

СКОРОБАГАТЬКО Д. О.^{1,2✉}, СТРАШНЮК В. Ю.¹, МАЗІЛОВ О. О.²¹ Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Україна, 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, e-mail: volodymyr.strashnyuk@gmail.com² ННЦ «Харківський фізико-технічний інститут», Україна, 61108, м. Харків, вул. Академічна, 1, e-mail: d.skorobagatko86@gmail.com

✉ d.skorobagatko86@gmail.com, (067) 300-78-26

ІНДЕКСИ ДОБОРУ У НАЩАДКІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIG. ПІСЛЯ ГОСТРОГО γ -ОПРОМІНЮВАННЯ

Мета. Метою роботи було дослідити інтенсивність добору в двох поколіннях *Drosophila melanogaster* Meig. після гострого γ -опромінення. **Методи.** Експерименти проводили на лінії дикого типу *Oregon-R*. Триденних імаго опромінювали гальмівними γ -квантами в дозах 8 Гр, 16 Гр і 25 Гр на лінійному прискорювачі електронів ЛУЭ-10. Опромінених (О) і неопромінених (К) мух схрещували у чотирьох різних комбінаціях: К×К (контроль), О×К, К×О і О×О. Індокси добору розраховували за формулою Кроу на основі показників плодючості, смертності/виживання у дорепродуктивний період розвитку. **Результати.** Індокси добору в поколінні F₁ після опромінення зростають пропорційно отриманій дозі: на ембріональному рівні в 2,0–7,2 раза, на постембріональному – в 1,3–7,6 раза. У поколінні F₂ індокси добору суттєво зменшуються. **Висновки.** Тиск добору суттєво посилюється в першому поколінні після γ -опромінення і послаблюється, наближуючись до рівня контролю і нижче у нащадків F₂.

Ключові слова: *Drosophila melanogaster* Meig., плодючість, ембріональна смертність, лялечкова смертність, іонізуюче випромінювання.

У зв'язку зі зростаючою роллю ядерних технологій у сучасному світі людина та інші живі організми все більше піддаються впливу різноманітних джерел іонізуючої радіації. Підвищуються радіаційні ризики, пов'язані з імовірністю генетичних ушкоджень у живих організмів, гостро стоять питання генетичної безпеки і охорони біогеоценозів.

Відомо, що іонізуюче випромінювання здатне впливати на генетичний апарат клітин, спричиняючи пошкодження ДНК та виникнення мутацій [1–3]. Одним із наслідків опромінювання у нащадків опромінених батьків є підвищення рівня ембріональної та постембріональної

смертності. На рівні популяції це призводить до змін її генетичної структури, що впливає на загальну пристосованість особин та окремі її компоненти [2–5]. Природний добір прирівнюється до диференціального розмноження різних генотипів, що, в свою чергу, є результатом численних компонентів пристосованості [6].

Під час вивчення біологічних ефектів радіації зазвичай більше уваги приділяється дослідженню різних компонентів пристосованості, а також генетичним наслідкам опромінення. Водночас інтенсивність добору за впливу іонізуючого випромінювання, що інтегрує в собі суму різних показників, досліджено менше.

Мета роботи – дослідити інтенсивність добору в двох поколіннях *Drosophila melanogaster* Meig. після гострого γ -опромінення. У завдання роботи входило вивчити показники плодючості, виживання та смертності на преімагінальних стадіях онтогенезу дрозофіли та на основі цих даних розрахувати індокси добору в ембріональному та постембріональному періодах розвитку.

Матеріали і методи

У роботі використовували лінію дикого типу *Oregon-R*. Мух вирощували на стандартному цукрово-дріжджовому живильному середовищі за температури $24,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Культури дрозофіли розвивалися в стаканчиках об'ємом 60 мл. Обсяг живильного середовища в кожному стаканчику становив 10 мл. У кожен стаканчик поміщали одну пару мух.

У роботі використовували дози опромінення 8 Гр, 16 Гр та 25 Гр. Віргінних самок, самців або імаго обох статей дрозофіли у віці 3-х діб піддавали опроміненню на лінійному прискорювачі електронів ЛУЭ-10 в ННЦ «Харківський фізико-технічний Інститут». Опромінення проводили гальмівними γ -квантами, що утворюються під час взаємодії електронного пучка з

товстою алюмінієвою мішенню. Потужність дози в точці опромінення становила 0,4 Гр/с.

Яйцепродукцію визначали за середньою кількістю яєць, відкладених однією самкою за 8 год. Для цього по десять запліднених самок у віці 5-х діб саджали на свіже агарозне середовище в чашці Петрі, після чого проводили облік відкладених яєць.

Аналіз ембріональної смертності проводили згідно зі стандартною методикою [7]. Визначали частоту ранніх (РЕЛ) та пізніх (ПЕЛ) леталей, а також сумарний рівень ембріональних леталей: $ЕЛ = РЕЛ + ПЕЛ$.

Кількість нащадків імаго визначали в розрахунку на одну самку батьківського покоління.

Лялечкову смертність визначали за відношенням нерозвинених лялечок до загального їх числа в кожному стаканчику.

Індекси добору – максимальні можливі оцінки інтенсивності селективного тиску – розраховували за методом Кроу [8] з урахуванням особливостей розвитку досліджуваного об'єкта. Індекси Кроу розраховуються на основі показників плодючості, смертності/виживання у до-репродуктивний період розвитку та дисперсії плодючості:

$$I_{tot} = I_m + I_f/p_s,$$

$$I_m = p_d/p_s,$$

де p_d – частка особин, що померли до репродуктивного віку (в нашому випадку – на стадії яйця або лялечки), p_s – частка особин, що дожили до репродуктивного віку (в наших експериментах – до стадій личинки чи імаго). Компонент добору I_f , пов'язаний із диференційною плодючістю, розраховано, як:

$$I_f = \sigma_k^2 / k_{cp}^2,$$

де k_{cp} – середнє число нащадків, що припадає на одну самку, σ_k^2 – дисперсія числа нащадків.

Індекси добору розраховували окремо для ембріональної і постембріональної стадій розвитку. Для розрахунку індексу добору на ембріональній стадії використовували показник загальної кількості запліднених яєць та дані про ембріональну смертність. Для розрахунку індексу добору на постембріональній стадії використовували показник загальної кількості нащадків імаго та дані про лялечкову смертність.

У роботі наводяться дані за сумою трьох повторностей, результати яких загалом відтворювалися.

Проведено статистичний аналіз експериментальних даних. Перевірка на нормальність розподілів проводилася стандартними методами. Для параметричних ознак (яйцепродукція, кількість нащадків імаго) використовували дисперсійний аналіз. Для аналізу відмінностей між дослідними групами використовували тест Тьюкі-Крамера. Якісні ознаки аналізували за допомогою визначення часток, їх стандартної похибки; для оцінки відмінностей від контролю використовували метод χ^2 .

Результати та обговорення

У ході дослідження яйцепродукції самок у лінії *Oregon-R* після опромінення мух у дозах 8 Гр, 16 Гр та 25 Гр статистично значущих змін не спостерігали ні в батьківському поколінні Р, ні у нащадків F_1 (рис. 1).

За різних варіантів опромінення рівень ембріональної смертності збільшувався у поколінні F_1 (рис. 2). Зростав як загальний рівень леталей, так і частоти РЕЛ й ПЕЛ ($p < 0,01$). Ефект від опромінення одного з батьків був меншим, ніж за опромінення обох із них: у першому випадку рівень ембріональної смертності виростав у 1,3–2 рази, в другому – в 2,1–4,3 рази (залежно від дози).

У поколінні F_2 рівень ембріональної смертності знижувався до контрольного рівня або був нижчим ($p < 0,05$) як за опромінення одного з батьків, так і обох. У варіанті $O \times K$ за дози 25 Гр зменшилася частота РЕЛ і ЕЛ відповідно в 2,0 і 1,6 рази порівняно з контролем. Аналогічні зміни відбулися в групі $K \times O$ за дози 25 Гр: рівень РЕЛ знизився в 2,2 рази, а загальний рівень смертності – в 1,5 рази. За опромінення обох батьків у варіанті $O \times O$ за доз 8 Гр і 16 Гр частота РЕЛ знизилася в 1,6–1,7 рази, загальний рівень ЕЛ – в 1,4–1,5 рази.

Лялечкова смертність також змінювалася залежно від поглиненої дози та статі опромінених батьків (рис. 3). У нащадків F_1 після опромінення самок ($O \times K$) статистично значущого ефекту не виявлено. Після опромінення самців ($K \times O$) спостерігали збільшення кількості нерозвинених лялечок на 23,7 % за дози 16 Гр та на 21,8 % за дози 25 Гр ($p < 0,05$). Найбільш значущі зміни відбулися за опромінення обох батьків ($O \times O$): рівень постембріональної смертності за доз 16 Гр і 25 Гр підвищився відносно контролю відповідно в 2,2 і 4,2 рази ($p < 0,002$).

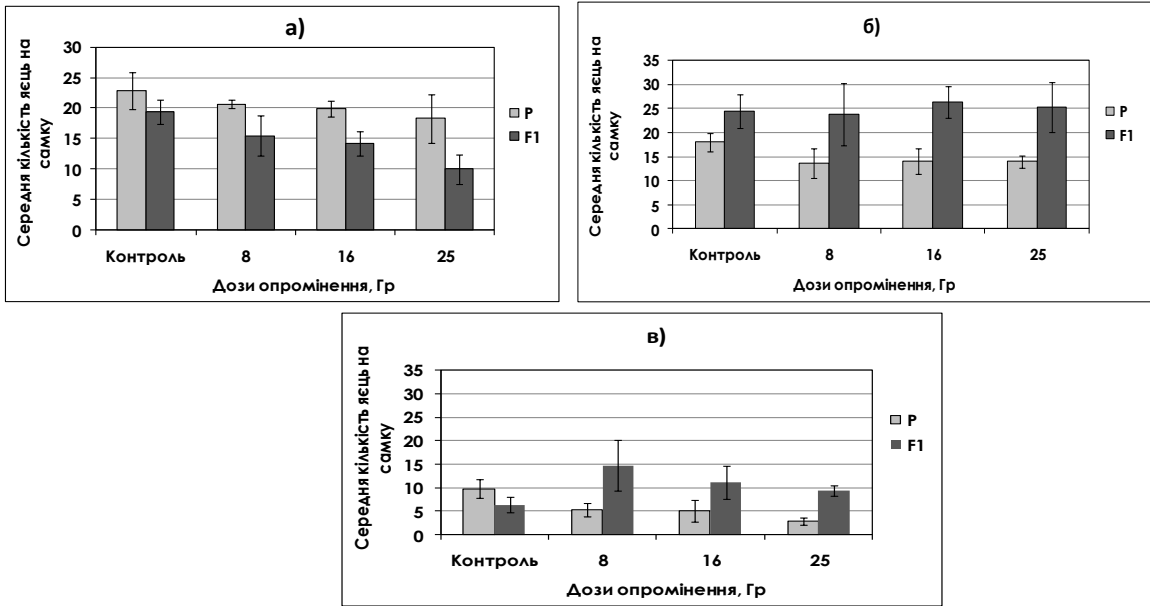


Рис. 1. Яйцепродукція самок у лінії *Oregon-R* після гострого γ -опромінення: а) O×K, б) K×O, в) O×O.

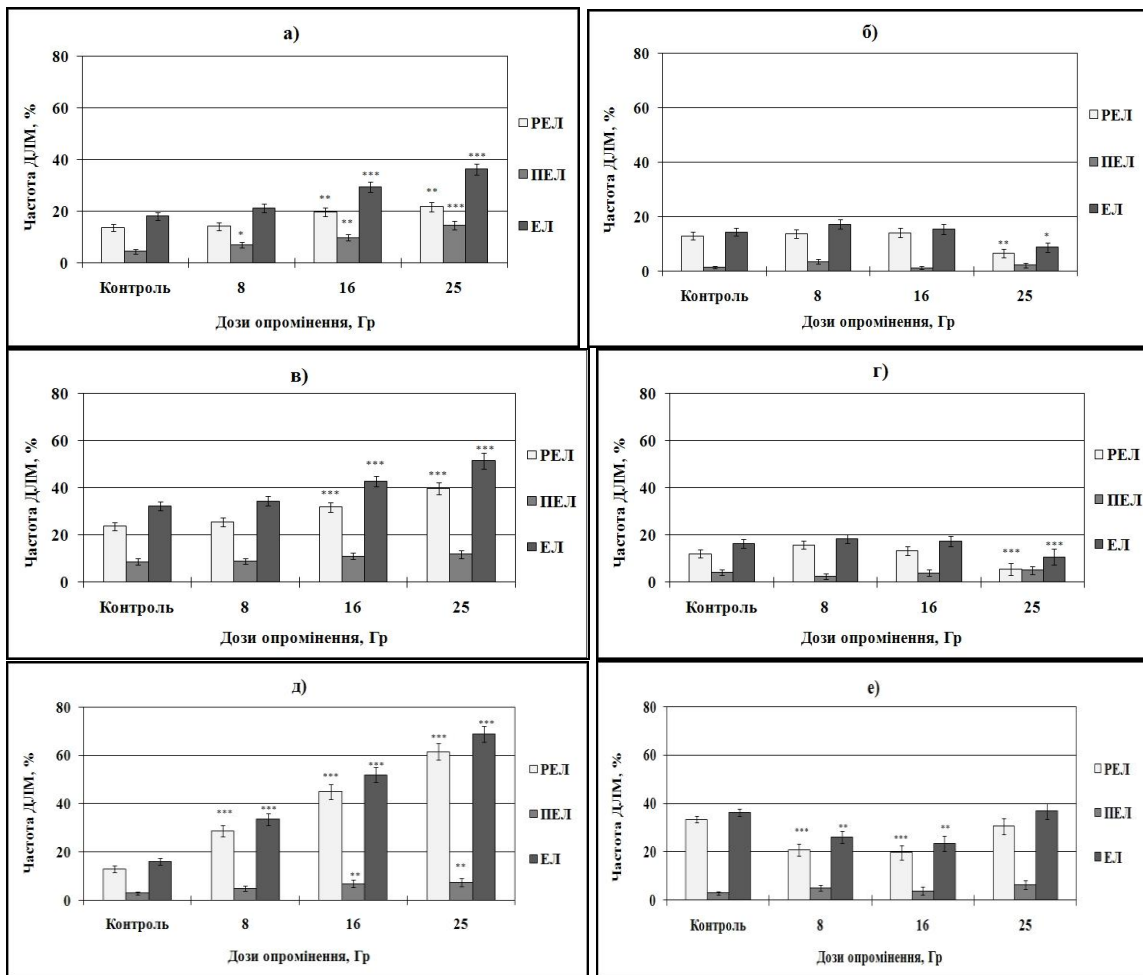


Рис. 2. Ембріональна смертність у лінії *Oregon-R D. melanogaster* після γ -опромінення: а – F₁ O×K, б – F₂ O×K, в – F₁ K×O, г – F₂ K×O, д – F₁ O×O, е – F₂ O×O. Різниця щодо контролю значуща за: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,003$.

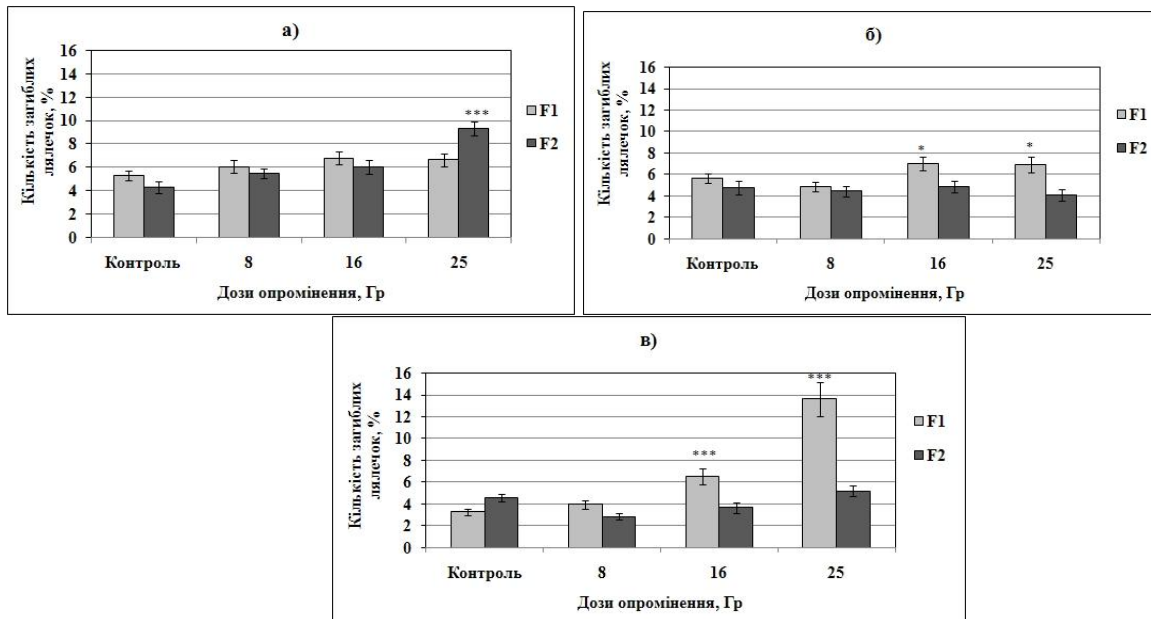


Рис. 3. Лялечкова смертність у нащадків *D. melanogaster* після γ -опромінення: а – O x K; б – K x O; в – O x O. Різниця щодо контролю значуща за: * $p < 0,05$; *** $p < 0,002$.

У нащадків F₂ кількість загиблих лялечок після дози 25 Гр у варіанті O x K збільшувалась у 2,2 раза ($p < 0,002$). У варіанті K x O значення досліджуваного показника було на рівні контролю, а у варіанті O x O за дози 8 Гр постембріональна смертність зменшилася на 37,4 %.

Кількість нащадків імаго залежить від плодючості батьківського покоління і виживання нащадків і є показником загальної пристосованості організмів [9]. За цим показником у варіанті з опроміненням самок ні в поколінні F₁, ні в F₂ статистично значущих змін не виявлено (рис. 4). У варіанті K x O у нащадків F₁ спостерігали зменшення виходу імаго після дози 16 Гр до 66,4 % від контрольного рівня у самців та до 64,1 % у самок ($p < 0,05$). Опромінення в дозі 25 Гр викликало зниження виходу імаго самців до 48,5 % і самок – до 52 % від контрольного рівня ($p < 0,01$). Загалом за дози 25 Гр кількість нащадків імаго в поколінні F₁ зменшилася до 50,2 % від рівня контролю. За опромінення обох батьків у поколінні F₁ спостерігали різке зниження виходу імаго. Помічено зменшення кількості нащадків імаго за дози 16 Гр – до 38,2 % ($p < 0,01$) та за дози 25 Гр – до 11,5 % ($p < 0,01$) від контролю. У поколінні F₂ після опромінення досліджуваний показник не відрізнявся від контрольних значень.

Зміни в плодючості та виживанні відбиваються на інтенсивності добору, вимірюваного

індексами Кроу. Дані про індекси добору (I_{tot}) в лінії *Oregon-R* після гострого γ -опромінення представлені в таблиці. В контрольних групах, залежно від варіанта опромінювання, показники варіювали в 1,5–3 рази як для ембріонального, так і для постембріонального рівнів.

На ембріональному рівні індекси добору зростали в першому поколінні після опромінення в дозах 16 і 25 Гр. У варіантах O x K і K x O це зростання відбувалося приблизно у двократно-му розмірі щодо контролю, а у варіанті O x O – до 7 разів. У нащадків F₂ індекси добору у варіантах з одним опромініним предком знижувалися до рівня контролю, деяке перевищення було лише за дози 8 Гр. У варіанті O x O показник повертався до рівня контролю (8 Гр) та навіть був нижчим (16 і 25 Гр).

На постембріональному рівні в контрольних групах також спостерігали варіацію значень індексів добору – до 4 разів. Показники збільшувалися в поколінні F₁ після опромінення: у варіанті O x K в 1,3–1,6 раза, у варіанті K x O – у 2,1–3,5 раза, а у варіанті O x O – у 2,2–7,6 раза. У нащадків F₂ індекси добору у варіанті O x K залишалися вищими, ніж у контролі. У варіанті K x O вони знижувалися. А у варіанті O x O ми спостерігали зниження досліджуваного показника після дози 8 Гр, а за доз 16 Гр і 25 Гр він був вищий у порівнянні з контролем.

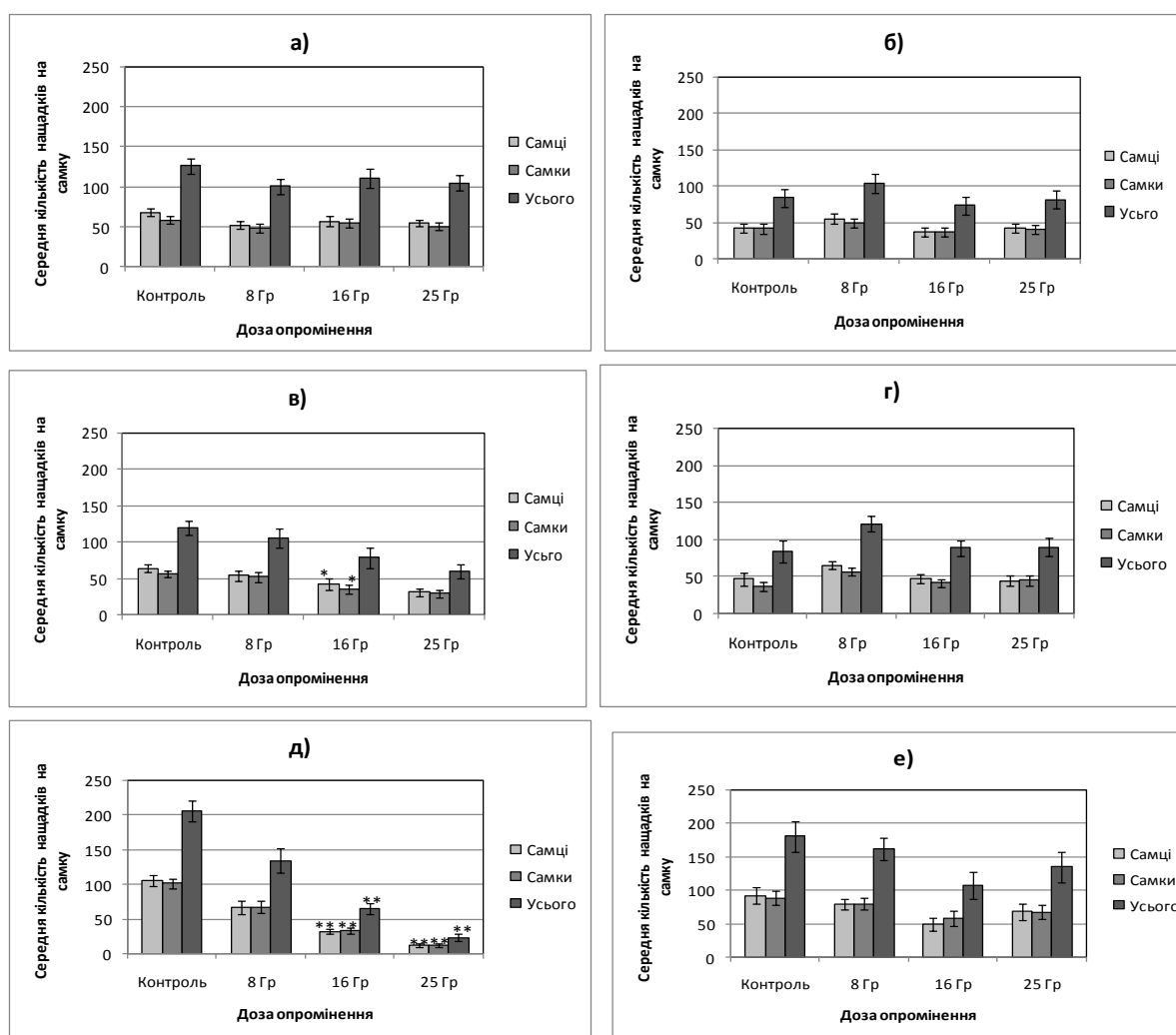


Рис. 4. Кількість нащадків імаго в лінії *Oregon-R D. melanogaster* після γ -опромінення: а – F₁ O×K, б – F₂ O×K, в – F₁ K×O, г – F₂ K×O, д – F₁ O×O, е – F₂ O×O. Різниця щодо контролю значуща за: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Таблиця. Індекси добору в двох поколіннях лінії *Oregon-R Drosophila melanogaster* після гострого γ -опромінення

Схрещування	F ₁				F ₂			
	Контроль	8 Гр	16 Гр	25 Гр	Контроль	8 Гр	16 Гр	25 Гр
Ембріональний період								
O×K	0,2934	0,2686	0,4206	0,7187	0,1894	0,3112	0,2200	0,2331
K×O	0,5583	0,8948	1,0830	1,1404	0,2394	0,4145	0,2437	0,2165
O×O	0,5994	1,4777	4,0762	4,3065	0,7719	0,7010	0,5499	0,6306
Постембріональний період								
O×K	0,1771	0,2632	0,2862	0,2390	0,5248	0,5814	0,6240	0,7461
K×O	0,1899	0,3898	0,6626	0,5269	0,5033	0,1454	0,2733	0,3396
O×O	0,1326	0,3479	0,2881	0,9928	0,3486	0,2320	0,6245	0,5020

Висновки

Яйцепродукція самок у лінії *Oregon-R* після гострого γ -опромінення в дозах 8, 16 і 25 Гр не змінюється. За кількістю нащадків імаго за опромінення самок у потомстві F₁ ефекту не

спостерігали, а за опромінення самців чи обох батьків показник знизився на 48,0–88,5 %. У поколінні F₂ вихід імаго не відрізняється від контролю.

Ембріональна смертність у лінії *Oregon-R* у поколінні F_1 після γ -опромінення зростає в 1,3–4,3 рази (пропорційно отриманій дозі), а у нащадків F_2 знижується до контрольного рівня і нижче. Лялечкова смертність у поколінні F_1 за доз 16 та 25 Гр збільшується в 1,2–4,2 рази, за опромінення самок ефекту не виявлено. У нащадків F_2 цей показник не перевищує контроль-

ні значення, лише за опромінення самок за дози 25 Гр він збільшився у 2,2 рази.

Індекси добору в поколінні F_1 після опромінення зростають пропорційно отриманій дозі: на ембріональному рівні в 2,0–7,2 рази, на пост-ембріональному – в 1,3–7,6 рази. Після опромінення обох батьків ефект був більший, ніж за опромінення одного з них. У поколінні F_2 тиск добору суттєво зменшується, повертається до рівня контролю або навіть стає нижчим.

References

1. Dubrova Yu.E. Genomic instability in the offspring of irradiated parents: Facts and interpretations. *Russian Journal of Genetics*. 2006. Vol. 42. P. 1116–1126. [in Russian] / Дуброва Ю.Е. Нестабильность генома среди потомков облученных родителей. Факты и их интерпретация. *Генетика*. 2006. Т. 42, № 10. С. 1335–1347. doi: 10.1134/S1022795406100048.
2. Golub N.Ia., Chernyk Ia.I. Mutations induced by X-ray irradiation and certain chemical reagents that alter the life span of *Drosophila melanogaster*. *Cytology and Genetics*. 2008. Vol. 42. P. 30–36. [in Ukrainian] / Голуб Н.Я., Черник Я.І. Мутації, індуковані рентгеновським опроміненням та деякими хімічними реагентами, що змінюють тривалість життя *Drosophila melanogaster*. *Цитологія і генетика*. 2008. Т. 42, № 1. С. 37–44.
3. Skorobagatko D.A., Shakina L.A., Strashnyuk V.Yu., Mazilov A.A. Lethal and recombinative action of γ -radiation in genetically unstable *Drosophila melanogaster* Bar Strain. *Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya*. 2015. Vol. 55. С. 145–154. [in Russian] / Скоробагатко Д.А., Шакина Л.А., Страшнюк В.Ю., Мазілов А.А. Летальное и рекомбиногенное действие γ -излучения в генетически нестабильной линии Bar *Drosophila melanogaster*. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2015. Т. 55, № 2. С. 145–154.
4. Moskalev A.A., Plyusnina E.N., Shaposhnikov M.V. Radiation hormesis and radioadaptive response in *Drosophila melanogaster* flies with different genetic backgrounds: the role of cellular stress-resistance mechanisms. *Biogerontology*. 2011. Vol. 12. P. 253–263.
5. Skorobagatko D.A., Strashnyuk V.Yu., Mazilov A.A. Effect of γ -radiation on the fitness components in *Drosophila melanogaster* Meig. *Factors in Experimental Evolution of Organisms*. 2015. Vol. 16. С. 78 – 82. [in Russian] / Скоробагатко Д.А., Страшнюк В.Ю., Мазілов А.А. Компоненты приспособленности в потомстве *Drosophila melanogaster* после острого γ -облучения. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2015. Т. 16. С. 78–82.
6. Grant V. Organismic evolution. San Francisco: W.H. Freeman and Co, 1977. 418 p.
7. Tikhomirova M.M. Geneticheskiy analiz. Leningrad: Izdadelstvo LGU, 1990. 280 p. [in Russian] / Тихомирова М.М. Генетический анализ. Ленинград: Издательство ЛГУ. 1990. 280 с.
8. Crow J.F. Some possibilities for measuring selection intensities in man. *Hum. Biol.* 1958. Vol. 30, No. 1. P. 1–13.
9. Yamasaki T. Measurement of fitness and its components in six laboratory strains of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 1984. Vol. 108. P. 201–211.

SKOROBAGATKO D. A.^{1,2}, STRASHNYUK V. Yu.¹, MAZILOV A. A.²

¹ V. N. Karazin National University of Kharkiv,

Ukraine, 61022, Kharkiv, Svoboda sq., 4, e-mail: d_skorobagatko@bk.ru

² NSC "Kharkiv Institute of Physics and Technology",

Ukraine, 61108, Kharkiv, Academic str., 1

SELECTION INDEX IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIG. PROGENY AFTER EXPOSURE TO ACUTE γ -IRRADIATION

Aim. The purpose of investigation was to study the intensity of selection in two generations of *Drosophila melanogaster* Meig. after acute γ -irradiation. **Methods.** Experiments were conducted on a wild-type *Oregon-R* strain. Adult flies in the age of 3 days were irradiated with bremsstrahlung gamma quanta at doses of 8 Gy, 16 Gy and 25 Gy on a linear accelerator of electrons LAE-10. Irradiated (O) and non-irradiated (K) flies were crossed in four different combinations: K×K (control), O×K, K×O, and O×O. The selection index were calculated from the Crow formula based on fertility, mortality/survival in pre-productive period of development. **Results.** Selection indexes in the generation F_1 after irradiation grow in proportion to the dose received: at embryonal stage 2.0–7.2 times, at post-embryonic development – in 1.3–7.6 times. In the generation F_2 , the indexes of selection were significantly reduced. **Conclusions.** The selection pressure is substantially increased in the first generation after γ -irradiation and weakens, approaching the control level and lower in F_2 .

Keywords: *Drosophila melanogaster* Meig., fertility, embryonic mortality, pupae mortality, ionizing radiation.