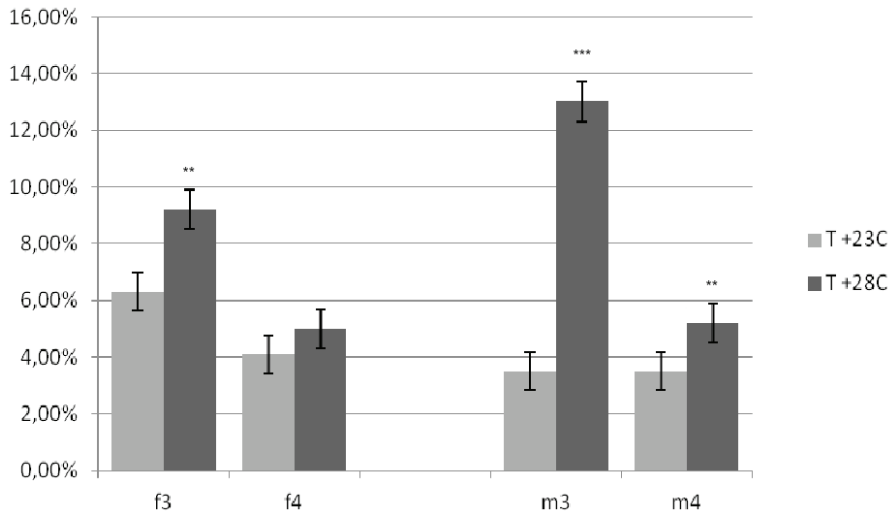


Рис. 2. Відсоткова кількість особин з однібічною і повною редукацією гонад у потомстві лінії *Harwich*: f – самиці, m – самці; 3 і 4 – ступінь редукації гонад за шкалою оцінки. ** – $P < 0,05$; *** – $P < 0,01$.

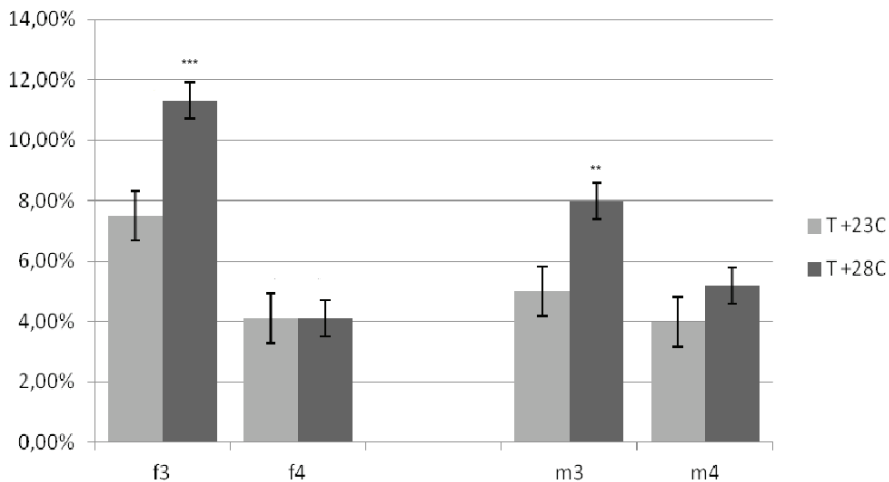


Рис. 3. Відсоткова кількість особин з однібічною і повною редукацією гонад у потомстві лінії *Canton-S*: f – самиці, m – самці; 3 і 4 – ступінь редукації гонад за шкалою оцінки. ** – $P < 0,05$; *** – $P < 0,01$.

На рис. 2 показана динаміка досліджуваного показника для лінії *Harwich*. Серед самиць спостерігалися відмінності, схожі з лінією *Oregon-R* ($P < 0,05$ для особин з однобічною редукацією гонад і незначима відмінність – для особин із повною). Відмінності відсотка особин при 23°C і при 28°C значимі на рівні $P < 0,05$ і $P < 0,01$ відповідно. Серед самців при температурі 23°C кількість особин з однобічною і повною редукацією гонад приблизно однакова. При 28°C відсоток особин з однобічною редукацією гонад значно вищий, ніж з повною (значуще на рівні $p < 0,01$). Відмінності відсотка особин із неповною і повною редукацією гонад значимі на рівні $P < 0,01$ і $P < 0,05$ відповідно.

Рис. 3 демонструє динаміку досліджуваного показника в потомстві лінії *Canton-S*. Серед самиць цієї лінії при підвищенні температури відсоток особин з повністю редукованими гонадами у нащадків не змінювався, але значимо ($P < 0,01$) зростав відсоток особин з однобічною редукацією гонад. Серед самців, як і у лінії *Harwich*, при температурі 28°C відсоток особин з однобічною редукацією гонад значно вищий, ніж з повною (значуще на рівні $p < 0,05$), однак різниця показників значно менша ($\sim 2,8\%$). При 23°C кількість особин з однобічною і повною редукацією гонад серед самців цієї лінії розрізняється малозначуще. Для самців відмінність відсотка особин із неповною редукацією гонад значима на рівні $P < 0,05$.

Особини з гонадами, що незначно відрізняються від нормальних (категорія 2), при обробці даних було вирішено не вважати дисгенними, оскільки незначні відмінності не обов'язково викликані транспозиціями МГЕ.

На підставі отриманих даних можна стверджувати, що лінія *Oregon-R*, імовірно, несе в геномі повнорозмірний *hobo* елемент [17] і відрізняється від двох інших ліній. Серед самців цієї лінії при 23°C відсоток особин з однобічною редукацією гонад незначно вищий, ніж із повною, однак при 28°C кількість особин із повною редукацією гонад набагато вища, ніж із однобічною. Самці ліній *Harwich* і *Canton-S* і самиці всіх досліджуваних ліній демонструють зворотну тенденцію: при підвищеній температурі відсоток особин з однобічною редукацією гонад значимо вищий, ніж із повною. При нормальній температурі різниця трохи нижча або повністю відсутня. Цей факт може бути доказом нашого припущення про відсоток особин з однобічною редукацією гонад як показник пристосованості генотипу до наявності мобільного елемента. Можна вважати, що повноцінний прояв гібридного дисгенезу (редукція обох гонад) не є вигідним ні для організму-носія, ні для патерну мобільних елементів, який не буде переданий у ряді поколінь. Тому гібридний дисгенез, імовірно, можна вважати наслідком нездатності генотипу господаря компенсувати наслідки активних транспозицій МГЕ. Таким чином, із популяції елімуються надміру нестабільні геноми і надмірно активні патерни мобільного елемента [16]. Подібні процеси будуть забезпечувати стабільний (у нормі – близько 5%) рівень прояву гібридного дисгенезу в популяції. Деякі фактори, такі як тривалий інбридинг, можуть призвести до значного підвищення процентної частки дисгенних особин, що можна спостерігати на прикладі досліджуваних лабораторних ліній. При підвищенні температури, наслідком чого є активізація транспозицій мобільних елементів, ми передбачали значне підвищення, в першу чергу, кількості особин із неповною редукацією гонад, що підтвердили результати експерименту. Такі особини з часткою ймовірності можуть дати життєздатне потомство, спроможне, у свою чергу, до нормального розмноження. Таким чином, неповну редукацію гонад можна розглядати як прояв здатності генотипу витримувати надмірно активні транспозиції МГЕ.

Однак питання про відмінність показників у самців *Oregon-R* залишається відкритим. Спостережуваний у цьому випадку результат, за нашими припущеннями, може бути обумовлений дією двох факторів. Перший фактор – інфікування даної лінії вольбахією.

Другий – відмінність структури і властивостей елемента *hobo* від Р і І. Наприклад, для Р-елементу дисгенним буде схрещування самиці цитотипу М (maternal, тобто немає в геномі копій Р-елементу) зі самцем цитотипу Р (paternal, що несе в геномі повнорозмірні та функціонально активні копії елемента Р), при реципрокному схрещуванні значущого рівня гібридного дисгенезу в потомстві не спостерігається. І-Р система гібридного дисгенезу мобільного елемента І в цілому ідентична Р-М системі Р-елементу. Н-Е система МГЕ *hobo*, навпаки, характеризується появою значної частки дисгенних особин у потомстві кожного з реципрокних схрещувань особини цитотипу Н (має в геномі функціонально активні копії МГЕ *hobo*) з особоною цитотипу Е (яка не несе мобільного елемента *hobo* в геномі). Крім того, гібридний дисгенез може проявлятися і в потомстві від схрещування особин різних ліній Н цитотипу [14]. На відміну від МГЕ Р і І, копії яких діють у геномі як єдина функціональна структура, для МГЕ *hobo* відомі три різнорозмірні копії, здатні до транспозицій незалежно один від одного, при цьому кожна копія не обмежує транспозиційну активність двох інших [2]. Унаслідок цього мобільний елемент *hobo* можна вважати найменш стабільним серед тих, що викликають синдром гібридного дисгенезу МГЕ. Це також може пояснювати аномалії в системі гібридного дисгенезу, що ним викликаються.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Білоусов О. О., Козерецька І. А. Поширення мобільного елемента *hobo* в природних популяціях *Drosophila melanogaster* України // Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології: Матеріали І Міжнар. конф. Харків, 2008. С. 76–78.
2. Ваулин О. В., Гундерина Л. И., Захаров И. К. Полиморфизм и дифференциация мультилокусных маркеров ДНК в природных популяциях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2007. Т. 43. № 1. С. 1–9.
3. Васильева Л. А., Антоненко О. В., Захаров И. К. Роль мобильных генетических элементов в геноме *Drosophila melanogaster* // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011. Т. 15. № 2. С. 225–260.
4. Григорьев Д. С., Воробьева Л. И. Локомоторная активность линий *Drosophila melanogaster*, полученных из популяций разного географического происхождения // Вестн. Харьков. ун-та. Сер. биол. 2010. Вып. 11. № 905. С. 77–83.
5. Зайнуллин В. Г., Москалев А. А., Шапошников М. В., Шептякова А. И. Дрозофила в экспериментах с облучением в малых дозах // Вестн. Нац. ядерного центра Республики Казахстан. 2002. Вып. 3. С. 119–126.
6. Захаренко Л. П., Перепелкина М. П., Антоненко О. В. и др. Распределение мобильных элементов на полигенных хромосомах до и после селекции по количественному признаку у *Drosophila melanogaster* // Цитология. 2011. Т. 53. № 6. С. 517–527.
7. Захаренко Л. П., Перепелкина М. П., Васильева Л. А. Изменение распределения мобильных генетических элементов в геноме *Drosophila melanogaster* – причина или следствие селекции по количественным признакам? // Цитология. 2010. Т. 52. № 6. С. 487–492.
8. Иванников А. В. Мутаторы класса MR и динамика аллелофонда природных популяций *Drosophila melanogaster*: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1995. 20 с.
9. Мариловцева Е. В., Омелянчук Л. В. Р-элемент как инструмент анализа генома и протеома *Drosophila melanogaster* // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011. Т. 15. № 2. С. 412–422.
10. Ратнер В. А., Васильева Л. А. Индукция транспозиций мобильных генетических элементов стрессовыми воздействиями // Сорос. образов. журнал. 2000. Т. 6. № 6. С. 14–20.

11. Ратнер В. А., Васильева Л. А. Мобильные генетические элементы (МГЭ) и эволюция геномов // Современные проблемы теории эволюции. М.: Наука, 1993. С. 43–59.
12. Черникова М., Rogozin И. Б., Манагадз Д., Глазко В. И. Мобильные генетические элементы в гомологических рядах изменчивости Н. И. Вавилова // Известия ТСХА. 2012. № 5. С. 145–153.
13. Шапошников М., Москалев А. Половой диморфизм продолжительности жизни у *Drosophila melanogaster* // Вестн. Ин-та биологии Коми НЦ УрО РАН. 2006. № 10(108). С. 3–6.
14. Юрченко Н. Н., Коваленко Л. В., Захаров И. К. Мобильные генетические элементы: нестабильность генов и геномов // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2011. Т. 15. № 2. С. 261–270.
15. Bingham P. M., Kidwell M. G., Rubin G. M. The molecular basis of P-M hybrid dysgenesis: the role of P element, a P-strain-specific transposon family // Cell. 1982. Vol. 29. P. 995–1004.
16. Capy P., Gasperi G., Biemont C., Bazin C. Stress and transposable elements: co-evolution or useful parasites? // The Genetical Society of Great Britain, Heredity. 2000. N 85. P. 101–106.
17. Pascual L., Periquet G. Distribution of hobo Transposable Elements in Natural Populations of *Drosophila melanogaster* // Mol. Biol. Evol. 1991. N 8(3). P. 282–296.
18. Pasyukova E. G., Nuzhdin S. V., Morozova T. V., Mackay T. F. C. Accumulation of transposable elements in the genome of *Drosophila melanogaster* is associated with a decrease in fitness // J. Heredity. 2004. №95(4). P. 284–290.
19. Pimpinelli S., Berloco M., Fanti L. et al. Transposable elements are stable structural components of *Drosophila melanogaster* heterochromatin // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 1995. Vol. 92. P. 3804–3808.
20. Ryder E., Russell S. Transposable elements as tools for genomics and genetics in *Drosophila* // Brief. Funct. Genomic. Proteomic. 2003. Vol. 2. N 1. P. 57–71.

Стаття: надійшла до редакції 10.01.14

доопрацьована 05.03.14

прийнята до друку 23.05.14

UNCOMPLETED GONADAL REDUCTION IN HYBRID DYSGENESIS AS INDICATOR OF THE GENOTYPE STABILITY

I. Gorodnyanski, L. Vorobyova

V.N. Karazin Kharkiv National University

4, Svobody Sq., Kharkiv 61022, Ukraine

e-mail: dragon-keeper@yandex.ua

The asymmetry in development of hybrid dysgenesis was studied in lines *Oregon-R*, *Harwich* and *Canton-S*. The depending the proportion of flies with asymmetric reduced gonads in global sample of dysgenic individuals on temperature and mobile element which increase the hybrid dysgenesis was defined. The dependence of the gonadal reduction asymmetry on mobile element stability and adaptation to host genotype was considered. The significance of uncompleted gonads reduction for mobile elements and host genotype was discussed.

Keywords: *Drosophila melanogaster*; mobile genetic elements, hybrid dysgenesis syndrome.

**НЕПОЛНАЯ РЕДУКЦИЯ ГОНАД ПРИ ГИБРИДНОМ ДИСГЕНЕЗЕ
КАК ПОКАЗАТЕЛЬ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОТИПА****И. Городнянский, Л. Воробьева**

*Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина,
пл. Свободы, 4, Харьков 61022, Украина
e-mail: dragon-keeper@yandex.ua*

Изучена асимметрия редукции гонад при проявлении гибридного дисгенеза у линий *Oregon-R*, *Harwich* и *Canton-S*. Установлена зависимость доли особей с асимметрично редуцированными гонадами среди дисгенных особей от температуры. Установлена зависимость доли особей с асимметрично редуцированными гонадами среди дисгенных особей от вызывающего дисгенез МГЭ. Рассмотрена зависимость асимметрии редукции гонад от стабильности МГЭ и приспособленности к его транспозициям генотипа носителя. Обсуждается значение неполной редукции гонад для мобильных элементов и генотипа носителя.

Ключевые слова: Drosophila melanogaster; мобильные элементы генома, синдром гибридного дисгенеза.