

УДК 595.7.082.26

©1998 г. С. Б. АЛЕНИНА

**РЕАКЦИЯ НА ОБЛУЧЕНИЕ НЕ-НЕ ЛАЗЕРОМ ГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗЛИЧНЫХ
ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ DROSOPHILA MELANOGASTER****Введение**

Изучение адаптивных признаков и изменений в степени их выраженности в связи с эффектом инбредной депрессии представляет теоретический интерес для понимания процессов, протекающих в природных популяциях. А исследование влияния внешних физических факторов важно также для решения прикладных задач, возникающих при поддержании жизнеспособности особей в искусственных популяциях в условиях культивирования.

В настоящее время, выявлена способность излучения He-Ne лазера оказывать влияние не только на организмы, но и на физиологическое состояние клетки, вызывая ряд функциональных и структурных изменений (Девятков и др., 1987; Кару, 1989; Мантейфель, 1990; Зубкова, 1995). Это дает представление о возможных механизмах действия лазера и позволяет применять данный вид воздействия для модификации практически важных свойств биологических объектов.

Использование дрозофилы в качестве модельного объекта удобно как для изучения особенностей взаимодействия оптического излучения с живыми организмами, так и для выяснения роли генетических различий в реакции особей на вышеуказанный стимул.

Как было показано ранее, лазерное излучение ($\lambda=0,633$ мкм) способно изменять плодовитость (определяли по числу пупариев) инбредных и гибридных особей *Drosophila melanogaster*, развившихся из облученных яиц, а также жизнеспособность потомков этих особей, оцениваемую по выходу имаго (Аленина, Шахбазов и др., 1998). При этом реакция на воздействие зависела от исходного состояния объекта, обусловленного генотипом и от экспозиции облучения.

Поскольку описанные в указанной работе признаки зависят не только от плодовитости родительского поколения, но и от выживаемости потомства на разных стадиях развития (эмбриона, личинки и куколки), а лазерное излучение способно оказывать неблагоприятное воздействие на эмбриональное развитие дрозофилы (Иванов, 1984; Пономаренко, 1984), целесообразно изучить влияние лазера на плодовитость самок (по числу отложенных яиц), на фертильность и эмбриональную выживаемость дрозофилы.

Материалы и методы

Материалом служили инбредные линии *Drosophila melanogaster* дикого типа – Домодедовская-32 (Д-32) и Swedish (Sw). Инбридинг проводили путем скрещивания сибсов в течение 74 – 76 поколений.

Как источник излучения использовали низкоинтенсивный He-Ne лазер типа ЛГН-111 ($\lambda=0,633$ мкм). Исследовали экспозиции в одну, пять, десять, двадцать и тридцать минут при плотности мощности в зоне облучения равной 10 мВт/см². Воздействие проводили по описанной ранее схеме (Аленина, Шахбазов, 1997; Аленина, Шахбазов и др., 1998), облучая синхронизированные кладки яиц.

Для оценки яйценоскости, фертильности и эмбриональной жизнеспособности инбредных особей в норме и в условиях облучения отбирали виргинных самок и самцов, развившихся из облученных и интактных кладок, и после отдельного содержания на стандартной среде в течение трех суток и суточного скрещивания оплодотворенных самок помещали в чашки Петри на агаровые пластинки, покрытые тонкой дрожжевой суспензией. Через восемь часов учитывали общее число отложенных яиц. Через 48 часов проводили подсчет числа неразвившихся яиц, классифицируя при этом прозрачные яйца как неоплодотворенные, светлые матовые – как ранние летали (гибель произошла в первые 9 часов развития), темные – как поздние летали (Тихомирова, 1990; Волчков, Воробцова, 1964).

Яйценоскость определяли как число яиц на одну самку. О фертильности судили по проценту неоплодотворенных яиц от общего числа отложенных яиц. Эмбриональную жизнеспособность оценивали, определяя процент доминантных леталей (ранних, поздних и суммарную величину) от общего числа оплодотворенных яиц.

В каждом варианте обследовали 80 - 100 самок, общее число учтенных яиц составило 1200 - 1600. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики (Рокицкий, 1967).

Результаты и обсуждение

Данные, полученные в ходе экспериментов, приведены в таблицах 1 - 4. В таблице 4 представлены результаты исследований, проведенных ранее (Аленина, Шахбазов и др., 1998).

Сравнительный анализ данных показал, что в контрольных условиях линии достоверно не различаются по яйценоскости и эмбриональной жизнеспособности (табл. 1 - 2), однако по частоте появления неоплодотворенных яиц в кладках линия Sw в 8,14 раз превосходит линию Д-32, что свидетельствует о более низкой фертильности первой, возможно, обусловленной физиологическими свойствами особей данной линии.

Сопоставляя эти данные с уровнем репродуктивной способности по числу пупариев и выходу имаго (табл. 4), различия между линиями по указанным признакам можно объяснить различиями жизнеспособности особей Sw и Д-32, проявляющимися на более поздних этапах развития. При этом жизнеспособность личинок и куколок Sw, вероятно, достаточно высока, чтобы компенсировать пониженную по сравнению с линией Д-32 фертильность особей данной линии и привести к превосходству линии Sw по показателям плодовитости и жизнеспособности.

Как видно из табл. 1 - 3, лазерное излучение не оказывает существенного влияния на яйценоскость, частоту доминантных леталей и фертильность исследованных линий.

Только пятиминутное воздействие достоверно снижает яйценоскость самок Sw, развившихся из облученных яиц, что, вероятно, является причиной обнаруженного ранее уменьшения числа потомков на стадиях куколки и имаго после воздействия в указанном режиме. А пониженный уровень выхода имаго и тенденцию к снижению уровня репродуктивной способности при экспозиции в 10 минут можно объяснить увеличением в данных условиях эмбриональной гибели особей Sw. Уменьшение при десятиминутном облучении частоты появления в кладках самок этой линии неоплодотворенных яиц было недостаточным для предотвращения угнетающего действия лазера на плодовитость и выход имаго (табл. 4).

Таблица 1.

Яйценоскость инбредных самок *Drosophila melanogaster* в норме и после воздействия лазерного излучения

Линия	Контроль	Экспозиция, мин.				
		1	5	10	20	30
Swedish	21.5±2.3	24.2±2.6	13.0±2.6 *	18.6±2.1	20.8±1.6	22.4±1.4
Домодедовская-32	16.5±2.7	11.0±2.8	17.5±4.2	11.8±3.6	17.9±2.4	12.5±2.4

* - отличия от контроля достоверны, $p < 0.05$

Таблица 2.

Влияние лазерного излучения на частоту доминантных леталей в кладках инбредных самок дрозофилы

Линия	Swedish			Домодедовская-32		
	Ранние летали	Поздние летали	Сумма	Ранние летали	Поздние летали	Сумма
Контроль	2.8±0.9	0.13±0.1	2.9±0.9	3.2±0.9	1.7±0.7	4.9±0.9
1	4.2±1.2	0.8±0.4	4.9±1.2	13.0±5.2 *	1.9±1.0	15.0±5.0 *
5	1.7±1.3	0.8±0.8	2.5±1.4	3.5±1.8	3.4±1.8	6.9±1.9
10	7.3±2.0 *	0.7±0.5	8.0±1.8 *	3.8±0.8	0.8±0.5	4.6±0.9
20	4.6±1.3	0.2±0.1	4.8±1.2	3.0±1.3	1.3±0.5	4.4±1.3
30	5.1±1.8	0.2±0.2	5.3±1.8	3.3±1.2	4.0±2.4	7.3±2.0

* - отличия от контроля достоверны, $p < 0.05$

Влияние лазерного излучения на процент неоплодотворенных яиц в кладках инбредных самок дрозофилы

Линия	Контроль	Экспозиция, мин.				
		1	5	10	20	30
Swedish	11.4±2.7	5.7±3.1	8.6±4.2	5.0±1.9 *	5.5±2.4	8.3±3.8
Домодедовская-32	1.4±1.0	6.6±2.5 *	0.7±0.3	0.9±0.4	0.9±0.7	1.7±1.0

* – отличия от контроля достоверны, $p < 0.05$

Линия Д-32 оказалась более устойчивой к воздействию исследованного внешнего фактора, так как яйценоскость самок данного генотипа не изменяется под влиянием облучения, а увеличение эмбриональной гибели и снижение фертильности наблюдается лишь в одном из вариантов – при экспозиции в одну минуту. Эти неблагоприятные изменения не сказываются на степени выраженности признаков, проявляющихся на более поздних этапах онтогенеза, поскольку наблюдается достоверное увеличение выхода имаго и репродуктивной способности особей данной линии, развившихся из облученных в течение одной минуты яиц (табл. 4).

Таким образом, наиболее выраженные отдаленные эффекты облучения лазером на плодовитость (по числу отложенных яиц), эмбриональную гибель и процент неоплодотворенных яиц в кладках дрозофилы наблюдаются после воздействия с относительно небольшими экспозициями. При этом дозы излучения, полученные объектом в нашем эксперименте, попадают в дозовый интервал, облучение которым по данным Кару Т. Й. (1989), вызывает стимуляцию пролиферации активности клеток в культуре, изменяя биохимические процессы в клетке с участием макромолекул, которые не поглощают непосредственно лазерное излучение (ДНК, РНК). Монохроматический свет, таким образом, выступает в роли регуляторного фактора пролиферативной активности и связанных с нею цитофизиологических процессов.

Воздействие He-Ne лазера в исследованных в данной работе режимах изменяет также интегральные биоэлектрические свойства клеточных ядер дрозофилы (Аленина, Шахбазов, 1997), которые, как было впервые показано, связаны с уровнем функциональной активности и особенностями структуры ядерного генома (Шахбазов, Лобынцева, 1972; Шахбазов и др., 1986; Шкорбатов, Шахбазов, 1992).

Способность лазерного излучения регулировать биохимические процессы (Кару, 1989) и модифицировать цитобиофизические характеристики (Аленина, Шахбазов, 1997), а также вызывать структурные перестройки мембранных образований клеток (Девятков и др., 1987; Зубкова, 1995) позволяет объяснить наблюдаемые нами изменения признаков, связанных с репродукцией и жизнеспособностью дрозофилы тем, что неспецифическая реакция клеток, возникающая при облучении оплодотворенного яйца, в дальнейшем через изменения интегральных свойств ядерного генома и различия в генной активности приводит к возникновению физиологических изменений на разных этапах онтогенеза, а впоследствии и к различиям в реализации и степени проявления фенотипических признаков.

Стимуляция плодовитости и жизнеспособности линии, характеризующейся в нормальных условиях более низким уровнем исследованных показателей, позволяет предположить, что с помощью лазерного излучения возможна компенсация неблагоприятных эндогенных особенностей организма, обусловленных инбредной депрессией.

Таблица 4.

Изменения репродуктивной способности и выхода имаго *Drosophila melanogaster* под действием лазерного излучения

Линия	Число потомков на стадии:	Контроль	Экспозиция, мин.				
			1	5	10	20	30
Sw	куколки	100,2±9,6	135,1±7,8*	131,2±8,3	125,5±6,2*	134,2±7,6*	125,3±7,9
	имаго	126,6±7,2	100,9±6,6*	92,73±7,0*	102,0±7,4*	82,0±6,7*	91,3±6,21*
Д-32	куколки	131,5±7,2	109,0±6,9*	100,2±7,3*	113,1±7,6	91,9±7,1*	101,0±6,6*
	имаго	88,2±8,3	116,3±7,0*	110,5±6,7*	102,9±6,0	112,5±5,3*	101,5±7,6

* – отличия от контроля достоверны, $p < 0.05$

- Активация транскрипционной функции в лимфоцитах под влиянием облучения He-Ne лазером. / Мантейфель В. М., Андрейчук Т. Н., Кару Т. И., Челидзе П. В., Зеленин А. В. // Молекулярная биология (Москва). – 1990 – Т. 24, № 4. – С. 1067–1076.
- Аленина С. Б., Шахбазов В. Г. Различия в биоэлектрических свойствах клеточных ядер инбредных линий и гетерозисных гибридов *Drosophila melanogaster* в норме и при облучении гелий-неоновым лазером. // Изв. Харьков. энтомол. о-ва. – 1997. – Т. 5, вып. 1. – С. 115–118.
- Аленина С. Б., Шахбазов В. Г., Коробов А. М. Влияние лазерного излучения на репродуктивные свойства и жизнеспособность линий и гибридов *Drosophila melanogaster*. // Фотобиология и фотомедицина. – 1998. – № 1. – С. 1–6.
- Волчков Ю. А., Воробцова И. Е. Сравнительное изучение частоты возникновения доминантных летальных мутаций у разных линий *Drosophila melanogaster*. // Вестн. ЛГУ. Сер. биол. – 1964 – № 5, вып. 3. – С. 124.
- Зубкова С. М. Конформационные перестройки в биомембранах как основной механизм биологического действия низкоэнергетического лазерного излучения // Применение лазеров в биологии и медицине: Сборн. науч. докл., тезисов и методик по лазерной медицине : Ч.1 : Материалы международной конференции, Киев 11 – 14 октября 1995 г. – К., 1995. – С. 47.
- Иванов И.П. Влияние лазерного излучения с длиной волны 632.8 нм на эмбриогенез дрозофилы. - В кн.: Биологическое действие лазерного излучения. – Куйбышев: КГУ, 1984 – С. 19–23.
- Кару Т. И. Фотобиология низкоинтенсивной лазерной терапии // Итоги науки и техники ВИНТИ. Сер. Физические основы лазерной и пучковой технологии. – Т. 4, 1989 – С. 44–85.
- Пономаренко О.А. Действие света гелий-неонового лазера на эмбриональное развитие дрозофилы. - В кн.: Биологическое действие лазерного излучения. – Куйбышев: КГУ, 1984 – С. 86 – 89.
- Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. – Минск: Высшая школа, 1967. – С. 25–85.
- Тихомирова М. М. Генетический анализ. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1990. – С. 270–272.
- Физико-химические механизмы действия лазерного излучения. / Девятков Н. Д., Зубкова С. М., Лапун И. Б., Макеева Н. С. // Успехи современной биологии. – 1987. – Т. 103, вып.1. – С. 31–44.
- Шахбазов В.Г., Лобынцева Г. С. Электрокинетические свойства клеточного ядра некоторых растений в связи с их генотипом и физиологическим состоянием // Цитология и генетика. – 1972. – Т. 6, N 2 – С. 129–136.
- Шахбазов В.Г., Шкорбатов Ю.Г., Страшнюк В.Ю. Регуляция активности ядерного генома и биоэлектрические свойства хроматина и клеточного ядра // Докл. АН СССР. – 1986. – Т. 290, N 5. – С. 1255–1258.
- Шкорбатов Ю.Г., Шахбазов В.Г. Биоэлектрические свойства клеточных ядер. // Успехи современной биологии, 1992. – Т. 112, вып. 4. – С. 499–512.

Харьковский государственный
университет

S.B.ALENINA

THE REACTION OF GENETICALLY DIFFERENT INBRED LINES OF *DROSOPHILA*
MELANOGASTER TO HE-NE LASER IRRADIATION TREATMENT

SUMMARY

The effects of He-Ne laser irradiation on reproduction and embryonic viability of inbred *Drosophila melanogaster* lines have been investigated. Laser irradiation treatment has not been found to decrease the number of eggs laid by females. The increase of undeveloped embryos took place only in case of 1 and 10 minute irradiation. The data obtained allows to consider the previously observed changes of *Drosophila melanogaster* reproductive ability and viability after laser irradiation to be caused by laser effects on physiological peculiarities of inbred flies.