

КОМПОНЕНТЫ ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ В ПОТОМСТВЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПОСЛЕ ОСТРОГО γ -ОБЛУЧЕНИЯ

Естественный радиационный фон является постоянно присутствующим фактором в природных экосистемах. Кроме того, живые организмы подвергаются действию различных источников радиации антропогенного происхождения. Современная эволюционная теория рассматривает любой экологический фактор как фактор эволюции, влияющий на генетическую структуру популяций. Естественный отбор приравнивается к дифференциальному размножению различных генотипов, что, в свою очередь, представляет собой результат многочисленных компонентов приспособленности [1].

К исследованию влияния ионизирующего излучения на различные компоненты приспособленности у дрозофилы существует давний интерес [2–7]. Много внимания уделяется изучению генетических последствий облучения [3, 5, 7–11]. Современные исследования касаются также возможных эпигенетических аспектов действия радиации [12–13].

Данные о последствиях радиации, полученные разными авторами, бывают противоречивы, что связано с комплексом условий, в которых проводились исследования. Зачастую в экспериментах используют источники излучения с определенной энергией γ -квантов. Использование тормозного спектра, представляющего собой набор γ -квантов разных энергий, более приближено к естественным условиям.

Цель данной работы — изучить влияние острого облучения тормозными γ -квантами на компоненты приспособленности у *Drosophila melanogaster* Meig. Были поставлены следующие задачи: изучить влияние γ -излучения на яйцепродукцию самок, определить количество потомков имаго, уровень доминантных летальных мутаций (ДЛМ), количество неразвившихся куколок поколений F_1 и F_2 после облучения, изучить продолжительность жизни имаго в потомстве облученных самок.

Материалы и методы

В работе использовали линию дикого типа *Oregon-R Drosophila melanogaster* Meig. из коллекции кафедры генетики и цитологии Харьковского национального университета имени В.Н. Каразіна. Мух выращивали на стандартной сахаро-дрожжевой питательной среде при температуре $24,0 \pm 1,0$ °С. Культуры дрозофилы развивались в стаканчиках объемом 60 мл. Объем питательной среды в каждом стаканчике составлял 10 мл.

В работе использовали дозы облучения 8 Гр, 16 Гр и 25 Гр. Виргинных самок имаго дрозофилы в возрасте 3-х суток подвергали облучению на линейном ускорителе электронов ЛУЭ-10. Облучение проводили тормозными γ -квантами, образующимися при взаимодействии электронного пучка с толстой алюминиевой мишенью. Энергия электронов составляла 9,4 МэВ, сила тока — 810 мкА, толщина алюминиевого конвертора — 38 мм. Мощность дозы в точке облучения была рассчитана с помощью детекторов Harwell Red 4034 (Harwell, Великобритания), определяющих поглощенную дозу, и составляла 0,4 Гр/с. Тормозной спектр с учетом геометрии эксперимента рассчитывался с помощью программного пакета GEANT 4. Тормозной спектр представлял собой кривую Бете-Гайтлера, где 97% энергий γ -квантов приходилось на энергии до 3 МэВ, в том числе 70% на энергии до 500 кэВ. Облученных самок спаривали с необлученными самцами.

Плодовитость определяли по среднему количеству яиц, отложенных одной самкой за 8 ч. Для этого в каждом варианте опыта по десять оплодотворенных самок на 3-й день после облучения отсаживали на агарозную среду в чашки Петри, по 3 повторности, после чего проводили учет отложенных яиц.

Количество потомков имаго тесно коррелирует с общей приспособленностью особей [14]. Определяли средний выход имаго в потомстве одной пары родительских особей.

Продолжительность жизни имаго оценивали в потомстве F_1 после облучения. В пробирки помещали по 30 особей, отдельно виргинных самок и самцов. Учет выживших мух проводили каждые 3 дня при пересадке на свежую питательную среду. Проведено по 3 повторности в каждом варианте опыта.

Частоту ДЛМ определяли по показателю эмбриональной смертности согласно стандартной методике [15]. Определяли частоту ранних (РЛМ) и поздних (ПЛМ) леталей, а также суммарную частоту ДЛМ (РЛМ+ПЛМ).

Об уровне постэмбриональной смертности судили по доле неразвившихся куколок от общего их числа в потомстве каждой пары мух.

Проведен статистический анализ данных. Проверку на нормальность распределений определяли стандартными методами. Для параметрических признаков (яйцепродукция, количество потомков имаго) использовали дисперсионный анализ. Качественные признаки (уровень ДЛМ, смертность на стадии куколки) анализировали с помощью определения долей, их стандартной ошибки, достоверность различий определяли методом χ^2 . Для непараметрического признака продолжительности жизни вычисляли среднее арифметическое, ошибку среднего, медианную и максимальную продолжительность жизни, время 90%-ой гибели мух. Для анализа продолжительности жизни использовали критерий χ^2 и критерий Краскелла-Уоллеса с дальнейшим множественным сравнением по непараметрическому варианту критерия Ньюмена-Кейлса [17]. В работе принят уровень значимости не ниже $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Количество потомков имаго зависит от плодовитости родительских особей и выживания потомков на предимагинальных стадиях развития и является одним из интегральных показателей приспособленности [14]. Данные о среднем выходе имаго после действия γ -радиации представлены на рис. 1. Статистически значимых изменений признака не выявлено ни в первом, ни во втором поколении после облучения.

Плодовитость оценивали по количеству отложенных самками яиц. Данные о влиянии γ -излучения на данный показатель у облученных родителей (Р) и их потомков (F_1) представлены на рис. 2. У облученных самок родительского поколения действия радиации на исследуемый признак не выявлено. В поколении F_1 достоверный эффект имел место после облучения в дозе 25 Гр, яйцепродукция самок снизилась на 51,4% относительно контроля ($p < 0,05$).

Полученные нами результаты соотносятся с результатами одной из ранних работ [2], в которой было показано, что дозы радиации до 15 Гр не влияют на величину кладки у дрозофилы, а дозы выше 20 Гр заметно ее снижают.

Одним из компонентов общей приспособленности является уровень эмбриональной смертности (показатель ДЛМ). Данные о частоте ДЛМ, включая ранние (РЛМ) и поздние (ПЛМ) летали, приведены на рис. 3.

В первом поколении наблюдали увеличение уровня ранних и поздних леталей после облучения в дозах 16 Гр и 25 Гр, общий уровень ДЛМ при этом повысился на 63,3% и 101,7% соответственно ($p < 0,001$). При дозе облучения 8 Гр

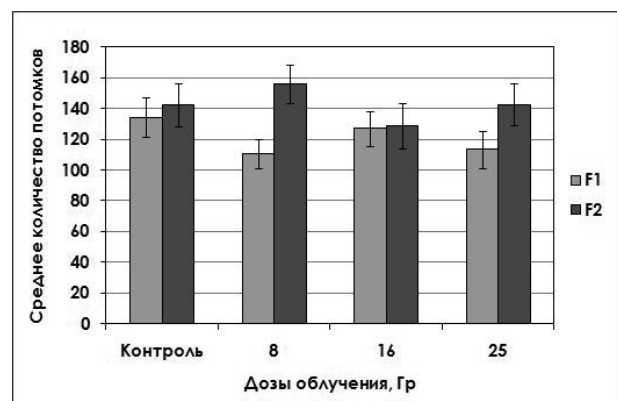


Рис. 1. Количество потомков имаго у *D. melanogaster* после γ -облучения

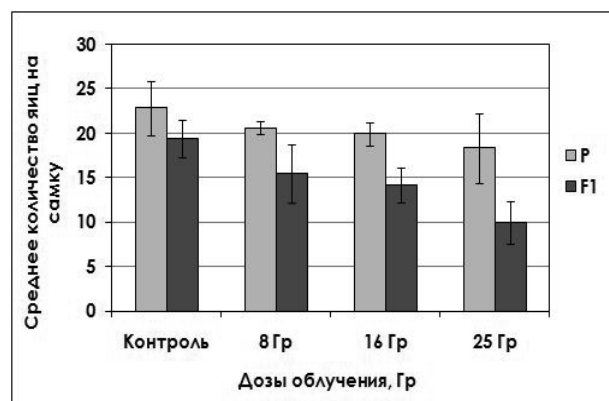


Рис. 2. Яйцепродукция самок *D. melanogaster* после γ -облучения

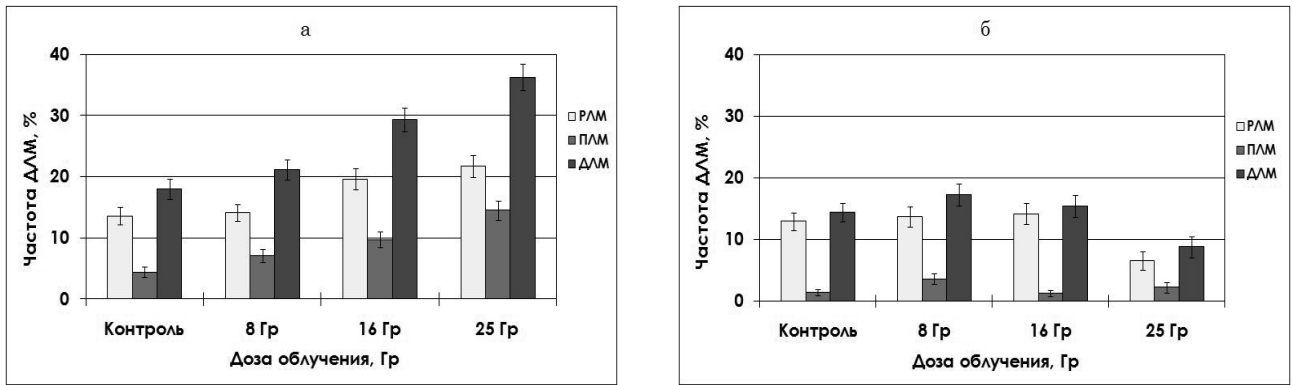


Рис. 3. Частота доминантных летальных мутаций у *D. melanogaster* после γ -облучения: а — в поколении F₁; б — в поколении F₂

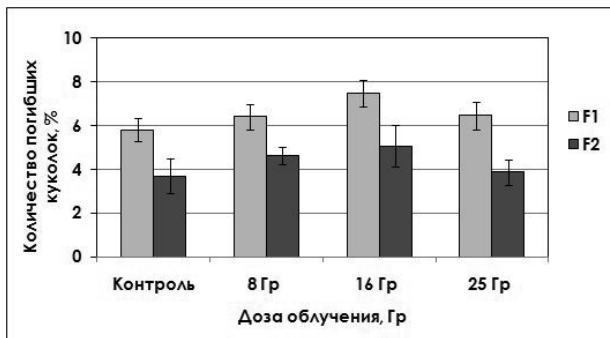


Рис. 4. Смертность на стадии куколки у *D. melanogaster* после γ -облучения

имело место увеличение частоты ПЛМ на 59,8% ($p < 0,05$), при этом суммарный уровень ДЛМ не отличался от контрольных значений. Во втором поколении эффекты облучения не сохранялись, а при дозе 25 Гр частота РЛМ и суммарной ДЛМ были снижены по сравнению с контролем на 49,1% и 38,9% соответственно ($p < 0,05$), что, по-видимому, является результатом отбора более жизнеспособных генотипов в первом поколении после облучения.

Следует отметить, что эмбриональная смертность в незрелых ооцитах зачастую является следствием поражения ионизирующей радиацией цитоплазматических мишеней, нарушения развития, выявляемые тестом ДЛМ, могут иметь как генетические, так и физиологические причины [3].

По количеству неразвившихся куколок (показатель постэмбриональной смертности, рис. 4) по результатам дисперсионного анализа ни в первом, ни во втором поколениях после облучения значимого влияния γ -излучения не обнаружено.

Данные о влиянии γ -излучения на продолжительность жизни имаго дрозофилы представлены на рис. 5 и в таблице. Тест Краскелла-Уоллеса показал статистически значимое влияние данных доз радиации на продолжительность жизни, у самцов $p < 0,01$, у самок $p < 0,05$.

Тест Ньюмена-Кейлса показал влияние доз 25 Гр и 8 Гр на самцов ($p < 0,01$) и доз 25 Гр и 16 Гр на самок ($p < 0,05$). У самцов отмечено снижение как средней, так и медианной продолжительности жизни после дозы облучения 8 Гр на 21,8% и 16,6% соответственно. Также наблюдали сокращение времени 90%-й гибели у самцов данной группы ($p < 0,1$). Повышение средней продолжительности жизни на 29,7%, медианной — на 45,7%, а также времени 90%-й гибели на 14,3% отмечено у самцов при дозе облучения 25 Гр. У самок под влиянием дозы 16 Гр было показано снижение средней продолжительности жизни на 6%. После облучения в дозе 25 Гр у самок наблюдали увеличение времени 90%-й гибели на 32,1% и увеличение медианной продолжительности жизни на 16,4% ($p < 0,1$).

Результаты исследования свидетельствуют о том, что с увеличением дозы γ -излучения в диапазоне 8–25 Гр в потомстве облученных мух происходит снижение плодовитости, увеличение продолжительности жизни имаго, частота ДЛМ возрастает в поколении F₁ и возвращается к контрольным значениям или (при 25 Гр) снижается в потомстве F₂. Полученные данные согласуются с результатами исследований плодовитости и продолжительности жизни мух, полученных из природных популяций дрозофилы с территорий, различающихся по уровню радиационного

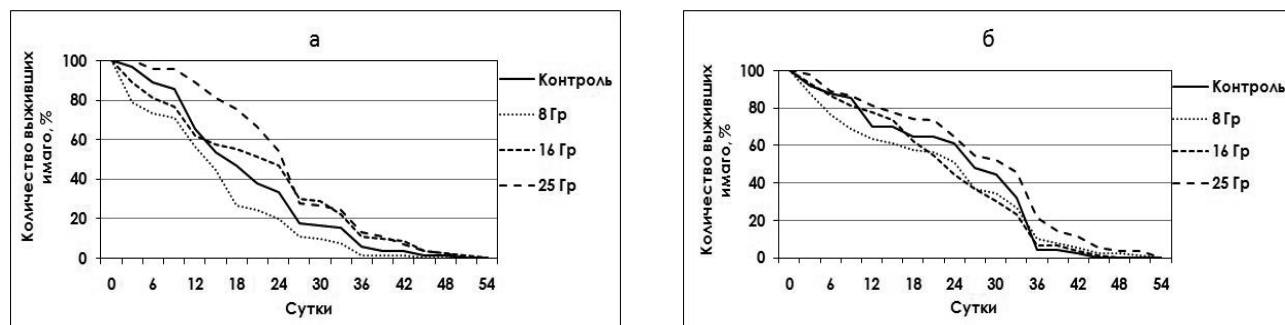


Рис. 5. Кривые выживания имаго у *D. melanogaster* в поколении F_1 после γ -облучения: а — самцы; б — самки

Таблица

Влияние γ -облучения самок родительского поколения на продолжительность жизни имаго в поколении F_1 у *D. melanogaster*

Доза облучения	Пол	Продолжительность жизни имаго, сутки			
		медианная	средняя	время 90% гибели	максимальная
Контроль	♂	17,5	20,2 ± 1,1	35,7	51
	♀	27,5	24,9 ± 1,3	33,0	45
8 Гр	♂	14,6*	15,8 ± 1,1*	31,0	45
	♀	25,2	22,5 ± 1,5	37,0	54
16 Гр	♂	22,8	22,1 ± 1,5	40,0	54
	♀	23,3	23,4 ± 1,3*	36,4	48
25 Гр	♂	25,5**	26,2 ± 1,1**	40,8*	51
	♀	32,0	28,7 ± 1,4	43,6**	54

Примечания: отличия от контроля достоверны: * — при $p < 0,05$; ** — при $p < 0,01$.

загрязнения [18, 19]. В соответствии с этими данными можно сделать вывод о том, что при действии радиации у дрозофилы реализуются тенденции *K*-стратегии отбора.

Однако следует отметить, что данные литературы о влиянии радиации на продолжительность жизни дрозофил довольно противоречивы [4, 5, 7, 19]. Последствия облучения зависят, помимо дозы, от генотипа мух, их физиологического состояния на момент облучения, пола, стадии онтогенеза, на которой происходило воздействие, способа облучения (острое, хроническое), характеристик излучения (мощность дозы, энергия квантов и др.).

Известно, что воздействие ионизирующего излучения затрагивает различные системы организма и имеет множественные биологические эффекты [19]. Современная дискуссия по этой проблеме, наряду с традиционными данными о мутагенном и рекомбиногенном влиянии, касается молекулярно-генетических механизмов, в частности, перемещений по геному мобильных генетических элементов [7, 8], радиационно-индуцируемой нестабильности [9], нерцепируемой

рекомбинации [10], влияния эпигенетических факторов [11–13].

В реализации радиационных эффектов заметную роль играют процессы репарации, работа антиоксидантной системы, системы сверхточных точек, апоптоз [5]. В модификации продолжительности жизни в результате хронического облучения малыми дозами участвуют сенсоры, трансдукторы и эффекторы систем передачи стрессовых сигналов [6]. Возможно, эти же механизмы действуют при остром облучении.

Выводы

При действии острого облучения тормозными γ -квантами с увеличением дозы в диапазоне 8–25 Гр в потомстве облученных мух происходит снижение плодовитости, увеличение продолжительности жизни имаго, частота ДЛМ возрастает в поколении F_1 и возвращается к контрольным значениям или (при 25 Гр) снижается у потомков F_2 . При этом выход имаго в потомстве облученных мух не изменяется. В соответствии с полученными данными можно сделать вывод о том, что в данных условиях облучения у дрозофилы реализуются тенденции *K*-стратегии отбора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Грант В. Эволюция организмов. — М.: Мир, 1980. — 407 с.
2. Touchberry R. W., DeFries J. C. Genetic effects of gamma-irradiation on egg production and adult emergence of *Drosophila melanogaster* // *Genetics*. — 1964. — № 49. — P. 378–400.
3. Моссэ И. Б. Радиация и наследственность: генетические аспекты противорадиационной защиты. Мн.: Университетское, 1990. — 208 с.
4. Измайлов Д. М., Обухова Л. К., Окладнова О. В., Акифьев А. П. Продолжительность жизни *Drosophila melanogaster* в ряду поколений после однократного воздействия ионизирующей радиации // Докл. АН СССР. — 1990. — 313, № 3. — С. 718–722.
5. Москалева А. А., Яцкив А. С., Зайнуллин В. Г. Изменения продолжительности жизни у разных линий *Drosophila melanogaster* после облучения в малых дозах // Генетика. — 2006. — 42, № 6. — С. 773–782.
6. Moskalov 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. — 12. — P. 253–263.
7. Голуб Н. Я., Черник Я. І. Мутації, індуковані рентгенівським опроміненням та деякими хімічними реагентами, що змінюють тривалість життя *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. — 2008, — 42, № 1. — С. 37–44.
8. Ратнер В. А., Васильева Л. А. Индукция транспозиций мобильных генетических элементов стрессовыми воздействиями // Соросовский образовательный журнал. — 2000. — № 6. — С. 14–20.
9. Дуброва Ю. Е. Нестабильность генома среди потомков облученных родителей. Факты и их интерпретация // Генетика. — 2006. — 42, № 10. — С. 1335–1347.
10. Скоробагатько Д. А., Страшнюк В. Ю., Мазиллов А. А. Влияние γ -облучения на проявление количественных признаков и нестабильность признака *Bar* у *Drosophila melanogaster* Meig. // Вісник проблем біології і медицини. — 2013. — Вип. 2 (100). — С. 106–111.
11. Вайсерман А. М., Литошенко А. Я., Квитницкая-Рыжова Т. Ю., Кошель Н. М., Мозжухина Т. Г., Михальский С. А., Войтенко В. П. Молекулярные и клеточные аспекты радиационного гормезиса у *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. — 2003. — 37, № 3. — С. 41–48.
12. Vaiserman A. M. Hormesis and epigenetics: Is there a link? // *Ageing Research Reviews*. — 2011. — 10. — P. 413–421.
13. Guerrero-Bosagna S., Weeks S., Skinner M. K. Identification of Genomic Features in Environmentally Induced Epigenetic Transgenerational Inherited Sperm Epimutations // *Plos One*. — 2014. — 9, I. 6, e100194.
14. Yamasaki T. Measurement of fitness and its components in six laboratory strains of *Drosophila melanogaster* // *Genetics*. — 1984. — 108. — P. 201–211.
15. Тихомирова М. М. Генетический анализ. — Л.: Издательство ЛГУ, 1990. — 280 с.
16. Гланц С. Медико-биологическая статистика. — М.: Практика, 1998. — С. 459.
17. Проценко А. В., Козерецкая И. А., Фуллер Б. А., Меллер А. П., Мюссе Т. А. Репродуктивный успех *Drosophila melanogaster* в природных популяциях с радиационно загрязненных территорий Украины // 36. наук. праць І Міжнар. конф. «Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології». — Харків, 2008. — С. 89–91.
18. Филипоненко Н. С., Волкова Н. Е., Воробьева Л. И. Анализ продолжительности жизни линий *Drosophila melanogaster*, полученных из природных популяций с территорий с различным уровнем радиационного загрязнения // Фактори експериментальної еволюції організмів. — К.: Логос, 2009. — 6. — С. 402–406.
19. Кудряшов Ю. Б. Радиационная биофизика (ионизирующие излучения). — М.: Физматлит. — 2004. — 448 с.

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

FITNESS COMPONENTS IN THE OFFSPRINGS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* MEIG. AFTER ACUTE γ -IRRADIATION

Aims. The purpose of investigation was to study the effect of acute irradiation by brake γ -quanta on the components of fitness in *Drosophila melanogaster* Meig. **Methods.** The effect of acute γ -radiation at doses of 8 Gr, 16 Gr and 25 Gr on the fertility, the number of adults, the level of dominant lethal mutations (DLM) and life span of adults in the wild-type strain *Oregon-R* were investigated. Female adults in the age of 3 days were irradiated by brake gamma rays on the linear electron accelerator LEA-10. The dose rate was 0.4 Gr/sec. **Results.** Under the action of acute exposure brake γ -rays with increasing doses in the range of 8–25 Gr a decrease in egg production, increased longevity of adults in the F_1 generation were found. DLM frequency increased in generation F_1 and returned to the control values, or (at 25 Gr) decreased in the progeny F_2 . The number of adults in the progeny was not changed. **Conclusions.** In accordance with the data obtained it can be concluded that the trends of K-strategy of selection in these conditions of exposure in *Drosophila melanogaster* were realized.

Keywords: *Drosophila melanogaster* Meig., fitness, egg production, life span, dominant lethal mutations.