

**ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ
DROSOPHILA MELANOGASTER (MEIG.) УКРАЇНИ ЗА ЛОКУСОМ *Est-6***

І. Христофорова¹, В. Кучеров¹, Д. Радіонов¹, І. Козерецька²

¹Одеський національний університет імені І.І. Мечникова
вул. Дворянська, 2, Одеса 65026, Україна
e-mail: pankovae@yandex.ru

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64, Київ 01601, Україна
e-mail: iryna.kozeretska@gmail.com

Використовуючи метод лужного електрофорезу в поліакриламідному гелі, вивчали частоти генотипів і алелів за локусом β -специфічної карбоксистеррази (*Est-6*) у природних популяціях *Drosophila melanogaster* України 2013 р. збору. Показано між-популяційні відмінності в частотах алелів та генотипів у досліджуваному локусі. Описано динаміку частот зазначених генетичних параметрів протягом сезону біологічної активності *D. melanogaster* в одеській природній популяції.

Ключові слова: *D. melanogaster*, популяція, алелі, естераза 6.

Вивчення поширення різних молекулярних форм ферментів (естерази 6, АДГ і т.д.) у природних популяціях *D. melanogaster* виявили певні закономірності в характері їх географічного розподілу, а саме наявність широтних клинів. Серед причин їх формування головною роль відводять температурному факторові [6, 8]. Однак глобальні кліматичні зміни, які останнім часом розвиваються на Землі, можуть істотно змінити характер виявлених раніше широтних клинів за багатьма поліморфними генами, котрі кодують різні біохімічні маркери [9]. Найбільш істотно такі зміни можуть впливати на генетичну структуру популяцій комарів, оскільки є дуже багато важливих показників життєдіяльності (активність фізіологічних і біохімічних процесів, поведінка, процеси репродукції і т. д.). Так встановлено, що у різних локалітетах мух можуть спостерігатися значні відмінності частот генотипів і алельних генів, рівнів поліморфізму, гетерозиготності та інших показників генетичної структури природних популяцій. Про це може свідчити динаміка алельного складу генетичних локусів мух і співвідношення різних молекулярних форм ферментів та інших білків у представників різних популяцій. Такі зміни спостерігалися у природних популяціях плодової мушки для алозимів, які кодуються геном *Est-6* у період значного підвищення середніх температур в липні та серпні 2010 р. [3]. Однак характер географічної та часової динаміки частот алелів у природних популяціях *D. melanogaster* залишається не до кінця з'ясованим.

У зв'язку з цим було поставлено за мету охарактеризувати генетичну структуру популяцій *D. melanogaster* України за локусом *Est-6*, зібраних у 2013 р.

Матеріали та методи

Як матеріал дослідження використовували вилучені з природних популяцій різних регіонів України випадкові вибірки *D. melanogaster* у 2013 р. Для визначення частоти і рівня експресії алозимів β -специфічної карбоксистеррази (Е. С. 3.1.1.1.), які кодуються геном *Est-6*, використовували гомогенати тканин окремих самців і самок (по 20 особин), отриманих на стадії імаго. Розподіл молекулярних форм карбоксистераз проводили за допомогою електрофоретичного розділення в системі лужного вертикально-пластинчастого 7% поліакриламідного гелю. Розділені фракції карбоксистераз ідентифікували за допомо-

гою стандартних гістохімічних методів [1]. *F*- і *S*-алозими β -специфічної карбоксиестерази визначали за різною рухливістю цих алозимів у поліакриламідному гелі (R_f 0,330 і 0,350 відповідно), на підставі чого встановлювали частоту генотипів і алелів, які кодують ці дві молекулярні форми ферменту. Очікувані частоти генотипів отримували шляхом підстановки виявлених частот алелів у формулу Харді-Вайнберга [5]. Отримані очікувані величини порівнювали з тими, які були встановлені експериментально, з використанням методу χ^2 . Число ступенів свободи при цьому дорівнювало 1, оскільки, знаючи частоту одного алеля, можна обчислити частоту іншого.

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми «Excel» з пакету *MS Office* та спеціальної документації [2].

Результати і їхнє обговорення

Аналізуючи частоти алелів β -специфічної естерази у природних популяціях *D. melanogaster* України, слід зазначити, що локус *Est-6* характеризується поліморфізмом у представників з усіх досліджуваних локалітетів. Максимальне значення частоти алеля, який кодує *S*-алозим естерази 6 у природних популяціях плодової мушки, спостерігалось у популяції *Варва* (0,80) в період дослідження (рис. 1). Рідше, з частотою 0,51, дана форма гена траплялась у популяціях *Дрогобич* і *Умань*. В Одеській і Пирятинській популяціях плодової мушки частоти алеля *Est-6^S* характеризувалися проміжними значеннями. Також слід відмітити, що у мух із локалітетів м. Варва та Одеса алель, який кодує менш рухливу при електрофоретичному розділенні молекулярну форму естерази 6, траплявся достовірно частіше алеля, що кодує більш рухливий алелізм ферменту (рис. 1). Такий результат загалом характерний для популяцій *D. melanogaster*, які існують у помірних широтах, в яких, як відомо, розташована і Україна. В середньому, частоти алеля *Est-6^S* у таких популяціях коливаються в межах 0,65–0,70 [7]. У той же час необхідно зазначити, що встановлені частоти алелів гена естерази 6 у мух із природних популяцій міст *Умань* і *Дрогобич* були нижчими, а з популяції *Варва* – вищими від вказаної величини (рис. 1).

Аналіз частот генотипів у досліджуваних популяціях дрозофіли показав, що найбільш високий рівень гетерозиготності (0,50) за локусом гена естерази 6 спостерігався 2013 року у мух із популяції *Дрогобич*, а найнижче значення даного показника (0,26) було встановлено в популяції *Варва* (табл.1). Порівнюючи очікувані генотипи з отриманими експериментальним шляхом, встановили, що у всіх популяціях частоти генотипів розподіляються відповідно до закону Харді-Вайнберга. Це дає змогу вважати досліджені нами популяції рівноважними.

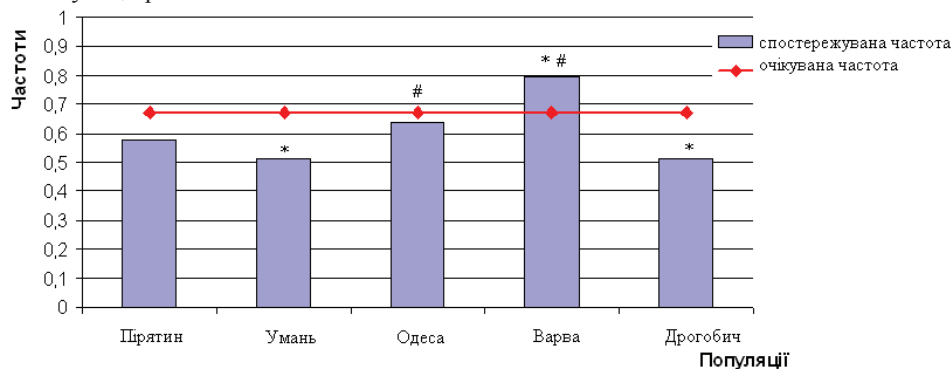


Рис. 1. Частоти алеля *Est-6^S* у природних популяціях *D. melanogaster* різних регіонів України у 2013 р.
* – частота алеля *Est-6^S* достовірно вища від частоти алеля *Est-6^F*, # – достовірна відмінність спостережуваної частоти від очікуваної, n=40.

Таблиця 1

Частоти генотипів за локусом естерази 6 у природних популяціях *D. melanogaster*

Популяції	Типи генотипів	Частоти генотипів	Очікувані частоти генотипів	χ^2 d. f. = 1
Пирятин	<i>Est-6^S / Est-6^S</i>	0,34	0,34	0,03
	<i>Est-6^S / Est-6^F</i>	0,47	0,49	
	<i>Est-6^F / Est-6^F</i>	0,18	0,18	
Умань	<i>Est-6^S / Est-6^S</i>	0,32	0,26	1,68
	<i>Est-6^S / Est-6^F</i>	0,39	0,50	
	<i>Est-6^F / Est-6^F</i>	0,29	0,24	
Одеса	<i>Est-6^S / Est-6^S</i>	0,42	0,40	0,23
	<i>Est-6^S / Est-6^F</i>	0,42	0,46	
	<i>Est-6^F / Est-6^F</i>	0,15	0,13	
Варва	<i>Est-6^S / Est-6^S</i>	0,67	0,63	1,78
	<i>Est-6^S / Est-6^F</i>	0,26	0,33	
	<i>Est-6^F / Est-6^F</i>	0,08	0,04	
Дрогобич	<i>Est-6^S / Est-6^S</i>	0,26	0,26	0,01
	<i>Est-6^S / Est-6^F</i>	0,50	0,50	
	<i>Est-6^F / Est-6^F</i>	0,24	0,24	

Примітка. Нульова гіпотеза про рівність спостережуваних частот генотипів з очікуваними відхилалась при $\chi^2 \geq 3,84$, $n=40$.

Динаміку частот алелів, які кодують електроморфи естерази 6, вивчали в одеській природній популяції в період активності *D. melanogaster* із травня до листопада (12–18 поколінь) 2013 р. Слід зазначити, що динаміка частоти алелів у цей період в популяції була досить складною. Так, із травня до липня спостерігали зниження частоти *S*-алеля з 0,67 до 0,48, після чого даний показник знову виріс у серпні до 0,64 (рис. 2). У жовтні, листопаді зареєстровано найсуттєвіше зниження частоти алеля, який кодує менш рухому молекулярну форму естерази 6, а саме 0,38. Встановлена в 2013 р. динаміка досліджуваного показника суттєво відрізняється від зміни частот алелів за цим локусом у минулі роки в популяції *D. melanogaster* м. Одеси. Так, у 2009 р. змін частоти алелів гена естерази 6 протягом усього періоду основної біологічної активності виду не спостерігали, натомість у 2010 р. було зафіксовано постійне зниження частоти *S*-алеля з липня до жовтня [3, 4]. Зниження в липні частоти *Est-6^S* в одеській популяції дрозофіли може бути пов'язане з інтенсивними грозами

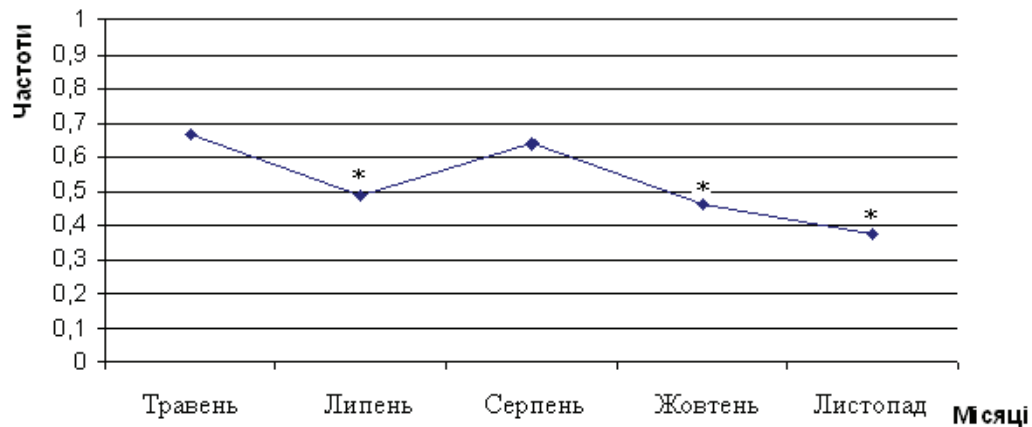


Рис. 2. Динаміка частоти *S*-алелів естерази 6 у природній популяції *D. melanogaster* м. Одеси у 2013 р.: * – достовірна відмінність від частоти алеля *Est-6^S* у травні. Нульова гіпотеза про рівність частот у генеральних сукупностях відхилалась при: * – $\chi^2 \geq 3,84$ ($P=0,05$), $n=40$.

та ураганами на фоні зниження температури повітря, які спостерігалися в одеському регіоні наприкінці травня і протягом червня у 2013 р. (у 2010 р. протягом усіх літніх місяців температура повітря була стабільно високою), це могло істотно вплинути на генетичну структуру природної популяції *D. melanogaster*.

Дослідження динаміки генотипів за локусом естерази 6 в одеській природній популяції дрозофіли з травня до листопада 2013 р. показало, що в листопаді спостережувані частоти не відповідали очікуваним, які розраховували згідно із законом Харді – Вайнберга. Проте дослідження в усіх інших місяцях зборів не виявило будь-яких відхилень вказаного параметра (табл. 2). Це може бути пов'язано з дією низьких температур наприкінці осені, що може як призводити до дрейфу генів, так і викликати в популяції плодової мушки посилення дії природного добору.

Таблиця 2

Динаміка частот генотипів за локусом естерази 6 в Одеській природній популяції *D. melanogaster*

Місяці	Типи генотипів	Частоти генотипів	Очікувані частоти генотипів	χ^2 d. f. = 1
Травень	<i>Est-6^S / Est-6^S</i>	0,44	0,44	0,01
	<i>Est-6^S / Est-6^F</i>	0,44	0,44	
	<i>Est-6^F / Est-6^F</i>	0,11	0,11	
Липень	<i>Est-6^S / Est-6^S</i>	0,26	0,24	0,25
	<i>Est-6^S / Est-6^F</i>	0,46	0,50	
	<i>Est-6^F / Est-6^F</i>	0,29	0,26	
Серпень	<i>Est-6^S / Est-6^S</i>	0,42	0,40	0,23
	<i>Est-6^S / Est-6^F</i>	0,42	0,46	
	<i>Est-6^F / Est-6^F</i>	0,15	0,13	
Жовтень	<i>Est-6^S / Est-6^S</i>	0,25	0,21	0,93
	<i>Est-6^S / Est-6^F</i>	0,42	0,50	
	<i>Est-6^F / Est-6^F</i>	0,33	0,29	
Листопад	<i>Est-6^S / Est-6^S</i>	0,22	0,14	4,36*
	<i>Est-6^S / Est-6^F</i>	0,31	0,47	
	<i>Est-6^F / Est-6^F</i>	0,47	0,39	

Примітка. Нульова гіпотеза про рівність спостережуваних частот генотипів з очікуваними відхилялася при $\chi^2 \geq 3,84$. * – P=0,05, n=40.

З отриманих даних можна зробити такі висновки:

1) ген, який кодує естеразу 6, виявився поліморфним у всіх досліджуваних природних популяціях *D. melanogaster* України в 2013 р.

2) популяції *D. melanogaster* різних регіонів України характеризуються істотними відмінностями в частотах алелів і генотипів за локусом *Est-6*.

3) частоти алелів і генотипів за локусом *Est-6* протягом сезону основної активності дрозофіли у 2013 р. в одеській природній популяції зазнавали істотних змін.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андриевский А. М., Кучеров В. А., Тоцкий В. Н., Деркач Е. В. Онтогенетические особенности экспрессии карбоксиэстераз у *Drosophila melanogaster* // Вестн. ОНУ. 2005. Т. 10. № 5. С. 26–35.
2. Атраментова Л., Утевська О. Статистичні методи в біології. Харків, 2007. 288 с.
3. Радіонов Д. Б., Кунда-Пронь И. В., Кучеров В. А., Козерецькая И. А. Генетико-биохимические показатели природных популяций *Drosophila melanogaster* Украины // Дрозофі-

- ла в експериментальній генетиці та біології: зб. наук. праць III Міжнар. конф. К., 2012. С. 72–79.
4. Радіонов Д. Б., Проценко О. В., Андрієвський О. М. та ін. Стабільність генетичних параметрів в популяції *Drosophila melanogaster* м. Одеси // Цитологія і генетика. 2011. Т. 45. № 3. С. 63–67.
 5. Тоцький В. М. Генетика. Одеса: Астропринт, 2008. 712 с.
 6. Balakirev E. S., Balakirev E. I., Rodriguez-Trelles F., Ayala F. J. Molecular evolution of two linked genes, *Est-6* and *Sod*, in *Drosophila melanogaster* // Genetics. 1999. Vol. 153. P. 1357–1369.
 7. Bubilý O. A., Kalabushkin B. A., Imasheva A. G. Geographic variation of six allozyme loci in *Drosophila melanogaster*: an analysis of data from different continents // Hereditas. 1999. Vol. 130. P. 25–32.
 8. Bublý O. A., Rakitskaya T. A., Imasheva A. G. Variation of allozyme loci in populations of *Drosophila melanogaster* from the former USSR // Heredity. 1996. Vol. 77. P. 638–645.
 9. Umina P. A. A rapid shift in a classic clinal pattern in *Drosophila* reflecting climate change // Science. 2005. Vol. 308. N 5722. P. 691–693.

Стаття: надійшла до редакції 10.12.14

доопрацьована 12.03.14

прийнята до друку 18.05.14

THE GENETIC STRUCTURE OF NATURAL *DROSOPHILA MELANOGASTER* POPULATIONS FROM UKRAINE BY THE LOCUS *Est-6*

I. Khrystoforova¹, V. Kucherov¹, D. Radionov¹, I. Kozeretska²

¹Odessa National University

2, Dvoryanska St., Odessa 65026, Ukraine

e-mail: pankovae@yandex.ru

²National Taras Shevchenko University of Kyiv

64, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine

e-mail: iryna.kozeretska@gmail.com

We used the alkaline PAGE method to investigate genotype and allele frequencies by the locus of β -specific carboxylesterase (*Est-6*) in natural populations of *Drosophila melanogaster* from Ukraine collected in 2013. We demonstrate interpopulation differences in allele and genotype frequencies in the studied locus. We describe the frequency dynamics of the indicated genetic traits throughout the season of *D. melanogaster* biological activity in an Odessa population.

Keywords: *D. melanogaster*, population, alleles, esterase 6.

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ
DROSOPHILA MELANOGASTER (MEIG.) УКРАИНЫ ПО ЛОКУСУ *Est-6***

И. Христофорова¹, В. Кучеров¹, Д. Радионов¹, И. Козерецька²

¹*Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова
ул. Дворянская, 2, Одесса 65026, Украина
e-mail: pankovae@yandex.ru*

²*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
ул. Владимирская, 64, Киев 01601, Украина
e-mail: iryna.kozeretska@gmail.com*

Используя метод щелочного электрофореза в полиакриламидном геле, изучали частоты генотипов и аллелей по локусу β -специфичной карбоксиэстеразы (*Est-6*) в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Украины в 2013 г. Показаны межпопуляционные различия в частотах аллелей и генотипов по изучаемому локусу. Описана динамика частот указанных генетических параметров в течение сезона биологической активности *D. melanogaster* в одесской природной популяции.

Ключевые слова: *D. melanogaster*, популяция, аллели, эстераза 6.