

ГОРЕНСКАЯ О.В.✉, ПРИЛИПКО Е.В., ШКОРБАТОВ Ю.Г.

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина,  
Украина, 61077, г. Харьков, пл. Свободы, 4, e-mail: olgavg@bk.ru, yuriy.shkorbatov@gmail.com  
✉ olgavg@bk.ru, (096) 971-83-99

## АНАЛИЗ ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ ЛИНИЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER*, НЕСУЩИХ МУТАЦИЮ *white<sup>apricot</sup>*, ПРИ ДЕЙСТВИИ ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ КРАЙНЕ ВЫСОКОЙ ЧАСТОТЫ

Одним из важнейших факторов, изменяющим экологическую ситуацию, является электромагнитное поле антропогенного происхождения. Анализ последствий даже кратковременных воздействий сверхвысоких частот (ЭМИ КВЧ) на проявление комплекса генетически детерминированных адаптивных признаков является весьма актуальной задачей [1], которая успешно решается при помощи классического объекта генетических исследований – *Drosophila melanogaster* [2–8]. Изменение характера проявлений адаптивно важных признаков у дрозофилы после воздействия микроволн показано многими авторами, но результаты значительно различаются в зависимости от используемого диапазона длин волн, интенсивности и длительности облучения, фазы развития дрозофилы, на которой проводили облучение, а также других условий эксперимента.

Так, показаны изменения в длительности предимагинального развития и увеличение продолжительности жизни имаго при воздействии ЭМИ КВЧ (частота – 37,7 ГГц, мощность – 10 мкВт и 100 мкВт) на синхронизированные кладки линий дрозофилы, несущих мутацию *white*, на разных этапах морфогенеза [3]. Воздействие КВЧ с частотой 37,7 ГГц и мощностью 10 мкВт и 100 мкВт на мух, несущих мутацию *black*, приводит к увеличению продолжительности предимагинального развития и снижению устойчивости имаго к голоданию. При этом доля особей, погибших на стадии куколки, достоверно не отличалась от уровня контроля во всех вариантах эксперимента [4]. В наших предыдущих работах также показано снижение доли имаго, развившихся из яиц, подвергнутых облучению микроволнами с частотой 42,25 ГГц при плотности потока мощности излучения 0,2 мВт/см<sup>2</sup> в течение 10 минут, по сравнению с контролем. Негативный эффект на плодовитость мух оказывало излучение с различной

эллиптической поляризацией. При сравнении линейно поляризованного, правополяризованного и левополяризованного излучений одинаковой мощности показано, что наибольший эффект оказывало левополяризованное излучение [8]. Основываясь на данных об усилении эффекта трансинактивации гена *brown<sup>D</sup>*, авторы предположили, что наблюдаемый эффект является проявлением повышения степени конъюгации хромосом в интерфазном ядре. Напротив, действие излучения с правой круговой поляризацией связано с уменьшением эффекта трансинактивации, что, в свою очередь, связано с уменьшением степени конъюгации гомологичных хромосом в интерфазном ядре [7]. Электромагнитные поля низкой интенсивности вызвали повышение частоты доминантных летальных мутаций в трех поколениях дрозофилы. Наибольшее увеличение частоты доминантных летальных мутаций наблюдали при действии линейно поляризованного электромагнитного поля [5].

Однако вопрос о проявлении генетически детерминированных количественных признаков у особей, подвергшихся внешнему воздействию на разных этапах онтогенеза, остается не изученным. Таким образом, целью данной работы был анализ показателей плодовитости, жизнеспособности и гибели особей на стадии куколки после воздействия ЭМИ КВЧ.

### Материалы и методы

В работе использовалась мутантная линия *white<sup>apricot</sup>(w<sup>a</sup>)* и линии с замещенным генотипом *w<sup>a</sup><sub>C-S</sub>* и *w<sup>a</sup><sub>Or</sub>* (мутация *w<sup>a</sup>* перенесена на генетический фон линий дикого типа *Canton-S* и *Oregon-R* путем возвратных насыщающих скрещиваний) *Drosophila melanogaster*. Линии получены из коллекции кафедры генетики и цитологии Харьковского национального университета

имени В.Н. Каразина, которая является национальным достоянием Украины.

Виргинных самок, полученных из синхронизированных кладок, подвергали воздействию в возрасте 3-х суток. Затем облученных самок скрещивали с необлученными самцами. В опытах исследовали потомство, полученное из последовательных отсадов родительских пар. В опыте 1 исследовали потомство, полученное в течение первых двух суток после спаривания, в опыте 2 – в течение вторых двух суток после спаривания (возраст родителей соответственно составляет 3–5 суток и 5–7 суток). В контроле 1 и 2 необлученных самок того же возраста, что и в опытных вариантах, скрещивали с необлученными самцами и анализировали потомство из последовательных отсадов родительских пар.

Параметры внешнего воздействия: частота – 37,5 ГГц, мощность излучения 250 мкВт. Диапазон от 26,5 до 40 ГГц используется, в основном, для спутниковой радиосвязи и радиолокации. Экспозиция составляла 60 секунд.

Определяли три показателя приспособленности дрозофилы: среднюю плодовитость (среднее количество образовавшихся пупариев от одной пары мух), жизнеспособность имаго (среднее число потомков на стадии имаго от одной пары мух) и процент особей, погибших на стадии куколки (учитывали среднее количество куколок, из которых не вылетели имаго, от одной пары). Учет потомства проводили от 30 – 40 пар в каждом варианте эксперимента.

Рассчитывалась ошибка среднего значения по методу стандартного отклонения. Достоверность различий контрольной и опытной группы оценивалась при помощи t-критерия Стьюдента для нормального распределения. Оценку достоверности и силы влияния внешнего и генетического фактора на изучаемые показатели проводили при помощи двухфакторного дисперсионного анализа (по методу Снедекора) [9].

### Результаты и обсуждение

Результаты экспериментов показали, что воздействие ЭМИ КВЧ на виргинных самок увеличивает плодовитость у линии  $w^{a_{Or}}$  на 10,8 % в опыте 1. При этом возрастает (на 12,9 %) и количество самцов, вылетевших из яиц, отложенных облученными самками. Линии  $w^a$  и  $w^{a_{C-S}}$  демонстрируют негативный эффект от воздействия высокочастотного облучения – повышается процент особей, погибших на стадии куколки. Увеличение составляет 28,3 % у линии  $w^{a_{C-S}}$  в опыте 1 и 47,1 % у линии  $w^a$  в опыте 2 (результаты исследований показаны в таблице 1).

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа по изучению вклада действующих факторов в проявление изученных в работе адаптивно важных признаков у дрозофилы показаны в таблице 2.

Таблица 1. Показатели адаптивно важных признаков у линий дрозофилы, несущих аллель  $w^a$ , при воздействии ЭМИ КВЧ на виргинных самок

Изучаемый показатель	Вариант эксперимента				
	Генотип	Контроль 1	Опыт 1	Контроль 2	Опыт 2
Плодовитость	$w^{a_{C-S}}$	47,88±2,60	45,56±2,15	23,28±3,22	30,33±3,47
	$w^{a_{Or}}$	43,27±1,69	47,93±1,16*	47,71±2,56	50,54±2,92
	$w^a$	82,55±5,91	95,65±3,86	65,6±3,58	66,4±3,50
Жизнеспособность имаго	$w^{a_{C-S}} \text{♀}$	49,13±3,19	47,25±2,44	24,0±3,42	29,89±3,57
	$w^{a_{C-S}} \text{♂}$	46,63±2,17	44,88±2,43	22,22±3,16	30,22±3,39
	$w^{a_{Or}} \text{♀}$	44,13±2,21	47,93±1,25	45,86±3,04	49,53±3,09
	$w^{a_{Or}} \text{♂}$	42,2±1,74	47,67±1,59*	47,93±2,89	48,47±2,92
	$w^a \text{♀}$	88,0±6,43	99,1±6,39	71,5±4,22	73,25±3,64
	$w^a \text{♂}$	77,1±5,49	76,7±5,05	59,5±3,17	61,75±3,46
Гибель особей на стадии куколки	$w^{a_{C-S}}$	15,0±1,35	19,25±1,13*	16,67±2,25	15,33±1,61
	$w^{a_{Or}}$	13,13±0,89	11,2±0,71	12,57±2,14	8,43±1,07
	$w^a$	13,6±1,14	12,65±1,68	19,5±2,93	10,33±1,16*

Примечание. \* Достоверность отличий от контроля  $p < 0,05$ .

Таблица 2. Влияние изучаемых факторов на показатели плодовитости, жизнеспособности и гибели особей на стадии куколки линий *D. melanogaster*, несущих мутацию *white<sup>apricot</sup>* (F, h<sup>2</sup>x)

Изучаемый показатель	Вариант эксперимента	Генотип	Внешнее воздействие	Сочетанное действие изученных факторов
Плодовитость	Опыт 1	F = 128,34, h <sup>2</sup> = 74,90 %	F = 4,99, h <sup>2</sup> = 1,57 %	F = 2,66
	Опыт 2	F = 66,30, h <sup>2</sup> = 52,12 %	F = 1,69	F = 0,44
Жизнеспособность имаго	Опыт 1	F <sub>♀</sub> = 94,58, h <sup>2</sup> <sub>♀</sub> = 65,18 % F <sub>♂</sub> = 61,88, h <sup>2</sup> <sub>♂</sub> = 54,91 %	F <sub>♀</sub> = 2,19, F <sub>♂</sub> = 0,62	F <sub>♀</sub> = 1,19 F <sub>♂</sub> = 0,79
	Опыт 2	F <sub>♀</sub> = 64,64, h <sup>2</sup> <sub>♀</sub> = 56,01 % F <sub>♂</sub> = 51,65, h <sup>2</sup> <sub>♂</sub> = 50,33 %	F <sub>♀</sub> = 0,56 F <sub>♂</sub> = 3,50	F <sub>♀</sub> = 0,15 F <sub>♂</sub> = 0,09
Гибель особей на стадии куколки	Опыт 1	F = 8,37, h <sup>2</sup> = 14,19 %	F = 0,06	F = 3,28 h <sup>2</sup> = 8,77 %
	Опыт 2	F = 4,66, h <sup>2</sup> = 7,37 %	F = 10,06 h <sup>2</sup> = 12,15 %	F = 2,11

Изменения показателя плодовитости определяются генотипом (h<sup>2</sup> = 74,90 % в опыте 1 и h<sup>2</sup> = 52,12 % в опыте 2), внешнее воздействие оказывает небольшое действие исключительно в опыте 1 (h<sup>2</sup> = 1,57 %). Жизнеспособность имаго зависит от генотипа (h<sup>2</sup><sub>♀</sub> = 65,18 % и h<sup>2</sup><sub>♂</sub> = 54,91 % в опыте 1 и h<sup>2</sup><sub>♀</sub> = 56,01 % и h<sup>2</sup><sub>♂</sub> = 50,33% в опыте 2). Гибель мух на стадии куколки в опыте 1 определяется только генотипом (h<sup>2</sup> = 14,19 %), в опыте 2 – генотипом (h<sup>2</sup> = 7,37 %) и воздействием ЭМИ КВЧ (h<sup>2</sup> = 12,15 %).

Известно, что адаптивный ответ на внешнее воздействие может осуществляться на клеточном уровне и на уровне целого организма *Drosophila melanogaster*. Изменяются такие интегральные количественные показатели, как продолжительность предимагинальной и имагинальной стадий онтогенеза, плодовитости, жизнеспособности и др [2–8, 10]. Они, в свою очередь, определяются клеточными механизмами стрессоустойчивости, в частности такими, как репарация ДНК, контроль клеточного цикла, обезвреживание свободных радикалов и ответ на тепловой шок и пр.

С помощью метода последовательных отсадов родительских особей мы разделили гаметы самок на группы, которые получили воздействие на разных этапах гаметогенеза. В обоих вариантах опытов в нашей работе ооциты находились на заключительных стадиях созревания (на стадии мейоза). В это время питающие клетки усиливают синтез РНК и их перенос в ооциты. Формируется специфическая направленность микротрубочек, которая играет ключевую

роль в упорядоченном транспорте РНК из питающих клеток в созревающий ооцит и специфическом распределении РНК в самом ооците. Изменения количественных признаков у инбредных линий дрозофилы дикого типа и мутантной линии *white* ранее установлены в основном в 1–3 отсадках после воздействия света на родительское поколение [10].

В работе [6] показано, что прерывистое воздействие электромагнитного излучения мобильного телефона на частоте 900 МГц изменяет актиновый цитоскелет яйцевых камер и вызывает фрагментацию ДНК в клетках, что влечет за собой уменьшение репродуктивного потенциала у дрозофилы.

Чувствительность к действию ЭМИ КВЧ структуры микротрубочек в питающих клетках может привести и к нарушению транспорта РНК из питающих клеток в созревающий ооцит. Это может объяснить и полученные в нашей работе результаты – внешнее воздействие привело к увеличению выхода самцов имаго, развившихся из созревших полностью гамет самок линии *w<sup>a</sup><sub>Or</sub>* (опыт 1), и к увеличению гибели особей на стадии куколки линий *w<sup>a</sup><sub>C-S</sub>* и *w<sup>a</sup>* (эффект зависит от генотипа).

Ген *white* *Drosophila melanogaster* (локус *w* расположен в дистальном прителомерном районе X-хромосомы) кодирует трансмембранный АВС-переносчик (АТФ-binding cassette (ABC) transporters), который осуществляет перенос 3-гидроксикинурина – предшественника глазного пигмента оммохома – в пигментные клетки глаза и в пигментированные клетки некоторых других органов [11]. Инсерция мо-

бильных элементов *copia* в локус *white* привела к возникновению мутации *white<sup>apricot</sup>* (<http://flybase.org/reports/FBal0018195.html>). У дрозофилы биосинтез оммохромов является одним из путей обмена триптофана, и его блокировка приводит к накоплению в организме промежуточных метаболитов или к сдвигам в других путях обмена триптофана. Триптофан является предшественником серотонина, поэтому у мутантов изменены уровни и распределение нейромедиаторов [12], которые, в свою очередь, участвуют в контроле репродуктивной функции самок. В экспериментах на линиях дрозофилы с выровненным генетическим фоном показано, что вклад в контроль некоторых генетически детерминированных количественных признаков может вносить аллельное состояние отдельного локуса [13]. Эта закономерность

показана и в данной работе, поскольку один и тот же ген проявляет себя по-разному в зависимости от того комплекса генов, которыми он окружен [14].

### Выводы

Результаты исследований показали, что воздействие ЭМИ КВЧ (частота – 37,5 ГГц, мощность излучения 250 мкВт) на виргинных самок *Drosophila melanogaster*, несущих мутацию *white<sup>apricot</sup>*, вызывает изменение показателей приспособленности. Внешнее воздействие привело к увеличению выхода самцов имаго, развившихся из созревших гамет самок линии *w<sup>a</sup><sub>Or</sub>* (опыт 1), и к увеличению гибели особей на стадии куколки линий *w<sup>a</sup><sub>C-S</sub>* и *w<sup>a</sup>* (эффект зависит от генотипа).

### Литература

1. Шкорбатов Ю.Г., Шахбазов В.Г. Влияние микроволнового облучения на биологические объекты // Радиофизика и электроника. – 2000. – Т. 5, № 1. – С. 179–185.
2. Горенская О.В., Гаврилов А.Б., Волков С.Н., Шкорбатов Ю.Г. Изменения длительности предимагинального онтогенеза *Drosophila melanogaster* при действии сверхвысокочастотного электромагнитного излучения в зависимости от генотипа // V Международная конференция «Дрозофила в экспериментальной генетике и биологии», 12–14 мая 2016 года. – К., 2016. – С. 21–22.
3. Горенская О.В., Повар М.В., Гаврилов А.Б. Влияние малых доз сверхвысокочастотного электромагнитного излучения на длительность предимагинального развития и продолжительность жизни дрозофилы в зависимости от генотипа // Международная конференция «Генетика продолжительности жизни и старения». Материалы докладов, 12–15 апреля 2010. – Сыктывкар, 2010. – С. 23–29.
4. Горенская О.В., Шкорбатов Ю.Г., Гаврилов А.Б. Особенности адаптивного ответа на кратковременное воздействие крайневисокочастотного облучения линий *Drosophila melanogaster*, несущих мутацию *black* // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія. – 2016. – Вып. 26. – С. 108–116.
5. Пасюга В.Н., Грабина В.А., Быков В.Н. и др. Долговременные эффекты низкоинтенсивных электромагнитных полей на частоту мутаций у дрозофилы // 17th International Crimean Conference – Microwave & Telecommunication Technology. – 2007. – р. 783–784.
6. Panagopoulos D.J., Karabarounis A. Effect of GSM 900-MHz mobile phone radiation on the reproductive capacity of *Drosophila melanogaster* // Electromagnetic biology and medicine. – 2004. – V. 23, № 1. – р. 29–43.
7. Shkorbatov Y.G., Evsveva M.V., Shakhbazov V.G. Influence of the microwave radiation of different polarization state on transinactivation effect and viability of *Drosophila* // IV International Conference on Antenna Theory and Techniques. – Sevastopol, 2003. – V. 2. – P. 823–824.
8. Shkorbatov Y.G., Trofimov S.V., Shakhbazov V.G. The influence of microwaves with different state of polarization upon the state of chromatin and viability of *Drosophila* // The Second International workshop UWBUSIS'04. – 2004. – р. 246–247.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
10. Навроцкая В.В. Проявление количественных признаков *Drosophila melanogaster* в зависимости от воздействия света на разные стадии гаметогенеза особей родительского поколения // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія. – 2006. – Вып. 3, № 729. – С. 113–119.
11. Mackenzie S.M., Howells A.J., Cox G.B., Ewart G.D. Sub-cellular localisation of the *white/scarlet* ABC transporter to pigment granule membranes within the compound eye of *Drosophila melanogaster* // Genetica. – 2000. – V. 108. – P. 239–252.
12. Borycz J., Borycz J.A., Kubów A., Lloyd V., Meinertzhagen I.A. *Drosophila* ABC transporter mutants *white*, *brown* and *scarlet* have altered contents and distribution of biogenic amines in the brain // J Exp Biol. – 2008. – V. 211, № 21. – P. 3454–3466.
13. Горенская О.В., Костенко В.В., Воробьева Л.И., Таглина О.В. Влияние аллельного состояния локуса *white* на некоторые показатели приспособленности у *Drosophila melanogaster* // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вып. 1. – С. 74–79.
14. Четвериков С.С. О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики // Классики современной генетики. – Л.: Наука, 1968. – С. 133–170.

**GORENSKAYA O.V., PRILIPKO E.V., SHKORBATOV Y.G.**

*V.N. Karazin Kharkiv National University,*

*Ukraine, 61077, Kharkiv, Svobody sq., 4, e-mail: olgavg@bk.ru, yuriy.shkorbatov@gmail.com*

**THE ANALYSIS OF FITNESS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* STOCKS WITH *white<sup>apricot</sup>* MUTATION AFTER INFLUENCE OF MICROWAVE RADIATION**

**Aim.** The aim of the present investigation was to study the effect of microwave irradiation of *Drosophila melanogaster* females on parameters of fitness of *Drosophila*. **Methods.** Three *Drosophila* stocks were used: stock *white<sup>apricot</sup>* ( $w^a$ ), and two stocks, obtained by saturation of the wild-type stocks *Canton-S* и *Oregon-R* with mutation  $w^a$  ( $w^a_{C-S}$  and  $w^a_{Or}$ ). The *Drosophila* females were exposed to microwave radiation ( $f=37.5$  GHz;  $P=250$   $\mu$ W/cm), exposure time was 60 sec. *Drosophila* females were exposed at two different stages of eggs development: during 1–2 days after pairing with non-exposed male and during 3–4 days after pairing. Three characteristics of *Drosophila* fitness were assessed in progeny of exposed females: fecundity, imago viability, and death rate on pupa stage. **Results.** The increase of fecundity was revealed only in progeny of  $w^a_{Or}$  flies exposed at early stage of egg development. Imago viability increased only in  $w^a_{Or}$  males. Increase of death rate at the pupa stage in the progeny of exposed females was revealed in lines  $w^a$  and  $w^a_{C-S}$ . **Conclusions.** The influence of microwave radiation on *Drosophila melanogaster* adaptive traits has been studied. In some variants of experiment in progeny of females exposed to microwaves the increase of fecundity, imago viability, and pupae death rate were observed. It is shown that the main factor determining the fitness quantity traits is genotype. The increase of fecundity and imago viability was observed only in one line ( $w^a_{Or}$ ) if females exposed to microwaves at early stage of egg development (stage of meiosis).

**Keywords:** fecundity, drosophila, electromagnetic radiation.