

А.Н. ТАРАСЮК, Я.И. САЦКЕВИЧ

Беларусь, Брест, Брестский государственный университет
имени А.С. Пушкина, tarasiuk01@yandex.ru

**ВЛИЯНИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ И СТЕРОИДНЫХ
ГЛИКОЗИДОВ НА ЧАСТОТУ КРОССИНГОВЕРА В
РАЗЛИЧНЫХ УЧАСТКАХ ХРОМОСОМ ДРОЗОФИЛЫ**

Развитие сельского хозяйства сопровождается активным поиском новых эффективных регуляторов роста с целью повышения продуктивности и устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. Перспективной группой таких регуляторов являются стероидные соединения растений, которые всё шире используются в сельскохозяйственном производстве. Среди них чаще других применяются наиболее изученные среди большого многообразия стероидных соединений растений brassinosterоиды и стероидные гликозиды [1]. В то же время широкое применение этих веществ на практике сдерживается недостаточной изученностью их генетической активности. Одним из показателей, характеризующих такую активность, является частота кроссинговера [2]. Удобным модельным объектом для изучения влияния brassinosterоидов и стероидных гликозидов на процесс кроссинговера является дрозофила. Данные, полученные на дрозофиле, могут быть экстраполированы на практически значимые объекты.

Целью настоящей работы явился сравнительный анализ влияния стероидных соединений, относящихся к brassinosterоидам и стероидным гликозидам, на частоту кроссинговера в различных участках хромосом дрозофилы.

В работе исследовано действие двух стероидных соединений – brassinosterоида эпикастастерона и стероидного гликозида никотианозида, которое оценивалось при помощи двух маркерных систем, включающих по три сцепленных гена на хромосомах I и III дрозофилы:

- 1) маркерная система хромосомы I – *y-cut-v* (ген *y* (*yellow*) – жёлтое тело, локус 0; ген *cut* – обрезанные крылья, локус 20,0; ген *v* (*vermillion*) – ярко-красные глаза, локус 33,0);
- 2) маркерная система хромосомы III – *st-ss-e* (ген *st* (*scarlet*) – багряно-красные глаза, локус 44,0; ген *ss* (*spineless*) – укороченные щетинки, локус 58,5; ген *e* (*ebony*) – чёрное тело, локус 70,7).

Мутантные линии *y-cut-v* и *st-ss-e* использовались в качестве материнского компонента скрещивания, в качестве отцовского выступала линия дикого типа *Berlin*.

Действующие вещества добавлялись непосредственно в питательную среду для выращивания мух, на которую затем сажались по 3 пары родительских особей дрозофилы. Полученные в результате скрещивания гибриды F_1 развивались на питательной среде, содержащей исследуемые вещества. Поэтому весь их жизненный цикл, включая мейоз и процесс рекомбинации, проходили в присутствии стероидных соединений. В работе использовались 3 концентрации эпикастастерона и никотианозида: $1 \cdot 10^{-8} \%$, $1 \cdot 10^{-7} \%$ и $1 \cdot 10^{-6} \%$. Контролем была стандартная питательная среда. Для полученных гибридных самок F_1 затем проводились анализирующие скрещивания. Потомство от этих скрещиваний (F_A) выращивалось на чистой питательной среде. Опыт проводился в 5 повторностях (по 5 пробирок с потомством на каждый вариант опыта, включая контроль).

На основе полученных значений численности различных фенотипических классов в F_A рассчитывались частоты кроссинговера (rf). Определялись также стандартные ошибки частот кроссинговера (s_{rf}). Для оценки достоверности различий между опытными и контрольными вариантами использовался *t*-критерий Стьюдента [3].

Сравнивалось влияние различных концентраций эпикастастерона и никотианозида на частоту кроссинговера в участках хромосом, имеющих различную локализацию по отношению к центромере. Такие участки можно разделить на проксимальные (приближенные к центромере) и дистальные (удаленные от центромеры). Имеются данные о том, что влияние исследуемых факторов на частоту кроссинговера для генов, расположенных в прицентромерных (проксимальных) участках хромосом, может существенно отличаться от таковой для генов, удаленных от центромеры и расположенных в дистальных участках [4]. Такие различия могут быть обусловлены как структурными особенностями хромосом, так и содержанием гетерохроматина, который локализован главным образом в районе центромеры.

В связи с этим, частота кроссинговера учитывалась отдельно для проксимальных и дистальных сегментов хромосом I и III, положение которых показано на рисунке 1. Как видно из рисунка, проксимальными сегментами являются *cut-vermillion* (хромосома I) и *scarlet-spineless* (хромосома III), тогда как дистальными – *yellow-cut* (хромосома I) и *spineless-ebony* (хромосома III).

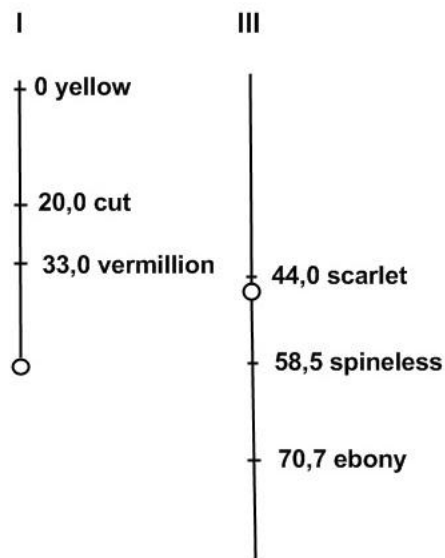


Рисунок 1 – Положение исследуемых сегментов хромосом по отношению к центромере (обозначена кружочком)

Полученные для эпикастастерона данные по частотам кроссинговера в проксимальных и дистальных сегментах приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние эпикастастерона на частоту кроссинговера в проксимальных и дистальных сегментах хромосом I и III дрозофилы

Вариант опыта	Частота кроссинговера ($rf + s_{rf}$) в сегментах			
	проксимальных		дистальных	
	<i>cut-v</i> (хромосома I)	<i>st-ss</i> (хромосома III)	<i>y-cut</i> (хромосома I)	<i>ss-e</i> (хромосома III)
контроль	11,75±1,06	34,91±1,99	17,52±1,25	22,28±1,74
1·10 ⁻⁸ %	10,89±1,03	31,47±2,01	18,25±1,38	21,23± 1,76
1·10 ⁻⁷ %	12,82±1,16	34,66±1,79	15,84±1,27	18,75± 1,47
1·10 ⁻⁶ %	11,85±1,08	34,65±1,79	15,59±1,24	16,05± 1,38**

Примечание: ** - отличие от контроля достоверно при $P < 0,01$.

Как видно из приведенных в таблице данных, влияние эпикастастерона на частоту кроссинговера в большинстве случаев не является достоверным, за исключением снижения rf в дистальном сегменте хромосомы III при действии концентрации 1·10⁻⁶%. Наблюдаемые эффекты носят характер тенденций. Общая закономерность – снижение частоты кроссинговера. При этом максимальное снижение rf в проксимальных сегментах наблюдается при минимальной концентрации эпикастастерона (1·10⁻⁸%), тогда как в дистальных – при максимальной его

концентрации ($1 \cdot 10^{-6} \%$). С увеличением концентрации эпикастастерона уровень снижения частоты кроссинговера в дистальных сегментах хромосом I и III увеличивается.

Результаты оценки влияния никотианозидов на частоту кроссинговера в проксимальных и дистальных сегментах приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние никотианозидов на частоту кроссинговера в проксимальных и дистальных сегментах хромосом I и III дрозофилы

Вариант опыта	Частота кроссинговера ($rf + s_{rf}$) в сегментах			
	проксимальных		дистальных	
	<i>cut-v</i> (хромосома I)	<i>st-ss</i> (хромосома III)	<i>y-cut</i> (хромосома I)	<i>ss-e</i> (хромосома III)
контроль	12,57±1,41	29,10±2,06	17,49±1,62	22,95±1,90
$1 \cdot 10^{-8} \%$	12,39±1,35	31,15± 1,81	15,24±1,47	24,42±1,68
$1 \cdot 10^{-7} \%$	15,62±1,58	28,62± 1,78	16,38±1,62	24,11±1,69
$1 \cdot 10^{-6} \%$	13,18±1,44	27,64± 1,81	16,25±1,57	18,86±1,58

Сравнение опытных и контрольных данных с использованием *t*-критерия Стьюдента показало, что достоверные эффекты отсутствуют. Наблюдается тенденция к увеличению частоты кроссинговера в хромосоме III (проксимальном и дистальном сегментах) при действии никотианозидов в концентрации $1 \cdot 10^{-8} \%$. При концентрации $1 \cdot 10^{-7} \%$ происходит увеличение *rf* в проксимальном сегменте только хромосомы I. В большинстве случаев высокая концентрация эпикастастерона ($1 \cdot 10^{-6} \%$) обуславливает тенденцию к снижению частоты кроссинговера.

Таким образом, брассиностероид эпикастастерон и стероидный гликозид никотианозид не оказывают существенного влияния на частоту кроссинговера у дрозофилы (обладают слабо выраженной генетической активностью). Наблюдаемые эффекты носят характер тенденций и зависят от хромосомы и положения исследуемого сегмента на хромосоме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воронина, Л.П. Стероидные гормоны растений / Л.П. Воронина // Наука в России. – 2008. – № 4. – С. 19–26.
2. Инге-Вечтомов, С.Г. Генетика с основами селекции / С.Г. Инге-Вечтомов. – СПб. : Н-Л, 2010. – 720 с.
3. Рокицкий, П.Ф. Введение в статистическую генетику / П.Ф. Рокицкий. – Минск : Вышшая школа, 1978. – 448 с.
4. Жученко, А.А. Рекомбинация в эволюции и селекции / А. А. Жученко, А. Б. Король. – М. : Наука, 1985. – 400 с.