

## ЦИТОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

УДК 575:582.475

Г.Г. Гончаренко<sup>1</sup>, А.А. Сурков<sup>1</sup>, В.Г. Митрофанов<sup>2</sup>, Л.И. Корочкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины  
(г. Гомель, Республика Беларусь)

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (г. Москва)

### УРОВЕНЬ ГЕННОГО ПОТОКА У *DROSOPHILA LITTORALIS* (DIPTERA: DROSOPHILIDAE) В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ ВОСТОЧНОЙ ЕВРАЗИИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке  
Национальной академии наук Беларуси (грант № 2003865) и  
Министерства образования Республики Беларусь (грант № 2005562).

На основании проведенного генетического анализа 15 природных популяций *Drosophila littoralis* Meigen Восточной Евразии с использованием 14 генов, кодирующих изоферменты, были установлены основные показатели генетической подразделенности и генного потока. Величина генного потока ( $N_m$ ) для всех исследованных нами популяций Восточной Евразии составила 4,21. Это говорит о том, что популяции *D. littoralis* обмениваются генетическим материалом в среднем с интенсивностью 4,2 мигранта за поколение. Для отдельных групп популяций эта величина возрастает до 5,43. Полученные генетические данные указывают на связь величины генного потока с географической удаленностью популяций друг от друга.

**Ключевые слова:** *Drosophila littoralis*; изоферменты; генетическая структура популяций; генный поток.

Работа выполнялась в рамках научного сотрудничества между Институтом биологии развития Н.К. Кольцова РАН (г. Москва, Россия) и Гомельским государственным университетом им. Ф. Скорины (г. Гомель, Республика Беларусь).

Представители двукрылых видов-двойников *Drosophila* группы *virilis* успешно использовались в качестве модельной системы для изучения процессов видообразования [1–3], генетики развития [4–5], молекулярной эволюции [6–8], а также таксономии и систематики [9–10]. Основным микроэволюционным фактором, сглаживающим действие естественного отбора, дрейфа генов и мутационного процесса, лежащих в основе генетической дифференциации природных популяций, является генный поток. Именно генный поток путем обмена наследственным материалом между популяциями выравнивает их генетическую структуру, позволяя виду сохранять единый генофонд. Величина генного потока зависит от сложного взаимодействия различных микроэволюционных сил и может серьезно различаться в изолированных или непрерывных популяциях одного вида.

В последние десятилетия с появлением генетических маркеров у исследователей впервые возникла возможность точно оценивать величину генного потока. Однако исследования, направленные на его измерение у высших насекомых в Восточной Евразии непосредственно в природных популяциях, практически отсутствуют. Удобной моделью для оценки генного потока в природных популяциях насекомых является хорошо генетически изученная *Drosophila littoralis* Meigen – восточно-евразийский представитель двойниковых видов, входящих в группу *virilis*.

Целью нашей работы была оценка уровня генного потока в 15 природных популяциях у вида *D. littoralis* в Восточной Евразии на основе использования в качестве молекулярно-генетических маркеров 14 генов, кодирующих изоферменты.

### Материалы и методы исследования

*D. littoralis* обитает вблизи незагрязненных лесных водоемов. Её взрослые особи были отловлены в 15 природных популяциях (рис. 1), которые находятся в восточной части ареала распространения данного вида на территории Восточной Евразии [8, 9, 11].

Название популяций, места обитания и год отлова исследованных особей *D. littoralis*: 1) «Мукачево» – вблизи г. Мукачево, Украина, 1986; 2) «Латорица» – р. Латорица в 10 км восточнее Мукачево, Украина, 1985; 3) «Воловец» – г. Воловец, Украина, 1986; 4) «Черновцы» – вблизи г. Черновцы, Украина, 1985; 5) «Днепровская» – вблизи г. Речица, Белоруссия, 1985, 2003–2005; 6) «Гомель ручейная» – ручей в 10 км южнее г. Гомель, Белоруссия, 1984–1987, 2003–2005; 7) «Гомель болотная» – Галые болота восточнее г. Гомель, Белоруссия, 1981–1984, 2003–2005; 8) «Орша» – вблизи г. Орша, Белоруссия, 1985; 9) «Латвия» – вблизи г. Цесие, Латвия, 1989; 10) «Кропотово» – вблизи п. Кропотово, Московская обл., Россия, 1980; 11) «Финляндия» – вблизи г. Оулу, Финляндия, 1980; 12) «Карелия» – Карельское побережье Белого моря, Карелия, Россия, 1985; 13) «Новосибирск» – р. Обь в 100 км южнее г. Новосибирск, Новосибирская обл., Россия, 1987–1989; 14) «Алтай» – р. Катунь в 80 км южнее г. Бийск, Алтайский край, Россия, 1989; 15) «Талас» – вблизи г. Талас, Кыргызстан, 1986–1987. Местоположение проанализированных популяций показано на рис. 1.

Изученные популяции были разделены на группы: европейская группа – популяции 1–12, сибирская – 13–14 и тьянь-шаньская – 15. В свою очередь 12 чисто европейских популяций подразделяются на южно-европейские – 1–4 (Украина), восточно-европейские – 5–10 (Белоруссия, Россия, Латвия) и северо-европейские – 11–12 (Финляндия, Карелия).

Взрослые особи вида *D. littoralis* исследовались методом электрофореза. Каждая особь гомогенизировалась в 25 мкл дистиллированной воды или гелевого буфера. Электрофоретическое фракционирование гомогенизированных экстрактов индивидуальных особей проводилось нами по 11 ферментам в 13–14%-ном крахмальном геле с использованием двух буферных систем: А) трис-ЭДТА-боратная, pH 8,6; В) трис-цитрат, pH 6,2. Все параметры электрофоретического фракционирования, а также методики экстракции и гисто-

химического выявления ферментов подробно приведены нами ранее [1, 12, 13]. Обозначение выявленных электрофоретических вариантов дано по общепринятой номенклатуре Пракаша с соавт. [14].

Для выявления значения параметров генетической подразделённости популяций использовали показатели  $F_{ST}$  [15] и  $G_{ST}$  [16]. Величина генного потока ( $N_e m$ ) определялась из соотношения  $N_e m = (1 - F_{ST}) / 4F_{ST}$ , где  $F_{ST}$  – коэффициент подразделённости популяций [15].

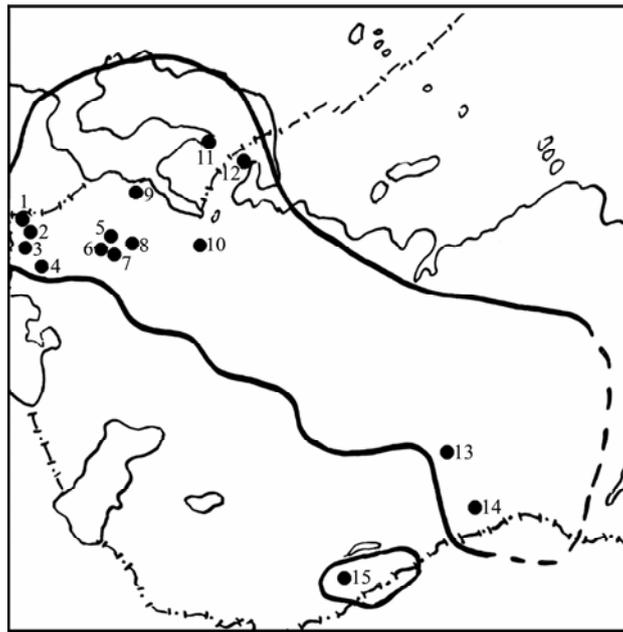


Рис. 1. Места обитания проанализированных популяций и распространение *D. littoralis* на территории Восточной Евразии:  
«●» – популяции, «—» – граница распространения

### Результаты исследования и обсуждение

В ходе электрофоретического исследования особей *D. littoralis* из 15 природных популяций по 11 ферментным системам удалось выявить 41 различный электрофоретический вариант, находящийся, как было показано ранее [17–18], под генетическим контролем 14 локусов.

Для оценки генетической структуры были рассчитаны частоты встречаемости аллелей в каждой из 15 исследованных популяций *D. littoralis*. Аллельные частоты по 14 проанализированным генам представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, полностью мономорфными в исследованных популяциях являются четыре локуса: *Fum*,  $\alpha$ -*Gpdh*, *s-Mdh*, *m-Mdh*, поскольку по каждому из них найден только один аллель. Наибольшая изменчивость обнаружена по генам, кодирующим  $\alpha$ -эстеразу-3,  $\beta$ -эстеразу-2, кислую фосфатазу-1 и октанодегидрогеназу (табл. 1).



Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<b>ODH</b>															
n	28	4	4	0	30	52	12	0	0	2	1	0	0	0	0
0,95	0,035	0,000	0,000	0,000	0,000	0,019	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
1,00	0,895	1,000	1,000	0,000	0,901	0,943	0,917	0,000	0,000	0,500	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000
1,05	0,035	0,000	0,000	0,000	0,000	0,038	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
1,10	0,035	0,000	0,000	0,000	0,066	0,000	0,083	0,000	0,000	0,500	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
1,20	0,000	0,000	0,000	0,000	0,033	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
<b><math>\alpha</math>-GPDH</b>															
n	2	0	0	0	0	0	2	0	8	0	0	0	4	12	6
1,00	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000
<b>c-MDH</b>															
n	2	0	0	0	0	0	2	0	8	0	0	0	4	12	6
1,91	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000
<b>m-MDH</b>															
n	2	0	0	0	0	0	2	0	8	0	0	0	4	12	6
1,00	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000
<b>IDH</b>															
n	2	0	0	0	0	0	2	0	8	0	0	0	4	12	6
0,98	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,875	0,000	0,000	0,000	1,000	0,833	1,000
1,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,125	0,000	0,000	0,000	0,000	0,167	0,000

*Примечание.* Мук – Мукачево, Лт – Латорица, Вол – Воловец, Чер – Черновцы, Дн – Днепроовская, Г-р – Гомель ручейная, Г-б – Гомель болотная, Орш – Орша, Лат – Латвия, Кр – Кропотово, Фин – Финляндия, Кар – Карелия, Нов – Новосибирск, Алт – Алтай, Тал – Талас; n – число проанализированных геномов.

На основании аллельных частот, используя F-статистики Райта ( $F_{ST}$ ) и G-статистики Неи ( $G_{ST}$ ), мы предприняли попытку оценить состояние равновесия и степень подразделенности исследованных природных популяций *D. littoralis* Восточной Евразии.

Показатель подразделенности  $F_{ST}$  для всех множественных аллелей подсчитывался как средневзвешенный по всем исследованным популяциям и варьировал в полиморфных локусах от 0,082 ( $\alpha$ -Est-3) до 0,148 ( $\beta$ -Est-2) (табл. 2). Среднее значение  $F_{ST}$  составило 0,056. Это говорит о том, что 94,4% всей изменчивости находится внутри популяций *D. littoralis* и только 5,6% приходится на межпопуляционную изменчивость. Относительно близкое среднее значение, равное 0,076 (табл. 2), было установлено и по другому показателю, определяющему подразделенность, –  $G_{ST}$ , который, как было показано в работе Неи [16], эквивалентен параметру  $F_{ST}$ . Полученные значения  $F_{ST}$  и  $G_{ST}$ , приведенные в табл. 2, позволяют говорить об определенной неоднородности генетической структуры, по крайней мере, в изученной нами части ареала *D. littoralis*, что может объясняться географической удаленностью и изолированностью ряда проанализированных популяций Восточной Евразии (см. рис. 1).

Генный поток вычислялся для всех исследованных групп популяций *D. littoralis* Восточной Евразии. Результаты сведены в табл. 3. Рассчитав значение  $F_{ST}$  для каждой группы популяций (табл. 3), мы определили величину генного потока ( $N_e m$ ), которая оказалась для европейско-сибирско-тянь-шаньской группы популяций равной 4,21. Это говорит о том, что изученные популяции *D. littoralis* обмениваются генетическим материалом в среднем с интенсивно-

стью 4,2 мигранта за поколение. При исключении популяции Тянь-Шаня величина  $N_e m$  для европейско-сибирской группы увеличивается до 4,5 мигрантов за поколение. Значение генного потока для европейской группы популяций при исключении популяций Алтая и Новосибирска увеличивается до 4,8 мигранта за поколение. Для юго-восточно-европейской – при исключении популяций Карелии и Финляндии – величина генного потока составила 5,2 мигранта за поколение и для восточно-европейских при исключении Карпатских популяций – 5,4 мигранта за поколение (табл. 3).

Таблица 2  
Значения показателей F- и G-статистик по 14 локусам в исследованных природных популяциях *D. littoralis*

Локус	$F_{ST}$	$G_{ST}$
PGM	0,130	0,145
ME	0,006	0,006
HK-1	0,027	0,035
HK-8	0,030	0,030
FUM	0,000	0,000
$\alpha$ -EST-3	0,082	0,107
$\beta$ -EST-2	0,148	0,212
ACPH-1	0,114	0,150
ADH	0,015	0,015
ODH	0,132	0,260
$\alpha$ -GPDH	0,000	0,000
c-MDH	0,000	0,000
m-MDH	0,000	0,000
IDH	0,105	0,105
<b>Среднее</b>	<b>0,056</b>	<b>0,076</b>

Таблица 3  
Показатели коэффициента генетической подразделенности и генного потока в группах популяций *D. littoralis*

Группы популяций	$F_{ST}$	$N_e m$
Европейско-сибирско-тянь-шаньские	0,056	4,21
Европейско-сибирские	0,053	4,47
Европейские	0,050	4,75
Юго-восточно-европейские	0,046	5,18
Восточно-европейские	0,044	5,43

Полученные данные однозначно указывают на достаточно интенсивный обмен генетическим материалом между исследованными популяциями *D. littoralis* в Восточно-Евразийском регионе, несмотря на наличие между ними географических преград, таких как Карпатские, Уральские, Алтайские и Тянь-шаньские горы. Степень отличия в показателе  $N_e m$  хорошо соответствует характеру распределения и взаимосвязи популяций у *D. littoralis* и напрямую связана с географической удаленностью популяций друг от друга.

Таким образом, в работе на основании проведенного генетического анализа 15 природных популяций *D. littoralis* Восточной Евразии с использованием

14 генов были установлены основные показатели генетической подразделенности и генного потока. Величина генного потока ( $N_e m$ ) для всех исследованных нами популяций составила 4,21. Показано, что для отдельных групп популяций эта величина возрастает до 5,43. Полученные нами генетические данные однозначно указывают на зависимость величины генного потока от географической удаленности популяций друг от друга.

### Литература

1. Гончаренко Г.Г., Митрофанов В.Г., Корочкин Л.И., Савицкий Б.П. Первый этап видообразования у двух подвидов *Drosophila* группы *virilis* // ДАН СССР. 1989. Т. 304, № 2. С. 448–451.
2. Майр Э. Зоологический вид и эволюция. М.: Мир, 1968. 462 с.
3. Patterson S.T., Stone W.S. Evolution in the genus *Drosophila*. N.Y.: McMillan, 1952. 212 p.
4. Корочкин Л.И. Биология индивидуального развития (генетический аспект). М.: МГУ, 2002. 264 с.
5. Korochkin L.I. Genetic control and development expression of esterase isozymes in *Drosophila* of the *virilis* group // Developmental biology. London: Academic Press Inc., 1975. P. 99–117.
6. Nei M. Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on protein identity // Amer. Natur. 1971. Vol. 105. P. 385–398.
7. Spicer G.S., Bell C.D. Molecular phylogeny of the *Drosophila virilis* species group (Diptera: Drosophilidae) inferred from mitochondrial 12S and 16S ribosomal RNA gene // Genes Ann. Entomol. Soc. Am. 2002. Vol. 95. P. 156–161.
8. Throckmorton L.H. The *virilis* species group // The genetics and biology of *Drosophila* / Eds. by M. Ashburner, E. Novitsky. London: Academic, 1982. Vol. 3B. P. 227–297.
9. Гончаренко Г.Г., Емельянов И.М. Электрофоретический ключ для типировки взрослых особей двойниковых видов *Drosophila* группы *virilis*, обитающих в Палеарктике // Доклады АН СССР. 1990. Т. 313, № 2. С. 448–452.
10. Goncharenko G.G., Emelianov I.M. An electrophoretic key to adult members of the sibling species belonging to the *Drosophila virilis* group (Diptera, Drosophilidae) inhabiting Soviet Union and adjacent countries // Z. zool. Syst. Evolut.-forsch. 1992. Vol. 30. P. 281–286.
11. Lakovaara S., Saura A., Lankinen P., Pohjola L., Lokki P. The use of isoenzymes in tracing evolution and in classifying Drosophilidae // Zool. Scr. 1976. Vol. 5. P. 173–179.
12. Гончаренко Г.Г., Митрофанов В.Г., Катохин А.Н. Изучение биохимического полиморфизма у *Drosophila imeretensis* в природных популяциях Краснодарского края // Генетика. 1984. Т. XX, № 4. С. 620–627.
13. Сурков А.А., Гончаренко Г.Г., Митрофанов В.Г., Корочкин Л.И. Методический подход к исследованию генофондов короткоусых двукрылых *Drosophila* группы *virilis* в природных популяциях Беларуси // Известия ГГУ им. Ф. Скорины. 2003. № 5. С. 50–54.
14. Prakash S., Lewontin R.C., Hubby J.L. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. IV. Patterns of genic variation in central, marginal and isolated populations of *Drosophila pseudoobscura* // Genetics. 1969. Vol. 61. P. 841–858.
15. Wright S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regards to systems of mating // Evolution. 1965. Vol. 19. P. 395–420.
16. Nei M. Molecular Population Genetics and Evolution. Amsterdam: Holland Press, 1975. 278 p.
17. Гончаренко Г.Г. Аллозимная диагностика видов-двойников *Drosophila* группы *virilis* // ДАН СССР. 1987. Т. 295, № 4. С. 976–980.
18. Гончаренко Г.Г., Сурков А.А., Митрофанов В.Г., Корочкин Л.И. Генетико-эволюционные и таксономические взаимоотношения у видов-двойников *Drosophila* группы *virilis* Палеарктики // Известия ГГУ им. Ф. Скорины. 2004. № 3. С. 144–157.

Поступила в редакцию 20.05.2010 г.

Grigory G. Goncharenko<sup>1</sup>, Alexander A. Surkov<sup>1</sup>,  
Vladimir G. Mitrophanov<sup>2</sup>, Leonid I. Korochkin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Francisk's Skorina Gomel State University, Gomel, Republic of Belarus

<sup>2</sup>N.K. Koltsov's Institute of Developmental Biology of Russian Academy  
of Sciences, Moscow, Russia

**THE LEVEL OF GENE FLOW IN NATURAL POPULATIONS  
OF *DROSOPHILA LITTORALIS* (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)  
OF EAST EURASIA**

*Fifteen natural populations of *Drosophila littoralis* Meigen from East Eurasia, were investigated by starch-gel electrophoresis. A total of 41 alleles were observed at 14 loci. Interpopulations genetic diversity ( $F_{ST}$ ,  $G_{ST}$ ) was 5,6–7,6% of the total genetic diversity and the level of gene flow ( $N_e m$ ) was 4,2 migrants per generation. The genetic data obtained suggest that the level gene flow is connected with geographical distance of populations of *D. littoralis* from each other.*

**Key words:** *Drosophila littoralis*; isoenzymes; populations structure; gene flow; inheritance.

Received May 20, 2010