

УДК 576.312:591.044

©1997 г. САМИЛО С.М., СТРАШНЮК В.Ю., ШАХБАЗОВ В.Г.

**РАЗЛИЧИЯ ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПО ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ И БИОЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОЧНЫХ ЯДЕР.**

Изучение гетерозиса, инбридинга и отбора важно как для понимания генетических процессов, происходящих в естественных популяциях организмов, так и в практике селекционной работы. Дрозофила, как модельный объект, широко используется в генетических исследованиях, в частности, в генетике количественных признаков. Для выяснения природы гетерозиса, инбредной депрессии и отбора актуальной является задача более глубокого и всестороннего изучения этих явлений, их генетических, физиолого-биохимических и биофизических основ (Шахбазов, 1966, 1979). Биофизический аспект проблемы наряду с другими вопросами включает исследование электрических свойств клеточных ядер у инбредных и гибридных организмов. Имеющиеся данные позволяют рассматривать биоэлектрические свойства ядер как интегральный показатель их общего функционального состояния, уровня генетической активности и гомеостаза клеток (Шахбазов, 1979). В опытах на растениях установлено, что гетерозисные гибриды отличаются от инбредных форм более высокими значениями трансмембранного потенциала клеток и клеточных ядер и дзета-потенциала клеточных ядер. Показана связь повышенной теплоустойчивости гетерозисных гибридов растений с устойчивостью электрических потенциалов их клеток и клеточных ядер к действию высокой температуры (Шахбазов и др., 1970; Шахбазов, Лобынцева 1971). Изучались электрические свойства клеток и клеточных ядер и на дрозофиле. В частности, был измерен трансмембранный потенциал клеток и ядер в слюнных железах личинок (Атонов и др., 1965). Было также установлено, что эффект гетерозиса у дрозофилы сопровождается значительным увеличением электроотрицательности клеточных ядер (Страшнюк, Шахбазов, 1988).

Целью данной работы было исследование электрокинетических свойств (ЭКС) клеточных ядер слюнных желез личинок дрозофилы в связи с эффектом гетерозиса и отбором по адаптивно важным признакам.

Материалом для исследований служили высокоинбредные, селектируемые линии НА (низкоактивная) и ВА (высокоактивная), прямой и рецессивный гибриды  $F_1$  между ними. К началу опытов линии прошли более 680 поколений инбридинга в сочетании с отбором по половой активности самцов. Данные линии были получены Л.З. Кайдановым (Санкт-Петербургский университет), который любезно предоставил их нам для исследований. Было показано, что отбор и инбридинг затронули целый комплекс адаптивно важных признаков дрозофилы. Линия ВА превосходит линию НА по плодовитости, теплоустойчивости, жизнеспособности, скорости развития, конкурентноспособности и другим показателям (Кайданов, 1979; Кайданов и др., 1983). Установлено также, что линии ВА и НА обладают высокой комбинационной способностью на гетерозис. Гибриды между этими линиями значительно превосходят инбредные линии по перечисленным адаптивно важным признакам (Кайданов, Субботин, 1984; Шахбазов, Таглина, 1990; Страшнюк и др., 1991).

Линии и гибриды дрозофилы развивались в стандартной сахарно-дрожжевой среде при температуре 24-25 °С в условиях термостатирования. В слюнных железах личинок исследовали ЭКС клеточных ядер методом внутриклеточного микроэлектрофореза (Шахбазов, Лобынцева 1971). В опыты брали личинок конца 3-го возраста. Слюнные железы извлекали на стекле электрофоретической камеры в капле физиологического раствора Эфрусси-Бидла. Напряженность электрического поля между электродами составляла 7 В/см, сила тока в камере - 0.7 мА. При пропускании импульсов тока через среду, в которой находились железы, наблюдали смещение части ядер в сторону анода. Определяли процентное содержание электроотрицательных ядер - ЭО%.

Самки и самцы исследовали отдельно, по 10 особей каждой линии и гибрида. Всего исследовано 80 особей. Полученные результаты обработаны методами вариационной статистики.

Результаты исследования ЭКС клеточных ядер у дрозофилы представлены в табл. 1.

Показатель ЭО% клеточных ядер в слюнных железах личинок инбредных линий и межлинейных гибридов F1 дрозофилы

Линии, гибриды	ЭО% клеточных ядер	
	самки	самцы
ВА	46,30 ± 2,02	43,70 ± 2,51
НА	34,90 ± 1,76	33,70 ± 1,72
ВА x НА	56,80 ± 2,15	58,10 ± 4,04
НА x ВА	59,00 ± 2,07	58,40 ± 2,02

Сравнительный анализ полученных данных показал, что взятые в эксперимент контрастные по адаптивно важным признакам линии достоверно различаются по показателю ЭО% клеточных ядер. Более жизнеспособная линия ВА превосходила по данному показателю инадаптивную линию НА в среднем на 29.7 - 33.7 % ( $P > 0.99$ ).

Гибриды F1 превосходили по величине электроотрицательности клеточных ядер обе родительские линии. Различия составили в среднем 30.5 % по сравнению с линией ВА ( $P > 0.99$ ), а с линией НА - 69.4 % ( $P > 0.999$ ). Реципрокного эффекта по изученному показателю не обнаружено. Также не выявлено достоверных половых различий в данном исследовании. Полученные результаты свидетельствуют о наличии положительной корреляции между адаптивной ценностью различных генотипов и уровнем ЭО% клеточных ядер, а также о том, что эффект гетерозиса у дрозофилы сопровождается значительным увеличением электрокинетического потенциала клеточных ядер у гибридных личинок.

Как показали исследования Л.З. Кайданова и соавторов (Кайданов, 1979; Кайданов и др., 1983) генетической основой различий по адаптивно важным признакам у линий НА и ВА является изменение баланса генов в ходе селекции. В инадаптивной линии НА обнаружено накопление субвитаальных мутаций, снижающих жизнеспособность, тогда как в линии ВА в геноме особей увеличено содержание супервитаальных генов и уменьшено количество "вредных" мутаций. Установлено также неслучайное распределение МДГ-элементов в геноме селективируемых инбредных линий НА, ВА и сублиний, коррелирующее с их различной адаптивной ценностью (Беляева и др., 1981).

Представляет интерес сравнить полученные в данной работе результаты исследования биоэлектрических свойств клеточных ядер с особенностями строения и функции политенных хромосом слюнных желез у селективируемых, инбредных линий НА, ВА и межлинейных гибридов.

Ранее были установлены межлинейные различия в частоте встречаемости асиноптических участков хромосом, обнаружено увеличение спонтанного асинопсиса у исследованного гибрида F1 НАхВА (Таглина, 1992).

Были показаны различия в скорости регрессии межлиночных и активации ранних экдизоновых пухов в политенных хромосомах у линий ВА, НА и гибрида F1 ВАхНА под влиянием гормона линьки экдистерона в культуре (Страшнюк и др., 1991). Линия ВА превосходила линию НА, а гибрид превышал обе родительские линии по скорости ответа ядерных генов на действие гормонального стимула, а также по размерам пухов. Полученные результаты коррелировали с различиями линий и гибрида по скорости предимагинального развития.

Сходная закономерность была обнаружена при изучении действия теплового шока при 37 °С (Шахбазов, Таглина, 1990). Изученная динамика развития пухов теплового шока у линий ВА, НА и у гибрида F1 НАхВА свидетельствует о более поздней индукции пухов у инадаптивной линии НА и их слабой выраженности. Линия ВА превосходила линию НА. У гибрида пухы теплового шока возникали после прогрева значительно быстрее, чем у родительских линий, что положительно коррелировало с их большей теплоустойчивостью.

Наконец, были установлены различия в степени политении гигантских хромосом у селективируемых инбредных линий ВА, НА и реципрокных гибридов между ними (Страшнюк и др., 1995). Показано, что этот показатель у линии ВА в среднем на 15.5 % выше, чем у линии НА, а гибриды превосходили лучшую из родительских линий - ВА - в среднем на 10.3 -13.5 %.

Результаты исследований, проведенных на селективируемых, высокоинбредных НА, ВА и гибридах между ними, свидетельствуют о существовании взаимосвязи между адаптивно важными признаками, биоэлектрическими свойствами клеточных ядер и особенностями структуры и функции политенных хромосом.

В отношении природы этих взаимосвязей можно высказать следующее предположение. Известно, что суммарный заряд клеточного ядра образован его поверхностным и объемным зарядом. По нашему мнению, степень политении хромосом влияет на электроемкость клеточного ядра. Величина заряда ядра зависит также от уровня транскрипции, которая в

политенных ядрах проявляется как пуффинг. Ранее был показан вклад нуклеиновых кислот - ДНК и РНК в формировании электрического заряда клеточных ядер (Шкорбатов, Шахбазов, 1982). Наряду с этим на заряд ядра может оказывать влияние степень диффузности ядерного генома, которая в частности зависит от степени асинописиса хромосом (Шахбазов, 1979). Наряду с наличием сиаловых и гиалуроновой кислот на поверхности ядерной оболочки и свойствами цитоплазмы (Шкорбатов, Шахбазов, 1992) эти факторы обуславливают электрокинетический потенциал клеточного ядра.

Полученные результаты являются новым подтверждением роли биологических свойств клеточных ядер в эффекте гетерозиса и степени приспособленности генетических линий. Они также свидетельствуют о связи электрического заряда клеточных ядер с уровнем функциональной активности и особенностями структуры ядерного генома.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Антонов В.Ф., Курелла Г.А., Мещишен И.Ф., У Бень-цзе. Влияние ионов калия, натрия и хлора на разность потенциалов между средой, цитоплазмой и ядром клеток слюнной железы дрозофилы // Докл. АН СССР, 1965, Т.161, №3, С.691-693.
- Беляева Е.С., Пасюкова Е.Г., Гвоздев В.А., Ильин Ю.В., Амосова И.С. Транспозиции мобильных диспергированных генов у *Drosophila melanogaster*, выявляемые с помощью селекции // Генетика, 1981. Т. 17, №9, С. 1566 - 1580.
- Кайданов Л.З. Анализ генетических последствий отбора и инбридинга у *Drosophila melanogaster* // Журн. общ. биол., 1979, Т.40, №6, С. 834-849.
- Кайданов Л.З., Субботин А.М. Исследование комбинационной способности инбредных линий *Drosophila melanogaster*, различающихся по адаптивной ценности // Цитология и генетика, 1984, Т. 13, №6, С. 429 - 433.
- Кайданов Л.З., Хугуто Н., Иовлева О.В. Концентрация мутаций, различающихся по влиянию на жизнеспособность, в селектируемых инбредных линиях *Drosophila melanogaster* // Генетика, 1983. Т. 19, №9, С.1451-1456.
- Страшнюк В.Ю., Шахбазов В.Г. Влияние инбридинга, межлинейной гибридизации и возраста родительского поколения на электрические свойства клеточных ядер слюнных желез *Drosophila melanogaster* // Науч. докл. высш. школы. Биол. науки, 1988, №11, С.94-99.
- Страшнюк В.Ю., Таглина О.В., Шахбазов В.Г. Экдизонзависимые изменения активности пуфов 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.
- Страшнюк В.Ю., Непейвода С.Н., Шахбазов В.Г. Цитоморфометрическое исследование политенных хромосом *Drosophila melanogaster Meig* в связи с эффектом гетерозиса, отбором по адаптивно важным признакам и полом // Генетика, -1995, Т.31, №1, С.24-29.
- Таглина О.В. Некоторые структурно-функциональные характеристики политенных хромосом гетерозисных и негетерозисных гибридов дрозофилы // Природа, проявления и прогнозирование гетерозиса, К.: Наукова думка, 1992, С.57-62.
- Шахбазов В.Г. Физиологическое и генетическое исследование явлений гетерозиса и инбредной депрессии : Автореф. дис. д-ра биол. наук, Харьков, 1966, 40 с.
- Шахбазов В.Г. Биофизический аспект в изучении природы гетерозиса // С.-х. биология, 1979, Т. 14, №4, С. 468-472.
- Шахбазов В.Г., Котенко Л.В., Копейка Е.Ф., Набоков А.Л. Изменения электрических потенциалов клеток, разных по генотипу, под влиянием высокой температуры // Цитология и генетика, 1970, Т.4, №4, С.352-355.
- 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, №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.
- Шахбазов В.Г., Таглина О.В. Особенности динамики пуфов теплового шока у высокоинбредных линий и гетерозисных гибридов *Drosophila melanogaster* // Генетика, 1990. Т.26, №1, С.43-48.
- Шкорбатов Ю.Г., Шахбазов В.Г. О роли нуклеиновых кислот и других биополимеров в образовании электрического заряда клеточного ядра // Молекул. генет. и биофизика, 1982, Вып.7, С.35-38.
- Шкорбатов Ю.Г., Шахбазов В.Г. Биоэлектрические свойства клеточных ядер // Успехи совр. биол., 1992, Т.112, №4, С.499-511.

S.M. SAMILO, V.YU. STRASHNYUK, V.G. SHAKHBAZOV

THE FITNESS DIFFERENCES OF LINES AND HYBRIDS OF *DROSOPHYLA*  
*MELANOGASTER* AND BIOELECTRIC PROPERTIES OF CELL NUCLEI.

*Kharkov State University*

S U M M A R Y

Electrokinetic properties of cell nuclei of *Drosophila melanogaster* were under investigation. Two selected highly inbred lines of LA (low active) and HA (high active) and interlinear hybrids of F1 LAxHA and HAxLA were used as material. The lower number of electronegative nuclei (EN% value) was found in the salivary glands of larvae of the inadaptive LA line in comparison with the HA line. The hybrids surpassed both the parental lines. The obtained results are discussed in connection with the mechanisms of heterosis and peculiarities of structure and functions of polytene chromosomes in the investigated lines and hybrids of *Drosophila*.