

УДК 595.7.082:57.045

© 1999 г. Н. И. РОНКИНА, В. Г. ШАХБАЗОВ

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА НЕКОТОРЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОДИФИКАЦИОННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ У *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIG.

Проблема выяснения механизмов температурных адаптаций, как известно, является актуальной как в научном, так и в практическом плане. Одним из подходов к решению этой проблемы может служить изучение влияния температурных режимов развития родителей на компоненты приспособленности у потомков. Приспособленность организма – это интегральный показатель, который определяется многими количественными признаками, такими как длительность жизни, плодовитость, половая активность, устойчивость к неблагоприятным факторам и т. д. Ранее было показано, что изменение температуры содержания оказывало значительный модифицирующий эффект на адаптивно важные признаки и проявление эффекта гетерозиса у дрозофилы (Цитогенетическое ..., 1997). Проводились исследования различий электрокинетических свойств клеточных (ЭКС) ядер в зависимости от температуры развития, как на животных, так и на растительных объектах (Лобынцева, Шахбазов, 1971; Цитогенетическое ..., 1997). Наиболее высокий процент электроотрицательных ядер (ЭОЯ %) был отмечен при температуре, оптимальной для развития. Высокая температура развития значительно снижала потенциал клеточного ядра.

Целью данной работы было изучение динамики изменений таких компонентов приспособленности, как теплоустойчивость (ТУ) и плодовитость, а также электрокинетических свойств клеточных ядер в ряду поколений дрозофил, выращенных в условиях повышенной температуры. Известно, что температура 29°C и выше значительно снижает экспрессивность признака у *vestigial* (Lindsley, Grell, 1948). Таким образом, выбранный температурный режим представляет собой некую пороговую величину, за которой стоят определенные, ранее молчавшие генетические процессы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служила массовая культура *Drosophila melanogaster* линии *vestigial*. Культуры дрозофилы развивались в стандартной сахарно-дрожжевой среде при двух режимах развития: 25 (контроль) и 29°C (опыт). ЭКС клеточных ядер изучали с помощью оригинальной методики внутриклеточного микроэлектрофореза (Шахбазов, Лобынцева, 1971; Шахбазов и др., 1986). Для исследования ЭКС клеточных ядер использовали прибор «Потенциал-1». Сила тока в электрофоретической камере составляла 0,6 мА, напряженность поля – 7 В/см. Этот метод позволяет исследовать нативные клеточные ядра в естественном окружении. Основным показателем служит процентное содержание ядер, смещающихся в электрическом поле. Учитывается также знак дзета-потенциала по направлению смещения ядер. В слюнных железах дрозофилы смещающиеся в электрическом поле ядра имеют отрицательный заряд. Исследуемый показатель обозначен как ЭОЯ %, т. е. процент электроотрицательных ядер.

ЭКС клеточных ядер изучали на стадии 0-часовой предкуколки, поскольку эта стадия легко идентифицируется по выворачиванию дыхалец. Слюнные железы выделяли и исследовали в физиологическом растворе Эффруси-Бидла. Самок и самцов исследовали отдельно по 15–20 особей в каждом поколении, всего исследовано 105 особей. Полученные результаты обработаны методами вариационной статистики.

Теплоустойчивость у имаго дрозофилы определяли по методике, разработанной на кафедре генетики и цитологии ХГУ (Шахбазов, 1966). Односуточных имаго прогревали в стеклянных пробирках, высотой 20 см и диаметром 2 см по 50 штук (самцы и самки отдельно) в водном термостате при температуре 41,5°C в течении 20 минут. Показателем теплоустойчивости служил процент мух, выживших после прогрева. Учет проводили через 18 ч.

Репродуктивную способность оценивали по количеству потомков на стадии имаго.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты сравнительного исследования показателей адаптивной ценности и ЭОЯ % в шести последовательных поколениях мух, выращенных при супероптимальной температуре (29°C) и нормальной температуре (25°C) представлены в таблице 1. Полученные данные свидетельствуют о том, что приспособленность дрозофилы, а также ЭКС клеточных ядер зависят от температурных условий развития, но имеют различный характер изменений из поколения в поколение. Высокая температура значительно ускорила развитие преимагинальных стадий дрозофилы. Развитие от яйца до имаго в опытном варианте происходило примерно на двое суток быстрее. Замечено также, что как по показателю ЭОЯ %, так и по теплоустойчивости самки (гомогаметный пол у дрозофилы) значительно превосходили самцов. Так, в контрольном варианте самки превосходили самцов по показателю ЭОЯ % на 28% и по ТУ – на 10%, а в опыте – на 18% по обоим показателям. Превосходство гомогаметного пола по показателям теплоустойчивости, устойчивости к голоданию и инфекционным заболеваниям было установлено ранее на дрозофиле и тутовом шелкопряде (Сало и др., 1971; Никольченко, 1992). Показано также, что степень политерии гигантских хромосом у самок дрозофилы выше, чем у самцов и установлена тесная положительная корреляция между ЭОЯ % и степенью политерии хромосом (Страшнюк и др., 1995; Цитогенетическое ..., 1997). Таким образом, полученные нами данные о превосходстве самок дрозофилы над самцами по показателям ЭОЯ % и ТУ подтверждают ранее полученные результаты и дополняют их.

Таблица 1

Показатели ЭОЯ %, ТУ и плодовитости при разных температурах развития дрозофилы

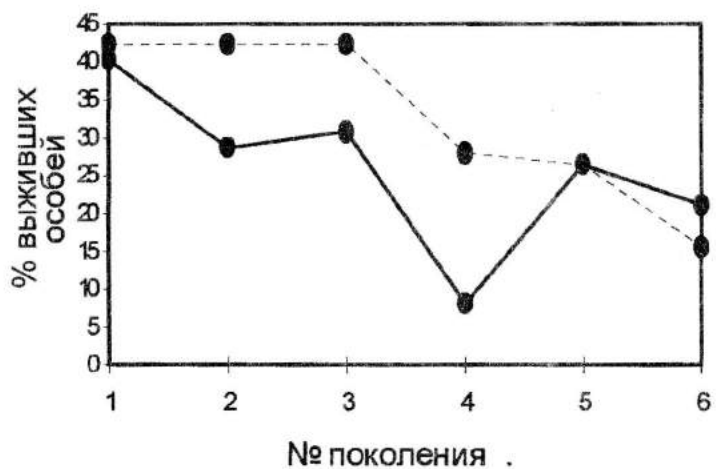
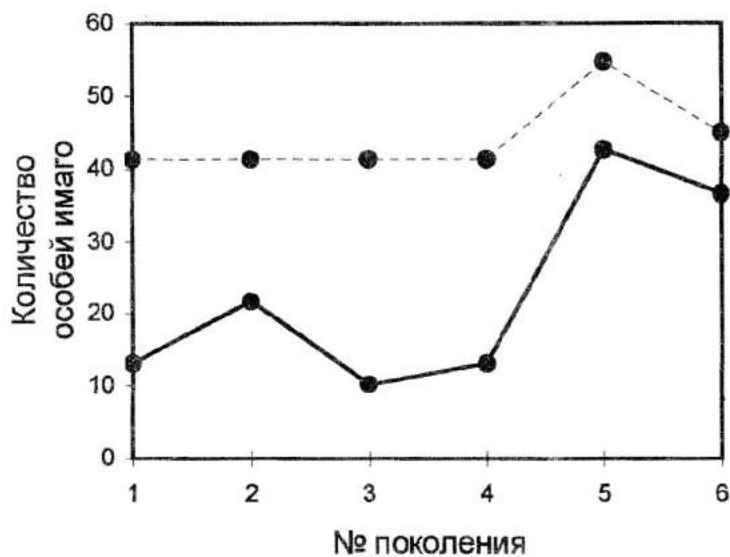
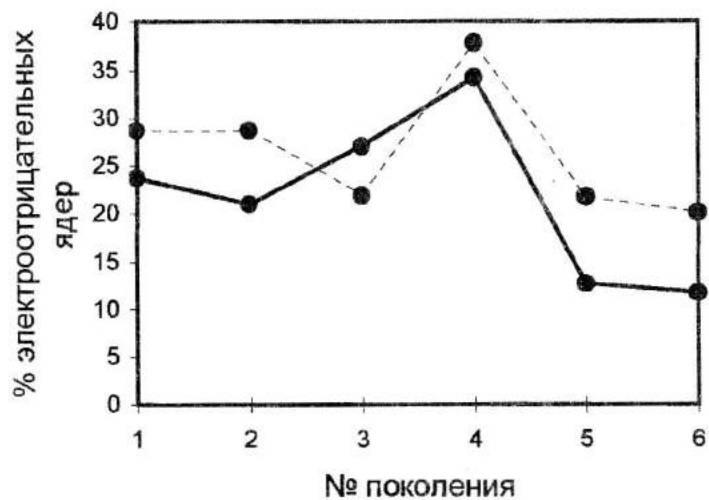
№ по- ко- ле- ния	ЭОЯ %				Теплоустойчивость, % выживших особей				Плодовитость, число особей			
	опыт, 29°C		контроль, 25°C		опыт, 29°C		контроль, 25°C		опыт, 29°C		контроль, 25°C	
	самки	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки	самцы
1	27±4,9	21±4,1	32±4,9	25±3,7	49±4,7	31±5,1	43±4,6	41±6,9	5±2,1	8±2,4	16±4,4	17±1,9
2	23±2,8	15±4,2	32±4,9	25±3,7	36±2,9	21±2,6	43±4,6	41±6,9	10±6,0	11±5,8	16±4,4	17±1,9
3	32±7,3	20±5,4	31±11,4	15±5,1	34±6,0	27±6,6	43±4,6	41±6,9	3±1,4	7±2,2	16±4,4	17±1,9
4	34±5,9	—	37±8,6	39±11,8	12±2,9	5±1,6	31±6,5	25±7,8	6±2,0	7±2,3	16±4,4	17±1,9
5	13±3,3	13±3,9	46±14,2	20±3,4	27±3,5	25±1,9	28±2,6	21±3,1	23±2,7	20±1,9	29±9,6	25±7,9
6	14±2,4	7±2,1	25±4,2	11±2,7	22±3,2	21±4,8	21±4,1	11±2,8	15±2,1	22±2,7	21±2,0	24±3,1

Как видно из рис. 1, кривая изменений ЭОЯ % в ряду поколений дрозофил, выращенных при повышенной температуре (29°C) повторяет, за исключением третьего поколения, кривую изменений ЭОЯ % у мух, содержащихся при оптимальной температуре, при этом все значения ЭОЯ % в опыте (29°C) оказываются ниже, чем в контроле. Однако если с 1-го по 5-ое поколение разница между опытными и контрольными значениями не является достоверной, то уже в 6-ом поколении показатель ЭОЯ % в опыте оказывается статистически достоверно более низким, чем в контроле.

Показатель плодовитости в опыте, напротив, был достоверно более низким в первом и третьем поколениях, а начиная с 4-го поколения разница между опытом и контролем становится недостоверной (рис. 2).

Теплоустойчивость особей, содержащихся при повышенной температуре, так же оказалась ниже контрольной (рис. 3). Во 2-ом и 4-ом поколениях эта разница является достоверной. Но уже в 5-ом поколении показатели сравнялись, а в 6-ом поколении, особи, содержащиеся при повышенной температуре, показали более высокие значения теплоустойчивости по сравнению с контролем, однако разница не достоверна. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что изменение температуры содержания оказывает значительный модифицирующий эффект на адаптивно важные признаки. В условиях супероптимальной температуры установлено снижение теплоустойчивости, плодовитости и ЭОЯ %. Однако характер изменения из поколения в поколение этих показателей различный.

Полученные нами данные относительно снижения таких показателей адаптивной ценности как ТУ и плодовитость при выращивании мух в условиях супероптимальной температуры целиком согласуются с имеющимися литературными данными. В частности, было показано снижение теплоустойчивости, репродуктивной способности и выхода имаго дрозофилы при температуре содержания 28°C (Цитогенетическое ..., 1997). Другими авторами установлено, что при повышенной температуре значительно ускоряется предимагинальное



развитие дрозофилы, а продолжительность жизни значительно снижается (Некрасова, Гонсалвес, 1986).

Поскольку продолжительность жизни так же, как и ТУ, и плодовитость можно отнести к составляющим приспособленности, можно заключить, что в целом содержание мух в условиях повышенной температуры оказывает угнетающее действие на их приспособленность. Заслуживает, однако, внимания тот факт, что начиная с 5-го поколения разница между опытом и контролем по показателю плодовитости резко сокращается, а по теплоустойчивости опытные особи даже превосходят контрольных. Можно предположить, что такая тенденция не случайна, а связана с некоторыми механизмами адаптации к существованию в условиях супероптимальной температуры.

Механизмы температурных модификаций и температурных адаптаций до сих пор остаются недостаточно изученными. Непосредственные доказательства роли температуры в активации определенных генов получены в исследованиях по генам теплового шока (Лозовская и др., 1982). Прямое влияние температуры на экспрессию некоторых генов было ранее показано на примере тутового шелкопряда (Клименко и др., 1980). Температура 29°C и выше значительно увеличивает размеры крыльев у *vestigial*. Механизм температурной активации генов пока не ясен. С целью выяснения цитобиофизических механизмов температурных адаптаций и температурных модификаций были исследованы биоэлектрические свойства клеточных ядер. При повышенной температуре (29°C) обнаружено снижение уровня электроотрицательных ядер в клетках слюнных желез дрозофилы. Однако достоверно значимым это снижение становится только в 6-ом поколении. В предыдущих исследованиях на дрозофиле был установлен параллелизм в изменении показателей ЭОЯ %, теплоустойчивости и плодовитости в зависимости от температурных условий развития (Цитогенетическое ..., 1997). На основании чего были сделаны выводы о существовании связей между интегральными энергетическими свойствами клеточных ядер и фенотипическими проявлениями ряда количественных признаков. Снижение электрокинетического потенциала ядер в условиях повышенной температуры развития установлено и на других объектах (Шахбазов, Лобынцева, 1971). Эти результаты привели к заключению о том, что падение биоэлектрического потенциала клеточного ядра является одним из первых звеньев в цепи процессов, развивающихся в клетке при тепловом повреждении (Шахбазов, 1970; Лобынцева, Шахбазов, 1971; Шахбазов, 1989). Непонятным на наш взгляд остается, однако, тот факт, что, начиная с 5-го поколения характер изменения показателя ЭОЯ %, становится противоположным характеру изменений теплоустойчивости и плодовитости. Очевидно, ответ на этот вопрос требует дополнительных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Клименко В. В., Воробьева Л. И., Шахбазов В. Г. Температурный контроль степени проявления морфологического признака в партеноклонах тутового шелкопряда // Докл. АН СССР. – 1980. – Т. 252, № 3. – С. 732–736.
- Лобынцева Г. С., Шахбазов В. Г. О влиянии высокой экстремальной температуры на электрические свойства клеточного ядра некоторых растений // Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. – Х.: Изд-во Харьков. ун-та, 1971. – С. 72–74.
- Лозовская Е. Р., Левин А. В., Евгеньев М. Г. Тепловой шок у дрозофилы и регуляция активности генома // Генетика. – 1982. – Т. 18, № 11. – С. 732–736.
- Некрасова А. В., Гонсалвес М. Влияние высокой температуры на развитие и длительность жизни линий и гибридов *Drosophila melanogaster* // Вестн. Харьков. ун-та. – 1986. – № 288. – С. 42–44.
- Никольченко З. Т. Связь проявлений адаптивного гетерозиса с полом при разных типах гетерогаметности // Природа, проявление и прогнозирование гетерозиса. – К.: Наукова думка, 1992. – С. 37–46.
- Сало З. Т., Шахбазов В. Г., Нехаенко Р. Я. Пол и теплоустойчивость у дрозофилы и тутового шелкопряда // Устойчивость к экстремальным температурам и температурные адаптации. – Х.: Изд-во Харьков. ун-та, 1971. – С. 54–58.
- Цитогенетическое и цитобиофизическое исследование механизмов температурных адаптаций и эффекта гетерозиса у *Drosophila melanogaster* Meig. / В. Ю. Страшнюк, С. Аль-Хамед, С. Н. Непейвода, В. Г. Шахбазов // Генетика. – 1997. – Т. 33, № 6. – С. 793–799.
- Страшнюк В. Ю., Непейвода С. Н., Шахбазов В. Г. Цитоморфометрическое исследование полигенных хромосом *Drosophila melanogaster* Meig. в связи с эффектом гетерозиса,

отбором по адаптивно важным признакам и полом // Генетика. – 1995. – Т. 31, № 1. – С. 24–29.

- Шахбазов В. Г. О роли электрического потенциала клеточного ядра и ядрышка в норме и при экстремальных воздействиях // Метаболизм клеточного ядра и ядерно-цитоплазматические отношения. – К., 1970. – С. 40–43.
- Шахбазов В. Г. Новое представление о роли температуры в формировании биоэлектрического потенциала и генетических функций клеточного ядра // Докл. АН СССР. – 1989. – Т. 308, № 4. – С. 994–997.
- Шахбазов В. Г. Гетерозис и теплоустойчивость // Бюл. МОИП. Отдел. биол. – 1966. – Т. 71, № 6. – С. 120–127.
- Шахбазов В. Г., Лобынцева Г. С. Биоэлектрические свойства ядра и ядрышка в клетках растений в связи с генотипом, физиологическим состоянием и действием высокой температуры // Биофизика. – 1971. – Т. 16, Вып. 3. – С. 457–461.
- Шахбазов В. Г., Шкорбатов Ю. Г., Страшнюк В. Ю. Регуляция активности ядерного генома и биоэлектрические свойства хроматина и клеточного ядра // Докл. АН СССР. – 1986. – Т. 290, № 5. – С. 1255–1258.
- Lindsay D. L., Grell E. N. Genetic variation of *Drosophila melanogaster*. – Washington: Carnegie Inst., 1948. – P. 261.

Харьковский государственный университет

N. I. RONKINA, V. G. SHAKHBAZOV

**THE EFFECT OF TEMPERATURE ON SOME CHARACTERISTICS OF MODIFICATION
VARIABILITY IN DROSOPHILA MELANOGASTER MEIG.**

Kharkov State University

S U M M A R Y

Dynamics of changing the characteristics of heat resistance, fertility and electrokinetic properties of cell nuclei of *Drosophila melanogaster* of the line *vestigial* during 6 generations kept at increased temperature (29°C) has been studied. The test group were flies raised at the optimum temperature (25°C). It has been established that the above-mentioned characteristics were reduced in flies under experiment. However, the dynamics of their changing from generation to generation is different.