

О.В. Ваулин, Л.И. Гундерина, И.К. Захаров

**ВРЕМЕННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОМНОЙ ДНК *DROSOPHILA MELANOGASTER* В ПОПУЛЯЦИИ г. УМАНЬ (УКРАИНА)**

Работа поддержана грантом РФФИ № 05-04-48838 и Программой Президиума РАН «Биоразнообразию и динамика генофондов»

Изучена динамика изменчивости геномной ДНК *Drosophila melanogaster* в популяции города Умань (Украина) в период с 1984 по 2004 г. с помощью ISSR-маркеров. Показано, что межгодовые изменения уровня полиморфизма геномной ДНК в популяции не носят направленного характера и невелики. Доля полиморфных локусов (P) в популяции варьировала от 0,458 до 0,704, а средняя гетерозиготность – от 0,085 до 0,127, не выявляя временного тренда. Оценки величины генетической дифференциации генетической структуры популяции в разные годы (GD) варьируют от 0,000 до 0,179. Полученные данные свидетельствуют о стабильности генетической структуры *Drosophila melanogaster* в популяции г. Умань и указывают на отсутствие воздействия на нее внешних возмущающих факторов в изученный период времени.

Популяция *Drosophila melanogaster* г. Умань (Украина) является объектом длительного мониторинга генофонда, проводимого лабораторией генетики популяций ИЦиГ СО РАН. В этой популяции детально изучена динамика изменения частот и аллельной представленности видимых и летальных мутаций [1, 2]. В период с 1982 по 1991 г. в популяции было отмечено резкое увеличение частоты мутирования гена *yellow*, представляющее собой локуспецифическую локальную «моду на мутацию» [3, 4]. Возникал вопрос, является ли изменение частоты мутирования специфическим для данного гена или отражает общую реакцию генома. Если это общая реакция генома, обусловленная каким-нибудь воздействием, то изменение частоты мутаций будет обнаружено не только в сайте гена *yellow*, но и в других районах генома. Для решения этой задачи необходимо провести анализ временной динамики уровня изменчивости в как можно большем числе районов генома *D. melanogaster*. Использование метода ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) [5] позволяет выделить большое число случайных участков, рассредоточенных по всему геному. Во время локальной «моды на мутацию» *yellow*, когда в популяции резко возрастала частота этой мутаций, в 1982–1991 гг. из этой популяции были получены линии *D. melanogaster* с генетически нестабильными аллелями гена *yellow* [3, 4]. Цель настоящей работы состоит в изучении изменчивости геномной ДНК *D. melanogaster* в популяции г. Умань в период с 1984 по 2004 г. методом ISSR.

В работе использовали самок из изосамочьих линий *D. melanogaster* из популяции г. Умань, полученных в 1984, 1988, 1990, 1991, 2003 и 2004 гг. Изосамочьи линии были основаны индивидуальными самками *D. melanogaster*, отловленными в г. Умань в указанные выше годы. Линии до настоящего времени поддерживаются в лабораторных условиях.

Для анализа изменчивости геномной ДНК *D. melanogaster* в популяции г. Умань в разные годы использовали от 14 до 31 изосамочьих линий. ДНК выделяли у одной особи из каждой линии. При проведении ISSR-анализа для полимеразной цепной реакции (ПЦР) в качестве праймеров использовали три олигонуклеотида, различающихся по нуклеотидному составу: (AG)<sub>8</sub>G, (CT)<sub>8</sub>A и (CA)<sub>8</sub>G.

В результате ПЦР с использованием этих праймеров были получены многополосные спектры фрагментов ДНК *D. melanogaster*. Число фрагментов ДНК у индивидуальных особей варьировало от 16 до 24. В общей сложности у *D. melanogaster* в популяции г. Умань было выделено 30 фрагментов ДНК.

Анализ показал существование высокого уровня изменчивости геномной ДНК *D. melanogaster* в популяции г. Умань и вариации его в изученный период времени (табл. 1). Как доля полиморфных фрагментов ДНК, так и гетерозиготность в популяции в разные годы варьируют, однако изменения не демонстрируют направленного временного тренда.

В работе не обнаружено временной зависимости частот и набора фрагментов ДНК, найденных в популяции на протяжении изученного периода времени. Оценки степени генетической дифференциации популяции в разные сроки изученного периода (генетические расстояния – GD) показывают, что они варьируют от 0 до 0,179, составляя в среднем 0,094 (табл. 2). Это значение почти в 2 раза меньше среднего значения генетического расстояния между географически удаленными популяциями *D. melanogaster* 0,155 [6].

Полученные данные свидетельствуют о значительной стабильности геномной ДНК *D. melanogaster* в популяции г. Умань в период 1984–2004 гг. Не найдено направленного увеличения уровня ее изменчивости на протяжении изученного периода времени, хотя уровень мутабельности гена *yellow* в это время был увеличен.

Таблица 1

Изменчивость геномной ДНК *Drosophila melanogaster* в популяции г. Умань в период 1984–2004 гг.

Параметр	Год					
	1984	1988	1990	1991	2003	2004
Число изученных линий	14	18	31	18	15	28
Общее число фрагментов ДНК	24	26	27	24	24	25
Доля полиморфных фрагментов ДНК (P)	0,458	0,461	0,704	0,540	0,458	0,520
Ожидаемая гетерозиготность (H)	0,100	0,113	0,127	0,097	0,085	0,099

Степень дифференциации генетической структуры (генетические расстояния – GD) *Drosophila melanogaster* из популяции г. Умань в разные годы в период 1984–2004 гг.

Год	1988	1990	1991	2003	2004
1984	0,077	0,111	0,000	0,080	0,040
1988		0,172	0,077	0,148	0,038
1990			0,111	0,179	0,143
1991				0,080	0,040
2003					0,115

Это свидетельствует о том, что фактор, увеличивающий мутабельность этого гена, обладает не общей, а локуспецифической активностью. Действительно, ни один из 30 маркеров геномной ДНК, выделенных в настоящей работе, не продемонстрировал направленного во времени увеличения уровня изменчивости. Молекулярно-генетический анализ локуса *yellow* показал, что повышенная мутабельность и нестабильность этого гена обусловлена инсерцией в этот район транспозона *hobo* [7, 8]. Тот факт, что в настоящей работе не выявлено изменения уровня изменчивости изученных фрагментов генома, свидетельствует о локальности воздей-

ствия фактора, в данном случае транспозона, влияющего на уровень мутабельности генома.

Вместе с тем проведенная работа показала значительную стабильность геномной ДНК *D. melanogaster* в популяции г. Умань во времени. Действительно, основные параметры, характеризующие генетическую вариабельность в этой популяции, сохраняются неизменными на протяжении 20 лет исследования. Это указывает на достаточно большую эффективную численность популяции, которая позволяет ей сохранить свою генетическую целостность, несмотря на воздействия неблагоприятных экологических и антропогенных факторов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Берг Р.Л. Мутация «желтая» (*yellow*) в популяции *Drosophila melanogaster* г. Умани // Вестник Ленингр. ун-та. Сер. Биология. 1961. № 3, вып. 1. С. 77–89.
2. Голубовский М.Д., Иванов Ю.Н., Захаров И.К., Берг Р.Л. Исследование синхронных и параллельных изменений генофондов в природных популяциях плодовых мух *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1974. Т. 10, № 4. С. 72–83.
3. Захаров И.К., Иванников А.В., Скибицкий Е.Э. и др. Генетические свойства аллелей генов X-хромосомы, выделенных из природных популяций *Drosophila melanogaster* в период вспышки мутаций // Докл. Академии наук. 1995. Т. 341, № 1. С. 126–129.
4. Захаров И.К., Скибицкий Е.Э. Генетика нестабильных аллелей X-хромосомы, выделенных в период вспышки *yellow*-мутации 1982–1991 гг. в природной популяции *Drosophila melanogaster* Умани // Генетика. 1995. Т. 31, № 8. С. 1079–1084.
5. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. Vol. 20. P. 176–183.
6. Ваулин О.В., Гундерина Л.И., Захаров И.К. Полиморфизм и дифференциация мультилокусных маркёров ДНК в природных популяциях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2007. Т. 43, № 1 (в печати).
7. Грачева Е.М., Захаров И.К., Волошина М.А. и др. Вспышки мутаций гена *yellow* в природной популяции *Drosophila melanogaster* связаны с инсерцией транспозона *hobo* // Генетика. 1988. Т. 34, № 4. С. 462–468.
8. Захаренко Л.П., Захаров И.К., Волошина М.А. и др. Причина сохранения высокой нестабильности по гену *yellow* в линиях *Drosophila melanogaster*, выделенных в период «моды на мутацию» в популяции Умани // Генетика. 2004. Т. 40, № 3. С. 316–321.

Статья поступила в редакцию журнала 20 ноября 2006 г., принята к печати 27 ноября 2006 г.