

# Отсутствие связи между цитотипом лабораторных линий *Drosophila melanogaster* при внутривидовом РМ гибридном дисгенезе и *P* мобильным элементом

Захаренко Л.<sup>1\*</sup>, Ромашева Е.<sup>2</sup>, Илинский Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский государственный педагогический университет, Новосибирск, Россия

\* zakharlp@bionet.nsc.ru

**Ключевые слова:** *Drosophila*; цитотип; гибридный дисгенез; *P*-элемент

**Мотивация и цель:** Внутривидовой гибридный дисгенез (ГД) у *Drosophila melanogaster* проявляется в атрофии гонад для некоторых пар линий в одном из направлений скрещивания [1]. В учебники вошло представление о том, что РМ ГД обусловлен массовым перемещением *P* мобильного элемента. Однако ряд фактов заставляет усомниться в верности этой гипотезы: низкая скорость перемещения мобильных генетических элементов (МГЭ); ГД проявляется при повышенной температуре содержания дисгенного потомства, однако транскрипция МГЭ в этом диапазоне температур не меняется; часто отсутствует асимметрия в содержании *P*-элемента в родительских линиях; при прочих равных условиях линии, способные индуцировать симптомы ГД, уникальны [2–4]. Только референсные для РМ ГД линии дают хорошо воспроизводимый результат в одном из направлений скрещивания в виде 100 % атрофии гонад у дисгенных самок при повышенной температуре содержания (29 °C).

В данной работе мы проверяли стабильность цитотипа (описание цитотипов в табл. 1) в линиях, где атрофия гонад проявлялась менее чем в 100 % случаев, и как связано проявление симптомов ГД с содержанием *P*-элемента в геноме.

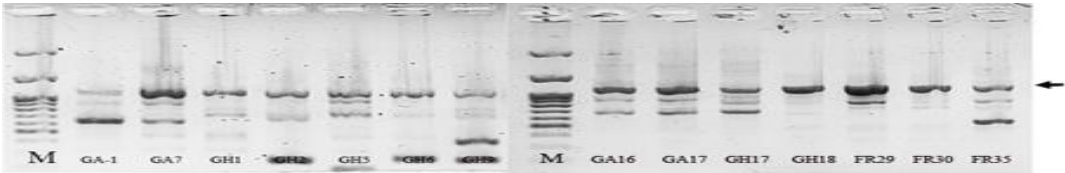
**Методы и алгоритмы:** Для оценки цитотипов тестируемых линий проводили скрещивания с референсными для РМ ГД линиями: самок тестируемых линий скрещивали с самцами линии Harwich, а самцов тестируемых линий – с самками линии Canton-S. Результаты тестирования сравнивали с данными, полученными 10 лет назад на этих же линиях [5]. Наличие *P*-элемента в геноме тестируемых линий проверяли с помощью ПЦР-анализа.

**Результаты:** Ранее в 2014 г. был проведен анализ цитотипов 52 линий *D. melanogaster* из четырех природных популяций: 14 линий из популяции Athens, Georgia, USA (GA), 17 линий из популяции Montpelier, France (FR), 13 линий из популяции Accra, Ghana (GH) [1]. Несмотря на содержание полноразмерной копии *P*-элемента в геноме, линии распределились по цитотипам следующим образом: доминировал Q-цитотип, не реагирующий на скрещивания с референсными для РМ ГД линиями (31 линия), 12 линий имели Р-цитотип, который индуцировал атрофию гонад, как правило, не более чем в 50 % случаев; 6 линий имели реактивный М'-цитотип, и 3 линии – Р'-цитотип, вызывающий атрофию гонад в обоих направлениях скрещивания [1]. В данной работе в анализ были взяты по три линии каждого цитотипа: Р, Р', Q и М' (см. табл. 1). За 10 лет в 7 из 12 исследованных линий *D. melanogaster* цитотип сменился по сравнению с данными,

полученными в 2014 г. Линии GH-1 и GH-9 сохранили нейтральный Q цитотип, линия GA-16 сохранила Р'-цитотип, реагирующий на скрещивания в обоих направлениях, GH-18 сохранила индуцирующий ГД Р-цитотип, FR-29 – М' реактивный цитотип. Среди оставшихся линий доминирует нейтральный Q-цитотип. Несмотря на длительное содержание линий в лаборатории, все линии сохранили в геноме полноразмерную копию Р-элемента (рис. 1).

**Таблица 1.** Характеристика цитотипов тестируемых линий и сравнение с данными 2023 г.

| Характеристика цитотипов исследованных (t) линий                                                                                     | 2014 | 2023 | Сохранили цитотип |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|-------------------|
| <b>Р</b> атрофия гонад >10 % при скрещивании t-самцов с самками Canton-S                                                             | 3    | 1    | 1                 |
| <b>Р'</b> атрофия гонад >10 % в обоих направлениях скрещивания                                                                       | 3    | 1    | 1                 |
| <b>М</b> (нет Р-элементов в геноме) или <b>М'</b> (есть Р-элементы)<br>Атрофия гонад >10 % при скрещивании t-самок с самцами Harwich | 3    | 2    | 1                 |
| <b>Q</b> Нет атрофии гонад в обоих направлениях скрещивания                                                                          | 3    | 8    | 2                 |



**Рис. 1.** ПЦР-анализ на содержание Р-элемента в геноме тестируемых линий. Стрелкой указано положение центральной части Р-элемента

*Выводы:*

1. Сравнение полученных результатов с данными 2014 г. показало, что только 42 % линий сохранили прежний цитотип: в двух линиях сохранился Q-цитотип, по одной линии сохранили Р', Р и М' цитотипы, в остальных линиях доминирует Q-цитотип, т. е. характеристики природных линий, как проявляющих, так и не проявляющих дисгенные свойства, нестабильны.
  2. ПЦР анализ показал, что длительное содержание линий в лабораторных условиях не привело к утрате полноразмерного Р-элемента в тестируемых линиях. Потеря способности индуцировать дисгенез Р-линиями GA-6 и GA-7 не сопровождается потерей Р-элемента. Результаты работы дают основание предполагать, что внутривидовой РМ гибридный дисгенез вряд ли связан с Р-элементом. Причиной нестабильности цитотипа может быть полиморфизм в тестируемых линиях, который накапливается и/или проявляется через десятки поколений содержания линий в лаборатории.
- Финансирование:* Исследование поддержано бюджетным проектом FWNR-2022-0019).

# The cytotype instability of the *Drosophila melanogaster* lines does not depend on the *P*-element during intraspecific hybrid dysgenesis

Zakharenko L.<sup>1\*</sup>, Romasheva E.<sup>2</sup>, Ilinsky Yu.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia

\* zakharlp@bionet.nsc.ru

**Key words:** *Drosophila*; cytotype; hybrid dysgenesis; *P*-element

**Motivation and Aim:** Intraspecific hybrid dysgenesis (HD) manifests itself in gonadal atrophy for some pairs of *Drosophila melanogaster* lines in one of the cross-directions [1]. The textbooks include the idea that the PM HD is caused by the massive movement of *P* transposable element (TE). However, a number of facts cast doubt on the validity of this hypothesis: low speed of movement of TEs; HD manifests itself only at elevated temperature of keeping dysgenic offspring, however, TE transcription does not change in this temperature range; often there is no asymmetry in the content of the *P*-element in the parental lines; all other things being equal, lines capable of inducing symptoms of HD are unique [2–4]. Only reference for PM HD lines give a well-reproducible result in one of the cross-directions as 100 % gonadal atrophy in dysgenic females at elevated temperature (29 °C).

In this work, we checked the stability of the cytotype (description of cytotypes in Table 1) in lines where gonadal atrophy manifested itself in less than 100 % of cases, and how the manifestation of HD symptoms is related to the presence of the *P*-element in the genome.

**Methods and Algorithms:** To evaluate the cytotypes of the tested lines, crosses were carried out with reference for PM HD lines: females of the tested lines were crossed with males of the Harwich line, and males of the tested lines with females of the Canton-S line. The test results were compared with data obtained 10 years ago on the same lines [5]. The presence of the *P*-element in the genome of the tested lines was checked using PCR analysis.

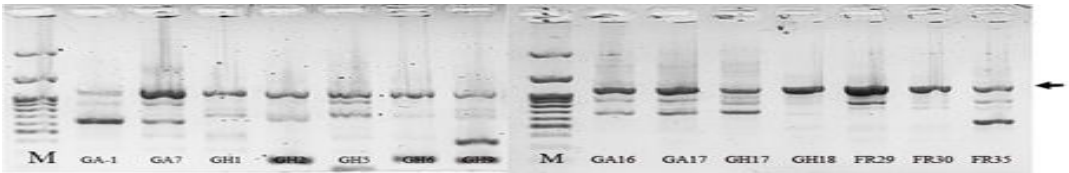
**Results:** Earlier in 2014, an analysis of the cytotypes of 52 lines of *D. melanogaster* from four natural populations was carried out: 14 lines from the population of Athens, Georgia, USA (GA), 17 lines from the population of Montpellier, France (FR), 13 lines from the population of Accra, Ghana (GH) [1]. Despite the content of a full-length copy of the *P*-element in the genome, the lines were distributed by cytotype as follows: the Q-cytotype dominated, which did not respond to crossings with reference for PM HD lines (31 lines), 12 lines had a P-cytotype, which induced gonadal atrophy no more than in 50 % of cases; 6 lines had a reactive M'-cytotype, and 3 lines had a P'-cytotype, causing gonadal atrophy in both cross-directions [1].

In this work, three lines of each cytotype were taken into analysis: P, P', Q and M' (Table 1). Over 10 years, in 7 of the 12 tested *D. melanogaster* lines, the cytotype changed compared to the data obtained in 2014. Lines GH-1 and GH-9 retained the neutral Q cytotype, line GA-16 retained the P'-cytotype, which is responsive to crossings in both directions, GH-18 retained the HD-inducing P cytotype, FR-29 retained the M' reactive cytotype. Among the remaining lines, the neutral Q cytotype dominates. Despite

the long-term maintenance of the lines in the laboratory, all lines retained a full-length copy of the *P*-element in the genome (Fig. 1).

**Table 1.** Characteristics of the cytotypes of the tested lines and comparison with the data of 2023

| Characteristics of cytotypes of the tested (t) lines                                                                                                       | 2014 | 2023 | Saved cytotype |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|----------------|
| <b>P</b> gonadal atrophy >10 % when crossing t-males with Canton-S females                                                                                 | 3    | 1    | 1              |
| <b>P'</b> gonadal atrophy >10 % in both directions of crossing                                                                                             | 3    | 1    | 1              |
| <b>M</b> (no <i>P</i> -elements in the genome) or <b>M'</b> (there are <i>P</i> -elements) gonadal atrophy >10% when crossing t-females with Harwich males | 3    | 2    | 1              |
| <b>Q</b> No gonadal atrophy in both directions of crossing                                                                                                 | 3    | 8    | 2              |



**Fig. 1.** PCR analysis for the presence of the *P*-element in the genome of the tested lines. The arrow indicates the position of the central part of the *P*-element

**Conclusions:** 1. Comparison of the results obtained with the data of 2014 showed that only 42 % of the lines retained the same cytotype: in two lines the Q-cytotype was preserved, one line retained the P', P or M' cytotypes, in the remaining lines the Q-cytotype dominates. Thus, the characteristics of natural lines, both exhibiting and not exhibiting dysgenic properties, are unstable.

2. PCR analysis showed that long-term maintenance of the lines in laboratory conditions did not lead to the loss of the full-length *P*-element in the tested lines. The loss of the ability to induce hybrid dysgenesis by P-lines GA-6 and GA-7 is not accompanied by loss of the *P*-element. The results of the work suggest that intraspecific PM hybrid dysgenesis is unlikely to be associated with the *P*-element. The cause of cytotype instability may be a polymorphism in the tested lines that accumulates and/or manifests itself through dozens of generations of line maintenance in the laboratory.

**Funding:** The study is supported by budget project #FWNR-2022-0019).

*Список литературы/References*

1. Kidwell M.G. Hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*: nature and inheritance of P element regulation. *Genetics*. 1985;111:337-350. doi 10.1093/genetics/111.2.337
2. Itoh M., Sasai N., Inoue Y., Watada M. P elements and P-M characteristics in natural populations of *Drosophila melanogaster* in the southern most islands of Japan and in Taiwan. *Heredity (Edinb.)*. 2001;86(Pt. 2):206-212. doi 10.1046/j.1365-2540.2001.00817.x
3. Mombach D.M., da Fontoura Gomes T.M.F., Loreto E.L.S. Stress does not induce a general transcription of transposable elements in *Drosophila*. *Mol Biol Rep*. 2022;49:9033-9040. doi 10.1007/s11033-022-07839-7
4. Paulouskaya O., Romero-Soriano V., Ramirez-Lanzas C., Price T.A.R., Betancourt A.J. Levels of P-element-induced hybrid dysgenesis in *Drosophila simulans* are uncorrelated with levels of P-element piRNAs. *G3 (Bethesda)*. 2023;13(2):jkac324. doi 10.1093/g3journal/jkac324
5. Ignatenko O.M., Zakharenko L.P., Dorogova N.V., Fedorova S.A. P elements and the determinants of hybrid dysgenesis have different dynamics of propagation in *Drosophila melanogaster* populations. *Genetica*. 2015;143:751-759. doi 10.1007/s10709-015-9872-z