

УДК 575.125:576.312:595.77.34

© 1999 г. В. Г. ШАХБАЗОВ, С. Б. АЛЕНИНА, О. В. ГОРЕНСЬКА,
С. М. САМІЛО, В. Ю. СТРАШНЮК

**ПРОЯВИ ЭФЕКТА ГЕТЕРОЗИСУ У DROSOPHILA MELANOGASTER
ПО БИОЭЛЕКТРИЧНЫХ ВЛАСТИВОСТЯХ КЛІТИННЫХ ЯДЕР**

ВСТУП

У вивченні природи гетерозису, що має дуже важливе значення для селекції, ще не сказано останнього слова. Інтерес до цієї проблеми не згасає багато років. Генетичні, фізіологічні та біохімічні дослідження дозволили виявити багато граней цього явища. Проте і сьогодні, на думку багатьох спеціалістів, гетерозис є надзвичайною загадкою сучасної генетики (Шахбазов и др., 1990). Вивчення явища гетерозису має важливе значення також для розуміння генетичних процесів у природних популяціях організмів як одного з чинників їх генетичного гомеостазу (Lemer, 1954).

Біофізичний аспект у дослідженні природи гетерозиса важливий для виявлення механізмів цього явища і має практичне значення. У зв'язку з цим цікавим у науковому плані є дослідження біоелектричних властивостей (БЕВ) клітинних ядер як інтегрального показника їх загального функціонального стану, пов'язаного з гомеостазом клітини і рівнем активності ядерного геному (Шахбазов, Лобынцева, 1972; Шахбазов, Шкорбатов, Страшнюк, 1986). За нашою думкою, зручним об'єктом для подальшого експериментального дослідження явища гетерозису є інбредні лінії та міжлінійні гібриди дрозофіли.

Метою даної роботи було поглиблення теоретичних уявлень про природу гетерозису при використанні класичного генетичного модельного об'єкта та нових біофізичних методів. До завдань роботи входило дослідження змін БЕВ клітинних ядер у інбредних і гібридних особин дрозофіли у онтогенезі, при дії стресових температур та лазерного опромінювання.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Матеріалом слугували селектовані інбредні лінії та міжлінійні гібриди *F₁ Drosophila melanogaster* Meigen, 1829.

Лінії НА (низькоактивна) та ВА (високоактивна) були отримані Л. З. Кайдановим (Санкт-Петербурзький університет) у результаті довготривалого інбридингу – понад 700 поколінь – та добору за статевою активністю самців (Генетические ..., 1997; Кайданов, Субботин, 1984). Добір привів до зміни цілого комплексу адаптивно важливих ознак, в результаті чого лінія ВА перевищує лінію НА за життєздатністю, теплостійкістю, швидкістю розвитку, тривалістю життя.

Дестабілізуюча дія добору в лінії НА проявилась у зміні балансу генів: у накопиченні "шкідливих" мутацій, що знижують життєздатність дрозофіли, у транспозиціях мобільних диспергованих генів, що є джерелом генетичної нестабільності та спадкової мінливості у лініях. Лінії НА та ВА виявляють високу комбінаційну здатність на гетерозис за показниками життєздатності, неспецифічної стійкості та плідності (Кайданов, Субботин, 1984; Шахбазов, Таглина, 1990; Страшнюк, Таглина, Шахбазов, 1991).

У дослідках по вивченню ефектів лазерного випромінювання використовували інбредні лінії дикого типу, відмінні за географічним походженням – Swedish (Sw) і Домодєдовська-32 (Д-32) та їх реципрокні гібриди першого покоління.

Культури дрозофіли розвивалися у стандартному цукрово-дріжджовому середовищі при температурі 24–25°C.

БЕВ клітинних ядер досліджували у слинних залозах личинок та передлялечок дрозофіли за допомогою оригінального методу внутрішньоклітинного мікроелектрофорезу (Шахбазов, Лобынцева, 1972). У застосуванні на дрозофілі цей метод описаний у роботі В. Г. Шахбазова, Ю. Г. Шкорбатова, В. Ю. Страшнюк (1986). Основним показником, що характеризує БЕВ слугує відсоток електронегативних ядер (ЕНЯ), які виявляються за їх зміщенням у електричному полі у напрямку анода.

Зміни БЕВ після температурного стресу досліджували, піддаючи личинок третього віку дозованим тепловим ударами (37°C, 20 хв. і 39°C, 20 хв.), після чого вимірювали рівень показника ЕНЯ у личинок, що зазнали теплового шоку, а також у непрогрітих личинок (контрольний варіант).

Віддалені наслідки дії лазера вивчали, визначаючи ЕНЯ у личинок третього віку, що розвинулись із яєць з синхронізованих кладок, опромінених протягом 1, 5, 10, 20 і 30 хвилин. У роботі використовували He-Ne лазер типу ЛГН-111 (щільність потужності 10 мВт/см², $\lambda=633,3$ нм). Контролем був ЕНЯ личинок, що розвинулись з інтактних яєць.

Отримані дані обробляли методами варіаційної статистики (Плохинский, 1970).

РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

В лініях ВА, НА і у гібридів НАхВА і ВАхНА досліджували зміни показника ЕНЯ на ділянці онтогенезу, що містила у собі останні 10 годин личинкової стадії та 0-годинну передлялечку (рис. 1). Ця ділянка розвитку була обрана у зв'язку зі значними змінами генної активності наприкінці личинкової стадії, спричиненої збільшенням рівня екдізона та зниженням рівня ювенільного гормону у гемолімфі. Ці гормони відіграють важливу роль у регуляції генетичної програми розвитку комах (Буров, 1983).

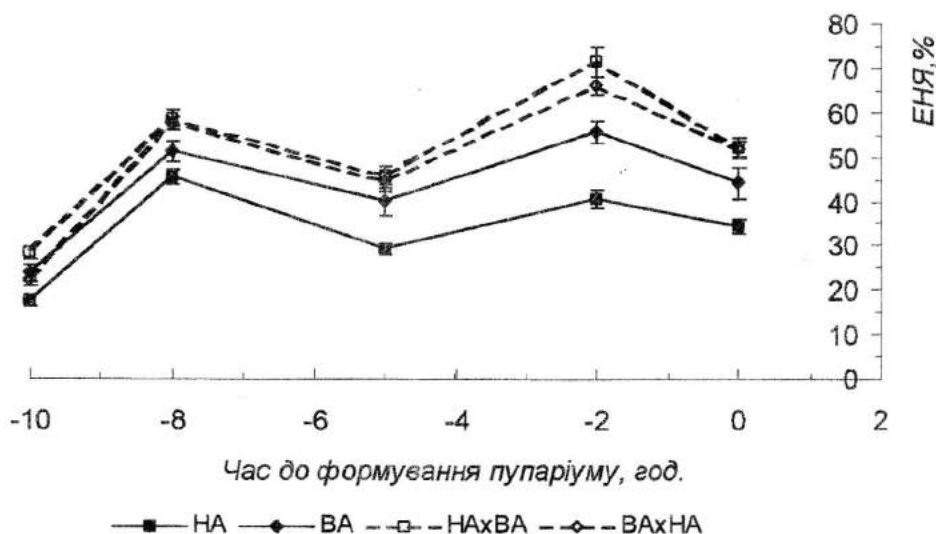


Рис. 1. Динаміка показника ЕНЯ,% у слинних залозах *Drosophila melanogaster* в онтогенезі.

Fig. 1. The dynamics of ENN,% parameter in *Drosophila melanogaster* salivary glands during ontogenesis.

Встановлено, що у інбредних і гібридних личинок дрозофіли зміни показника ЕНЯ корелюють із рівнем екдізона, який викликає різкі зміни у картині пуфів політених хромосом та значне підвищення загальної пуфової активності хромосом наприкінці личинкової стадії.

Вплив екдізона на БЕВ клітинних ядер підтверджено у дослідях *in vitro*: показано збільшення вмісту електронегативних ядер у слинних залозах личинок дрозофіли під впливом гормону у 2,0–5,5 разів (Динаміка ..., 1997).

Отримані дані свідчать також про вплив генотипу на БЕВ клітинних ядер. Найменші значення цього показника спостерігали у індаптивної лінії НА, яка поступалася лінії ВА на 12,7–37,3% ($P>0,95-0,999$). Гібриди мали кращі показники ЕНЯ порівняно з обома батьківськими лініями. Так, за 2 години до формування пупаріуму, коли значення показника ЕНЯ були найвищими, гібрид НАхВА перевершував кращу з батьківських ліній на 28,5% ($P>0,999$), а гібрид ВАхНА – на 18,6% ($P>0,99$). Дані про генетичні відмінності за рівнем БЕВ клітинних ядер корелюють з різною швидкістю розвитку досліджених ліній та гібридів дрозофіли, а також з різною швидкістю змін генної активності у політених хромосомах під впливом екдізона (Страшнюк, Таглина, Шахбазов, 1991).

У високоінбредних ліній НА, ВА і гібридів F_1 вивчали також вплив теплового стресу (ТС) на БЕВ клітинних ядер. Результати досліджень реакції на короткочасну (20 хв.) дію температур 37°C і 39°C приведені на рис. 2.

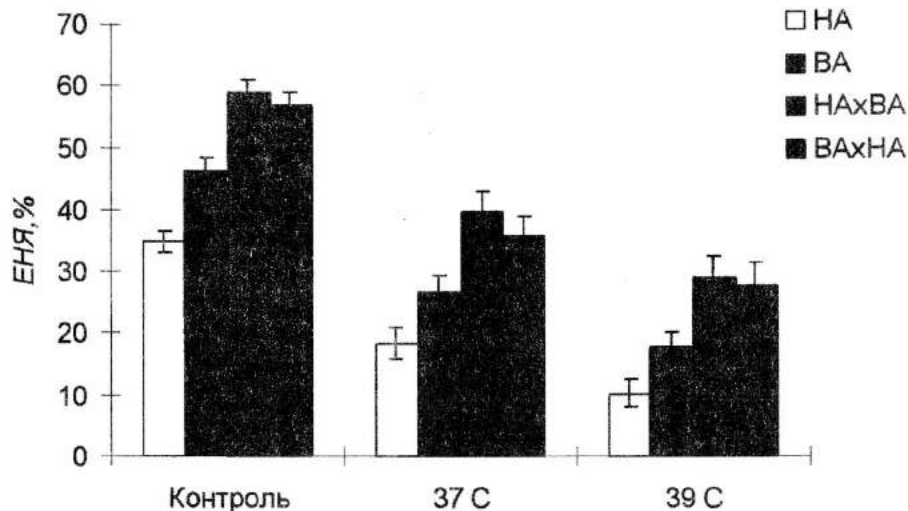


Рис. 2. Вплив теплового стресу на показник ЕНН,% у слинних залозах личинок *Drosophila melanogaster*.

Fig. 2. The heat shock stress influence on ENN,% parameter in *Drosophila melanogaster* larvae salivary glands.

Порівняльний аналіз отриманих даних показав, що взяті в експеримент лінії, які відрізняються за адаптивно важливими ознаками, різняться також за величиною, на яку змінюється показник ЕНН після ТС (рис. 2). У більш життєздатної лінії ВА цей показник зменшувався під впливом температури 37°C на 42,6%, тоді як у індаптивної лінії НА показник ЕНН зменшувався на 47,3%. При дії температури 39°C цей показник у лінії ВА зменшувався на 61,6%, а у лінії НА – на 70,5%.

Гібриди показували кращий біоелектричний гомеостаз порівняно з батьківськими лініями. Вплив температури 37°C призводив до зменшення їх показника ЕНН на 32,9–36,8%, а прогрів при 39°C – на 50,9–51,2%.

Дані про зміни БЕВ клітинних ядер у інбредних ліній та гібридів дрозофіли корелюють з їх різною теплостійкістю, а також з різною швидкістю індукції пувів теплового стресу у політених хромосомах (Шахбазов, Таглина, 1990).

Дія іншого фізичного фактора – випромінювання He-Ne лазера – також приводить до змін показника ЕНН.

Як і в експериментах з лініями ВА і НА (рис. 1), за контрольних умов рівень показника ЕНН гібридів F₁ між інбредними лініями дикого типу Sw і Д-32 був значно вищим за рівень батьківських форм. Прервага гібридів над кращою з ліній була достовірною (P>0,99) і становила 38,8% у гібрида SwxД-32, і 46,6% у гібрида Д-32xSw (рис. 3).

Дослідження реакції ліній і гібридів на лазерне опромінення показало, що наслідки такого опромінення залежать від вихідного стану об'єкту, зумовленого генотипом, та від експозиції (рис. 3).

Для малих експозицій виявлена загальна закономірність змін біоелектричних властивостей клітинних ядер, а саме: різке зниження показника ЕНН при однохвилинному опроміненні і його збільшення при 5-хвилинній експозиції. Така універсальна відповідь може пояснюватись тим, що дози, отримані об'єктом за вказаних експозицій, належать до інтервалу доз, які за даними літератури мають найбільший вплив на фізіологічний стан клітини (Кару, 1989), а також здатні викликати деполаризацію мембран (Донскова, 1981).

Реакція ліній на вплив експозицій у 10–30 хвилин відмінна від реакції гібридів. Статистично достовірне зростання показника ЕНН спостерігається тільки у личинок Sw, що розвинулись із яєць, опромінених протягом 30 хвилин, а його значення у особин Д-32 під впливом лазера не змінилися порівняно з контролем.

Рівень даного показника у гібридів після опромінення був нижчим за контрольний на 12,9–69,9% (P>0,95), але тенденція до його зростання має більш стійкий характер, ніж у ліній. На це вказують більші значення показника ЕНН гібридних личинок, що розвинулись після опромінення яєць з експозиціями 10–30 хвилин порівняно до ЕНН інбредних особин, які розвивалися за тих самих умов. Перевага над найкращою з батьківських ліній достовірна для гібрида Д-32xSw при

експозиціях у 10 і 30 хвилин (22,7% і 28,0% , $P>0,95$), а для гібрида SwхД-32 – при експозиції у 20 хвилин (26,8%, $P>0,95$), що може також свідчити про більш стійкий прояв ефекта гетерозису першим гібридом.

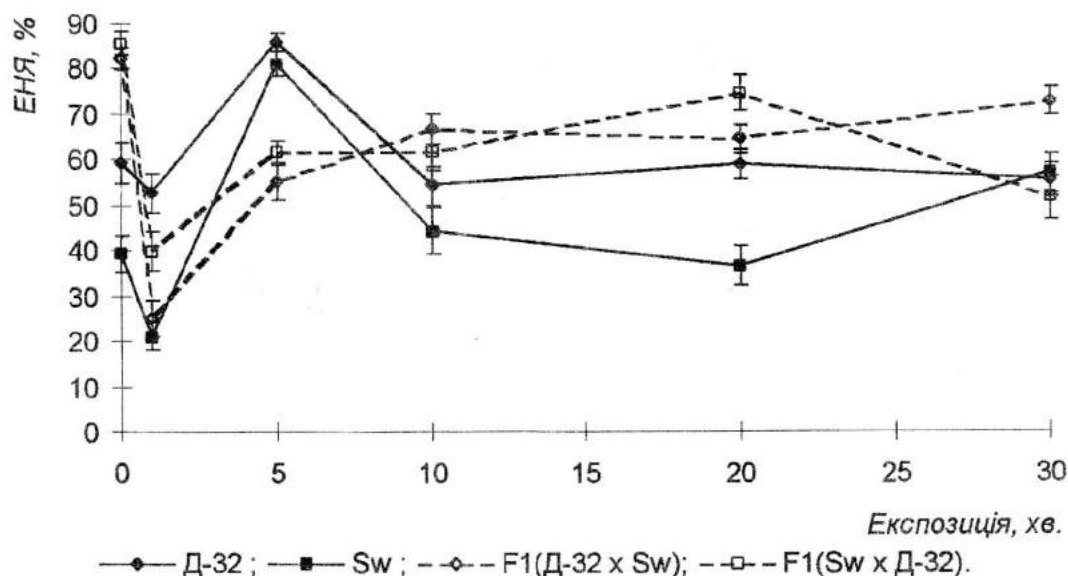


Рис. 3. Вплив випромінювання He-Ne лазера на біоелектричні властивості клітинних ядер *Drosophila melanogaster*.

Fig. 3. The effect of He-Ne laser radiation on bioelectrical properties of *Drosophila melanogaster* cell nuclei.

Таким чином, у роботі показано генетичні відмінності за показником БЕВ клітинних ядер дрозофіли у онтогенезі, при дії ТС та лазерного випромінювання. Отримані дані свідчать про зв'язок БЕВ клітинних ядер з ефектом гетерозису, добром за адаптивно важливими ознаками, функціонуванням ядерного геному, стійкістю та адаптацією організмів до несприятливих впливів.

Досліджені нами БЕВ клітинних ядер можуть зацікавити ентомологів також у зв'язку з проблемами масового розмноження комах, ефективності дії ядохімікатів та ін.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Буров Н. В. Механизмы гормональной регуляции линьки и метаморфоза // Гормональная регуляция развития насекомых / Тр. Всес. энтомол. о-ва. – Л.: Наука, 1983. – Т. 64. – С. 105–109.
- Генетические эффекты дестабилизирующего отбора при селекции по адаптивно важным признакам в линиях *Drosophila melanogaster* / Л. З. Кайданов, С. В. Мильников, А. П. Галкин и др. // Генетика. – 1997. – Т. 33, № 8. – С. 1102–1109.
- Динамика биоэлектрических свойств клеточных ядер *Drosophila melanogaster* Meig. в условиях культивирования *in vitro* и при действии экдизона / О. В. Горенская, В. Ю. Страшнюк, В. Г. Шахбазов, В. Т. Какпаков // Изв. Харьк. энтомол. о-ва. – 1997. – Т. 5, вып. 2. – С. 105–109.
- Донскова Т. С. О влиянии гелий-неонового ОКГ на электрические потенциалы клетки // Применение методов и средств лазерной техники в биологии и медицине: Тр. Всесоюз. конф. – К.: Наукова думка, 1981. – С. 171–172.
- 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. 834–849.
- Кару Т. Й. Фотобиология низкоинтенсивной лазерной терапии // Итоги науки и техники ВИНТИ. Сер. Физические основы лазерной и пучковой технологии. – 1989. – Т. 4. – С. 44–85.
- Плохинский Н. А. Биометрия. – М.: Изд-во МГУ. – 1970. – С. 281–323.
- Страшнюк В. Ю., Таглина О. В., Шахбазов В. Г. Экдизонзависимые изменения активности пухов 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.

- Шахбазов В. Г., Лобынцева Г. С. Электрокинетические свойства клеточного ядра некоторых растений в связи с их генотипом и физиологическим состоянием // Цитология и генетика. — 1972. — Т. 6, № 2. — С. 129–136.
- Шахбазов В. Г., Таглина О. В. Особенности динамики пухов теплового шока у высокоинбредных линий и гетерозисных гибридов *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 1990. — Т. 26, № 1. — С. 43–48.
- Шахбазов В. Г., Чешко В. Ф., Шерешевская Ц. М. Механизмы гетерозиса: история и современное состояние проблемы. — Х.: Изд-во "Основа" при Харьк. гос. ун-те, 1990. — С. 115–117.
- 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.
- Lerner I. M. Genetic homeostasis. — New York: Willey and sons, 1954. — 134 p.

Харківський державний університет

V. G. SHAKHBAZOV, S. B. ALENINA, O. V. GORENSKAYA, S. N. SAMILO, V. Yu. STRASHNYUK

HETEROSIS EFFECT RESULTS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* DISPLAYED IN BIOELECTRICAL PROPERTIES OF CELL NUCLEI

Kharkov State University

SUMMARY

Bioelectrical properties of cell nuclei in inbred lines and interlinear hybrids of *Drosophila melanogaster* (Mg.) have been investigated. By a method of intracellular microelectrophoresis, percentage of electronegative nuclei (ENN, %) in larvae and prepupae salivary glands was determined.

The obtained results testify to the fact that heterosis hybrids of *Drosophila melanogaster* display higher ENN,%. Under unfavourable conditions, for example, action of heat shock, this parameter in hybrids decreased to a smaller extent than in the inbred lines. This proves that the effect of heterosis is accompanied by the best bioelectrical homeostasis of a cell nucleus.

Exposure to He-Ne laser radiation (power density of 10 mWt/cm^2) resulted in reduction of the ENN,% parameter at exposition of 1 min, and its increase at 5-min exposition. In heterosis hybrids, the tendency of ENN increase had a more steady character, which confirms their better ability to adapt.

The bioelectrical properties of cell nuclei researched by us can be of interest also in connection with problems of mass insect reproduction, effectiveness of poisonous substances and so on.