

**Кись А.В., Войт О.В.** Ограничение использования источников ультрафиолетового излучения при поиске следов биологического происхождения на месте происшествия с целью сохранения структуры днк исследуемого материала.

К этому времени главным средством поиска следов крови при осмотре места происшествия было использование различных приборов источников ультрафиолетового излучения. Но, учитывая, что лучи ультрафиолетового спектра разрушают структуру ДНК крови в следах, подлежащих исследованию, поиски следов крови на месте происшествия следует осуществлять с использованием тест-лент «Гемофан», или реактива для поиска следов крови человека SERATEC HEMDIRECT, а следов спермы - SERATEC PSA SEMIQUANT.

**Ключевые слова:** следы крови и спермы, осмотр места происшествия, ультрафиолетовое излучение.

#### Summary

**Kis A.V., Voit O.V.** Limiting the use of UV sources when searching for traces of biological origin on the spot in order to preserve the structure of the dna test material.

The primary goal of experts (immunologists and cytologists) is production of examinations of the material evidences which conclusions are used for working off of investigatory versions at investigation of crimes, for the purpose of search of the criminal on the abandoned traces of biological parentage located as is independent (traces in situ incidents or detection of a corpse), and on subjects-carriers (subjects of clothes of alive people and corpses, crime tools). Applying both methods of research experts solve some question for law enforcement bodies.

**Key words:** traces of blood and sperm, inspection of situ incidents, Uf-radiation.

**Рецензент:** д.мед.н., проф. В.О. Ольховський

## СООТНОШЕНИЕ ПОЛОВ КАК КОМПЛЕКСНЫЙ ДИНАМИЧНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* УКРАИНЫ

**А.В. Лавриненко, Е.В. Городецкая, С.Э. Борони, С.В. Серга, С.Е. Шкляр, И.А. Козерецкая**

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко

#### Вступление

Особое место и значение для современной генетики имеют исследования, нацеленные на понимание процессов происходящих в природных популяциях того или иного организма. Такие исследования дают нам возможность оценить генетические процессы не в лабораторных условиях, которые являются далекими от естественных, а непосредственно в среде обитания организма. Наиболее информативными из таких исследований по праву являются изучения природных популяций модельных организмов, к которым относится и *Drosophila melanogaster*, поскольку их биология и генетика изучены на достаточном уровне, что позволяет адекватно оценивать полученные результаты [1, 2].

Соотношение полов является важной характеристикой природных популяций любых раздельнополых организмов. Смещение данного показателя может влиять как на частоту аллелей генов, расположенных в половых хромосомах, так и на популяцию в целом, а именно, на их размеры, приспособленность популяции к постоянно меняющимся условиям среды обитания, и как следствие, на эволюцию вида. У *D. melanogaster* соотношение полов является менделирующим признаком, и при отсутствии факторов, влияющих на развитие дрозофилы, соотношение составляет 1:1 [3], однако, известно, что в природе такая ситуация наблюдается не всегда [4]. Причины изменения соотношения полов могут быть хромосомной природы, что показано для разных видов дрозофил, у которых наблюдаются отклонения в соотношении полов в сторону увеличения количества самок, связанное с факторами, располагающимися в X хромосоме (такую хромосому называют sex ratio X chromosome -  $X^{SR}$ ). Такие факторы улучшают способность сперматозоида с  $X^{SR}$

хромосомой оплодотворять яйцеклетку, что собственно и приводит к увеличению количества самок [5, 6]. Однако, влияние данного фактора на соотношение полов в популяциях *D. melanogaster* не описано. Также, причиной отклонений в соотношении полов могут быть цитоплазматические факторы, например, эндосимбиотические бактерии, эффекты которых, активно исследуются в последнее десятилетие [7]. Указанные бактерии, которых еще называют репродуктивными паразитами, имеют чрезвычайно широкое распространение среди членистоногих всего миру [7, 8]. Большинство репродуктивных паразитов используют различные механизмы влияния на размножение своих хозяев, среди которых цитоплазматическая несовместимость, партеногенез, феминизация, андроцид [9]. Такие модификации полового размножения могут приводить к смещению соотношения полов в сторону увеличения количества самок [7]. Представителей природных популяций *D. melanogaster* широко колонизирует грамм негативная  $\alpha$ -протеобактерия *Wolbachia pipientis*, однако ее влияние на соотношение полов остается не известным, чего нельзя сказать о втором репродуктивном паразите дрозофил - бактерий рода *Spiroplasma*. Для последних был описан эффект дифференциальной смертности самцов и смещение соотношения полов в сторону увеличения количества самок в потомстве инфицированных особей (самок) [10, 11].

Упомянутые репродуктивные паразиты были идентифицированы в природных популяциях *D. melanogaster* Украины [12, 13]. Исследование соотношения полов в природных популяциях дрозофил Украины, продемонстрировало, что в 2005-2006 гг., наблюдались нерегулярные смещения в соотношении полов в сторону увеличения количества самок в популяциях из разных регионов Украины, имеющие бактериальную природу [14, 15]. Известно, что распространение бактериальной инфекции, как и особенности её сосуществования с видом-хозяином, являются сложным динамичным процессом [16], и для большинства систем хозяин-симбионт, характер данного процесса остается невыясненным. Кроме того, на сегодняшний день не ясна динамика самого показателя соотношения полов в природных популяциях *D. melanogaster*, а именно его изменчивость в каждой конкретной популяции.

**Целью** данной работы был анализ соотношения полов в природных популяциях *D. melanogaster* Украины спустя 7 лет после аналогичного исследования 2005-2006 годов и выяснение возможной роли бактериальных агентов в становлении этого соотношения [14, 15].

## Материалы и методы исследования

**Места сбора дрозофилид.** В конце летнего сезона (август-сентябрь) в трех различных локалитетах на территории Украины были собраны выборки из природных популяций *D. melanogaster*, а именно в г. Умани, Варве и близ водоема-охладителя ЧАЭС (Чернобыльская зона). В Умани и Варве, где была высокая плотность популяции, отлов особей производился с помощью энтомологического сачка, вблизи водоема-охладителя ЧАЭС из-за низкой плотности популяции, были поставлены приманки, на которых и производился отлов.

**Условия лабораторного разведения.** Самки из природных популяций были переведены в лабораторную культуру путем закладки изосамочьих линий из каждой популяции. Для этого отдельная самка помещалась в пробирку. Анализ потомков в поколении таких самок проводили на протяжении пяти поколений, в каждом из которых анализировалось соотношение полов. Дрозофил содержали на стандартной среде (на 1 литр воды 6 г агара, 15 г дрожжей, 50 г сахара, 55 г манной крупы) при температуре 25°C [17]. Из популяции Умани была проанализирована 61 изосамочья линия, из Варвы - 57, водоем-охладитель ЧАЭС - 22. После этого из каждой популяции взяли линии, в которых наблюдалось отклонение в соотношении полов в сторону увеличения количества самок, и тех, в которых соотношение было близким к значению 1:1. Такие линии были посажены на среду с добавлением антибиотика тетрациклина в концентрации 0,25 мг/мл [18]. Тетрациклин является антибиотиком широкого спектра действия, он активен, как против грамположительных, так и против грамотрицательных бактерий, инактивируя малую субъединицу рибосом прокариот, подавляя тем самым синтез белка. Линии содержались на такой среде на протяжении 2 поколений, в каждом из которых производился контроль соотношения полов. После 2 поколений на тетрациклине, линии были снова переведены на стандартную питательную среду [17], и размножались еще в течение 3 поколений, в каждом из которых, также анализировалось соотношение полов.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием критерия Пирсона ( $\chi^2$ ) [19].

## Полученные результаты и их обсуждение

Анализ соотношения полов в пяти поколениях лабораторного разведения изосамочьих линий из исследуемых природных попу-

ляций показал, что для большинства линий характерно соотношение 1:1, или же близкое к этому (рис.1).

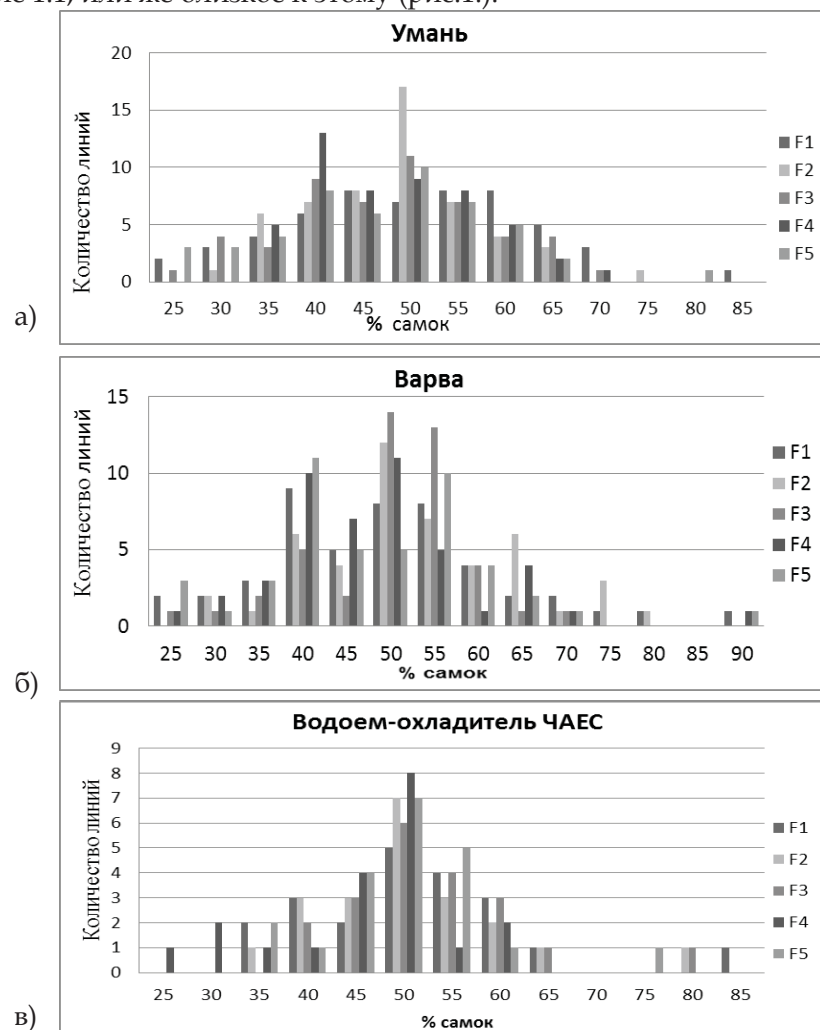


Рис. 1. Результаты анализа соотношения полов в пяти поколениях лабораторного разведения изосамочьих линий из природных популяций *D. melanogaster* сбора 2012 года: а) Умань, б) Варва, в) водоем-охладитель ЧАЭС.

Но наряду с этим в некоторых линиях из всех популяций наблюдаются отклонения от данного показателя в сторону преобла-

дания самок. Сравнение результатов анализа соотношения полов в популяциях 2012 года сбора с более ранними исследованиями, свидетельствует об изменении этого параметра. Так, например, в популяции близ водоема-охладителя ЧАЭС 2005 и 2006 годов сбора были показаны достоверные отклонения в соотношении полов в сторону увеличения количества самок, а в 2012 году в большинстве линий этой популяции соотношение полов составляло 1:1. Что касается популяции г. Умани, то в ней, в 2005 году были зарегистрированы нерегулярные изменения в соотношении полов в сторону увеличения количества самок, а уже в 2006 году, во всех поколениях соотношение полов составляло 1:1, как и в сборе 2012 года. Данный показатель в популяции Варвы ранее не исследовался. Проведенный нами анализ свидетельствует о том, что соотношение полов является динамичным показателем.

Для определения причины преобладания самок в некоторых изосамочьих линиях из исследуемых популяций, такие линии были посажены на среду с добавлением антибиотика тетрациклина. Также, в дальнейшем анализе использовались линии из этих же популяций, в которых количество самок было близкое к 50% во всех пяти поколениях.

Таблица 1

Распределение изосамочьих линий по группам, в зависимости от реакции на среду с добавлением тетрациклина

№ группы	№1	№2	№3	№4
Количество линий	4	9	13	2

В результате анализа соотношения полов в линиях на стандартной среде и тетрациклине изосамочьи линии разделились на 4 группы (см. табл. 1.):

1. Линии, соотношение полов в которых при культивировании на стандартной среде, и среде с добавлением тетрациклина не изменялось, и было равно 1:1. (№ 1)

2. Линии, в которых соотношение полов имеет отклонения в сторону увеличения количества самок хотя бы в 1 поколении, как до, так и после культивирования на тетрациклине. (№ 2)

3. Линии, в которых соотношение полов при культивировании на стандартной среде было равно 1:1, но при переводе особей на среду с добавлением тетрациклина, наблюдались отклонения соотношения с преобладанием количества самок. (№ 3)

4. Линии, в которых наблюдались преобладание самок при культивировании на стандартной среде, а после перевода особей на среду с добавлением тетрациклина соотношение полов было равно 1:1. (№ 4).

На основании полученных данных, мы можем говорить о том, что отклонения в соотношении полов в сторону преобладания количества самок в природных популяциях *D. melanogaster* Украины 2012 года сбора, являются причиной комплексного взаимодействия факторов бактериальной и генетической природы. Так, например, в линиях, в которых отклонения в соотношении полов наблюдалось как до, так и после пересадки особей на среду с добавлением тетрациклина, очевидно, имеют ядерную природу такого эффекта. Что же касается линий, в которых после добавления тетрациклина соотношение полов выравнивалось, и приблизилось к значению 1:1, то в них можно говорить о бактериальной природе отклонений. В этих линиях наблюдается картина подобная той, которая была представлена в популяциях 2005-2006 гг. сбора [14, 15]. Хотелось бы отметить, что таких линий было всего 2, большинство же линий при переходе на тетрациклин демонстрировало преобладание самок хотя бы в одном поколении, несмотря на то, что на стандартной среде самок и самцов было примерно поровну во всех поколениях. Причинами такого явления могут быть как эффекты самого антибиотика тетрациклина, так и эффект удаления микроорганизмов и ответ плодовой мушки на это удаление. Но в ряде линий, мы наблюдали соотношение самок и самцов близкое к 1:1, как до, так и после перевода особей на среду с добавлением тетрациклина, что говорит об отсутствии какого-либо влияния тетрациклина на изменение показателя. А значит, вероятнее всего в линиях из 3 группы мы имеем комплексное влияние микроорганизмов и ответа организма-хозяина на его устранение.

Как известно, эффект любой бактериальной инфекции обуславливается как минимум двумя составляющими, а именно особенностями микроорганизма и ответом организма-хозяина на него. При этом любая инфекция является динамичной, вызывая острый эффект при первом попадании в организм-хозяина, после чего происходит приспособление организма-хозяина к ней и снижение эффекта. Подобную картину мы наблюдаем в природных популяциях *D. melanogaster* Украины – особи из исследуемых популяций адаптировались к влиянию бактериального агента и успешной противодействуют ему, но удаление такого агента ведет к на-

рушению того признака, на который он влиял, а именно на соотношение полов. В этой связи следует отметить, что конкретный бактериальный агент, который вызывает отклонения в соотношении полов в сторону увеличения количества самок в популяциях дрозофил Украины, остается не выявленным. Не ясно также как именно организм дрозофилы адаптировался к нему. Выявление конкретного бактериального агента и механизмов его влияния на соотношение полов требует дальнейших исследований.

#### Выводы

1. Большинство изосамочьих линий из природных популяций *D. melanogaster* Украины 2012 года сбора характеризуются соотношением полов 1:1, и только в некоторых линиях наблюдалось преобладание количества самок.

2. Причиной таких эффектов является комплексное взаимодействие бактериальных агентов и генома хозяина, что свидетельствует о динамичности данных показателей в исследованных нами популяциях.

3. Выявление конкретного бактериального агента, влияющего на данный показатель, требует дальнейших исследований.

#### Литература

1. Источники генетической изменчивости в природных популяциях *Drosophila melanogaster* / И.К. Захаров, О.В. Ваулин, Ю.Ю. Илинский [и др.] // Вестник ВОГиС. – 2008. – Т. 12, № 1-2. – С. 112-126.
2. Ashburner M. *Drosophila. A laboratory handbook* / Ashburner M. – Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. – 1331 pp.
3. Bridges C.B. *Sex in relation to chromosomes and genes* / C.B. Bridges // *Amer. Naturalist*. – 1925.- Vol. 59. – P.127-137.
4. Гершензон С.М. Аналитический обзор исследований по популяционной генетике, проведенных в Национальной академии наук Украины / С.М. Гершензон. – Киев, 1996. – 72 с.
5. Cazemajor M. *The sex-ratio trait in Drosophila simulans: genetic analysis of distortion and suppression* / M. Cazemajor, C. Landré, C. Montchamp-Moreau // *Genetics*. – 1997. – Vol. 147, № 2. – P.635-642.
6. Avis C. James and John Jaeni "Sex Ratio" Meiotic Drive in *Drosophila testacea* *Genetics* 146 651-656 (November, 1990).
7. O'Neill S.L. *Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction* / S.L. O'Neill, A.A. Hoffman, J.H. Werren. – Oxford University Press, 1997. – 214 p.
8. Werren J.H. *Biology of Wolbachia* / J.H. Werren // *Annu. Rev. Entomol.* – 1997. – Vol. 42. – P. 587-609.

9. Захаров И.А. Бактерии управляют половым размножением насекомых / И.А.Захаров // Природа. – 1999. – № 5. – С. 48-57.

10. Anbutsu H. Population Dynamics of Male-Killing and Non-Male-Killing Spiroplasmas in *Drosophila melanogaster* / H. Anbutsu, T. Fukatsu // Applied and Environmental Microbiology. – 2003. – Vol. 69, № 3. – P. 1428-1434.

11. Male-killing selfish cytoplasmic element causes sex-ratio distortion in *Drosophila melanogaster* / H. Montenegro, W.N. Souza, D.D. Leite S. [et al.] // Heredity. – 2000. – Vol. 85. – P. 465-470.

12. Серга С.В. Wolbachia в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Украины / С.В. Серга, І.О. Козерецька // Мікробіологія і біотехнологія. – 2011. – Т.4, № 16. – С. 35-42.

13. Spiroplasma in natural populations of *Drosophila melanogaster* from Ukraine / S.V. Serga, A.I. Rozhok, O.V. Protsenko [et al.] // Dros. Inf. Serv. – 2010. – Vol. 93. – P. 148-154.

14. Бактериальная природа отклонения в соотношении полов в потомстве представителей природных популяций *Drosophila melanogaster* Украины / С.В. Серга, А.С. Демидова, С.В. Демидов, И.А. Козерецкая // Проблемы экологической та медичної генетики і клінічної імунології: збірник наукових праць. – Київ; Луганськ, 2010. – Вип. 4 (100). – С. 68-75.

15. Wolbachia sp. и соотношение полов в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Украины / С.В. Серга, А.В. Проценко, О.В. Жук, И.А. Козерецкая // Достижения і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр. – К.: Логос, 2007. – Т.1. – С. 304-308.

16. Rapid spread of a bacterial symbiont in an invasive whitefly is driven by fitness benefits and female bias 2011 / Himler [et al.]. - DOI: 10.1126/science.1199410 Science 332, 254.

17. Roberts D.B. *Drosophila* a practical approach / D.B. Roberts. – Oxford, 1986. – 295 p.

18. Fry A.J. Variable fitness effects of Wolbachia infection in *Drosophila melanogaster* / A.J. Fry, M.R. Palmer, D.M. Rand // Heredity. – 2004. – Vol. 93. – P. 397-389.

19. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В.Ю. Урбах. – М.: Медицина, 1975. – 296 с.

#### Резюме

**Лавриненко А.В., Городецкая Е.В., Борони С.Э., Серга С.В., Шкляр С.Е., Козерецкая И.А.** Соотношение полов как комплексный динамичный показатель в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Украины.

Соотношение полов является важной характеристикой природных популяций любых раздельнополых организмов. В работе был проведен анализ соотношения полов в изосамочьих линиях из трех природных популяций *D. melanogaster* Украины 2012 года сбора, в которых такой анализ прово-

дился 7 лет назад. В целом, изосамочьи линии *D. melanogaster* Украины 2012 года сбора характеризуются соотношением полов 1:1, и только в некоторых линиях наблюдались отклонения соотношения в сторону преобладания количества самок. Причиной такого преобладания самок в некоторых линиях является комплексное взаимодействие бактериальных агентов и генома организма-хозяина, что резко отличается от ситуации в данных популяциях 7 лет назад, в которых самки преобладали над самцами и причиной такого преобладания был бактериальный агент. А значит, соотношении полов является динамичным показателем в природных популяциях.

**Ключевые слова:** *Drosophila melanogaster*, природные популяции, соотношение полов.

#### Резюме

**Лавриненко О.В., Городецька О.В., Бороні С.Е., Серга С.В., Шкляр С.Е., Козерецька І.О.** Співвідношення статей як комплексний динамічний показник в природних популяціях *Drosophila melanogaster* України

Співвідношення статей є важливою характеристикою природних популяцій будь-яких раздельнополых організмів. У роботі був проведений аналіз співвідношення статей в ізосамочьих лініях з трьох природних популяцій *D. melanogaster* України 2012 збору, в яких такий аналіз проводився 7 років тому. В цілому, ізосамочьи лінії *D. melanogaster* України 2012 збору характеризуються співвідношенням статей 1:1, і лише в деяких лініях спостерігалися відхилення співвідношення в бік переважання кількості самок. Причиною такого переважання самок в деяких лініях є комплексна взаємодія бактериальних агентів і геному організму-господаря, що різко відрізняється від ситуації в даних популяціях 7 років тому, в яких самки переважали над самцями і причиною такого переважання був бактеріальний агент. А значить, співвідношення статей є динамічним показником в природних популяціях.

**Ключові слова:** *Drosophila melanogaster*, природні популяції, співвідношення статей.

#### Summary

**Lavrinenko A.V., Gorodetskaya E.V., Boroni S.E, Serga S.V., Shklyar S. E., Kozereckaya I.A.** Sex ratio as a complex dynamic parameter in natural populations of *Drosophila melanogaster* from Ukraine.

Sex ratio is an important characteristic of natural populations of any organisms with sexual dimorphisms. In this paper we analyzed the sex ratio in isofemale lines from three natural populations of *D. melanogaster* of Ukraine in 2012, the analysis of which was already made 7 years ago. In general, the isofemale lines of *D. melanogaster* of Ukraine in 2012 was characterized by a 1:1 ratio, and only some of the lines were observed to have ratio deviations with increased amount of females. The reason of such effects in those isofemale lines can be a complex interaction of bacterial agents and the genome of the host organism, this situation is quite different from the one that was 7 years ago, in which females predominated over males and the reason of this was the bacterial agent. This is why the sex ratio is a dynamic parameter in natural populations.

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, natural populations, the sex ratio.

**Рецензент:** д.б.н., проф. С.В. Демидов