

ХАРЬКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

ДЖАН ЗЕ УК

*Джан*

ГЕН-ЭНЗИМНАЯ СИСТЕМА ЭСТЕРАЗЫ-6  
И УСТОЙЧИВОСТЬ ДРОЗОБИЛЫ  
К ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

03.00.16 - генетика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Харьков - 1992

ХАРЬКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
1992

Работа выполнена на кафедре генетики и молекулярной биологии Одесского государственного университета

Научный руководитель: доктор биологических наук,  
профессор В.Н.Тощий

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,  
профессор В.В.Клименко  
(Украинский институт шелководства,  
г. Мерефа Харьковской обл.)  
кандидат биологических наук,  
доцент Ц.М.Шершевская  
(Харьковский госуниверситет)

Ведущая организация: Киевский государственный университет

Защита диссертации состоится "13" ноября 1992 г.  
в 15 часов 15 минут на заседании специализированного совета  
К 053.06.07 Харьковского государственного университета по адресу:  
ЗІ00/77, г. Харьков, пл. Свободы, 4, ХГУ, аудитория № 3 - 13.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке ХГУ.

Автореферат разослан "27" октября 1992 года

Ученый секретарь  
специализированного совета,  
кандидат биологических наук

*Н.И.*

А.В.Некрасова

ЛНБ ім. В. Стефаника  
АН УРСР

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследований. Недостаточность имеющейся в литературе информации о геномной организации R- и F-систем, обеспечивающих адаптационные реакции генотипов на неблагоприятные условия внешней среды, в значительной степени сдерживает глубокое понимание таких общебиологических процессов и явлений, как адаптивный гетерозис, специфическая и неспецифическая устойчивость генотипов, стресс и многое другое.

К сожалению, роль отдельных локусов хромосом в проявлении функций R- и F-систем биологической устойчивости в настоящее время не исследована, в связи с чем геномная организация этих систем остается неясной. Так, например, отсутствует четкая информация об аллельном составе конкретных коадаптированных блоков генов и блоков коадаптированных генов, наличие которых постулировано для объяснения межвидовых различий устойчивости /Луценко, 1980, 1988/; не выяснена природа так называемых компенсационных комплексов генов, лежащих, по мнению В.А.Струнникова /1974, 1986/, в основе адаптивного гетерозиса; не изучена роль конкретных локусов хромосом и отдельных генов из серии множественных аллелей в формировании гипотетических комплексов генов ад-птации /Гоцкий, 1990, 1992/. Все это свидетельствует об актуальности и научной значимости исследований по выяснению адаптивной ценности конкретных аллельных и неаллельных генов, их взаимодействий в становлении адаптивных реакций, в том числе гетерозиса, имеющего огромное народнохозяйственное значение.

Сказанным определяется актуальность исследований по выяснению адаптивного значения S- и F-форм эстеразы-6 у дрозофилы.

Цель и задачи исследований. Основной целью работы яви ось изучение роли генетического локуса Est-6 в процессах адаптации *D. melanogaster* к повышенной температуре и сравнение селективной ценности S- и F-аллелей Est-6 в условиях гипертермии. В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать множественные молекулярные формы (ММФ) фермента эстеразы-6 (EST-6) у некоторых инбредных и мутантных линий дрозофилы;

2. Получить сублинии мух, изогенные по хромосомам 1, 2, 3 и содержащие только S- или F-форму EST-6;

3. Определить характер наследования F- и S-форм фермента при скрещивании указанных сублиний мух;

4. Исследовать особенности физико-химических свойств электрофоретически различающихся форм фермента, для этого определить удельную активность, температурезистентность, Km и Vmax F- и S-форм EST-6;

5. Изучить эстеразную активность и терморезистентность эстераз в онтогенезе мух инбредных и мутантных линий, а также у полученных форм, гомозиготных по F- или S-аллелю Est-6;

6. Провести сравнительный анализ некоторых показателей жизнеспособности (выживаемости при сублетальной температуре, плодовитости, репродуктивной активности) у мух, содержащих S- или F-форму фермента в гомозиготном или гетерозиготном состоянии;

7. Изучить показатели жизнеспособности, активность и терморезистентность EST-6 у потомков мух, гомозиготных и гетерозиготных по локусу Est-6, при продолжительном (в течение 45 поколений) действии перmissiveй (29 °C) гипертермии на популяцию;

8. Определить динамику частот генотипов SS, SF и FF, а также частот аллелей Est-6<sup>S</sup> и Est-6<sup>F</sup> в экспериментальной популяции, содержащейся при постоянной перmissive (29 °C) гипертермии;

9. Сравнить селективную ценность S- и F-аллелей Est-6 и оценить адаптивное значение локуса Est-6 в условиях гипертермии.

Научная новизна результатов исследований. Впервые в опытах на изогенных мухах показана важная роль гена Est-6 и особенно S-аллеля этого гена в экспрессии признака устойчивости к повышенной температуре. При этом элементами научной новизны характеризуются следующие установленные экспериментально факты:

- Экспрессия некоторых показателей жизнеспособности, в частности реальной плодовитости и выживаемости при кратковременной сублетальной (41 °C) или долговременной перmissive (29 °C) гипертермии, зависит от аллельного содержания локуса Est-6 и более выражена у генотипов, содержащих S-аллель Est-6.

- S-форма Est-6 характеризуется более высокой терморезистентностью по сравнению с F-формой, что наряду с другими свойствами обуславливает ей селективное преимущество как в нормальных условиях обитания мух, так и при гипертермии.

- При постоянном (в течение 20 поколений) действии на экспериментальную популяцию повышенной температуры (29 °C) генетическая структура популяции изменяется в пользу S-аллеля Est-6.

Практическая значимость работы. Получены и внедрены в практику научных исследований изогенные по хромосомам I, 2, 3 линии мух, отличающиеся друг от друга аллельным содержанием локуса Est-6. Предметом защиты являются результаты исследова-

ний, выполненных на указанных мухах и свидетельствующие о важной роли локуса Est-6 в процессах онтогенетической адаптации и о возможном вхождении этого локуса в компенсационные комплексы генов (В.А.Струнников) или комплексы генов адаптации (В.Р.Тоцкий), формирующиеся в популяции при долговременном действии неблагоприятных факторов. Вывод о важной роли конкретного гена (Est-6<sup>S</sup>) и серии множественных аллелей в формировании генетических систем защиты способствует дальнейшему прогрессу теории адаптации и практики гетерозиса, имеющего важное народнохозяйственное значение.

Апробация работы. Материалы работы доложены на II Всесоюзном совещании "Генетика развития" (Ташкент, 1990), I Всесоюзной конференции по генетике насекомых (Москва, 1991), I Всесоюзной научной конференции "Экологическая генетика растений, животных, человека" (Кишинев, 1991), VI съезде УОГиС (Полтава, 1991), научных семинарах биологического факультета СГУ.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 5 работ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов и списка литературы. Изложена на 117 страницах машинописного текста, содержит 12 таблиц и 11 рисунков. Список использованной литературы содержит 186 источников, в том числе 65 на иностранных языках.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### МАТЕРИАЛ, МЕТОДИКА И УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Исследования проведены на *D. melanogaster* лабораторных линий N, Canton - S, cn, vg, b и M-5; Cy/Pm; D/Sb. Родоначаль-

ницей мух линии N была самка, отловленная из Одесской популяции мух, потомки которой подвергались длительному инбридингу (более 200 поколений) в лабораторных условиях. Степень инбридинга других лабораторных линий - не менее 100. Мух содержали в стеклянных сосудах (200 мл) на стандартной питательной среде при температуре 25 °C /Какпаков, 1977; Хромых, 1977/.

Экстремальные условия создавали, культивируя мух при повышенной температуре (29 °C) в течение 20-45 поколений. Тепловой шок вызывали однократным (15 мин) воздействием сублетальной (41 °C) температуры /Некрасова, Шехбазов, 1981/.

Гомозиготные по гену Est-6 сублинии b<sup>S</sup> и b<sup>F</sup> получали из лабораторной линии b, которая оказалась гетерогенной по указанному локусу. При этом гетерозиготную по гену Est-6 самку линии b скрещивали с самцом балансерной линии M<sub>1</sub> Cy/Pac D/Sb, в F<sub>1</sub> отбирали виргинных самок определенных генотипов и снова скрещивали с самцом балансерной линии. Из потомков F<sub>2</sub> отбирали виргинных самок и самцов, которых скрещивали между собой в целях дальнейшего отбора мух, изогенных по хромосомам 1, 2, 3, но отличающихся аллельным содержанием ло. *lca* Est-6 (рис. 1).

Экспериментальные популяции дрозофилы создавали, помещая вместе по 10 самок и 10 самцов каждой из сублиний b<sup>F</sup> и b<sup>S</sup>, а также по 20 самок и самцов F<sub>1</sub> от скрещивания указанных сублиний между собой. Одна из таких популяций с момента закладки культивировалась при температуре 29 °C, другая (контроль) - в стандартных условиях (25 °C).

Теплоустойчивость имагинальных форм исследуемых мух определяли по апробированной методике /Стравинок и др., 1985/. При этом самок и самцов отдельно прогревали 15 мин при температуре 41 °C и через 24 часа после прогрева проводили под-

$$P: \text{♀} \frac{\text{+ b + Est-6}^S \text{ + +}}{\text{+ b + Est-6}^P \text{ + +}} \times \text{♂} \frac{M-5 \text{ Cy + + Est-6}^S \text{ D +}}{\text{+ +Pm Est-6}^S \text{ + Sb}}$$

$$F_1: \text{♀} \frac{\text{+ b + Est-6}^S \text{ + +}}{M-5 \text{ Cy + + Est-6}^S \text{ D +}}$$

$$\text{♂} \frac{M-5 \text{ Cy + + Est-6}^S \text{ D +}}{\text{+ +Pm Est-6}^S \text{ + Sb}}$$

$$F_2: \text{♀} \frac{\text{+ b + Est-6}^S \text{ + +}}{M-5 \text{ Cy + + Est-6}^S \text{ D +}} \times \text{♂} \frac{\text{+ b + Est-6}^S \text{ + +}}{\text{Cy + + Est-6}^S \text{ D +}}$$



$$F_3: \text{♀} \frac{\text{+ b + Est-6}^S \text{ + +}}{\text{+ b + Est-6}^S \text{ + +}} \times \text{♂} \frac{\text{+ b + Est-6}^S \text{ + +}}{\text{+ b + Est-6}^S \text{ + +}}$$

Рис. 1. Схема получения сублин.й дрозофилы  $b^S$  и  $b^P$ ,  
изогенных по хромосомам 1, 2, 3

счет выжищих мух.. Отношение последних к общему числу особей, взятых в опыт, выражали в процентах и расценивали как показатель теплоустойчивости.

Репродуктивную способность мух оценивали по их репродуктивной активности и реальной плодовитости. Репродуктивную активность (частота спариваний среди испытуемых мух в течение 30 и 60 мин) определяли по методу, описанному Д.В.Коротковым и соавторами /1988/. Реальную плодовитость определяли путем подсчета куколок и куколочных экзубиев, полученных из яиц, отложенных одной самкой в течение 7 дней после спаривания с самцом той же линии /Тоцкий и др., 1990/.

Эстеразную активность в экстрактах тканей в норме и в условиях гипертермии определяли спектрофотометрически по образованию  $\beta$ -нафтола в результате гидролиза  $\beta$ -нафтилацетата под действием тканевых  $\beta$ -эстераз /Van Avergen, 1962/, которые у имагинальных форм *D. melanogaster* представлены главным образом эстеразой-6 (EST-6). В связи с этим в дальнейшем тексте выражения "эстеразная активность" и "активность EST-6" в ряде случаев употребляются как синонимы. Активность EST-6 выражали в мкмоль  $\beta$ -нафтола/мин·мг белка. Концентрацию белка в пробах определяли по методу Лоури /Lowry et al., 1951/.

$K_m$  и  $V_{max}$  определяли графически по методу Лайнуивера-Бэрка /Ленинджер, 1985/.

Термостабильность фермента оценивали по его остаточной активности после прогревания экстрактов тканей в водянном термостате при температуре 46 °C в течение 20 мин и выражали в процентах от исходной активности. Параллельно проводили определение термостабильности фермента непосредственно в гелевых пластинках после электрофоретического разделения белков /Cochrane,

1976/. При этом гистохимическое выявление EST-6 осуществлялось на пластинах сразу после разделения белков, а также через 5, 10, 15, 20 и 25 мин после прогрева (57 °C).

Определение электрофоретического спектра ММФ EST-6 проводили в пластинах 7,5 % полиакриламидного геля стандартным методом /Reacock et al., 1968/. Гистохимическое выявление ММФ осуществляли с помощью раствора 0,1 М фосфатного буфера, pH 6,5, содержащего 30 мг (на 100 мл буфера) прочного синего PP-соль и субстрат  $\beta$ -нафтилацетат /Серов и др., 1977/.

Математическую обработку полученных данных проводили общепринятыми методами вариационной статистики /Рокицкий, 1973/. Статистический анализ теплоустойчивости и плодовитости дрозофилы проводили по Стьюденту, оценивая разность выборочных долей (P). Активность и термостабильность EST-6 анализировали, исходя из разности выборочных средних (M), средней ошибки ( $\sigma$ ) и достоверности разницы (p).

Статистический анализ репродуктивной активности мух проводили, используя приемы обработки данных для альтернативной вариации. Анализ аллельного состава локуса Est-6 в экспериментальных популяциях и в F<sub>2</sub> от скрещивания мух сублиний b<sup>S</sup> и b<sup>P</sup> проводили с помощью критерия Пирсона  $\chi^2$ .

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИИ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение электрофоретических спектров EST-6 у мух линий N, Canton - S, sp, b, vg показало (рис. 2), что генотипы всех исследуемых мух содержат S-аллель Est-6, несмотря на их существенные различия по признакам плодовитости /Тоцкий и др., 1990/, выживаемости в неблагоприятных условиях /Котенко, Шахбазов, 1984; Тоцкий, Хаустова, 1992/ и другим показателям

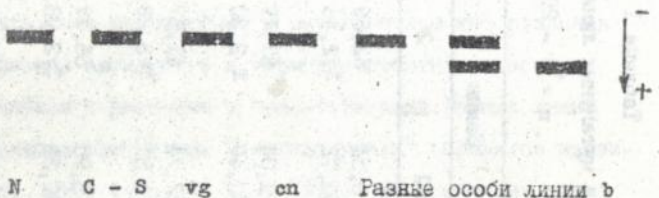


Рис. 2. Электрофоретические спектры est-6 у мух исследуемых линий.

жизнеспособности и адаптивности /Гандирук, 1992/.

Сопоставляя динамику эстеразной активности и терморезистентности эстераз в онтогенезе мух разных линий (табл. I) с литературными данными о жизнеспособности последних, мы не смогли установить отчетливых корреляций этих показателей. Так, например, мухи линии *vg*, которые характеризуются меньшей плодовитостью и повышенной чувствительностью к температуре, по уровню эстеразной активности и терморезистентности эстераз у личинок, куколок и имагинальных форм самок мало отличаются от других исследованных линий. Тем не менее у взрослых самцов линии *vg* уровень эстеразной активности заметно выше, а у самцов линии *cn* значительно ниже, чем у самцов линий *N* и *Canton - S* ( $p < 0,05$ ). Уровень терморезистентности эстераз у разных мух претерпевает определенные колебания в зависимости от стадий онтогенеза, линейной и половой принадлежности особей (табл. I). Так, например, у личинок линии *vg* остаточная эстеразная активность после прогрева экстракта тканей составляет 74 %, а у личинок линии *Canton - S* - 60 %; у самцов линии *N* - примерно 52 %, а у самок той же линии и того же возраста - более 63 %. В целом у взрослых самцов любой линии эстеразная активность тканей более значительна и характеризуется меньшей термостабильностью, чем у личинок,

Таблица I

Эстеразная активность и термостабильность эстераз в онтогенезе мух инбредных и мутантных линий

n = 8 - 20

Линия	Личинки		Куколки		Самки		Самцы	
	I	2	I	2	I	2	I	2
W	2,83 ±0,18	62,54 ± 3,12	0,95 ±0,08	53,68 ± 3,15	2,57 ±0,15	62,65 ± 3,39	8,54 ±0,72	52,69 ± 2,46
Canton - S	1,68 ±0,14	60,12 ± 2,86	0,97 ±0,08	68,04 ± 2,35	3,00 ±0,21	62,33 ± 3,13	9,04 ±0,49	57,19 ± 3,30
vg	2,79 ±0,15	73,84 ± 3,65	1,01 ±0,06	60,40 ± 2,15	2,70 ±0,18	62,96 ± 2,80	12,74 ± 1,31	51,67 ± 3,29
cn	2,55 ±0,19	63,14 ± 3,02	1,07 ±0,06	64,49 ± 3,12	2,51 ±0,19	64,54 ± 2,53	5,75 ±0,32	56,17 ± 3,98
b	1,96 ±0,08	70,41 ± 3,28	0,62 ±0,05	66,13 ± 2,44	2,52 ±0,09	53,97 ± 3,11	5,31 ±0,09	45,76 ± 2,81

I - Эстеразная активность, мкмоль β-нафтола/мин·мг белка; 2 - Термостабильность эстераз, %

куколок и самок тех же линий. анализируя приведенные факты, мы склонны считать, что межлинейные и онтогенетические различия уровней эстеразной активности и терморезистентности эстераз могут быть связаны с наличием у представителей разных линий электрофоретически идентичных "температурных" вариантов изозимов /Lewontin, 1978; Coyne et al., 1978/. Не исключена также модификация экспрессии эстеразных локусов в силу особенностей генного баланса у разных мух.

Таким образом, для более глубокой и объективной оценки роли и значения локуса *Est-6* в жизнеспособности и адаптивности генотипов возникла необходимость в получении изогенных объектов исследования, отличающихся аллельным содержанием локуса *Est-6*. Такие формы мух (сублинии  $b^S$  и  $b^F$ ) были получены от гетерозиготной по локусу *Est-6* самки линии *b*. Эта линия мух, в отличие от других исследуемых линий, оказалась полиморфной по локусу *Est-6* (рис. 2). Спыты на изогенных мухах убедительно подтверждают мнение о важной роли локуса *Est-6* в механизмах устойчивости генотипов к повышенной температуре.

Исследования показали, что *S*-форма *Est-6* отличается от *F*-формы этого фермента не только меньшей электрофоретической подвижностью, но и более высокой терморезистентностью (рис. 3), хотя удельная активность,  $K_m$  и  $V_{max}$  у обеих форм фермента практически одинаковы.

Вероятно, поэтому мухи сублиний  $b^S$  и  $b^F$ , соответственно гомозиготные по *S*- и *F*-аллелям гена *Est-6*, существенно отличаются по плодовитости и устойчивости к действию сублетальной гипертермии ( $41^\circ\text{C}$  в течение 15 мин). Хотя у гомозигот  $FF$  и  $SS$  по локусу *Est-6* не отмечено существенных различий в отношении репродуктивной активности, есть основания полагать, что адаптивное преимущество гена *Est-6^S* реализуется через реальную плодо-

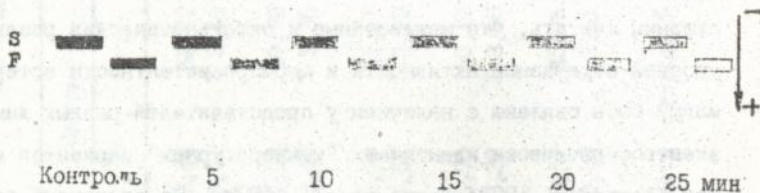


Рис. 3. Проявление электрофоретических фракций S- и F-форм EST-6 в гелевых пластинах после их прогрева.

витость, которая у мух с S-аллелем Est-6 значительно выше как в стандартных условиях, так и при действии долговременной пермиссивной (29 °C) гипертермии.

Более высокая теплоустойчивость при этих условиях гомозигот SS по сравнению с гомозиготами FF (табл. 2), вероятно, может быть связана с более выраженной терморезистентностью S-аллелизма EST-6. Именно так объясняется селективное преимущество в условиях долговременной гипертермии мух, гомозиготных по S-аллелю алкогольдегидрогеназы /Савченко и др., 1985; Хаустова и др., 1992/. Следует, однако, отметить, что генный локус Est-6 представляет собой лишь небольшую интегральную часть генома и его адаптивная роль в отношении гипертермии может проявиться только в общем генном балансе.

Нами установлено, что S- и F-аллозимы EST-6 наследуются как моногенный признак (менделевский тип наследования). Это подтверждает мнение ряда авторов о моногенной детерминации фермента и свидетельствует о том, что ген-энзимная система Est-6 удобна в качестве тест-системы для генетических исследований.

Интересно, что при скрещивании изогенных мух, различающихся по аллельному составу локуса Est-6, у гибридов первого поко-

Таблица 2

Показатели жизнеспособности мух сублиний  $b^S$  и  $b^F$ , культивируемых при 25 и 29 °C

Сублинии, условия содержания	Реальная плодовитость				Репродуктивная активность, частота спариваний		Теплоустойчивость имаго	
	Число самок, взятых в опыт	Среднее количество потомков на 1 самку: при кладке яиц и их развитии в условиях		за 30 мин	за 60 мин	n	% выживших мух (41 °C, 15 мин)	
		25 °C	29 °C					
$b^S$ , 25 °C	100	61,1±3,0*	37,1±1,7*	0,21±0,04	0,39±0,05	2250	66,7±1,9*	
$b^F$ , 25 °C	100	36,9±3,1*	25,6±1,5*	0,29±0,05	0,47±0,05	1575	42,4±2,1*	
$b^S$ , 29 °C	100	47,9±3,1*	30,8±2,8*	0,21±0,04	0,35±0,05	1400	59,8±2,3*	
$b^F$ , 29 °C	100	35,1±2,6*	23,3±2,4*	0,23±0,04	0,34±0,05	1375	47,5±2,1*	

\* - различия показателей у мух сублиний  $b^S$  и  $b^F$ , содержащихся в идентичных условиях достоверны ( $P < 0,05$ )

ления, т.е. у гетерозигот по локусу Est-6, в большинстве опытов наблюдается доминирование признаков S-аллельных родителей в отношении плодовитости мух, а в отношении признака термостабильности особей, наблюдается промежуточное наследование. Лишь в одном случае - при скрещивании мух сублиний  $b^S$  и  $b^F$ , предварительно культивированных при 29 °C в течение 20 поколений, - по признаку плодовитости наблюдается эффект гетерозиса. При скрещивании тех же мух, но содержавшихся при 25 °C, указанный гетерозис не проявлялся. Этот факт может быть объяснен только с позиций теории компенсационных комплексов генов /Струнников, 1974, 1986/ или гипотезы комплексов генов адаптации /Тоцкий, 1990, 1992/. Правда, интерпретация полученных данных в свете указанных концепций встречает определенные трудности в виду того, что опыты нами ставились не на генетически гетерогенных популяциях, а на лабораторных линиях мух. Однако, следует иметь в виду, что получение изогенных сублиний  $b^S$  и  $b^F$ , на которых впоследствии проводились исследования, осуществлялось системой направленных скрещиваний с балансерной линией M-5; Cy/Pm; D/Sb. Хотя возможность процесса кроссинговера у гибридных самок в этом случае очень мала, полностью исключать его вероятность не следует. Нужно иметь в виду и то обстоятельство, что лабораторные линии мух, поддерживаемые за счет инбридинга, ни в коем случае нельзя относить к генетически абсолютно чистым.

Опыты на экспериментальных популяциях мух, содержащих в исходном состоянии S- и F-аллели Est-6 в соотношении 1:1, показали, что при дальнейшем развитии таких популяций в стандартных условиях (25 °C) и при умеренной гипертермии (29 °C) происходит существенный сдвиг частот аллелей в пользу аллеля Est-6<sup>S</sup>. Результаты экспериментов убеждают в том, что с понижением температуры окружающей среды селективное преимущество S-аллеля Est-6 возрастает.

тает (табл. 3).

Таблица 3

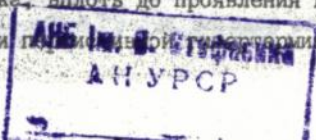
Динамика частот генотипов и соотношение аллелей Est-6 при содержании популяции в условиях умеренной гипертермии

По-:Условия ко-:содержания: ле-:популяции ние:	Частота генотипов			Соотношение	
	S <sub>1</sub>	SF	FF	генотипов	аллелей
Исходное состояние	0,25	0,50	0,25	1:2:1	1:1
20 25 °C	0,44	0,42	0,14	1,76:1,68:0,56*	1,86:1*
45 25 °C	0,36	0,48	0,16	1,44:1,92:0,64*	1,50:1*
20 29 °C	0,49	0,46	0,05	1,96:1,64:0,20*	2,57:1*
45 29 °C	0,47	0,49	0,04	1,88:1,66:0,16*	2,51:1*

\* - различия в соотношении генотипов и аллелей по сравнению с исходными соотношениями достоверны

Таким образом, весь комплекс проведенных исследований позволяет считать, что генный локус Est-6 у дрозофилы играет важную роль не только в генеративных процессах, но и в других проявлениях жизнеспособности и адаптивности. В отношении сублетальной и перmissive гипертермии более высокой устойчивостью характеризуются генотипы, содержащие S-аллель гена Est-6, чем, вероятно, объясняется более широкая распространенность этого аллеля среди природных популяций и лабораторных линий.

Принципиально важным представляется факт, что структурный ген Est-6, не имеющий прямого отношения к признаку устойчивости к повышенной температуре, как оказалось, играет важную роль в становлении этого признака, вплоть до проявления гетерозиса по признаку плодовитости при гипертермии. Общесобиологи-



ческий смысл этого факта, по моему мнению, состоит в том, что в реакции адаптации и проявление гетерозиса вовлекается не только группа генов, непосредственно обуславливающих определенные признаки или свойства, но и целый ряд структурных генов, имеющих к ним весьма опосредованное отношение. Иными словами, оптимальный адаптивный ответ на неблагоприятный экологический фактор следует рассматривать как проявление функции целостного генома. Это не исключает, однако, возможности сочетания в геноме особо благоприятных для данных условий аллелей генов по отдельным "стратегическим" локусам, что и рассматривается как компенсационные комплексы генов или комплексы генов адаптации. Результаты настоящей работы позволяют считать, что в состав этих комплексов входят не только гипотетические гены-модификаторы, как полагают отдельные авторы, но и хорошо известные структурные гены в виде селективно ценных аллелей, например, аллеля Est-6<sup>S</sup>.

## ВЫВОДЫ

1. Эстеразная активность тканей дрозофилы существенно изменяется на разных стадиях онтогенеза мух исследованных линий и сублиний (линии N, Canton - S, vg, cn, сублинии b<sup>F</sup> и b<sup>S</sup>). Максимальный уровень эстеразной активности отмечается у имагинальных форм самцов.
2. Особи исследуемой линии b в отличие от других линий (N, Canton - S, vg, cn) содержат электрофоретически разноподвижные формы фермента EST-6, что указывает на генетический полиморфизм линии b по локусу гена Est-6. Системой направленных скрещиваний и отборов из указанной линии b получены и згенные по хромосомам I, 2, 3 сублинии b<sup>S</sup> и b<sup>F</sup>, соответственно гомозиготные по аллелям Est-6<sup>S</sup> и Est-6<sup>F</sup>.

3. F- и S-формы EST-6 мало отличаются по активности,  $K_m$  и  $V_{max}$ , но выявляют разную электрофоретическую подвижность и термостабильность. S-форма фермента менее подвижна, но более устойчива к действию высокой температуры.
4. Особи сублиний  $b^S$  и  $b^F$ , изогенные по основным хромосомам, но отличающиеся аллельным одержанием локуса Est-6, выявляют существенные различия по некоторым показателям жизнеспособности. Особи сублинии  $b^S$ , генотипы которых содержат в гомозиготном состоянии S-аллель Est-6, более теплоустойчивы и почти в два раза более плодовиты, чем особи сублинии  $b^F$ .
5. Селективные преимущества сублинии  $b^S$  сохраняются при постоянном (в течение 20-40 поколений) действии на мух перmissiveвой (29 °C) гипертермии, хотя неблагоприятное влияние повышенной температуры на показатели жизнеспособности мух отмечается во всех вариантах опыта. После продолжительного действия тепла (в течение 20 поколений) самки сублинии  $b^S$  сохраняют более высокую плодовитость, чем самки сублинии  $b^F$ .
6. Высокая плодовитость мух сублинии  $b^S$  доминирует над более низкой плодовитостью мух сублинии  $b^F$ . При скрещивании мух  $b^S$  и  $b^F$ , предельно культивированных при 29 °C в течение 20 поколений, наблюдается эффект гетерозиса по признаку плодовитости.
7. Постоянное (в течение 20 поколений) действие на исследуемых мух повышенной температуры (29 °C) не приводит к существенным изменениям в функционировании ген-энзимных систем эстераз на разных стадиях онтогенеза. Отмечаются, однако, заметные различия в уровнях активности EST-6 у самцов сублиний  $b^S$  и  $b^F$ . У более теплоустойчивых взрослых самцов  $b^S$  активность фермента имеет тенденцию к повышению, а у особей сублинии  $b^F$  активность EST-6 в условиях постоянной гипертермии снижается.
8. В экспериментальной популяции мух, содержащей в исходном состо-

янии аллели Est-6<sup>a</sup> и Est-6<sup>b</sup> в соотношении 1:1, при посто-  
ном действии перmissiveй (29 °C) температуры наблюдается  
выраженное изменение частот генотипов и частот аллелей по  
локусу Est-6. При этом проявляется селективное преимущество  
S-аллеля Est-6, что приводит к увеличению содержания SS-го-  
мосигот в популяции и уменьшению количества FF-гомозигот.  
Аналогичная, но менее выраженная динамика отмечается в опы-  
тах при 25 °C.

9. S-аллель Est-6 обуславливает более высокую выживаемость и  
плодовитость генотипов, чем объясняется его селективное пре-  
имущество в условиях гипертермии. S-аллель Est-6 можно рас-  
сматривать как составную часть комплексов генов адаптации,  
формирующихся у особей в условиях действия повышенной темпе-  
ратуры.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Регуляция экспрессии ген-энзимных систем эстераз в процессе  
развития разных линий *D. melanogaster* // Генетика развития  
растений и животных: Тез. докл. II Всесоюз. совещ. "Генетика  
развития", - Ташкент, - 1990. - Т. I, Ч. 2, - С. 215-217. (в  
соавт. Есеркепова Е.В., Тоцкий В.Н.)
2. Регуляция экспрессии ген-энзимных систем в онтогенезе дрозофи-  
лы при неблагоприятных условиях ее развития и существования //  
Там же. - С. 260-262. (в соавт. Тоцкий В.Н.)
3. Аллозимы S и F эстеразы-6 и адаптация к повышенной температуре  
у *D. melanogaster* // Генетика насекомых: Тез. докл. I Всесоюз.  
конф. по генетике насекомых. - М.: Наука. - 1991. - С. 43. (в  
соавт. Есеркепова Е.В., Тоцкий В.Н.)
4. Ген-энзимная система эстеразы-6 и адаптация к повышенной тем-  
пературе у *D. melanogaster* // Экологическая генетика растений,

животных, человека: Тез. докл. 1-го Всесоюз. науч. конф. - Кишинев: Штиинца. - 1991. - С. 108.

5. Генетический контроль и экспрессия эстеразы-6 в онтогенезе линий и гибридов дрозофилы // VI съезд УОГиС: Тез. докл. - К. - 1992. - С. 15-16. (в соавт. Е. еркепова Е.В.).

1. ...  
2. ...  
3. ...

4. ...

1. ...
2. ...
3. ...

Подляк печати 20 10 002 г. Формат 60x94 1/16.  
Объем 08 7 ч. изд. л. 15 2 л. н. Заказ № 2686 Тираж 100 экз.  
Горнянографія Одесского обшпографазавта, пхд № 3.  
Лонина 49.



Ab 25.817  
**AB 25.817**

Printed in the U.S.A. by the Government Printing Office  
Washington, D.C. 20540  
For more information contact the Superintendent of Documents  
Washington, D.C.